

غنی سازی شیر با ویتامین A، بررسی میزان کاهش این ویتامین و ارزیابی حسی شیر غنی شده

رویا ساده^۱، مهین آذر^۱، محمد شاهدی^۲ و محمد تقی مظلومی^۱

چکیده

در این تحقیق از غنی سازی، به منظور یافتن راهکاری برای کنترل کمبود ویتامین A در کشورمان استفاده گردید. به این خاطر، مقادیر IU/L ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ پالمیتات ویتامین A روغنی شکل بعد از مرحله سپراسیون و قبل از مرحله هموژنیزاسیون به شیر حاوی ۵٪ و ۲/۵٪ چربی اضافه شد و پس از پاستوریزاسیون شیر، بسته بندی در دو نوع کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای انجام گرفت. نمونه‌ها در شرایط معمولی یخچال (دمای °C ۴-۵) به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. مقدار ویتامین A با استفاده از دستگاه HPLC اندازه‌گیری گردید. ارزیابی حسی به روش رتبه بندی انجام شد. روش‌های آماری مورد استفاده برای ارزیابی مقدار افت ویتامین، ANOVA و برای ارزیابی حسی، Friedman بود. تأثیر درصد چربی و نوع بسته بندی بر میزان باقی‌مانده ویتامین A معنی‌دار بود ($P < 0.001$). میزان افت ویتامین A در شیر ۵٪ چربی در کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای به‌طور معنی‌داری بیش از میزان افت ویتامین در شیر با ۲/۵٪ چربی بود. از طرفی در شیر با ۵٪ و ۲/۵٪ چربی، میزان افت ویتامین در بطری شیشه‌ای بیش از کیسه پلیمری بود. نتایج ارزیابی حسی نشان داد که شیر می‌تواند با ویتامین A تا حد ۵۰۰۰ IU/L غنی شود بدون این‌که تأثیری در طعم و رنگ محصول داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: غنی سازی، شیر، ویتامین A، HPLC، ارزیابی حسی

مقدمه

ارزش تغذیه‌ای ویتامین A و نقش آن در تضمین سلامت بشر غیر قابل انکار بوده و کمبود آن در دنیا و کشور ما همیشه وجود داشته است. برای رفع کمبود ویتامین A تدابیر مختلفی وجود دارد که از آن جمله می‌توان به مکمل یاری (استفاده از داروهای حاوی ویتامین A)، توسعه رژیمی با تغییر الگوهای تولید، توزیع و مصرف مواد غذایی، آموزش تغذیه و غنی سازی اشاره نمود که بیشتر کشورهای درگیر با کمبود ویتامین A، یک، چند و یا

همه روش‌ها را به‌کار می‌برند.

غنی سازی غذا می‌تواند راه اقتصادی، آسان، مؤثر، مستقیم و مورد پذیرش جامعه برای تصحیح کمبود ویتامین A و دیگر ریزمغذی‌ها باشد (۱۴). ویتامین A اولین ویتامین شناخته شده محلول در چربی است که نقش‌های اساسی در بینایی، رشد و نگه‌داری بافت پوششی، ایمنی و هم‌چنین ترمیم بافت‌ها دارد. بر طبق آخرین برآوردهای جهانی سلامت و بقای بیش از ۲۵۰ میلیون کودک به‌علت کمبود ویتامین A در معرض

۱. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استاد و مربی علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم تغذیه و صنایع غذایی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی
۲. استاد علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

خطر قرار دارد (۱۱). در کشور ما نیز در حدود ۵۰٪ افراد دچار کمبود ویتامین A می‌باشند (۱).

غنی سازی غذا با ویتامین‌ها و عناصر کمیاب به ده‌ها سال پیش برمی‌گردد. قدیمی ترین مثال برای غنی سازی، یددار کردن نمک در سوئیس در سال ۱۹۲۳ گزارش شده است (۳). در آمریکا محصولات شیر مایع از سال ۱۹۳۰ با ویتامین‌های A و D غنی می‌شدند تا شیوع بیماری‌های حاصل از کمبود ویتامین را کاهش دهند (۷).

پالانی و همکارش در سال ۱۹۹۰ روی مقادیر آهن و ویتامین A که می‌تواند برای غنی سازی به شیر اضافه شود بدون این‌که تغییری در طعم و قابلیت قبول محصول ایجاد کند، مطالعه کردند (۱۳). در این مطالعه از شیر پاستوریزه استفاده گردید. ویتامین A در سه مقدار IU/L ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ و آهن در سه مقدار ppm ۲۰، ۱۰ و ۳۰، به آن اضافه شد. نمونه‌ها در دو زمان صفر و ۶ ساعت ماندگاری در دمای اتاق از نظر ویتامین A و آهن آنالیز شدند. ارزیابی حسی نیز با یک گروه پانل ۶ نفره انجام گرفت. نتایج نشان داد که شیر بی چربی می‌تواند به‌طور هم‌زمان با IU/L ۵۰۰ ویتامین A و ppm ۳۰ آهن بدون تغییر در رنگ، طعم و قابلیت پذیرش محصول غنی شود. میزان کاهش ویتامین A از ۶۲-۴۹٪ بعد از ۶ ساعت نگهداری در دمای اتاق بود و هیچ کاهش در مقدار آهن در این مدت نگهداری مشاهده نگردید.

وافیدیز در سال ۱۹۹۵ روش‌های مورد استفاده برای غنی سازی شیر را مورد بررسی قرار داد (۱۶). وی بیان کرد که ویتامین‌ها باید بعد از جدا سازی چربی و قبل از پاستوریزاسیون و هموژنیزاسیون به شیر اضافه شوند و در هنگام تحویل و اندازه‌گیری ویتامین، باید دقت زیادی اعمال نمود.

ولارد و همکارش در سال ۱۹۸۵ پایداری ویتامین A را در شیرهای UHT غنی شده با رتینیل پالمیتات و رتینیل استات، در اکتبر و ژانویه مورد بررسی قرار دادند (۱۹). مقادیر کل ویتامین A در اکتبر و ژانویه به ترتیب IU/L ۱۹۴۳ و ۱۹۲۴ بود که بعد از ۴۰ هفته به IU/L ۱۰۵۷ و ۱۰۴۱ رسید (کاهش ۳۶ و ۴۶ درصدی). نمونه‌های نگهداری شده در °C ۳۵ بعد از ۲۸ هفته حاوی IU/L

۷۷۰ و ۷۵۵ ویتامین A بودند (کاهش ۶۱-۵۳ درصدی). لیم در سال ۱۹۹۲ تأثیر مدت انبارداری (۱۰ روز در دمای °C ۴-۵ یا ۱۸۰ روز در دمای °C ۲۰-) و فصل را روی مقدار ویتامین A شیر پاستوریزه LTLT و UHT بسته بندی شده به صورت آسپتیک و غیر آسپتیک مورد بررسی قرار داد (۱۰). هم‌چنین ارتباط بین چربی و مقدار ویتامین A شیر مطالعه گردید.

آل زواوی و همکارش در سال ۱۹۹۳ پایداری ویتامین A و ریبولوین در شیر مایع را تحت شرایط موجود در عربستان سعودی مورد بررسی قرار دادند (۲). کاهش ویتامین A پس از گذشت ۵ روز نگهداری در یخچال ۳-۲٪ بود در حالی که در ریبولوین کاهش مشاهده نگردید. در دمای اتاق (°C ۲۳) به مدت ۶ ساعت، کاهش ویتامین A به ترتیب در شیر کامل در بسته بندی مقوایی، شیر کامل در بسته بندی پلاستیکی و شیر بی چربی، ۷، ۱۰ و ۲۰٪ بود. پس از جوشاندن شیر و نگهداری آن در دمای °C ۵۵ به مدت ۱۲ ساعت، ۷۱٪ ویتامین A در شیر کامل و ۴۳٪ در شیر بی چربی پایدار ماند.

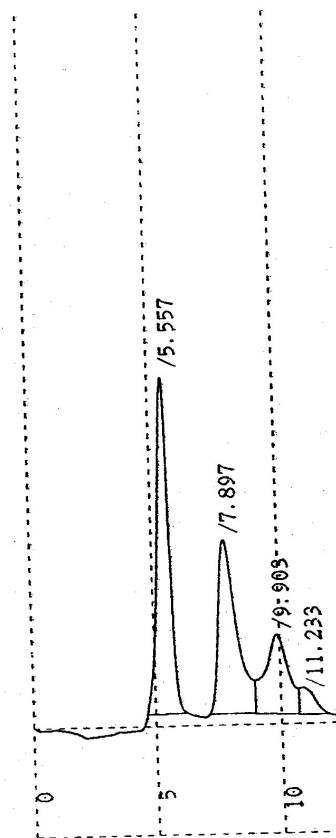
ویتد و همکاران در سال ۲۰۰۲ تحقیق خود را بر روی تجزیه ویتامین A شیر در اثر نور و تأثیر نور بر طعم شیر انجام دادند (۱۸). آنها نمونه‌های شیر بی چربی، کم چربی و کامل را در معرض نور فلورسنت قرار دادند و میزان کاهش ویتامین A در نمونه‌ها را با نمونه‌های کنترل مورد مقایسه قرار دادند و دریافتند که حضور چربی شیر از ویتامین A در برابر نور محافظت می‌کند ولی در عوض بر طعم شیر تأثیر نامطلوب دارد. آنها به این نتیجه رسیدند که نور LX ۲۰۰۰ به مدت ۲ ساعت می‌تواند ارزش تغذیه‌ای و کیفیت طعم شیر را کاهش دهد. هم‌چنین دریافتند که میزان افت ویتامین A به‌طور مستقیم تحت تأثیر نور و به‌طور معکوس تحت تأثیر مقدار چربی شیر است.

مواد و روش‌ها

روش تحقیق از نوع تجربی و تکنیک تحقیق از نوع مشاهده بود. تولید شیر غنی شده در شرکت شیر منطقه‌ای اصفهان

اضافه گردید به طوری که میزان چربی شیر روی ۰/۵ و ۲/۵٪ تنظیم شد. از آنجایی که در غنی سازی مقدار ماده مغذی که به غذا اضافه می شود باید یک سوم میزان توصیه شده روزانه (RDA باشد) (۱۴) و FDA میزان مجاز ویتامین A در شیر را حداقل ۲۰۰۰ IU/qt (qt : ۰/۹۴۶ L) و حداکثر ۶۰۰۰ IU/qt اعلام نموده است (۱۷). مقدار ویتامین A مورد نیاز تا حد ۳۰۰۰ IU /L، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ محاسبه گردید و در مقداری شیر گرم حل شد. سپس مخلوط آماده شده فوق الذکر به شیر در حال عبور از بالانس تانک و قبل از ورود به پاستوریزاتور به آرامی اضافه گردید. شیر سپس به هموژنایزر رفته و پس از شکسته شدن گویچه های چربی، آماده پاستوریزه شدن گردید. شیر در پاستوریزاتور تا ۸۰°C گرم شده، سپس به مدت ۱۶ ثانیه در این دما نگهداری شد و پس از آن وارد بخش بازیافت گردید. در این بخش دمای شیر کاهش یافته و به بخش سرد کننده وارد شد و تا ۴°C سرد گردید. سپس وارد تانک ذخیره شده و توسط همزن های قوی کاملاً مخلوط گشت. شیر ویتامینه پاستوریزه در کیسه پلیمری و بطری شیشه ای بسته بندی گردید.

اساس اندازه گیری ویتامین A، صابونی کردن نمونه با پتاس الکل، استخراج رتینول با مخلوط پترولیوم اتر و دی اتیل اتر به کمک سانتریفوژ و سپس تبخیر تا حد خشک شدن با گاز ازت، حل کردن باقی مانده در متانول و تزریق به دستگاه HPLC بود (۲۰). سیستم HPLC با فاز معکوس شامل پمپ، تزریق کننده، دکتور UV-Visible، ثبت کننده و ستون Shim-pack VP- ODS (C18) بود. سایز ذرات ستون ۴/۶ mm، ابعاد ستون ۲۵۰×۴/۶ mm، جنس ذرات ستون سیلیکایی بوده که با اکتا دسیل سیلیل (ODS یا C18) باند شده بود. فاز متحرک متانول: آب به نسبت ۹۵:۵ (هر دو HPLC grade)، شدت جریان ۰/۸ ml/min، طول موج ۳۲۵ nm، دما ۵۰°C و حجم تزریقی به دستگاه ۲۰ μl بود. نمونه کروماتوگرام مربوط به یک تیمار شیر غنی شده در شکل ۱ آمده است. برای محاسبه مقدار ویتامین از فرمول زیر استفاده شد (۴):



شکل ۱. نمونه کروماتوگرام مربوط به یک تیمار شیر غنی شده

(وابسته به شرکت سهامی صنایع شیر ایران)، اندازه گیری ویتامین A در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان و ارزیابی حسی به وسیله ارزیاب های خانگی انجام گردید.

در این تحقیق مقادیر ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ IU/L پالمیتات ویتامین A، به شیر ۰/۵ و ۲/۵٪ چربی اضافه گردید و سپس شیر غنی شده در دو نوع کیسه پلیمری و بطری شیشه ای بسته بندی شد. به این ترتیب در این تحقیق ۱۲ تیمار استفاده گردید.

در هر تیمار، شیر خامی که مراحل کنترل کیفیت را گذرانده بود از مخزن ذخیره وارد بخش بازیافت انرژی حرارتی پاستوریزاتور گردیده و در آنجا تا ۴۵°C گرم شد. پس از آن وارد سپراتور گردید و چربی آن به طور کامل جدا شد. پس از انجام محاسبات، مقدار مورد نیاز چربی به آن

۲۷۱۱، ۳۶۰۸، ۴۵۱۲ و در بطری شیشه‌ای به ترتیب ۲۵۱۴، ۳۳۰۴، ۴۱۳۸ بود.

از طرفی در کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای با هر سه مقدار ویتامین A، در میزان باقیمانده ویتامین در شیر ۰/۵ و ۲/۵٪ چربی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/001$). به طوری که در شیر ۲/۵٪ چربی میزان افت ویتامین A کمتر از شیر ۰/۵٪ چربی می‌باشد. همچنین در شیر ۰/۵ و ۲/۵٪ با هر سه مقدار ویتامین A، در مقدار باقیمانده ویتامین در کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P < 0/001$). این به صورتی است که در شیر بسته بندی شده در کیسه پلیمری میزان افت ویتامین کمتر از شیر بسته بندی شده در بطری شیشه‌ای است.

درصد افت ویتامین در شیر، بدون در نظر گرفتن مقدار ویتامین اضافه شده در کیسه پلیمری و چربی ۰/۵ درصد برابر ۲۴، در بطری شیشه‌ای و درصد چربی ۰/۵ برابر ۲۶/۵، در کیسه پلیمری و درصد چربی ۲/۵ برابر ۷/۵ و در بطری شیشه‌ای و چربی ۲/۵ درصد، ۱۵/۵ بود.

نتایج ارزیابی حسی با آزمون Friedman نشان داد که ویتامین اضافه شده تا سطح ۵۰۰۰ IU/L اختلاف معنی‌داری از لحاظ طعم و رنگ در هیچ یک از تیمارها ایجاد نکرده است.

بحث

همان‌گونه که ملاحظه می‌شود مقدار ویتامین A شیر در شرایط معمولی یخچال تحت تأثیر زمان ماندگاری بوده است. به طوری کلی از عوامل مؤثر در این امر را می‌توان حضور نور، وجود اکسیژن در فضای خالی بسته بندی و جذب ویتامین توسط بسته بندی دانست.

علت افت ویتامین A، در بطری شیشه‌ای، تأثیر نور بوده است، زیرا در این نوع بسته بندی به دلیل شفافیت، نور به راحتی عبور می‌نماید. اما در کیسه پلیمری علاوه بر تأثیر نور که مسلماً ضعیف تر از بطری شیشه‌ای است، تأثیر هوای موجود در فضای خالی بسته بندی که می‌تواند باعث اکسیداسیون ویتامین

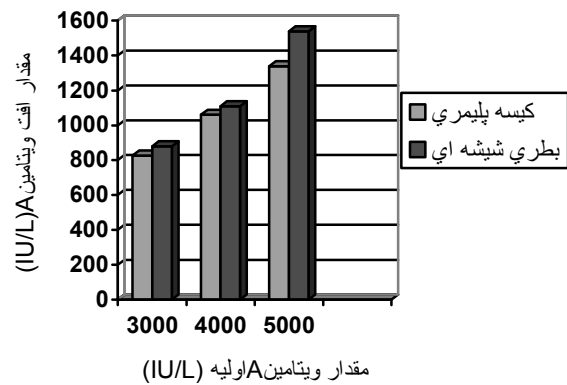
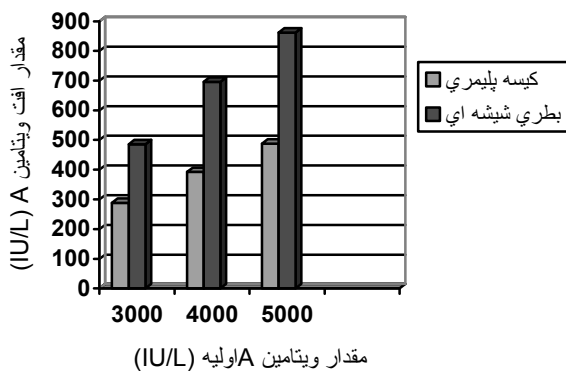
$$\text{میکرولیتر محلول استاندارد} \times \frac{\text{سطح زیر اوج نمونه}}{\text{سطح زیر اوج استاندارد}} = \text{IU/L رتینول} \times \text{وزن نمونه} / [\text{غلظت محلول استاندارد} \times \text{فاکتور رفت}]$$

برای ارزیابی حسی از آزمون رتبه‌بندی (Ranking) استفاده گردید (۱۷). در این آزمون ۳۰ نفر ارزیاب آموزش ندیده انتخاب شدند. نمونه‌های شیر غنی شده از ۳ تیمار به طور هم‌زمان به آنها ارائه گردید و از آنها خواسته شد که هر نمونه را ابتدا از نظر رنگ و سپس از نظر طعم و فقط یک بار مورد ارزیابی قرار دهند و حتی اگر دو نمونه رنگ یا طعم یکسان داشتند برای هر کدام رتبه جداگانه‌ای در نظر بگیرند و به نمونه‌ای که بیشترین قابلیت پذیرش را دارد رتبه ۱ و به سایر نمونه‌ها به ترتیب قابلیت پذیرش رتبه‌های ۲ و ۳ داده شود.

جهت انجام محاسبات آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار SPSS استفاده گردید. برای ارزیابی حسی، آزمون Friedman به کار گرفته شد. در مورد تأثیر درصد چربی، نوع بسته بندی و زمان ماندگاری بر مقدار باقیمانده ویتامین A از آنالیز واریانس (ANOVA) سه طرفه و در صورت معنی‌دار بودن اثرات متقابل، از آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون t استفاده گردید.

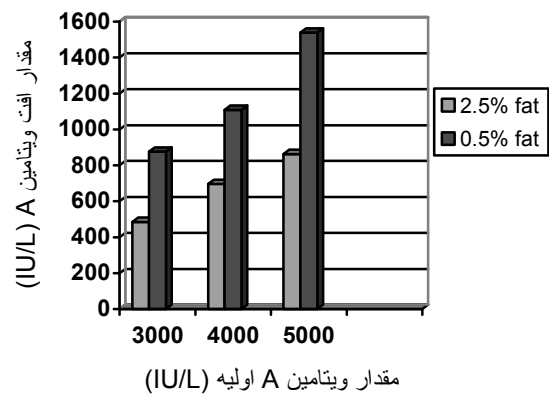
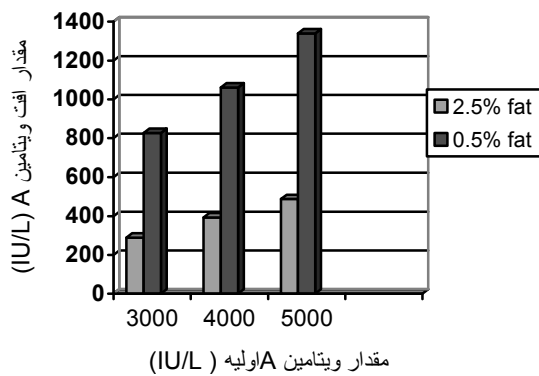
نتایج

اثر زمان ماندگاری در شیر با ۰/۵ و ۲/۵٪ چربی و بسته بندی کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای در سه سطح غنی سازی ۳۰۰۰ IU/L، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ با ویتامین A پس از ۴۸ ساعت بررسی گردید. میانگین مقادیر باقیمانده ویتامین A در سه سطح غنی شده IU/L ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ با درصد چربی ۰/۵ و کیسه پلیمری پس از گذشت ۴۸ ساعت در شرایط معمولی در یخچال ($4-5^{\circ}\text{C}$) به ترتیب ۲۱۷۴، ۲۹۳۸، ۳۶۶۰ و در بطری شیشه‌ای به ترتیب ۲۱۲۱، ۲۸۹۱، ۳۴۶۱ بود. همچنین میانگین مقادیر باقی مانده ویتامین در شیر با ۲/۵٪ چربی و کیسه پلیمری در سه سطح غنی شده IU/L ۳۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۵۰۰۰ به ترتیب



شکل ۳. مقایسه مقدار افت ویتامین A (IU/L) در کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای در شیر ۲/۵٪ چربی پس از ۴۸ ساعت

شکل ۲. مقایسه مقدار افت ویتامین A (IU/L) در کیسه پلیمری و بطری شیشه‌ای در شیر ۰/۵٪ چربی پس از ۴۸ ساعت.



شکل ۵. مقایسه مقدار افت ویتامین A (IU/L) در شیر ۰/۵ و ۲/۵٪ چربی در کیسه پلیمری پس از ۴۸ ساعت

شکل ۴. مقایسه مقدار افت ویتامین A (IU/L) در شیر ۰/۵ و ۲/۵٪ چربی در بطری شیشه‌ای پس از ۴۸ ساعت

چربی کمتر از شیر ۰/۵٪ چربی است. این مطلب در شکل‌های ۴ و ۵ مشاهده می‌شود. از آنجایی که ویتامین A، محلول در چربی است و با توجه به این‌که جایگاه آن در غشا و هسته گلبول‌های چربی می‌باشد، تردیدی وجود ندارد که هر چه درصد چربی بیشتر باشد، نقش حفاظتی آن روی ویتامین A بیشتر است. فلمن و دیمیک در سال ۱۹۹۱ نیز در مطالعه خود بیان نمودند که ویتامین A بدون توجه به حامل به کاررفته، در شیر کم چربی پایدارتر از شیر بی چربی می‌باشد و افزایش میزان چربی، ممکن است اثر محافظت‌کنندگی بر روی ویتامین داشته باشد (۸). غلظت بیشتر چربی جابه‌جایی سیال (حرکت

A و در نتیجه کاهش مقدار آن شود و جذب احتمالی ویتامین توسط بسته بندی پلیمری که سه لایه به هم چسبیده از پلی اتیلن با دانسیته پایین (LDPE) است، نیز از دلایل احتمالی دیگر می‌باشد (۱۲).

با همه تفصیلات، نتایج تحقیق نشان داده است که تأثیر نوردر بطری شیشه‌ای بیش از تأثیر عوامل فوق‌الذکر در کیسه پلیمری است، شکل‌های ۲ و ۳ شواهدی بر این مدعا است. برخی دیگر از محققین نیز به تأثیر بسته بندی در میزان افت ویتامین A اشاره نموده‌اند (۲، ۵، ۸ و ۱۸).

در نتایج بیان گردید که میزان افت ویتامین A در شیر ۲/۵٪

سال ۱۹۹۰ طی تحقیق خود بیان کردند که شیر بی چربی می‌تواند به‌طور هم‌زمان با 5000 IU/L ویتامین A و 30 ppm آهن بدون تغییر در رنگ، طعم و قابلیت پذیرش محصول غنی شود (۱۳).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که درصد چربی و نوع بسته بندی پس از ۴۸ ساعت بر کاهش ویتامین A تأثیر دارد، به طوری که هر چه درصد چربی بیشتر باشد میزان افت ویتامین کمتر است. هم‌چنین در بسته بندی شفاف میزان افت ویتامین بیشتر می‌باشد. ضمن آن‌که ویتامین A تا حد 5000 IU/L هیچ گونه تغییری در ویژگی‌های حسی شیر غنی شده ایجاد نمی‌کند.

سپاسگزاری

در اینجا لازم است مراتب تشکر خود را از شرکت سهامی صنایع شیر ایران، شرکت شیر منطقه‌ای اصفهان (پگاه)، اعضای محترم آزمایشگاه علوم و صنایع غذایی و علوم دامی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، بخصوص استاد بزرگوار جناب آقای دکتر شهرام دخانی و جناب آقای مهندس بهمن بهرامی ابراز نماییم.

بین مولکول‌های سیال) را کاهش می‌دهد و بنابراین نور کمتری به داخل مایع نفوذ می‌نماید. در نتیجه ویتامین کمتری از بین می‌رود. شاید به همین دلیل است که گای‌لورد و همکاران در سال ۱۹۸۶ طی تحقیق خود بیان نمودند که افزودن مواد جامد غیر چرب شیر، به میزان ۱-۳٪ اثر محافظت‌کنندگی بر روی پالمیتات ویتامین A در شیر بی‌چربی دارد (۹).

دمان، سنیک و شیپ نیز بیان کردند که تخریب ویتامین A بر اثر نور در شیر غنی شده با ویتامین A به در صد چربی شیر بستگی دارد (۶ و ۱۵).

نتایج ارزیابی حسی نیز مبین آن بود که مقدار ویتامین اضافه شده به شیر نتوانسته است تغییری در طعم و رنگ محصول ایجاد کند. نظر به این‌که ویتامین A اضافه شده به شیر مورد آزمایش در همه تیمارها به دلیل غلظت زیاد، بسیار اندک بوده است (کمتر از ۲ گرم در 500 کیلوگرم شیر) طعم و هم‌چنین رنگ زرد ویتامین A مورد استفاده، نتوانسته است هیچ گونه تغییری در شیر ایجاد نماید. این نشان می‌دهد که شیر می‌تواند با ویتامین A تا حد 5000 IU/L غنی شود بدون این‌که تأثیری در طعم و رنگ محصول داشته باشد که در این‌صورت مصرف یک لیوان شیر غنی شده در روز کمتر از یک سوم نیاز روزانه به ویتامین A را برطرف می‌نماید و طبیعتاً مصرف بیش از یک لیوان نیز مشکلی ایجاد نمی‌نماید. پالانی و همکارش نیز در

منابع مورد استفاده

۱. انسیتو تحقیقات تغذیه‌ای و صنایع غذایی کشور. ۱۳۷۴-۱۳۷۱. طرح جامع مطالعات مصرف مواد غذایی و تغذیه در کشور.
۲. Al-Zawawi, A. A. and M. Caldwell. 1993. Retention of vitamin A and riboflavin in fluid milk as utilized in Saudi Arabia. *Ecol. Food Nutr.* 30(1):9-16.
۳. Blum, M. 1997. Food Fortification, A Key Strategy to End Micronutrient Malnutrition. Vitamin and Fine Chemical Division. Nutriview
۴. Bueno, M. P. 1997. Collaborative study: determination of retinol and carotene by high performance liquid chromatography. *Food Chem.* 59(1): 165-170.
۵. Cladman, W., S. Scheffer, N. Goodrich. and M.W. Griffiths. 1998. Shelf life of milk packaged in plastic containers with and without treatment to reduce light transmission. *Int. Dairy J.* 8: 629-636.
۶. DeMan, J. M. 1981. induced destruction of vitamin A in milk. *J. Dairy Sci.* 64: 2031-2032.
۷. Department of Health and Human Services. 1994. Grade "A" Milk Ordinance. Code of Federal Regulations.
۸. Fellman, R., L. Dimick, S. Paul. Hollender and R. 1991. Photo Oxidative stability of vitamin A fortified 2% low fat milk and skim milk. *J. Food Protec.* 54(2): 113-116.
۹. Gaylord, A. M., J. J. Warthesen and D. E. Smith. 1986. Influence of milk fat, milk solids, and light intensity on the light stability of vitamin A and riboflavin in low fat milk. *J. Dairy Sci.* 69: 2779-2784.

10. Lim, JW. 1992. Influence of Storage and Season on the variation of vitamin A in LTLT pasteurized and UHT processed commercial market milk. *Korean J. Dairy Sci.* 14(3): 193-201.
11. Mahan, K. 2004. *Krauses food, nutrition and diet therapy*. W. B. Saunders Company.
12. MI (Micronutrient Initiative). 1998. Food fortification to end micronutrient malnutrition. Symposium report, montreal. Canada.
13. Palani, D., R. Mohamed and M. Habibulla Khan. 1990. Fortification of milk with vitamin A and iron. *Cheiron*. 19(6): 269-271.
14. Rolf, D. W., M.P.H. Klemm, A. David B. M. B. Ch. Ross. 1999. Vitamin A and other micronutrients: Biologic interactions and integrated interventions. Report of the xix international vitamin A consultative group meeting. durban, South Africa.
15. Senyk, G. F. and W. F. Shipe. 1981. Protecting your milk from nutrient losses. *Dairy Field* 164. 81-85.
16. Vafiadis, DK. 1995. Milk fortification. *Dairy Field* 178(10): 68.
17. Watts. B.M. 1989. Basic sensory methods for food evaluation. International development research center, Canada.
18. Whited, L. J., K. B. H. Hammond, K. W. Chapman and K. J. Boor. 2002. Vitamin A degradation and light oxidized flavor defects in milk. *J. Dairy Sci.* 85: 351-354.
19. Woolard, d.C. and H. Indyk. 1986. The HPLC Analysis of Vitamin A Isomers in Dairy Products and Their Significance in Biopotency Estimation. *J. Micronutr. Anal.* 2: 125-146.
20. Zahar, M., D. E. Smith. 1990. Vitamin A quantification in fluid dairy products: Rapid method for vitamin A extraction for high performance liquid chromatography. *J. Dairy Sci.* 73(12): 3402-3407.