تعیین مقدار روغن و انواع اسیدهای چرب موجود در روغن شاهدانه مناطق متفاوت ایران

مریم وصولی پور، حمید مدرس*+

تهران، دانشگاه صنعتی امیرکبیر ، دانشکده مهندسی شیمی، صندوق پستی ۴۴۱۳-۱۵۸۷۵

محسن محسن نیا

کاشان، دانشگاه کاشان، دانشکده علوم

چکیده: *روغن شاهدانه به علت کاربردها و ارزش‌های رو به رشد غذایی، دارویی و صنعتی همواره مورد توجه محققین قرار گرفته است. در این راستا ترکیب اسیدهای چرب موجود در روغن شاهدانه در نمونه هایی از مناطق متفاوت ایران (مشهد، شاهرود و تبریز) با شرایط آب و هوایی گوناگون تهیه شده و مورد آزمایش قرار گرفت. بر اساس نتیجه‌های حاصل، شاهدانه به طور متوسط دارای ۳۴ درصد وزنی روغن است.این روغن دارای انواع متفاوتی از اسیدهای چرب از جمله هگزادکانوئیک اسید، لینولئیک اسید، لینولنیک اسید، ایکوزا انوئیک اسید، ایکوزانوئیک اسید است. وجود لینولنیک اسید از امتیازات روغن شاهدانه به شمار می‌رود. تفاوت درشرایط آب وهوایی و نوع خاک از جمله عوامل موثر در متفاوت بودن ساختار اسیدهای چرب روغن های گیاهی شناخته شده است که درمورد روغن شاهدانه نیز این نتیجه مشهود بوده است.*

واژه های کلیدی: *شاهدانه ، محتوی روغن ، اسید چرب، دانه روغنی.*

J DX V NQCR9Gdl orddc +Nhkbnmsdms+E`ssx `blc +Nhkrddc-

مقدمه

با توجه به اهمیت اسیدهای چرب در صنایع داروسازی، غذایی و بهداشتی، روش‌های تهیه و تامین آن از منـابع طبیعی و سنتزی دارای اهمیت است. از جمله این روش‌هـا دستیابی بـه منابع گیاهی است که بـه علت فقدان اطلاعات لازم و کافی در مـورد ساختـار شیمیایی و ترکیب‌های آنها کمتـر مـورد توجـه قرار گرفته‌اند [۱].

مطالعات انجام شده روی دسته ای از دانه های روغنی نشان می‌دهد که گروهی از آنها افزون بر میزان روغن قابل توجهی که دارند از لحاظ ترکیب اسیدهای چرب موجود در آنها نیز در سطح قابل قبولی قرار داشته و می توانند به عنوان روغن‌های خوراکی و صنعتی مورد استفاده قرارگیرند [۲].

اسیدهای چرب ضروری(۱)

اسیدهای چرب به طور گسترده‌ای در طبیعت و مواد محتوی چربی پراکنده‌اند. مهم‌ترین شاخص یک روغن خوراکی، محتوی اسید چرب و تنوع این اسیدها در روغن است. امروزه لینولنیک اسید (۱۸:۳n-۳) ولینو لئیک اسید (۱۸:۲n-۶) در گروه اسیدهای

*عهده‌دار مکاتبات　　+E-mail: hmodares@aut.ac.ir

(۱) Essentional Fatty Acid (EFA)

چرب ضروری خوراکی قرار گرفته‌اند. اسید چرب ضروری به دسته‌ای از اسیدهای چرب اطلاق می شود که بدن قادر به سنتز آنها نبوده و برای رشد سالم بدن باید به‌وسیله رژیم غذایی در اختیار فعالیت‌های متابولیکی بدن قرار گیرد. علایم ابتدایی ناشی از کمبود اسیدهای چرب ضروری (EFA) مانند بیماری‌های پوستی وکندی رشد به طور کامل بـا مصرف اسیدهای چرب ۶- ω قابل درمان اسـت. ایـن علایم مربوط بـه عملکرد بیولوژیکی اسیدهای گروه n-۶ است که عبارت‌انـد از: ۱- این اسیدها یک ترکیب ساختـاری مهم در سـرامیدهای[۱] پوستی می‌باشند ۲- آراشیدونیک اسیـد (۲۰:۴n-۶) مـاده اولیـه ایـکوزانـوئیـدهـای مـوجـود در هورمون‌های کنترل کننده فعالیت‌های فیزیولوژی و پاتوفیزیولوژی بـه شمار می‌روند. این فعالیت‌ها شامل کاهش تمایل پلاکت‌های خونی برای تجمع و تنظیم کننده غلظت الکترولیت کبد و فعالیت سلول‌های ایمنی بدن می‌شود. افزون بر نقش‌های مجزا و اختصاصی اسیدهای چرب ۳-ω این اسیدها می‌توانند جایگزینی برای اسیدهای n-۶ در بهبـود عـوارض ناشی از کمبود اسیدهای چرب ضروری (تأخیر رشد) در بدن باشند. مانند سایر اسیدهای چـرب هدف از رژیم غذایی دارای اسیدهای n-۳ تأمین انرژی و اتم‌های کربن لازم برای فعالیت‌های حیاتی است. در حقیقت ۱۸:۳n-۳ یکی از اسیدهای چربی است که به طور قابل ملاحظه‌ای برای تولید انرژی در بدن به کار برده می‌شود.

سیستم عصبی دومین ارگان از نظر محتوی چربی است به طوری‌که ۵۰ تا ۶۰ درصـد وزن خشک مغـز انسان بالغ را چربی تشکیل می‌دهد که ۳۵ درصـد آن اسیدهای چـرب غیراشباع چنـد پیوندی (PUFA) است [۳].

وجود لینولئیک اسید و آلفا لینولئیک اسید برای عملکرد طبیعی سلول‌ها و سنتز سایر اسیدهای چـرب غیراشباع آراشیدیک اسید (Arachidic aid) و ایکـوزانوئیـک اسیـد (Eicosanoic acid) و دوکزاهگزانوئیک اسید (Docosahexanoic acid) ضروری است، این اسیدها برای عملکرد سلول‌های عصبی مورد نیاز هستند. غلظت این اسیدهای چرب در غشاء مغز تحت تاثیر رژیم غذایی تغییر می‌کند. از جمله علل ظهور عـوارض و اختلالات ناشی از بیماری‌های آلزایمر و پارکینسون نیز در اثر کاهش اسیدهای چرب دسته n-۳ و n-۶ گزارش شده است، که رژیم غذایی با توازن مناسب از این اسیدها می‌تواند عوارض ناشی از این بیماری‌ها را به تعویق اندازد [۴].

جدول ۱ـ مقدار روغن در دانه های روغنی.

نوع فراورده	مقدار روغن (درصدوزنی)
آفتاب‌گردان	٪۵۵
کنجد	٪۵۱
کلزا	٪۳۹
پنبه‌دانه	٪۲۰-۲۵
بادام زمینی	۴۴
سویا	٪۲۰
جوانه گندم	٪۱۱
گردو	٪۶۴
ذرت	٪۴۷
هسته زیتون	٪۱۲
گوشت میوه زیتون	٪۵۲

اهمیت اقتصادی روغن‌ها در ایران

افزایش توسعه فن آوری روغن در جهان ، تاثیر بسیار زیادی در مصـرف روغـن کشورمان داشته بـه ویـژه که در ایـران الگوی مصرف چربی‌ها و روغن‌ها در۴۰ سال گذشته تغییر کرده است.

شرکت توسعه دانه‌های روغنی، مصرف سرانه روغن را در سال۱۳۴۳، ۲ کیلو گرم گزارش کرده، درحالی‌که این مقدار در سال ۱۳۵۶ به مرز ۹کیلوگرم رسیده است تا این‌که در سال ۱۳۵۹ با شروع جنگ تحمیلی و از بین رفتن مخازن روغـن خـام وارداتی در بنادر، مصرف این فراورده رو به کاهش گذاشت و به ۸/۸ کیلوگرم رسید.

دانه‌های روغنی متداول در ایـران حاوی ۱۱ تا ۶۴ درصد وزنی روغن می باشند که در جـدول ۱ میزان روغـن موجود دردانه های روغنی نشان داده شده است [۵]. درمیان دانه‌های روغنی یاد شده گیاه شاهدانه از جمع دانه‌هایی است که برخلاف شهرت جهانی و قدمت کشت طولانی آن در ایران، به عنوان یک منبع روغن خوراکی و صنعتی در کشورمان مـورد توجـه نبـوده است. این گیاه گیاهی یک‌ساله و علفی است کـه در طی قرن‌ها بـرای مصـارف غذایی و استفاده از فیبرها و روغن آن کشت می‌شود. کشت آن در کانادا از سال ۱۹۳۸ برای مصارف دارویی به دلیل وجود ترکیب شیمیایی ۹-δ تتراهیدروکانابینول (THC) متداول بوده است.

فروش جهانی شاهدانه سالانه مبلغی بالغ بر ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلیون دلار است که در آمریکای شمالی این رقم افزایشی معادل

(۱) Ceremides

بر ۸ تا ۱۰ دلار در سال را شامل می شود[۷].

شاهدانه افزون بر ارزش‌های غذایی، اثرهای مثبتی در کاهش فشار خون و پایین آمدن کلسترول دارد [۷و۸]. شاهدانه محتوی ۲۰ تا ۲۵ درصد پروتئین، ۲۰ تا ۳۰ درصد کربو هیدرات و ۲۲ تا ۳۵ درصد روغن است [۹و۱۰].

ازجمله استفاده‌های صنعتی می‌توان کاربرد در جوهر چاپگرها، پوشش برای جلوگیری از فساد چوب، شوینده‌ها و صابون‌ها اشاره کرد. این روغن به دلیل وجود گاما لینولئیک اسید قدرت نفوذ بالایی داشته و می‌تواند یکی از اجزای کرِم‌ها را تشکیل دهد. فیبرهای شاهدانه برای تهیه کاغذ، لباس و به طور کلی صنعت نساجی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶].

تاریخچه گیاه شاهدانه [۱۱]

کانابیس(۱) اسم قدیمی یونانی حشیش می‌باشد و شاهدانه نام فارسی این گیاه است. شاهدانه را در شمال کشور به صورت دیم می‌کارند، در مناطق سرد سیر در بهار و در مناطق گرمسیر هنگام پاییز کشت می‌شود [۱۲].

کشورهایی که بیش از همه کشت شاهدانه در آنها انجام می‌شود عبارت‌اند از: هند به‌ویژه شاهدانه از ناحیه بنگال آن دارای اثرهای فیزیولوژیکی بیشتری است، ترکستان، افغانستان، ایران، مصر، یونان، آفریقای جنوبی، آفریقای مرکزی غربی.

اسیدهای چرب در طی فعالیت آنزیم‌های سنتز کننده اسیدهای چرب درپلاستیدهای گیاهی سنتز می‌شوند. برای تولید استیل کوانزیم A که برای افزایش طول زنجیر آسیلی به‌کار می‌رود، متابولیت‌های ویژه‌ای از سیتوسول(۲) مورد نیاز است. استیل کوانزیم A(۳) یک تیواستر فعال دارای اهمیت بنیادی در سوخت و ساز و بیوسنتز است. استیل کوآنزیم A سوبسترای اصلی در چرخه سیتریک اسید بوده که در مسیر بیوسنتز اسیدهای چرب ازاستیل کوآنزیم A و مالونیل کوآنزیم A(۴) که از کربوکسیل دارشدن استیل کوآنزیم A پدید می‌آید نقش بنیادی دارد.

مطالعات سال‌های اخیر، استات را به عنوان ماده اولیه سنتز اسیدهای چرب در پلاستیدها معرفی می‌کند، ولی تحقیقات جدیدتری نیز وجود دارد که خلاف این مدعا را ثابت می‌کند. کلروپلاست‌ها، انرژی و ATP مورد نیاز برای تولید اسیدهای چرب را با به دام انداختن انرژی نورانی در طی واکنش‌های فتوسنتزی انتقال اکترون تأمین می‌کنند.

یکی از حد واسطهای تولید اسیدهای چرب در گیاهان مالونیل کوآنریم A است که یک تیواستر طبیعی با واکنش پذیری زیاد بوده، که در بیوسنتز اسیدهای چرب نقش افزاینده طول زنجیر را دارد که تحت تاثیر استیل کربوکسیلاز کوانزیم A(۵) (ACCase) در طی واکنش‌های وابسته به ATP از استیل کوانزیم A تولید می‌شود. مطالعات انجام شده در رابطه با نقش این آنزیم در فرایند سنتز اسیدها و ذخیره روغن در قسمت‌های متفاوت گیاه نشان دهنده این است که حد واسطهای تولیدی طی انتقال از روشنایی به تاریکی با تغییر میزان این آنزیم در اجزای متفاوت گیاه، تغییر کرده و باعث متفاوت بودن ساختار این اسیدها در گیاهان می‌شود [۱۳]. ترکیب این اسیدها در گیاهان متفاوت حتی در قسمت‌های متفاوت یک گیاه در شرایط اقلیمی و زراعی گوناگون متفاوت است. با توجه به انتشار جغرافیایی گیاه شاهدانه در ایران سعی بر این بوده که در جهت دستیابی به منابع جدید از روغن‌های خوراکی و صنعتی افزون‌بر شناسایی انواع اسیدهای موجود در روغن شاهدانه ایران نسبت به تعیین این اسیدها اقدام شود. بدین منظور نمونه شاهدانه از سه منطقه مشهد، شاهرود، و تبریز تهیه شده و مورد آزمایش قرارگرفته است.

بخش تجربی

از جمله پارامترهای موثر در بازده استخراج روغن مدت زمان استخراج روغن است. تعیین دقیق ترکیب ساختار اسیدهای چرب نمونه روغن نیازمند حصول اطمینان از استخراج کامل روغن است، به این علت بهینه‌سازی استخراج روغن برای دستیابی به حداکثر روغن اسیدهای چرب موجود در روغن شاهدانه سه منطقه ایران در مدت زمان‌های متفاوت انجام شده است. زمان بهینه استخراج ، در مدت زمان‌های متفاوت در شرایط ثابت آزمایشگاهی (حلال ، دما و تعداد دور چرخش حلال در سیستم) در نمونه‌های متفاوت موجود انجام شد که نتیجه‌های حاصل در شکل ۱ ارایه شده است. با توجه به تغییرهای میزان استخراج نسبت به زمان، زمان بهینه برای استخراج حداکثر روغن با حلال هگزان هشت ساعت تعیین شد. با توجه به شاخص‌های موجود در انتخاب حلال از جمله:

(۱) Cannabis Sativa L.
(۲) Cytosol
(۳) Acetyl-CoA
(٤) Molonyl-CoA
(۵) CoA Carboxylase-Acrtyl

۱- ظرفیت استخراج حلال، ۲- اثر حلال بر ویژگی‌های روغن، ۳- ایمنی فرایند، ۴- فراریت حلال و پایداری آن، ۵- اقتصادی بودن [۱۴]، ۶- سمی بودن حلال [۱۵].

روغن با استفاده از دستگاه استخراج سوکسله (Soxhlet extractor) با ظرفیت ۱۰۰سی‌سی از حلال و تحت سیستم رفلاکس و حلال هگزان، استخراج شده و مقدار روغن به صورت گراویمتری (کاهش وزن نمونه) محاسبه می‌شود. فرایند استخراج روغن، برای هر نمونه دو بار تکرار شده و متوسط مقدار حاصل به صورت درصد وزنی نمونه پودر شده در شکل ۲ ارایه شده است [۱۶].

کاربرد گاز کروماتوگرافی به تنهایی و یا دستگاه ترکیبی شامل گاز کروماتوگراف و طیف‌سنج جرمی (GC-Mass) برای تعیین ترکیب اسیدهای چرب موجود در چربی‌ها و مواد بیولوژیکی در آزمایشگاه‌ها و مراکز علمی و صنعتی متداول می‌باشد. به‌علت فراریت کم و تفاوت ناچیز موجود بین فراریت اسیدهای چرب موجود در روغن‌ها، این اسیدها باید به مشتق استری مربوط تبدیل شوند [۱۹-۱۷]. تهیه مشتق استری اسیدهای چرب در مجاورت کاتالیزور و در محلول متانولی صورت می‌گیرد. کاتالیزورهای اسیدی متداول عبارتند از: BF_3، HCl، H_2SO_4 کاتالیزورهای قلیایی شامل $NaOCH_3$، KOH، NaOH می‌شود.

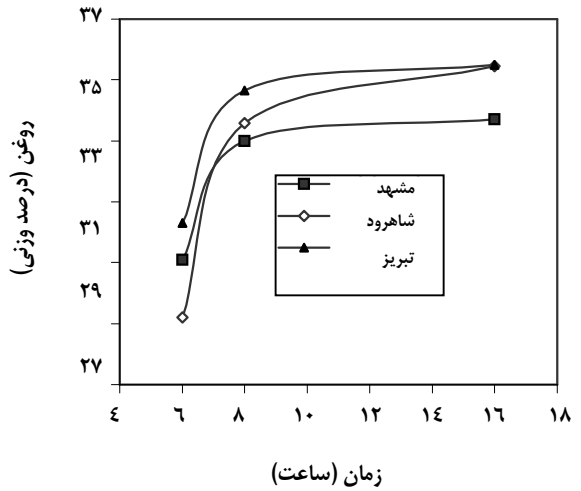
به دلیل کارایی بیشتر BF_3 در استری کردن (واکنش۲) نسبت به ترانس استری کردن (واکنش۱) وجود یک مرحله آب‌کافت قلیایی همراه با استری شدن در مجاورت BF_3 ضروری است [۲۰].

$$\text{R'-CO-OR''} + \text{R-OH} \xrightleftharpoons{H^+,\ ^-OCH} \text{R'-CO-OR} + \text{R''-OH} \qquad (۱)$$

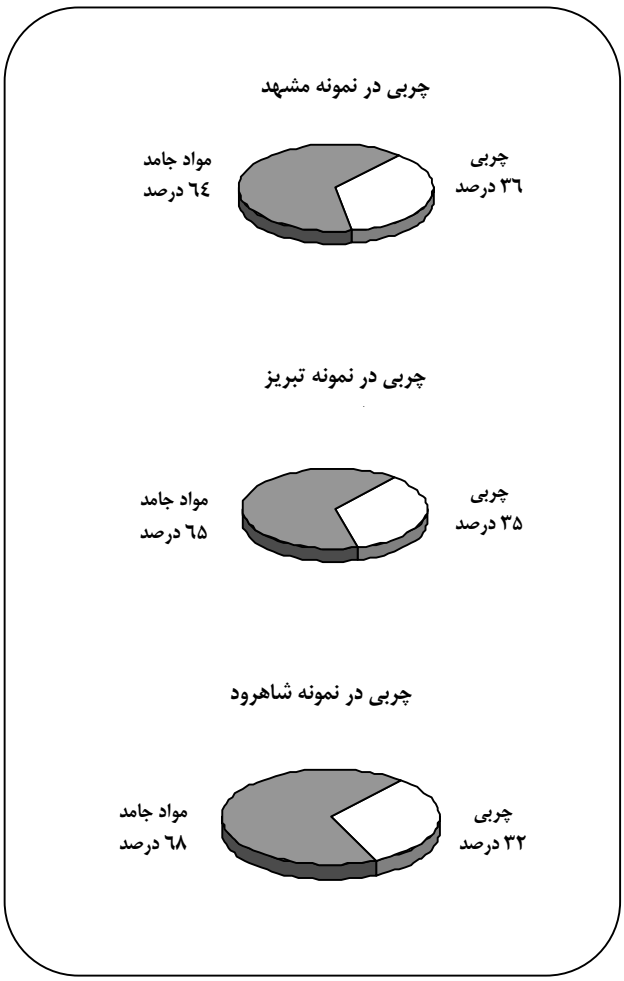
$$\text{R'-CO-OH} + \text{R-OH} \xrightleftharpoons{H^+} \text{R'-CO-OR} + \text{HOH} \qquad (۲)$$

گستره غلظتی BF_3، ۶ تا ۱۴ درصد و دمای واکنش ۸۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد است. از مزایای استفاده از BF_3، عدم تولید آب در طی انجام واکنش و حساسیت پایین آن نسبت به وجود آب در محیط است. به دلیل این‌که درخصوص نمونه‌های شاهدانه، به‌دست آوردن تجزیه دقیقی از اسیدهای چرب مد نظر بوده، برای تهیه مشتق استری اسیدهای چرب موجود در روغن استخراج شده، مشتق‌سازی در مجاورت BF_3 متانولی که فرایندی با کارایی بالا و مزاحمت‌های محیطی حداقل می‌باشد در نظر گرفته شده است.

مرحله آب‌کافت قلیایی در مجاورت محلول ۰/۵N سود متانولی و سپس محلول ۱۴ درصد BF_3 در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد (در حمام بخار آب) صورت گرفت [۲۱]. تجزیه مخلوط استری به‌دست



شکل ۱- تعیین زمان بهینه استخراج لیپید در شاهدانه به‌وسیله دستگاه سوکسله.



شکل۲- چربی در نمونه های مشهد، تبریز، شاهرود (درصد وزنی).

جدول ۲ـ شرایط عملیاتی دستگاه GC-MASS مدل Hewlet Packard 6890.

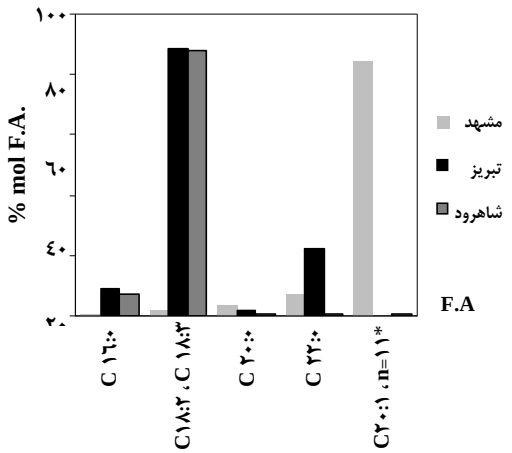
Bnkt l m	GOOg`rrdr+GOL R' mnmonk`q(
B`qhdqf`r	Gdkkt l
Eknv q`sd	۰/۸۵ ml/min
Nudmsdl odq`st qd	۵ °C / min ۶۰ °C ⟶ ۲۵۰ °C

جدول ۳ـ توزیع اسیدهای چرب مناطق سه گانه.

نوع اسید	توزیع جغرافیایی (درصد مول)		
	مشهد	تبریز	شاهرود
هگزادکانوئیک اسید	۰/۵۶	۸/۸۲	۷/۰۱
لینولئیک ولینولنیک اسید	۱/۹	۸۸/۶۶	۸۸/۰۵
آراشیدیک اسید	۳/۳۹	۲/۰۵	۰/۶۴
بهنیک اسید	۷/۱۴	۲۲/۱۲	۰/۳۱
۱۱- ایکوزانوئیک اسید	۸۴/۰۷	,	۰/۸

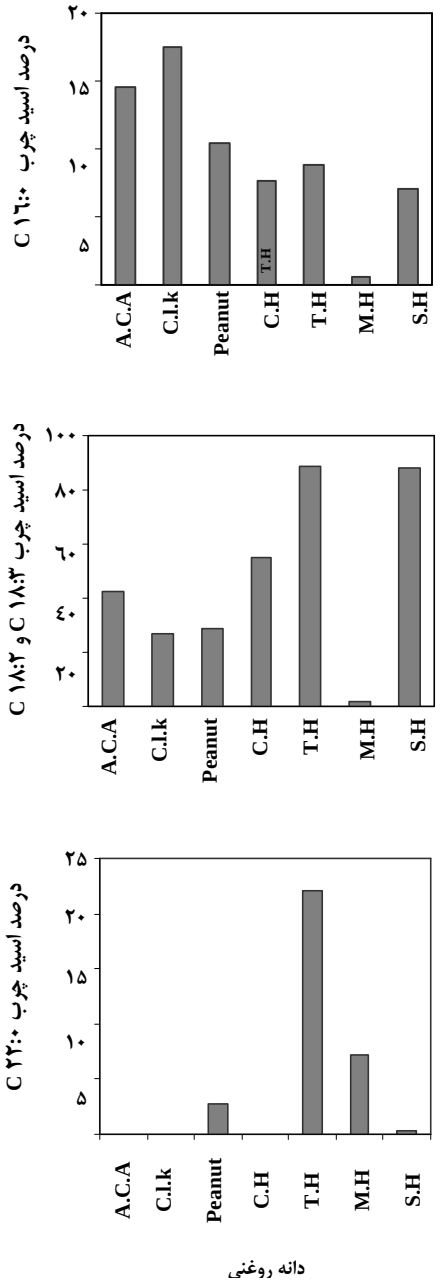
جدول ٤ـ نسبت اسیدهای چرب اشباع به غیر اشباع.

منطقه	اشباع / غیر اشباع
مشهد	۷/۸۱۸۳
تبریز	۵/۲۶۵۶
شاهرود	۷/۳۶۸۲



* n=۱ نشان دهنده محل پیوند دوگانه از انتهای زنجیر است.

شکل ۳ـ توزیع اسیدهای چرب درسه منطقه مشهد، شاهرود و تبریز.



Abbreviation

A.C.A	Acacia arabica
C.I.K	Callophyllum inophyllum kernel
C.H	Chinese hemp
T.H	Hemp seed (Tabriz)
M.H	Hemp seed (Mashhad)
S.H	Hemp seed (Shahrod)

شکل ۴ـ فراوانی اسیدهای چرب در انواعی از دانه های روغنی.

آمده با استفاده از دستگاه ترکیبی گاز کروماتوگراف و طیف‌سنج جرمی تحت شرایط عملیاتی ارایه شده در جدول ۲ انجام شده است.

نتیجه گیری

براساس نتیجه‌های ارایه شده در شکل ۳ متوسط روغن در سه نمونه مورد آزمایش ۳۳/۳۳ درصد وزنی است، که این مقدار با مقدار گزارش شـده درمورد گونـه Fasamo مطابقت دارد، ولی این مقدار از ۳۶ درصد گزارش شده برای گونه FIN- ۳۱۴ که در فنلاند می‌روید کمتر است.

با توجه بـه میزان روغن در دانه‌هـای روغنی متداول در ایران بر اساس جدول۱ مقدار روغن موجود در شاهدانه مشابه مقدار روغن کلزا و بیشتر از روغن سویا، هسته زیتون ، پنبه دانه و جوانه گندم است. بنابراین، می‌توان نتیجه گرفت که با توجه به ویژگی‌های اختصاصی روغن شاهدانه این روغن می تواند در گروه روغن‌های خوراکی متـداول قـرار گیـرد. بـه دلیل درجـه غیـر اشباعـی بـالا (جدول ۴) در ایـن روغـن، این روغن نسبت بـه درجه حرارت‌های بالا حساس است. به همین دلیل در بخش کاربردهای خوراکی این روغن به صورت افزودنی‌های سرد قابل استفاده است.

نکته قابل توجه دیگر این‌که به دلیل متفاوت بودن ترکیب اسیدهای چرب سه منطقه یاد شده در موارد مصرفی گوناگون که غلظت‌های متفاوتی از اسیدهای چرب مورد نیاز است، کاربرد نمونه یک منطقه ویژه که منطبق بر ساختار اسید چرب مورد نیاز است، را می‌توان مدنظر قرار داد.

در شکل ۴ مقدار اسیدهای چرب موجود در شاهدانه سه منطقه ایران بـا مقدار این اسیدها در دسته ای از دانه های روغنی مناطق متفاوتی از جهان مقایسه شده است. بانمودارهای موجود ترکیب اسیدهـا به جـز در مـورد بهنیک اسیـد (C۲۲:۰) مشابـه است. این گیاه نیـز از نظـر اهمیت و کاربـرد می‌تواند هم‌ردیف این گیاهان قـرار گیرد. علت تفـاوت در مقـدار ایـن اسیـد را نیز می‌توان به متفاوت بـودن شـرایـط آب و هوایی و زراعی مرتبط دانست، زیـرا که تغییر دما، میزان نور، رطوبت باعث تغییر حد واسطهای تولیـد شـده در سنتز اسیدهـای چـرب در گیاهان شده و در نتیجه متفاوت بودن نسبت نهایی این اسیدها در گیاهان می شود.

تاریخ دریافت: ۸۲/۱۰/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۳/۶/۱۶

مراجـــع

[1] lkechukwu E. Ezeagu, Klaus J.Petzke , Erika Lange , and Cornelia C. Metges , Fat Content and Fatty acid composition of Oils Extracted from Selected Wild – Gathered Tropical Plant Seeds from Nigeria, *J.Am.Oil Chem .Soc.* **75** p. 1031 (1998).

[2] Goode, G.K., J.P.Miller , and A.M. Heagerty , Hyperlipidaemia ,Hypertension , and Coronary Heart Disease, *Lancet* **345**, p. 362 (1995).

[3] Lauritzen, L., Hansen, H.S., Jùrgensen, M.H., Michaelsen, K.F., The essentiality of long chain n-3 fatty acids in relation to development and function of the brain and retina, *Progress in Lipid Research.*, **40**, p. 1 (2001).

[4] Kuresh A. Youdim, Antonio Maryin James, A. Joseph. Essential Fatty Acids, the brain: possible health implications, *Int. J. Devel. Neuroscience.*, **18**, p. 383 (2000).

[۵] میرنظامی ضیا بری، سید حسن؛ فن آوری روغن و پالایش آن؛ نشرعلوم کشاورزی (۱۳۸۰).

[6] Dave Oomah, Muriel Busson , David V.Godfrey , John C.G. Droner, Characteristics of Hemp (Cannabis sativa L.)Seed Oil, *Food Chemistry*, **76,** p. 33 (2002).

[7] Roulak, J. W. “Hemp horizon” . Canada: Chelsea Green Publishing Co. (1997).

[8] Jones, K. "Nutritional and medicinal guide to hemp seed". Gibsons, BC, Canada: Rainforest Botanical Laboratory (1995).

[9] Pate, D. W." Hemp seed: a valuable food source". In P. Ranali (Ed.) Advances in hemp research, Binghamton, New York: The Haworth Press.pp.243-255 (1999).

[10] Deferne, J. L., & Pate, D. W. Hemp seed oil: a source of valuable essential fatty acid, *Journal of the International Hemp Association*, **3**, p.4 (1996).

[۱۱] زرگری، علی؛ گیاهان دارویی؛ جلد چهارم انتشارات دانشگاه تهران، پاییز (۱۳۷۶).

[۱۲] هادی، کریم ؛ گیاهان زراعی، انتشارات دانشگاه تهران (۱۳۵۷).

[13] Rawsthorne Stephen. "Carbon Flux and Fatty Acid Synthesis in Plants" *Progress in Lipid Research* , **41**, p. 182 (2002).

[14] Attah, J.C. and lbemesl. J.A., Solvent Extraction of the Oil of Rubber, Melon, Pumpkin and Oil bean Seeds, *J. Am.Oil Chem.Soc.*, **67**(1) p.25 (1990).

[15] Ke-Shun Liu., Preparation of Fatty Acid Methyl Esters for Gas-Chromatographic Analysis of Lipid in Biological Materials, *J.Am.Oil Chem.Soc.*, **71**, p. 1179 (1994).

[16] AOAC, "Official Methods of Analysis Association of Official Analytical Chemists", 15 th Edn., Edited by K. Helrich, AOAC, Inc., Arlington (1990).

[17] Anon., in GC Derivatization Guide, Alltech Associates, Inc, Applied Science Labs, Deerfield, Bulletin, No.126(1993).

[18] Craske, J.D., *J. Am.Oil Chem.Soc.*, **70**, 325 (1993).

[19] Darbre, A., Handbook of Derivatives for Chromatography, edited by K.Blau, and G.S King. Heyden &Son,London, .pp.36-103(1978).

[20] Metchalfe,L.D.,A.A.Schemitz, *Anal. Chem.*, **33**, 363(1961).

[21] Preparation of Methyl Esters of Fatty Acid., AOCS Official Method Ce 2-66., (Reapproved 1997).