بررسی ترکیب اسیدهای چرب در روغن زیتون و روغن حیوانی با تاکید بر اسیدهای چرب ترانس توسط گاز کروماتوگرافی

بهار نظری*، دکتر صدیقه عسگری**[1]، دکتر نضال صرافزادگان***، دکتر سلبعلی صابری†، دکتر رضا حاجی حسینی ††، دکتر امیرحسین ازهری†††

*دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی- دانشگاه پیام نور تهران، **دانشیار گروه فارماکوگنوزی - مرکز تحقیقات قلب و عروق -مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ***استاد گروه قلب و عروق –مرکز تحقیقات قلب و عروق -دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، †دکتری داروسازی- مرکز تحقیقات قلب و عروق- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، ††استادیار گروه بیوشیمی- دانشگاه پیام نور اصفهان، †††دستیار قلب و عروق- دانشگاه علوم پزشکی اصفهان.

تاریخ دریافت: ۸۷/۳/۲۲ تاریخ تایید: ۸۷/۹/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: **اسید چرب ترانس یک اسید چرب غیر اشباع می‌باشد که مشابه با اسیدهای چرب اشباع عمل می‌کند. با توجه به تمایل مردم به مصرف روغن های طبیعی از قبیل روغن زیتون و روغن حیوانی در کشور ما، این تحقیق با هدف بررسی میزان اسیدهای چرب با تاکید بر اسید چرب ترانس در روغن حیوانی و روغن زیتون انجام شد.**

روش بررسی: **در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی اسیدهای چرب از دو نمونه روغن زیتون و روغن حیوانی استخراج و تبدیل به متیل استر گردید. سپس ۱ میکرولیتر از متیل استر اسیدهای چرب به دستگاه گاز کروماتوگرافی تزریق و میزان و نوع اسیدهای چرب موجود در روغن ها تعیین گردید. داده ها با استفاده از آمار توصیفی تجزیه و تحلیل گردید.**

یافته ها: **مجموع اسیدهای چرب ترانس لینولئیک اسید و الائیدیک اسید در دو نمونه روغن حیوانی ۸/۵±۰/۱۵ و۸/۲۶±۰/۶۷ و در روغن زیتون ۵/۵±۰/۶۸ و ۲/۱±۰/۲ گرم در ۱۰۰ گرم چربی بود. مجموع اسیدهای چرب اشباع (SFAs) در روغن های حیوانی۵۶/۰±۴/۱۴ و ۵۸/۹±۱/۹۵ و در دو نمونه روغن زیتون ۱۷/۶±۰/۶۹ و ۱۵/۲±۱/۰۲ بدست آمد. مجموع اسیدهای چرب غیر اشباع دارای یک باند دوگانه (MUFAs)، در روغن های حیوانی ۲۴/۸±۰/۸۵ و ۲۲/۶±۱/۴۶ و در دو نمونه روغن زیتون ۶۵/۹±۳/۳۹ و ۶۷/۱±۱/۰۶ گرم در ۱۰۰ گرم چربی ارزیابی گردید. مجموع «اسیدهای چرب دارای چند باند دوگانه» (PUFAs) در روغن های حیوانی ۶/۹±۱/۴۵ و ۸/۸±۰/۱۷ گرم و در دو نمونه روغن زیتون ۱۰/۶±۰/۳۵ و ۱۴/۰±۰/۹۶ گرم در ۱۰۰ گرم چربی می‌باشد.**

نتیجه گیری: **روغن حیوانی در مقایسه با روغن زیتون میزان بالایی از اسیدهای چرب اشباع شامل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد.**

واژه های کلیدی: اسیدهای چرب، اسیدهای چرب ترانس، روغن حیوانی، روغن زیتون، گاز کروماتوگرافی.

مقدمه:

امروزه بیماری های عروق کرونر قلبی یکی از دلایل مهم مرگ و میر در کشورهای در حال توسعه گزارش شده است. عواملی از قبیل عوامل ژنتیکی، سبک زندگی و بخصوص نوع رژیم غذایی در بروز بیماری ها بویژه بیماری های قلبی-عروقی موثر می‌باشد.

از انواع مهم چربی های مصرفی موجود در مواد غذایی می‌توان به اسیدهای چرب اشباع (SFAs)، اسیدهای چرب غیر اشباع دارای یک باند دوگانه (MUFAs)، اسیدهای چرب غیر اشباع دارای چند باند دوگانه (PUFAs) و اسیدهای چرب ترانس (TFAs) اشاره کرد. مصرف SFAs و TFAs باعث افزایش در سطح LDL-C پلاسما می‌گردد (۱). سطح بالای LDL-C خون مرتبط با افزایش وقوع بیماری های قلبی-عروقی است در حالی که سطح بالای HDL-C مرتبط با کاهش ریسک بیماری های قلبی- عروقی می‌باشد. TFAs

[1]نویسنده مسئول: اصفهان-خیابان خرم- مرکز تحقیقات قلب و عروق-مرکز تحقیقات فیزیولوژی کاربردی- تلفن: ۳۳۵۹۶۹۶-۰۳۱۱، E-mail: sasgari@yahoo.com

علاوه بر افزایش در سطح LDL-C، فاکتورهای التهابی (از قبیل CRP (c-reactive protein) و اینترلوکین-۶) و لیپوپروتئین a (۲)، باعث کاهش در سطح HDL-C و در نتیجه تغییر در نسبت LDL-C به HDL-C می‌گردند، بنابراین تاثیر اسیدهای چرب ترانس بر این نسبت بیش از تاثیر اسیدهای چرب اشباع بر آن می‌باشد (۳) که بیانگر تاثیر بیشتر اسیدهای چرب ترانس نسبت به اسیدهای چرب اشباع بر ریسک بیماری های قلبی- عروقی است (۵،۴،۶). TFAs علاوه بر تاثیر سوء بر بیماری های قلبی، باعث ایجاد سایر بیماری ها از قبیل انواع سرطان ها، نازایی، آسم و آلرژی، دیابت و اختلال در عملکرد آندوتلیوم عروق می‌گردد (۱۰-۷). طبق پیشنهاد FDA (Food and drag andministration)، دریافت TFAs باید به کمتر از ۱ درصد انرژی دریافتی کاهش یابد (۱۱). TFAs بطور طبیعی در گوشت و محصولات لبنی بدست آمده از گاو و گوسفند و دیگر نشخوارکنندگان وجود دارد که حاصل فعالیت باکتری های موجود در معده نشخوارکنندگان می باشد (۱۳،۱۲). TFAs همچنین در روغن ها و چربی ها طی فرآیند هیدروژناسیون در روغن های گیاهی بوجود می آید که در این حالت روغن گیاهی به فرم نیمه جامد تبدیل شده و این امر سبب افزایش ماندگاری روغن می‌گردد، همچنین در طی تصفیه روغن های گیاهی در مرحله بوزدایی نیز مقداری TFAs تولید می‌گردد (۱۲).

روغن زیتون حاوی مقادیر بالایی (حدود ۷۰٪) MUFA (اولئیک اسید) می باشد که نسبت به اکسیداسیون مقاوم تر می باشد (۱۴).

روغن حیوانی یکی از چربی های مهم رژیم غذایی در هند و دیگر کشورهای آسیای جنوبی می باشد (۱۶،۱۵). این روغن حاوی مقادیر بالایی SFAs می باشد (حدود ۵۹٪ از کل اسیدهای چرب موجود در آن). اسیدهای چرب اشباع به استثناء استئاریک اسید (C۱۸:۰) باعث افزایش سطح کلسترول سرم می گردند (۱۷).

روغن حیوانی نیز منبع خوبی برای اولئیک اسید ذکر می شود که قادر به محافظت ذرات LDL-C از اکسید شدن می‌باشد و از شروع آترواسکلروز جلوگیری می نماید (۱۸،۱۹).

به علت تمایل برخی از مردم به مصرف روغن های طبیعی از قبیل روغن زیتون و روغن حیوانی، در این مطالعه سعی گردیده است ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن حیوانی (بدست آمده از شیر گوسفند) و اسیدهای چرب موجود در روغن زیتون که یکی از بهترین روغن های معرفی شده جهت مصرف است مقایسه گردد.

روش بررسی:

در این مطالعه توصیفی آزمایشگاهی دو نمونه روغن حیوانی (بدست آمده از شیر گوسفند) تهیه شده از عشایر شیراز (روغن حیوانی ۱) و عشایر چهارمحال و بختیاری (روغن حیوانی۲) تهیه گردید. دو نمونه روغن زیتون تصفیه شده و بی بو که یکی تولید شده در داخل کشور (روغن زیتون ۱) و دیگری تولید شده در اسپانیا (روغن زیتون ۲) می‌باشد و از سوپر مارکت تهیه گردید.

توسط متد AOCS (American oil chemists society) (۲۰)، متیل استر اسیدهای چرب موجود در نمونه‌های روغن تهیه شد. به این ترتیب که به ۲۰ میلی‌گرم از نمونه روغن، ۲ میلی لیتر محلول NaOH-Methanol ۰/۵ mol/L اضافه گردید. مخلوط به مدت ۷ دقیقه در ۱۰۰°C حرارت داده شد. پس از سرد کردن مخلوط، ۳ میلی لیتر محلول ۱۴ درصد از BF3-Methanol افزوده، درب لوله را بسته و ۵ دقیقه در ۱۰۰ °C حرارت داده شد. پس از سرد شدن، ۲ میلی لیتر از n-Hexane و ۷ میلی‌لیتر محلول NaCl اشباع اضافه و به شدت مخلوط گردید. دو فاز تشکیل شده، لایه هگزان (فاز بالایی) را جدا کرده و تحت گاز نیتروژن هگزان تبخیر کردیم. برای تزریق به دستگاه گاز

کروماتوگرافی (GC) ابتدا ۱۰۰ میکرولیتر n-Hexane به متیل استر تهیه شده اضافه گردید و ۱ میکرولیتر ازآن به دستگاه GC تزریق شد (۲۰).

شناسایی و تعیین مقدار اسیدهای چرب موجود در روغن ها با سیستم گاز کروماتوگرافی مدل MGC ۶۰۰۰ Acme ساخت شرکت یانگ لین کره جنوبی مجهز به دتکتور یونی شعله‌ای و ستون شیشه‌ای مویینه TR-CN100 ساخت شرکت تکنوکروم به طول ۶۰ متر، قطر داخلی ۰/۲ میکرومتر و قطر خارجی ۰/۲۵ میکرومتر انجام شد. اسپلیت دستگاه ۱ به ۲۰ تنظیم گردید. دمای تزریق و دتکتور به ترتیب ۲۴۰°C و ۲۵۰°C و دمای Oven به صورت زمان بندی شده برنامه ریزی شد، بدین ترتیب ابتدا ۷ دقیقه در دمای ۹۰°C، به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۵۰°C، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۲۰۰°C، به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۲۴۰°C و تا زمان ۵۰ دقیقه هم در همان دمای ۲۴۰°C باقی می‌ماند تا زمان کافی برای خروج همه اسیدهای چرب از ستون وجود داشته باشد. گاز هلیم با خلوص ۹۹/۹۹ درصد و با فشار ۲۰ میلی‌لیتر در دقیقه به عنوان گاز حامل و هیدروژن و هوای خشک استاندارد به نسبت ۱ به ۳۰ (۱ هیدروژن و ۳۰ هوای خشک) به عنوان سوخت استفاده گردید. از هر نمونه روغن سه بار متیل استر تهیه گشت و به دستگاه تزریق گردید. داده ها به کمک آمار توصیفی تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها:

در روغن حیوانی تهیه شده از عشایر شیراز (روغن حیوانی ۱) و عشایر چهارمحال و بختیاری (روغن حیوانی ۲) بالاترین مقدار مربوط به اسید چرب اشباع به ترتیب به میزان ۴/۱۴±۵۶/۰ و ۱/۹۵±۵۸/۹ گرم، مجموع MUFAs ۱/۸۵±۲۴/۸ و ۱/۴۶±۲۲/۶ گرم و مجموع PUFAs ۱/۴۵±۶/۹ و ۰/۱۷±۸/۸ گرم در ۱۰۰ گرم چربی، میزان اسیدهای چرب ترانس در روغن حیوانی ۱ و ۲ به ترتیب ۰/۸۵±۸/۵ و ۰/۶۷±۸/۲۶ گرم در۱۰۰ گرم چربی به دست آمد که مربوط به ترانس لینولئیک اسید و الائیدیک اسید بود. در روغن زیتون داخلی و روغن زیتون اسپانیایی بالاترین مقدار مربوط به MUFAs به ترتیب به میزان ۳/۳۹±۶۵/۹ و ۱/۰۶±۶۷/۱ گرم در ۱۰۰ گرم چربی بود که عمده آن مربوط به اولئیک اسید می باشد. مجموع PUFAs، به ترتیب ۳/۳۹±۱۰/۶ و ۰/۹۶±۱۴/۰ گرم در ۱۰۰ گرم چربی و مجموع SFAs برابر با ۰/۶۹±۱۷/۶ و ۱/۰۲±۱۵/۲ گرم در ۱۰۰ گرم چربی بود، که بسیار کمتر از میزان SAFs در روغن حیوانی می باشد. در روغن زیتون ۱ و ۲ مجموع اسیدهای چرب ترانس الائیدیک اسید و لینولئیک اسید به ترتیب ۰/۶۸±۵/۵ و ۰/۲±۲/۱ گرم در ۱۰۰ گرم چربی به دست آمد.

نسبت PUFA:SFA (P:S) و SFA: (MUFA+PUFA) که از نظر کارشناسان تغذیه برای تعیین تاثیر روغن و چربی رژیم غذایی در سطح کلسترول خون مهم می باشد (۲۱) نیز تعیین شد. نتایج نشان می دهد که نسبت P:S در روغن زیتون ایرانی ۰/۶ و در در روغن زیتون اسپانیایی ۰/۹۲ می‌باشد و در روغن حیوانی ایرانی و اسپانیایی به ترتیب ۰/۱۱ و ۰/۱۵ است. نسبت (m+p):s در روغن زیتون ایرانی ۴/۳۵ و در روغن زیتون اسپانیایی ۵/۳ می باشد و در روغن حیوانی ایرانی و اسپانیایی به ترتیب ۰/۵۷ و ۰/۵۳ بدست آمد (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱: میزان اسیدهای چرب موجود در نمونه های مورد مطالعه بر حسب گرم در ۱۰۰گرم چربی.

اسیدهای چرب	روغن حیوانی		روغن زیتون	
	عشایر شیراز	عشایر چهارمحال و بختیاری	ایرانی	اسپانیایی
C6:0(Caproic acid)	۲/۱±۰/۳۶	۱/۳±۰/٤	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C8:0(Caprylic acid)	٤/۲±۰/٦٤	۱/۱±۰/۳٦	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C10:0(Capric acid)	۲/۰±۰/۳٦	۰/٤±۰/۳	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C12:0(Lauric acid)	٤/٥±۰/۷۲	۸/۰±۰/٥٦	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C14:0(Myristic acid)	۸/۹±۱/٥	۱۳/٦±۰/۷	۰/۲±۰/۱	۰/٤±۰/۱
C14:1 *cis*(Myristoleic acid)	۲/۰±۰/٤٥	۰/۲±۰/۱۱	۰/۰±۰/۰	۰/۷± ۰/۰٥
C15:0(Pentadecanoic acid)	۳/۲±۰/٤٥	۰/۱±۰/۰٦	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C16:0(Palmitic acid)	۲۱/٤±۰/۹۸	۲٥/۳±۲/۰٥	۱۱/۳ ± ۰/٥۰	۱۰/٦±۰/۷۰
C16:1 cis(Palmitoleic acid)	۱/٦±۰/٥0.1٤	۰/۱±۰/۰٤	۱/٤±۰/۷	٤/۸±۰/۷۰
C16:1 trans (Palmitelaidic acid)	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C17:0(Heptadecanoic acid)	۰/٥±۰/۱۳	۰/٦±۰/۲	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C18:0(Stearic acid)	۹/۱±/۳۰	۷/٥±۰/٤۱	٦/۱±۰/۳	٤/۲±۰/٤٥
C18:1 9-cis(Oleic acid)	۲۰/۰±۰/۹٥	۲۲/۰±۰/۷۳	٦٤/٤±٤/٦	٦۱/٥±۲/٥۷
C18:1 9-trans(Elaidic acid)	۷/٥±۰/٦	۸/٥±۰/٥۳	۱/۱±۰/۳	۰/۰±۰/۰
C18:2(Linoleic acid)	۳/۱±۰/۸۲	٥/۰±۰/۲٦	۹/۷±۰/٥۲	۱۰/۱±۰/٤
C18:2 6-trans(Trans-6-linoleic acid)	۱/۰±۰/۳	۰/۸±۰/۱	٤/٤±۰/٤۳	۲/۳±۰/٥
C18:3(Linolenic acid)	۳/۸±۰/٦٥	۳/۸±۰/۲٦	۰/۹±۰/۲	۳/۹±۰/٦
C20:0(Arachidic acid)	۰/۱±۰/۰٥	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰	۰/۰±۰/۰
C20:1(Eicosenoic acid)	۱/۲±۰/٦	۰/۳±۰/۱	۰/۱±۰/۰۲	۰/۱±۰/۰٤
Total SFA	٥٦/۰±٤/۱٤	٥۸/۹±۱/۹٥	۱۷/٦±۰/٦۹	۱٥/۲±۱/۰۲
Total MUFA	۲٤/۸±۱/۸٥	۲۲/٦±۱/٤٦	٦٥/۹±۳/۳۹	٦۷/۱±۱/۰٦
Total PUFA	٦/۹±۱/٤٥	۸/۸±۰/۱۷	۱۰/٦±۰/۳٥	۱٤/۰±۰/۹٦
Total TFA	۸/٥±۰/۸٥	۸/۲٦±۰/٦۷	٥/٥±۰/٦۸	۲/۱±۰/۲
P:S	۰/۱۱±۰/۰۲	۰/۱٥±۰/۰٤	۰/٦±۰/۰٤	۰/۹۲±۰/۰۱۷
(m+P):S	۰/٥۷±۰/۰۳	۰/٥۳±۰/۰۸	٤/۳٥±۰/۱۱	٥/۲±۰/۲۳

SFA: Saturated fatty acid-MUFA:Monounsaturated fatty acids- PUFA: Polyunsaturated fatty acids-TFA: Trans fatty acid-P:S:PUFA:SFA; (m+p):S, (MUFA+PUFA) :SFA

داده ها بر اساس "انحراف معیار±میانگین" می باشد.

بحث:

بیماری های قلبی عروقی از علل شایع مرگ و میر و از کار افتادگی است که با ایجاد آترواسکلروز در عروق کرونر و پیشرفت آن بوجود می آید. از جمله عواملی که می تـواند پیشـــرفت آن را سرعت بخشـد،

اکسید شدن LDL-C و افزایش لیپوپروتئین های غنی از تری گلیسیرید می‌باشد (۲۲). هر تغییر شرایطی که به نحوی بتواند موجب کاهش سطح کلسترول، تری گلیسیرید و ذرات غنی از تری گلیسیرید پلاسما شود یا از اکسیداسیون LDL-C جلوگیری کند، می‌تواند در کنـــد کردن سیـــر پیشرفت آترواسکلروز و جلوگیری از بیماری های قلبی عروقی نقش داشته باشد. مطالعات نشان می دهـــد LDL-C غنی از اولئیک اسیـــد باعث مقاومت LDL-C در مقابل اکسیداسیون می‌شود (۲۳،۱۹،۱۸) و در نتیجـــه از تشکیل پـــلاک های آترواسکلروتیک جلوگیری به عمل می آورد. در نواحی مدیترانه ای که مصرف مواد غذایی غنی از اولئیک اسید (مانند روغن زیتون) بالاست، شیوع بیماری های قلبی عروقی کاهش چشمگیری دارد (۲۴).

چنانچه در این مطالعه نشان داده شده، روغن زیتون حاوی مقادیر بسیار بالایی از اولئیک اسید می باشد و میزان اسیدهای چرب اشباع آن کمتر از روغن حیوانی است که در مطالعات دیگر نیز به این موضوع اشاره شده است (۱۴). تصفیه در روغن های گیاهی شامل مراحل صمغ زدایی، خنثی سازی، سفید کردن و بوزدایی می باشد (۲۵). استفاده از دمای بالا در مرحله بوزدایی روغن های گیاهی یک فاکتور مهم در ایجاد و افزایش سطح اسیدهای چرب ترانس در این روغن ها می باشد (۲۶). روغن های زیتون مورد بررسی نیز حاوی مقادیری از اسید چرب ترانس بودند.

روغن های حیوانی مورد بررسی حاوی میزان بالایی از اسیدهای چرب اشباع بودند که در مطالعات قبلی نیز میزان اسیدهای چرب اشباع در روغن حیوانی حدود ۵۹ درصد برآورد گردیده است (۲۷). از میان اسیدهای چرب اشباع، لوریک اسید (C۱۲:۰)، میریسیک اسید (C۱۴:۰) و پالمیتیک اسید (C۱۶:۰) باعث افزایش سطح کلسترول پلاسما می گردد (۱۷). بالا بودن سطح کلسترول ســـرم یک ریسک فاکتور برای بیماری های قلبی- عروقی محسوب می شود. روغن های حیوانی مورد بررسی حاوی مقادیر قابل توجهی اسیدهای چرب زنجیر کوتاه می باشند، اسیدهای چرب زنجیر کوتاه به همراه دو اسید چرب اشباع لوریک اسید و میریسیک اسید به عنوان عامل هایپرکلسترولمیک محسوب می‌گردند (۲۸). از میان اسیدهای چرب اشباع، میریسیک اسید دارای بیشترین پتانسیل در افزایش سطح کلسترول سرم انسان می باشد (۲۹). روغن حیوانی همچنین به علت پایین بودن نسبت P:S و (m+P):S، باعث افزایش سطح کلسترول خون می گردد (۳۰). در مطالعه انجام شده نیز، نسبت P:S و (m+P):S در روغن های حیوانی در مقایسه با روغن زیتون پایین تر می باشد.

طبق نتایج FDA، میزان اسیدهای چرب ترانس در روغن حیوانی حدود صفر می باشد (۲۰)، ولی در این مطالعه مشخص گردید که روغن حیوانی حاوی مقادیر قابل توجهی از اسیدهای چرب ترانس می باشد.

اگرچه شواهدی مبنی بر اثرات مفید اسیدهای چرب ترانس بدست آمده از نشخوارکنندگان بر سلامتی وجود دارد، اما به دلیل اینکه روغن حیوانی علاوه بر اسید چرب ترانس حاوی مقادیر بالایی از اسید چرب اشباع می‌باشد، مصرف بیش از حد آن توصیه نمی‌گردد (۳۱). انجام مطالعات دیگر به منظور اثرات روغن های حیوانی بر سلامتی افراد پیشنهاد می گردد.

نتیجه گیری:

روغن حیوانی در مقایسه با روغن زیتون میزان بالایی از اسیدهای چرب اشباع شامل اسیدهای چرب کوتاه زنجیر می‌باشد.

تشکر و قدردانی:

این تحقیق (قسمتی از طرح تحقیقاتی شماره ۸۵۱۱۵ و بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد) با حمایت مالی مرکز تحقیقات قلب و عروق دانشگاه علوم پزشکی اصفهان انجام گردید و مولفین مراتب تقدیر و تشکر خود را از این مرکز اعلام می‌دارند.

منابع:

1. Matthan NR, Welty FK, Barrett PH, Harausz C, Dolnikowski GG, Parks JS, et al. Dietary hydrogenated fat increases high-density lipoprotein apoA-I catabolism and decreases low-density lipoprotein apoB-100 catabolism in hypercholesterolemic women. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2004 Jun; 24(6): 1092-7.

2. Mensink RP, Zock PL, Kester AD, Katan MB. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on serum lipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. Am J Clin Nutr. 2003 May; 77(5): 1146-55.

3. Dashti N, Feng Q, Freeman MR, Gandhi M, Franklin FA. Trans polyunsaturated fatty acids have more adverse effects than saturated fatty acids on the concentration and composition of lipoproteins secreted by human hepatoma HepG2 cells. J Nutr. 2002 Sep; 132(9): 2651-9.

4. Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease-epidemiological data. Atheroscler Suppl. 2006 May; 7(2): 5-8.

5. Mensink RP, Katan MB. Effect of dietary trans fatty acids on high-density and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy subjects. N Engl J Med. 1990 Aug; 323(7): 439-45.

6. Olendzki B, Speed C, Domino FJ. Disease. Nutritional assessment and counseling for prevention and treatment of cardiovascular. Am Fam Physician. 2006 Jan; 73(2): 257-64.

7. Lopez-Garcia E, Schulze MB, Meigs JB, Manson JE, Rifai N, Stampfer MJ, et al. Consumption of trans fatty acids is related to plasma biomarkers of inflammation and endothelial dysfunction. J Nutr. 2005 Mar; 135(3): 562-6.

8. Moens AL, Goovaerts I, Claeys MJ, Vrints CJ. Flow-mediated vasodilation: a diagnostic instrument, or an experimental tool? Chest. 2005 Jun; 127(6): 2254-63.

9. Slattery ML, Benson J, Ma KN, Schaffer D, Potter JD. Trans-fatty acids and colon cancer. Nutr Cancer. 2001; 39(2): 170-5.

10. Mozaffarian D, Katan MB, Ascherio A, Stampfer MJ, Willett WC. Trans fatty acids and cardiovascular disease. N Engl J Med. 2006 Apr; 354(15): 1601-13.

11. FDA (Food and Drug Administration, Center for food safety and applied nutrition). Trans fat now with saturated fat and cholesterol on nutrition facts panel, 2006.

12. De La Torre A, Gruffat D, Durand D, Micol D, Peyron A, Scislowski V, et al. Factors influencing proportion and composition of CLA in beef. Meat Sci. 2006; 73(2): 258-68.

13. Giugliano D, Ceriello A, Esposito K. The effects of diet on inflammation: emphasis on the metabolic syndrome. J Am Coll Cardiol. 2006 Aug; 48(4): 677-85.

14. Owen RW, Giacosa A, Hull WE, Haubner R, Spiegelhalder B, Bartsch H. The antioxidant/anticancer potential of phenolic compounds isolated from olive oil. Eur J Cancer. 2000 Jun; 36(10): 1235-47.

15. Ghafoorunissa G. Role of trans fatty acids in health and challenges to their reduction in Indian foods. Asia Pac J Clin Nutr. 2008; 17(Suppl 1): 212-5.

16. Achaya KT. Fat status of Indians-a review. J Sci Ind Res. 1987; 46(3): 112-26.

17. Fernandez ML, West KL. Mechanisms by which dietary fatty acids modulate plasma lipids. J Nutr. 2005 Sep; 135(9): 2075-8.

18. Parthasarathy S, Khoo JC, Miller E, Barnett J, Witztum JL, Steinberg D. Low density lipoprotein rich in oleic acid is protected against oxidative modification: implications for dietary prevention of atherosclerosis. Proc Natl Acad Sci USA.. 1990 May; 87(10): 3894-8.

19. Noseda G. Fats and oils (including omega3, omega6). Ther Umsch. 2005 Sep; 62(9): 625-8.

20. AOCS Official Method Ce. Preparations of methyl esters of fatty acids. 1997; 2-66.

21. Vorbeck,ML, Mattick LR, Lee FA, Pederson CS. Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids for Gas-Liquid Chromatography. Quantitative Comparison of Methylation Techniques .Anal. Chem. 1961; 33(11): 1512-14.

22. Hodson L, Skeaff CM, Chisholm WA. The effect of replacing dietary saturated fat with polyunsaturated or monounsaturated fat on plasma lipids in free-living young adults. Eur J Clin Nutr. 2001 Oct; 55(10): 908-15.

23. Kromhout D, Menotti A, Kesteloot H, Sans S. Prevention of coronary heart disease by diet and lifestyle: evidence from prospective cross-cultural, cohort, and intervention studies. Circulation. 2002 Feb; 105(7): 893-8.

24. Grundy SM. The role of cholesterol management in coronary disease risk reduction in elderly patients. Endocrinol Metab Clin North Am. 1998 Sep; 27(3): 655-75.

25. Serra-Majem L, de la Cruz JN, Ribas L, Salleras L. Mediterranean diet and health: is all the secret in olive oil? Pathophysiol Haemost Thromb. 2003 Sep-2004 Dec; 33(5-6): 461-5.

26. Lambelet P, Grandgirard A, Gregoire S, Juaneda P, Sebedio JL, Bertoli C. Formation of modified fatty acids and oxyphytosterols during refining of low erucic acid rapeseed oil. J Agric Food Chem. 2003 Jul; 51(15): 4284-90.

27. Martin CA, Milinsk MC, Visentainer JV, Matsushita M, de-Souza NE. Trans fatty acid-forming processes in foods: a review. An Acad Bras Cienc. 2007 Jun; 79(2): 343-50.

28. Berner LA. Roundtable discussion on milk fat, dairy foods, and coronary heart disease risk. J Nutr. 1993 Jun; 123(6): 1175-84.

29. Elson CE. Tropical oils: nutritional and scientific issues. Critical Reviews. Food Sci. Nutr. 1992; 31: 79-102.

30. Hajri T, Khosla P, Pronczuk A, Hayes KC. Myristic acid-rich fat raises plasma LDL by stimulating LDL production without affecting fractional clearance in gerbils fed a cholesterol-free diet. J Nutr. 1998 Mar; 128(3): 477-84.

31. Rawashdeh AYA. Influences of olive oil and ghee (samen balady) on serum cholesterol of Jordanians. Paki J Nutr. 2002; 1 (6): 270-5.

32. Gebauer SK, Psota TL, Kris-Etherton PM. The diversity of health effects of individual trans fatty acid isomers. Lipids. 2007 Sep; 42(9): 787-99.