

## جداسازی محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول‌ها در روغن‌های گیاهی با کروماتوگرافی ستونی

بهرام فتحی آچالوئی<sup>۱\*</sup>، صدیف آزادمرد دمیرچی<sup>۲</sup>، رضا سید شریفی<sup>۱</sup> و سید حسین جلالی<sup>۲</sup>

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۱۱

۱- مربی دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

۲- به ترتیب استادیار و مربی گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز

E-mail: bahram1356@yahoo.com

\*مسئول مکاتبه

### چکیده

یکی از مهمترین مراحل در تعیین محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول‌ها (POPs) در مواد غذایی، غنی سازی و خالص سازی آنها با روش های مختلف قبل از آنالیز با کروماتوگرافی گازی (GC) یا کروماتوگرافی گازی - اسپکترومتری جرمی (GC-MS) است. در این مطالعه، روش کروماتوگرافی ستونی (SPE) (۱ گرم سیلیکا) جدیدی برای غنی سازی و جداسازی POPs، مناسب برای نمونه‌های روغن ترانس استریفیه شده ابداع شد. این روش بازیابی بالایی (۹۶-۸۸ درصد) برای محصولات اکسیداسیونی نشان داد. روش جدید برای نمونه های روغن زیتون، فندق و ذرت بکار برده شد و یازده محصول اکسیداسیونی شناسایی گردید که ذرت بیشترین مقدار (۲۴ppm) را داشت. در بین محصولات اکسیداسیونی نیز 6 $\beta$ -hydroxycampestanol و 6 $\beta$ -hydroxysitostanol بیشترین مقدار را در روغنهای آنالیز شده دارا بودند. همچنین روش جدید، ظرفیت نمونه ای بالا (تا ۱ گرم روغن) را داشت که برای محصولات غذایی با فیتواسترول بالا نیز کارایی دارد. روش معرفی شده در این تحقیق ساده و سریع می باشد که جداسازی و غنی سازی POPs را برای آنالیزهای بعدی با GC و GC-MS تسهیل می کند.

واژه‌های کلیدی: فیتواسترول‌ها، کروماتوگرافی گازی، کروماتوگرافی گازی - اسپکترومتری جرمی، محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول‌ها، SPE

## Separation of Phytosterol Oxidation Products in Vegetable Oils by Column Chromatography

B Fathi-Achachlouei<sup>1</sup>, S Azadmard-Damirchi<sup>2</sup>, R Seyedsharifi<sup>1</sup> and SH Jalali<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lecturer, Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

<sup>2</sup>Assistant Professor and Lecturer, Department of Food Science and Technology, University of Tabriz, Tabriz, Iran

\*Corresponding author: [E-mail:bahram1356@yahoo.com](mailto:E-mail:bahram1356@yahoo.com)

### Abstract

One of the most important steps to determine phytosterol oxidation products (POPs) in foods is their enrichment and purification with different methods before GC or GC-MS analysis. In this study, a new SPE method (1 g, silica) was developed to enrich and separate POPs from transesterified oils. This method showed high recovery (88- 96%) for oxidation products. New method was applied to olive, hazelnut and corn oils. Eleven oxidation products were characterized which corn oil had the highest amount (24 ppm). Among oxidation products in oils, 6 $\beta$ -hydroxysitostanol and 6 $\beta$ -hydroxycampestanol had the highest amounts. This new method had high sample capacity (up to 1 g oil) and could be also applied for food products with high phytosterol content. The new method developed in this study was simple and rapid, which simplifies separation and enrichment of POPs for further analysis by GC and GC-MS.

**Keywords:** Gas chromatography, Gas chromatography-mass spectrometry, Phytosterols, Phytosterol oxidation products, SPE

### مقدمه

ها (POPs)<sup>۱</sup> بر سلامتی انسان گزارش شده است (دوتا ۲۰۰۴). به همین دلیل تحقیقات زیادی در حال انجام است تا بتوان با روشی ساده و قابل اعتماد این مواد را در چربی‌ها و روغن‌های گیاهی و مواد غذایی حاوی روغن‌ها و چربیها اندازه گرفت (دوتا ۲۰۰۴ و آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۸).

فیتواسترول‌ها به مقدار کم در مواد غذایی وجود دارند. بنابراین محصولات اکسیداسیونی آنها نیز به مقداری کمتر در محصولات غذایی و روغن‌ها وجود دارند. به علت مقدار کم این محصولات، قبل از آنالیز کمی و کیفی با

فیتواسترول‌ها یکی از مهمترین ترکیبات موجود در مواد غیر قابل صابونی شونده چربیها و روغنهای خوراکی بوده و از لحاظ تغذیه‌ای و پایداری روغن‌ها و چربیهای خوراکی دارای اهمیت زیادی هستند. فیتواسترول‌ها در کاهش کلسترول تام و کاهش کلسترول لیپوپروتئین‌های کم دانسیته (LDL) سرم خون و بیماریهای قلبی عروقی در انسان نقش بسزایی دارند (مورا ۲۰۰۴). این ترکیبات نیز همانند سایر لیپیدهای غیر اشباع وقتی در معرض هوا، حرارت، نور و کاتالیزورهای شیمیایی قرار گیرند، می‌توانند اکسیده شوند. اخیراً گزارش‌هایی در مورد زیان‌های احتمالی محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول

<sup>1</sup>Phytosterols oxidation products

## مواد و روش ها

## نمونه‌های روغن

نمونه های روغن ذرت و زیتون از بازار تهیه شد. مغز فندق نیز از بازار تهیه و روغن آن با استفاده از روش آزادمرد دمیرچی و همکاران (۲۰۰۵) استخراج شد. به تیوب های استیلی حاوی ۱۰ گرم از مغز های خرد شده فندق، ۳۰ میلی لیتر محلول هگزان/ ایزوپروپانول (۳:۲،۷/۷) اضافه شد. ۴ عدد گلوله های استیلی نیز برای تسریع عمل هموژنیزاسیون به داخل تیوب انداخته شد. تیوب های استیلی در درجه حرارت اتاق برای یک ساعت تحت تکان شدید قرار گرفتند. سپس محتوی تیوب با استفاده از قیف بوختر و کاغذ صافی واتمن شماره ۴ صاف شدند. تفاله باقیمانده دو بار با ۲۰ ml از همان محلول شسته شدند، سپس ۲۵ ml محلول سولفات سدیم ۶/۷% به محلول صاف شده اضافه شد تا آب احتمالی جداسازی شود. با استفاده از قیف جدا کننده لایه حاوی حلال و روغن جدا شده و در دستگاه تبخیر گردان تحت فشار کاهش یافته در ۴۰°C تبخیر شد. روغن های استخراج شده برای استفاده در مراحل بعدی آنالیز در ۲۰°C - نگه داری شدند.

## ترانس استریفیکاسیون نمونه‌های روغن

ترانس استریفیکاسیون نمونه‌های روغن قبل از SPE طبق روش اسپچمار و همکاران (۱۹۹۶) انجام گرفت. مقدار ۲۵۰ میلی گرم روغن در ۲/۵ میلی لیتر متیلات سدیم (۱۰ درصد در متانول) رقیق شده با تری- بوتیل متیل اتر (MTBE) (۴:۶ v/v) حل شد و به خوبی مخلوط گشت. مخلوط به مدت نیم ساعت در دمای اتاق نگهداری شد بعد باز به خوبی بهم‌زده شد و برای بار دوم به مدت نیم ساعت نگهداری گردید تا واکنش ترانس استریفیکاسیون کامل شود. سپس ۲ میلی لیتر آب و ۵ میلی لیتر کلروفرم به مخلوط اضافه شد و به خوبی بهم‌زده شد و در ۲۰۰۰ rpm بمدت ۲ دقیقه سانتریفوژ

کروماتوگرافی گازی (GC) یا کروماتوگرافی گازی- اسپکترومتری جرمی (GC-MS) لازم است بوسیله روشهای مناسب این مواد را از مواد غذایی جداسازی و غنی سازی کرد (دوتا ۲۰۰۴، آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۸). کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)، کروماتوگرافی لایه نازک (TLC) و SPE برای این منظور استفاده شده است (دوتا ۲۰۰۴). روش HPLC زمان زیادی می گیرد و حلال زیادی نیز مصرف می کند (دوتا ۲۰۰۴ و آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۶). با روش TLC نیز ممکن است تغییرات زیادی در POPs اتفاق بیافتد همچنین خطاهای احتمالی زیادی نیز می‌تواند بوجود آید (اسچمار و همکاران ۱۹۹۶). روش SPE سریع بوده و تماس محصولات اکسیداسیونی با هوا کمتر است و کارایی آن در جداسازی و غنی سازی فیتواسترول های اکسید نشده در روغن ها و چربی ها ثابت شده است (آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۶).

فیتواسترول ها در صورت همراه بودن با POPs در هنگام کروماتوگرافی گازی می‌توانند مشکل ساز باشند. این ترکیبات زمان ماندگاری<sup>۱</sup> یکسانی با بسیاری از POPs ها دارند و در اندازه گیری کمی و کیفی آنها با GC می‌توانند اخلال ایجاد کنند (دوتا ۲۰۰۲). بنابراین ضروری است که از روش های مناسبی استفاده شود تا فاز POPs تا حد امکان عاری از فیتواسترول ها گردد. روش های SPE زیادی گزارش شده است (بورتولوزمی و همکاران ۲۰۰۳، جانسون و دوتا ۲۰۰۶ و سوپاس و همکاران ۲۰۰۵) اما در تمام آنها مشکل شویس فیتواسترولها همراه با POPs وجود داشته است. در این مطالعه روش جدیدی برای اولین بار گزارش می شود که دارای مزیت سادگی و نیاز به وقت کم می باشد، همچنین هیچگونه فیتواسترولی با POPs شویس نمی‌شود و قابل استفاده با اندازه نمونه بالا و با مقدار فیتواسترول زیاد می‌باشد.

<sup>1</sup> Retention time

داخلی اضافه شد تا اندازه گیری کمی بر اساس آن انجام گیرد.

#### ارزیابی روش SPE بوسیله TLC

کارایی روش SPE برای جداسازی و غنی سازی POPs از نمونه های روغن بوسیله TLC طبق روش دوتا و اپل کوست ارزیابی شد (۱۹۹۷).

آماده سازی مشتقات تری متیل سیلیل (TMS) اتر POPs و COPS آماده سازی مشتقات TMS اتر قبل از آنالیز با GC و GC-MS طبق روش آزادمرد دمیرچی و همکاران انجام گرفت (۲۰۰۵).

#### آنالیز POPs بوسیله GC

آنالیزهای GC با دستگاه Vavian Star 3400 Cx انجام گرفت. در این دستگاه از آشکارگر یونش شعله ای و ستون DB5-MS (30 متر، ۱۸ میلی متر، ۱۸ میکرومتر) استفاده شد. دمای تزریق کننده و آشکارگر به ترتیب ۲۶۰ °C و ۳۱۰ °C بود. شرایط دمای اون ۶۰ °C بمدت ۱ دقیقه سپس افزایش با سرعت ۵۰ °C / min تا ۲۶۰ °C و ماندن بمدت ۵ دقیقه در این دما و مجدداً افزایش ۱ °C/min تا دمای نهایی ۲۸۰ °C و ماندن بمدت ۱۰ دقیقه بود. هلیم نیز به عنوان گاز حامل مورد استفاده قرار گرفت.

#### آنالیز POPs با GC-MS

برای شناسایی POPs، آنالیز GC-MS بوسیله گاز کروماتوگرافی Top 8000 GC همراه با اسپکترومتر جرمی Voyager انجام شد. ستون و شرایط آنالیز همانند شرایط توضیح داده شده برای GC بود. اسپکترومتر جرمی کامل در نوع یونش الکترونی مثبت (EI<sup>+</sup>) در انرژی الکترون ۷۰ eV و دمای منبع یون ۲۰۰ °C انجام گرفت. POPs بر اساس اسپکترومتری

گردید. سپس لایه آبی جدا و دور ریخته شد. برای خنثی سازی ۲ میلی لیتر اسید سیتریک (۱ درصد در آب) به فاز کلروفرمی باقیمانده اضافه شد و بعد از بهم زدن دوباره سانتریفوژ شد و فاز آبی جدا شد. فاز کلروفرم باقیمانده تحت جریان نیتروژن خشک شد و باقیمانده در ۱ میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر (۹:۱۷/۷) حل شد.

#### جداسازی و غنی سازی POPs بوسیله SPE

مقدار کمی سولفات سدیم روی SPE (۱ گرم سیلیکا) ریخته شد و سپس با ۵ میلی لیتر هگزان ستون شستشو داده شد. نمونه آماده سازی شده از مرحله ترانس استریفیکاسیون نیز بر ستون ریخته شد. ناخالصی ها و فیتواسترول های اکسید نشده به ترتیب با ۱۵ میلی لیتر و ۱۰ میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر با نسبت های ۱:۹ و ۱:۱ حجمی / حجمی شستشو و جدا سازی شد. در نهایت بخش POPs با ۱۰ میلی لیتر استون شویش و جمع آوری شد. مقدار ۲ میکروگرم ۵ آلفا - کلستن بعنوان استاندارد داخلی اضافه شد تا اندازه گیری کمی بر اساس آن انجام گیرد.

#### آزمایش بازیابی

آزمایش بازیابی محصولات اکسیداسیونی کلسترول (COPs)<sup>۱</sup> برای ارزیابی روش SPE انجام گرفت. محصولات اکسیداسیونی کلسترول عبارت بودند از:

Cholest-5-en-3 $\beta$ -ol-7-one

Cholestane-3 $\beta$ ,5 $\alpha$ ,6 $\beta$ -triol

5 $\alpha$ ,6 $\alpha$ -Epoxycholestan-3 $\beta$ -ol

5 $\beta$ ,6 $\beta$ -Epoxycholestan-3 $\beta$ -ol

Cholest-5-en-3 $\beta$ ,7 $\alpha$ -diol

هر یک از محصولات فوق به مقدار ۵ میکروگرم به روغن کلزا افزوده شدند. سپس روغن ترانس استریفیه شد و محصولات اکسیداسیونی با روش SPE توضیح داده شده در بالا جداسازی و COPs بازیابی گردیدند. مقدار ۲ میکروگرم ۵ آلفا - کلستن بعنوان استاندارد

<sup>۱</sup>Cholesterol oxidation products

برده شد (شکل ۱). میزان زیاد مواد با قطبیت کم همچون متیل استرهای اسیدهای چرب (FAMES) با ۱۵ میلی لیتر مخلوط هگزان: دی اتیل اتر (۱:۹ V/V) که دارای قطبیت کمتری است، شسته شد. سپس باقیمانده FAMES و مواد ناخالصی با قطبیت بیشتر و فیتواسترول های اکسید نشده با ۱۰ میلی لیتر مخلوط هگزان: دی اتیل اتر (۱:۱ V/V) که دارای قطبیت بیشتری است، شسته شد. سر انجام POPs با ۱۰ میلی لیتر استون جداسازی گردید. با توجه به اینکه SPE سیلیکا حتی به وجود مقدار خیلی کم رطوبت در نمونه ها حساس می باشد. بنابراین ضروری بود که از فاز ترانس استریفیه شده آب بطور کامل خارج شود لذا مقداری سولفات سدیم برای جذب آب احتمالی موجود در نمونه و جداسازی آن به روی SPE اضافه گردد تا خللی در آزمایش بوجود نیاید. کارایی روش SPE با TLC نیز کنترل شد. برای این منظور فازهای بدست آمده از روش SPE یعنی فاز ناخالصیها و POPs بر روی TLC بار گذاری شده اند. بعد از انجام TLC مشخص گردید که روش SPE قادر به جداسازی POPs از ناخالصی ها است (شکل ۲).

جرمی گزارش شده در مقالات چاپ شده شناسایی شدند (آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۸، جانسون و دوتا ۲۰۰۲، و لامبلیت و همکاران ۲۰۰۳).

## نتایج و بحث

اولین مرحله در تعیین POPs، ترانس استریفیکاسیون یا صابونی کردن سرد نمونه های روغن یا چربی می باشد. اسپمار و همکاران (۱۹۹۶) ترانس استریفیکاسیون را به جای صابونی کردن سرد قبل از جداسازی و غنی سازی محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها معرفی کردند. ترانس استریفیکاسیون وقت کمی را می گیرد (۶۰ دقیقه) و انجام آن آسان بوده و هیچ گونه ترکیبی در طول واکنش تشکیل نمی شود (اسپمار و همکاران ۱۹۹۶).

در روش معرفی شده در این تحقیق، بعد از ترانس استریفیکاسیون، مواد استخراج شده از مرحله ترانس استریفیکاسیون در ۱ میلی لیتر مخلوط هگزان و دی اتیل اتر (۱:۹ v/v) حل گردید و به ستون SPE که قبلاً با ۵ میلی لیتر هگزان شستشو داده شده بود، انتقال داده شد. با توجه به قطبیت محصولات غیر اکسیداسیونی و ناخالصی ها، مخلوط حلال های مختلف به ترتیب افزایش قطبیت برای جداسازی تمام ناخالصی ها از POPs بکار

روغن ترانس استریفیه حل شده در مخلوط ۱ میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر (۹:۱ v/v)

↓  
ستون SPE حاوی ۱ g سیلیکای شسته شده با ۵ میلی لیتر هگزان

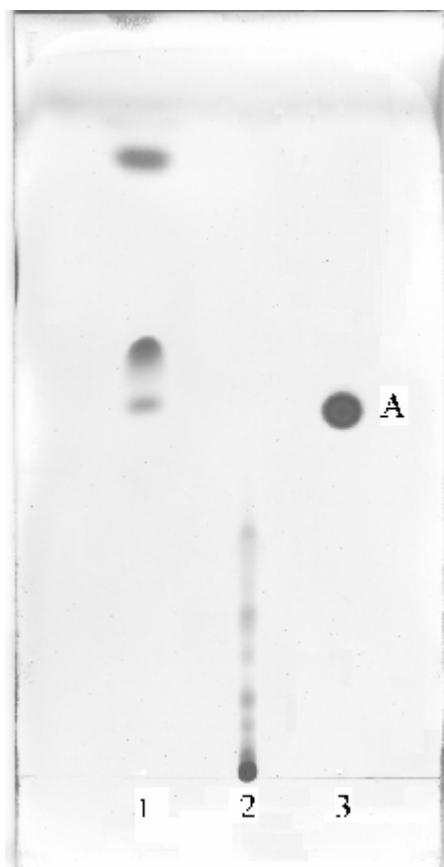
↓  
شستشو با مخلوط ۱۵ میلی لیتر هگزان: دی اتیل اتر (۹:۱ v/v)

↓  
شستشو با ۱۰ میلی لیتر مخلوط هگزان: دی اتیل اتر (۱:۱ v/v)

↓  
شستشو و جداسازی POPs با ۱۰ میلی لیتر استون

↓  
آماده سازی و آنالیز نمونه با GC و GC-MS

شکل ۱- مراحل مختلف روش SPE برای جداسازی و غنی سازی POPs



شکل 2- TLC بدست آمده از بار گذاری بخش های جمع شده از مراحل مختلف SPE . A: استاندارد فیتواسترول ها. 1. بخش ناخالصی ها 2. بخش محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها، 3. استاندارد فیتواسترول ها

مقایسه کرده اند و در یافتند که فرق معنی داری بین دو نوع SPE در بازیابی POPS وجود ندارد.

#### آزمایش بازیابی COPS با روش ابداعی

برای سنجش بازیابی کل روش برای POPS، روغن کلزا با COPS در مقدار ۵ میکروگرم تزریق گردید. سپس ترانس استریفیه انجام گرفته و بوسیله روش SPE معرفی شده COPS جداسازی شده و با GC آنالیز گردید. بدین علت از COPS استفاده شد چون POPS خالص در بازار وجود نداشت. همچنین انواع مختلف COPS مورد استفاده قرار گرفت تا ترکیبات با قطبیت زیاد و قطبیت بیشتر آزمایش شده باشد. محصولات اکسیداسیونی Keto-7 و مشتقات اپوکسی آنها کمتر از مشتقات دی هیدروکسی در ستون باقی می ماندند. نتایج نشان داد که این روش بازیابی بالایی در حد ۹۸ - ۸۸ درصد دارد (جدول ۱).

جداسازی POPS با استفاده از دو ستون SPE (۵۰۰ میلی گرمی، سیلیکا) قبلاً گزارش شده است که در آن آماده سازی نمونه ها بجای ترانس استریفیکاسیون با صابونی کردن روغن ها انجام گرفته است (دوتا و اپل کوست ۱۹۹۷). اخیراً روشی توسط بورتولومیزی و همکاران (۲۰۰۳) گزارش شده است که در آن با استفاده از SPE (۱ گرم، سیلیکا) توانستند POPS را از نمونه های صابونی شده جداسازی کنند. اما در این روش نیز مقداری از فیتواسترول های اکسید نشده به همراه POPS جداسازی شده است. باید ذکر شود که در آن روش ناخالصی ها و فیتواسترول های اکسید نشده فقط با ۱۰ میلی لیتر مخلوط هگزان : دی اتیل اتر (۱:۱) شستشو شده اند که ممکن است این مقدار برای شستشوی کامل فیتواسترول های اکسید نشده و ناخالصی ها کافی نبوده باشد. همچنین بورتولومیزی و همکاران (۲۰۰۳) SPE آمونیا و سیلیکا را با همدیگر

جدول 1- درصد بازیابی محصولات اکسیداسیونی کلسترول تزریق شده به نمونه های روغن کلزا با روش SPE جدید

بازیابی (%)		زمان ماندگاری نسبی <sup>۱</sup>	محصولات اکسیداسیونی کلسترول
سطح (5µg)	سطح (10 µg)		
۹۰/۲ <sup>۲</sup>	۸۷/۵	۱/۱۷	Cholest-5-en-3β,7α-diol
۹۴/۰	۹۵/۸	۱/۶۲	5β,6β-Epoxycholestan-3β-ol
۸۸/۳	۸۹/۶	۱/۶۶	5α,6α-Epoxycholestan-3β-ol
۹۱/۴	۸۸/۴	۱/۷۰	Cholestane-3β,5α,6β-triol
۹۳/۶	۹۳/۵	۲/۰۵	Cholest-5-en-3β-ol-7-one

۱. زمان ماندگاری نسبی نسبت به استاندارد داخلی (5α-cholestane). ۲. تعیین شده در سه تکرار (%CV<5)

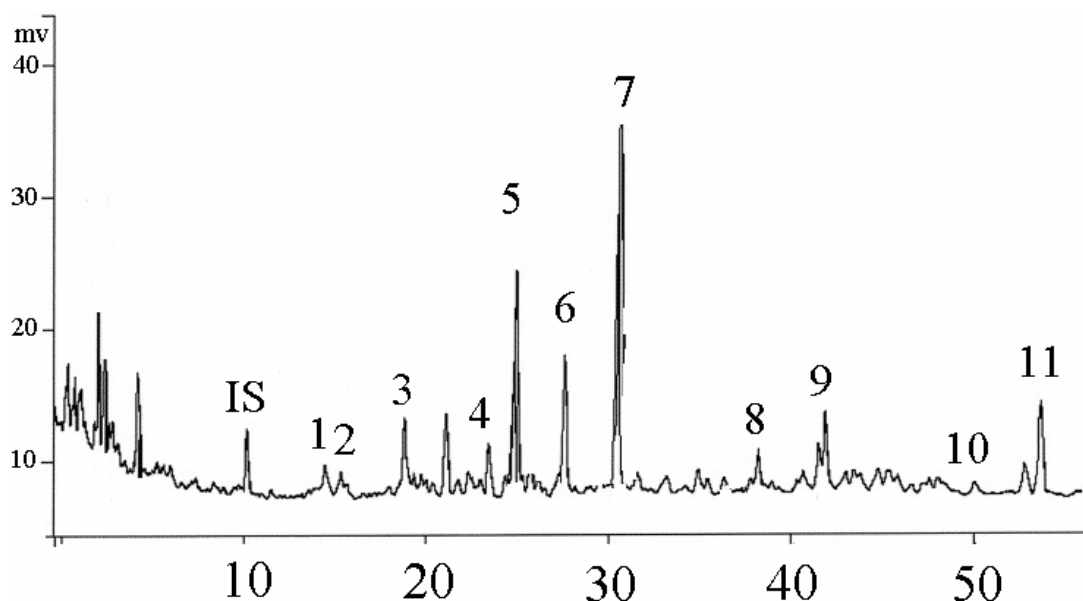
(جدول ۲) که علت آن به مقدار بالای فیتواسترول ها در روغن ذرت مربوط می باشد. اخیراً 6β-hydroxycampestanol و hydroxylsitostanol به مقدار زیادی در روغن کلزا گزارش شده است (لامبلیت و همکاران ۲۰۰۳). همچنین الگوی شکست آنها در اسپکترومتری جرمی نیز گزارش شده است (آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۸). مقدار بدست آمده در این تحقیق با مقادیر گزارش شده مطابقت دارد (آزادمرد دمیرچی و دوتا ۲۰۰۸).

مقدار POPS در روغن های ذرت، فندق، و زیتون روش جدید SPE معرفی شده در این تحقیق با روغن های مختلف آزمایش شده و POPS روغن های ذرت، فندق و زیتون با این روش خالص سازی و غنی سازی شد. با استفاده از GC-MS یازده POPS در روغن های آنالیز شده شناسایی شده اند (شکل ۳) که در بین آنها 6β-hydroxysitostanol بیشترین مقدار را داشت و بعد از آن به ترتیب 6β-hydroxycampestanol و Stigmastanetriol قرار داشتند. مقدار POPS در روغن ذرت در مقایسه با روغن های فندق و زیتون بالاتر بود

جدول 2- مقدار محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها (ppm) جداسازی و غنی سازی شده با روش SPE جدید در روغن های ذرت، فندق و زیتون<sup>۱</sup>

روغن زیتون	روغن فندق	روغن ذرت	محصولات اکسیداسیونی فیتواسترول ها
0/3	0/4	0/3	7α-Hydroxycampesterol
1/0	0/5	0/5	7α-Hydroxystigmasterol
0/7	0/8	0/9	7α-Hydroxysitosterol
0/4	2/5	0/5	7β-Hydroxysitosterol
4/1	3/0	5/2	6β-hydroxycampestanol
2/0	1/0	2/5	24-hydroxysitosterol
6/0	3/2	10/2	6β-hydroxysitostanol
5/0	2/0	1/0	Stigmastanetriol
1/0	1/2	0/6	Sitostanetriol
0/3	0/9	0/3	7-Ketostigmasterol
1/5	1/1	2/0	7-Ketositosterol
22/3	16/6	24/0	مقدار کل

۱. تعیین شده در سه تکرار (%CV<5)



شکل 3- کروماتوگرام آنالیز محصولات اکسیداسیونی فیتو استرول ها بوسیله GC

Hydroxycampesterol; 2, 7 $\alpha$ -Hydroxystigmasterol; 3, 7 $\alpha$ -Hydroxysitosterol; 4, 7 $\beta$ -hydroxysitosterol; 5, 6 $\beta$ -hydroxycapestanol; 6, 6 $\beta$ -hydroxysitostanol; 7, 24-hydroxysitosterol; 8, Stigmastanetriol; 9, Sitostanetriol; 10, 7-Ketostigmasterol; 11, 7-Ketositosterol

(دوتا ۲۰۰۲) کمک شایانی می‌کند. با توجه به اینکه POPs بر سلامتی اثر سوء دارد (دوتا ۲۰۰۴). بنابراین پیشنهاد می‌شود بعنوان فاکتور کنترل کیفی محصولات حاوی مقادیر زیاد روغن یا روغن‌های مورد استفاده در کارخانجات فرآوری مواد غذایی در نظر گرفته شود.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می‌دهد که روش معرفی شده در این تحقیق، ساده و دارای مراحل کوتاهتری است و همچنین حلال کمی نیاز دارد و برای خالص سازی POPs در روغن‌های مختلف قابل استفاده است. بنابراین در اندازه گیری POPs در روغن‌های استخراجی از مواد غذایی دارای روغن زیاد و فرآوری شده در دمای بالا که امکان وجود POPs زیاد است

#### منابع مورد استفاده

- Azadmard-Damirchi S, Savage GP and Dutta PC, 2005. Sterol fractions in hazelnut and virgin olive oils and 4,4'-dimethylsterols as possible markers for detection of adulteration of virgin olive oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 82: 717-725.
- Azadmard Damirchi S and Dutta PC, 2006. Novel solid-phase extraction method to separate 4-desmethyl-, 4-monomethyl-, and 4,4'-dimethylsterols in vegetable oils. *Journal of Chromatography A.* 1108: 183-187.
- Azadmard-Damirchi S and Dutta PC, 2006. Rapid separation of methylsterols from vegetable oils by solid-phase extraction. *Lipid Technology.* 18: 231-234.



- Azadmard-Damirchi S and Dutta PC, 2007. Free and esterified 4,4'-dimethylsterols in hazelnut oil and their retention during refining processes. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 84, 297-304.
- Azadmard-Damirchi S and Dutta PC, 2008. Stability of minor lipid components with emphasis on phytosterols during chemical interesterification of a blend of refined olive oil and palm stearin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 85, 13-21.
- Bortolomeazzi R, Cordaro F, Pizzale L and Conte LS, 2003. Presence of phytosterol oxides in crude vegetable oils and their fate during refining. *J. Agric. Food Chem.* 51:2394–2401
- Dutta PC, 2002. Determination of phytosterol oxidation products in foods and biological samples. Pp 335–374. In: Guardiola F, Dutta PC, Codony R, Savage GP (eds) *Cholesterol and phytosterol oxidation products: analysis, occurrence, and biological effects*. AOCS, Champaign.
- Dutta PC, 2004. Chemistry, analysis, and occurrence of phytosterol oxidation products in foods. Pp 397–418. In: Dutta PC (ed) *Phytosterols as functional food components and nutraceuticals*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Dutta PC and Appelqvist LA, 1997. Studies on phytosterols oxides. I: effect of storage on the content in potato chips prepared in different vegetable oils. *J Am Oil Chem Soc* 74:647–657.
- Johnsson L and Dutta PC, 2003. Characterization of side-chain oxidation products of sitosterol and campesterol by chromatographic and spectroscopic methods. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 80:767–776
- Johnsson L and Dutta PC, 2006. Determination of phytosterol oxides in some food products by using an optimized transesterification method. *Food Chem* 97:606–613.
- Lambelet P, Grandgirard A, Gregoire S, Juaneda P, Sebedio JL and Bertoli C, 2003. Formation of modified fatty acids and oxyphytosterols during refining of low erucic acid rapeseed oil. *J. Agric. Food Chem.* 51:4284–4290.
- Moreau RA, 2004. Plant sterols in functional foods. Pp. 317–346. In: Dutta PC (ed) *Phytosterols as functional food components and nutraceuticals*. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Schmarr HG, Gross HB and Shibamoto T, 1996. Analysis of polar cholesterol oxidation products: evaluation of a new method involving transesterification, solid phase extraction and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.* 44:512–517.
- Soupas L, Huikko L, Lampi AM and Piironen V, 2005. Esterification affects phytosterol oxidation. *Eur J Lipid Sci Technol* 107:107–118.
- Tabee E, Azadmard-Damirchi S, Jagerstada M and Dutta PC, 2008. Lipids and phytosterol oxidation in commercial French fries commonly consumed in Sweden. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 169-177.