تعیین مقدار Δ^{7} – استرول‌ها در روغن دانهٔ کدو

پرویز احمدی‌اول[1*]، فراز مجاب[2]، سعید نوجوان[1]

۱- پژوهشگر، گروه فارماکوگنوزی، جهاددانشگاهی واحد شهید بهشتی
۲- استاد، گروه فارماکوگنوزی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، تهران
۳- دانشجوی دکترا، گروه شیمی، جهاددانشگاهی واحد شهید بهشتی
*آدرس مکاتبه: تهران، خیابان انقلاب اسلامی، دانشگاه تهران، جهاددانشگاهی دانشکدهٔ فنی، گروه پژوهشی فرآیند، صندوق‌پستی: ۳۸۱۷ – ۱٤۱۵۵، تلفن: ٦۱۱۱۳۲۱۱ (۰۲۱)، نمابر: ۷۷۵۵۱۰۱۷ (۰۲۱)
پست الکترونیک: parviz2a@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۸٤/۸/۱٤ **تاریخ تصویب:** ۸۵/۹/۲۹

چکیده

مقدمه: کدو یکی از گیاهان دارویی معروف دنیا با نام علمی *Cucurbita pepo* از خانوادهٔ کوکوربیتاسه است که دانه‌های آن به عنوان ضدکرم و مدر مصرف سنتی داشته و دارد. از دانه‌های این گیاه برای درمان علامتی هیپرتروفی خوش‌خیم پروستات استفاده می‌شودکه اثر آن‌را مربوط به استروییدهای دانه آن دانسته‌اند.

هدف: این پژوهش به منظور شناسایی و تعیین مقدار استرول‌های گیاه کاشته شده در ایران و مقایسهٔ آن با نمونهٔ تجاری روغن (از کشور مجارستان) انجام شد.

روش بررسی: روغن دانه‌ها با اسباب سوکسله و با متیلن کلراید استخراج گردید. کپسول نرم روغن کدو با نام تجاری پیونن از کشور مجارستان تهیه شد. عمل مشتق‌سازی استرول‌های استاندارد و روغن‌های گیاهی مذکور با استفاده از هگزا متیل دی سیلازان (HMDS) و تری متیل کلروسیلان (TMCS) انجام شد و نمونه‌هایی از هر یک به GC/MS تزریق گردید.

نتایج و بحث: نتیجه به دست آمده از آنالیز روغن دانهٔ کدوی نمونه مجاری، سه استرول کامپسترول، استیگماسترول و آوانسترول را نشان می‌دهد. آنالیز کمی این سه ماده در مقایسه با نمونه‌های استاندارد به ترتیب ۰/۸۲، ۰/۷۸ و ۰/۸٤ میلی‌گرم استرول در گرم روغن محاسبه شدند. نتایج به دست آمده در مورد روغن تخم کدوی نمونه ایرانی تقریباً مشابه نمونه مجاری بوده و استیگماسترول و کامپسترول در این نمونه مشاهده گردید (به ترتیب ۰/٦۷ و ۰/۳۸ میلی‌گرم در گرم روغن)، ولی آوانسترول در این نمونه دیده نشد.

گل‌واژگان: کدو، *Cucurbita pepo*، GC/MS، کامپسترول، استیگماسترول، آوانسترول

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

مقدمه

استرول‌ها گروهی از مواد طبیعی هستند که از هیدروکسیلاسیون ایزوپنتانوییدهای چند حلقه‌ای مشتق شده و دارای ساختار ۱ و ۲ ـ سیکلو پنتانوفنانترن هستند. اغلب استرول‌های گیاهی شامل ۲۸ یا ۲۹ کربن بوده و یک یا دو تا پیوند دوگانه کربن ـ کربن در ساختار مولکولی خود دارند که یکی از این پیوندهای دوگانه در داخل حلقه‌ها و دیگری روی زنجیر جانبی ساختار استرول‌ها قرار دارد. بیش از ۲۰۰ نوع مختلف استرول گیاهی در گونه‌های گیاهی گزارش شده‌اند [۱]. استرول‌های رایج در گیاهان، کامپسترول، سیتوسترول و استیگماسترول هستند.

تقریباً تمام استرول‌های موجود در گیاهان خانواده کدو مانند خربزه، هندوانه، کدو خمره‌ای، خیار و کدو تنبل از نوع دلتا هفت[1] (= باند دوگانه بین کربن‌های ۷ و ۸) است. از خانواده‌های دیگر می‌توان به اسفناج اشاره کرد که حاوی مقادیر بالایی از Δ7 استرول‌ها است [۲].

استرول‌ها اثرات بیولوژیکی متعددی دارند. استرول‌های گیاهی، مواد مهم کشاورزی برای سلامتی و صنایع غذایی هستند. این مواد امولسیون سازهای مفیدی برای تولیدکننده‌های مواد آرایشی بوده و بیشترین حدواسط‌های استروییدی و مواد اولیه را برای تولید هورمون‌های دارویی فراهم می‌آورند. تعدادی از استرول‌های گیاهی با ساختارهای ویژه مانع فساد اکسیداسیونی و پلی مریزه شدن در مقابل حرارت می‌شوند. آنالوگ‌های اشباع شده استرول‌های گیاهی و استرهای آن‌ها به عنوان کاهنده کلسترول در خون پیشنهاد شده‌اند. امروزه استفاده از روغن نباتی‌های تجاری غنی شده با استرول‌های گیاهی در چند کشور مرسوم شده است [۳].

مغز میوه‌ها و روغن‌ها حاوی مقادیر زیادی (بیش از ۱ درصد) از استرول‌های گیاهی در مقایسه با میوه‌ها و سبزیجات (کمتر از ۰/۰۵ درصد) هستند. توزیع ترکیبی استرول‌های گیاهی بر خلاف حضور اندک آن‌ها در چربی‌ها، برای تشخیص نوع روغن‌های گیاهی استفاده می‌شوند. بنابراین استرول‌های گیاهی و سایر ترکیبات غیرقابل استری، اغلب در روغن‌ها به عنوان مشخصه ارزیابی روغن‌های تقلبی استفاده می‌گردند.

استرول‌های گیاهی در مواد آرایشی از قبیل کرم‌های پوستی استفاده می‌شوند، این مواد مانع خروج رطوبت از سطح پوست شده و مانع خشک شدن پوست بدن می‌گردند. هم‌چنین استرول‌های گیاهی در رنگ مو جهت جلوگیری از ریزش مو، شکنندگی آن و پخش یکسان رنگ روی مو به کار برده می‌شوند.

از منابع اصلی استرول‌های گیاهی می‌توان به حبوباتی مانند عدس، نخود، لوبیا (حاوی ۲۲۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) و بعضی دانه‌های روغنی مانند آفتابگردان و کنجد (حاوی ۵۰۰ الی ۷۰۰ میلی‌گرم بر ۱۰۰ گرم) اشاره کرد. در حالی که سایر گیاهان و میوه‌ها مقادیر کمتری از استرول‌ها را دارند.

روش‌های جداسازی استرول‌ها به نوع نمونه بستگی داشته و برای نمونه‌های جامد و مایع فرق می‌کند. استرول‌های گیاهی موجود در بافت‌ها و دانه‌های روغنی به وسیله روش‌های استخراج با حلال‌هایی مانند کلروفرم ـ متانول [٤]، هگزان [٥،٦،٧]، متیلن کلراید [٨،٩] یا استن [۱۰] می‌تواند جداسازی شود. برای این کار می‌توان از به هم زدن مخلوط حلال با مواد گیاهی آسیاب شده، در حالی که حرارت داده می‌شود، یا از اسباب سوکسله استفاده کرد [۱۱].

بعد از تبخیر حلال، مواد آماده تزریق به GC و آنالیز کمی هستند. برای فرار کردن ترکیبات دارای گروه OH، معمولاً از مشتق TMS (تری متیل سیلان) یا استات آن‌ها استفاده می‌شود. در مقایسه با استات‌ها، مشتق TMS برای آنالیز کمی و بررسی استرول‌ها با روش GC-MS مناسب‌تر است. تکنیک GC/MS به طور معمول برای آنالیز استرول‌ها در ماتریکس‌های مختلف به کار برده شده است.

گیاه‌شناسی کدو

کدوی طبی[1] از خانوادهٔ کوکوربیتاسه، در گذشته به عنوان غذا و منبع روغن چراغ استفاده می‌شده و اکنون این گیاه به عنوان ماده خام تولیدات دارویی، استفاده می‌شود.

[1] Δ7

[1] *Cucurbita pepo* subsp. *pepo* var.*styriaca*

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

گیاهان این خانواده شامل گونه‌های یک ساله و چند ساله، علفی و چوبی، معمولاً دارای ساقه‌های بلند و پیچک‌دار هستند. این خانواده از نظر شیمیایی دارای تری ترپن‌های تتراسیکلیک[1]، ساپوئین‌ها[2]، اسیدهای چرب، فیتوسترول‌ها[3]، پروتیین‌ها و موادمعدنی (سلنیوم، مس و غیره) هستند. پژوهشگران از دانه‌های کدوی طبی، Δ۷ – فیتوسترول‌ها [۱۳،۱٤،۱۲] و انواع آن، یعنی اسپیناسترول، آوانسترول، استیگماسترول و استرول‌های دیگر [۱۵] گزارش کرده‌اند. در منابع میزان استرول‌های آزاد و پیوندی دانه‌های کدو، ۱ درصد گزارش شده است [۱٤،۱٦].

براساس شواهد باستان‌شناسی، این گیاه در حدود ۱٤ هزار سال پیش توسط بومیان مکزیک و آمریکای شمالی شناخته شده و کشت می‌شده است. این گیاه از قرون شانزدهم یا هفدهم میلادی به بعد به اروپا آورده شده و از نیمه دوم قرن هیجدهم میلادی به بعد به طور گسترده کشت شده است. در طب سنتی از دانه‌های این گیاه، به عنوان ضدکرم، تنیاکش و مدر استفاده می‌شده است [۱٦].

هدف این پژوهش، اندازه‌گیری استرول‌های نوع دلتا ۷ مانند استیگماسترول، کامپسترول و آوانسترول در روغن تخم کدو است. پژوهش‌های اندکی در مورد آنالیز این نوع استرول‌ها گزارش شده است [۱۵]. برای این کار نمونه‌های مورد نظر مشتق سازی شده و به مشتق تری متیل سیلان آن‌ها تبدیل می‌شوند [۲۰،۲۱،۲۲،۲۳،۲٤] و در ادامه با سیستم GC/MS آنالیز می‌گردند.

مواد و روش‌ها

مواد و معرف‌های به کار رفته

استیگماسترول، کامپسترول و آوانسترول استاندارد از شرکت مرک[4] و معرف‌های سیلانه کننده هگزا متیل دی سیلازان[5] و تری متیل کلروسیلان[6] به همراه تترا هیدروفوران[7] به عنوان حلال واکنش در حین سیلانه کردن از شرکت فلوکا[8] خریداری شدند. روغن کدو تنبل به عنوان منبع استرول از دو نمونه مجاری (استخراج از کپسول ژلاتینی روغن کدو با نام تجارتی پپونن محصول شرکت Natural Elixir) و ایرانی (حاصل از استخراج از دانه‌های کدوی کاشته شده در مزرعه تحقیقاتی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی واقع در هلجرد کرج) به دست آمد.

دستگاه‌ها

دستگاه کروماتوگرافی گازی- طیف‌سنج جرمی (GC/MS) به کار رفته در این پژوهش مدل TraceMS، ساخت شرکت Thermofinnigan، مجهز به سیستم تزریقی از نوع split/splitless و مدل یونیزاسیون بمباران الکترونی بوده و از کتابخانه جرمی[1] مربوط به NIST برخوردار بود. برای آنالیز ترکیبات موردنظر از ستون CP-Sil 8 به طول ۲۵ متر با قطر داخلی ۰/۳۲ میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۵۲ میکرومتر استفاده گردید. دمای محل تزریق، دمای Interface و دمای محل یونیزاسیون به ترتیب روی ۲۵۰، ۲۵۰ و ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم گردید. برنامه دمایی ستون GC با دمای اولیه ۸۰ درجه سانتی‌گراد شروع، و به مدت ۲ دقیقه در این دما نگه داشته شد، سپس دمای ستون با شیب ۱۰ درجه سانتی‌گراد در دقیقه به دمای ۲۸۰ درجه سانتی‌گراد رسیده و به مدت ۱۸ دقیقه در این دما ثابت ماند. نسبت Split تزریق روی ۱۰ تنظیم گردید. عمل یونیزاسیون نیز با انرژی ev ۷۰ انجام گرفت.

روش استخراج

۵۰۰ گرم بذر کدوی به دست آمده از گیاه پس از جمع‌آوری و شستشو، در دسیکاتور و تحت خلا و دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲٤ ساعت قرار داده شده و بعد از آسیاب کردن، ۲۰۰ گرم از آن با اسباب سوکسله و با حلال متیلن کلراید به مدت ۸ ساعت استخراج شد. سپس توسط دستگاه تقطیر در خلاء دوار در دمای زیر ٤۰ درجه سانتی‌گراد، حلال کاملاً جدا گردید.

[1] Tetracyclic triterpenes
[2] Saponins
[3] Phytosterols
[4] Merck
[5] HMDS
[6] TMCS
[7] THF
[8] Fluka

[1] MS Library

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

به منظور جلوگیری از تاثیر عوامل محیطی موثر در هیدرولیز و اکسیداسیون، روغن تحت اتمسفر ازت، تاریکی و دمای ۸ – ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. ۵۰ گرم روغن تهیه شده به بالن ۵۰۰ میلی‌لیتری مجهز به کندانسور رفلاکس و هم‌زن انتقال داده شد. ۵۰ میلی‌لیتر محلول ۱۰ درصد هیدروکسید سدیم در اتانول به آن افزوده و واکنش در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد تا زمانی که مخلوط کاملاً شفاف شود ادامه یافت.

مشتق‌سازی نمونه‌های استاندارد

برای این کار محلول‌هایی با غلظت ۱۰ الی ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر از هر کدام از استرول‌های استاندارد در حلال تتراهیدروفوران[1] تهیه گردید. سپس روی ۲ میلی‌لیتر از این محلول‌ها مقدار اضافی از هگزا متیل دی سیلازان[2] و تری متیل کلروسیلان[3] اضافه شد. با توجه به حساس بودن این معرف‌ها به رطوبت، حلال‌های به کار برده شده عاری از هرگونه رطوبت بوده و واکنش‌ها در زیر اتمسفر نیتروژن انجام گرفت. محلول به مدت ٤ ساعت درحالی که به هم زده می‌شد، در دمای ٦٥ درجه سانتی‌گراد، رفلاکس گردید. در نهایت محلول‌های به دست آمده در دمای ۸ – ۲ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و یک میکرولیتر از آن به GC/MS تزریق گردید (شکل شماره ۱).

مشتق‌سازی نمونه‌های روغن تخم کدو

برای این کار ۲ گرم از روغن‌های موردنظر برداشته شده و در بالنی ریخته شد. بدون اینکه عمل استخراجی روی این نمونه‌ها صورت گیرد معرف‌های سیلانه کننده به اندازه مازاد روی این نمونه‌ها اضافه گردید. در ادامه مثل نمونه‌های استاندارد، دما روی ٦٥ درجه سانتی‌گراد تنظیم و به مدت ٤ ساعت عمل رفلاکس در حال هم زدن انجام گردید. پس از پایان یافتن عمل رفلاکس، محلول‌ها با عمل سرریز از رسوبات حاصله جدا و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت ۱ میکرولیتر از این نمونه‌ها به GC/MS تزریق گردید.

بررسی اثر مشتق‌سازی روی فراریت

با توجه به اینکه تعدادی از استرول‌های گیاهی بدون عمل مشتق‌سازی نیز می‌توانند فرار شده و با GC/MS آنالیز گردند، بنابراین محلول‌های استاندارد تهیه شده با غلظت ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر به طور مستقیم و بدون عمل مشتق‌سازی در GC/MS تزریق گردیدند. یک گرم از روغن‌های مورد پژوهش نیز با تترا هیدروفوران تا حجم ۱۰ میلی‌لیتر رقیق شدند. در نهایت یک میکرولیتر از این محلول‌ها به GC/MS تزریق گردیده و با نتایج محلول‌های مشتق سازی شده مقایسه شدند.

نتایج

ابتدا با استفاده از نمونه‌های استاندارد، منحنی کالیبراسیون برای هر کدام از استرول‌ها به طور مجزا به دست آمد و دامنهٔ خطی، حد تشخیص روش آنالیز، حد تشخیص کمی، ضریب همبستگی و انحراف استاندارد نسبی هر ترکیب محاسبه شد. برای تعیین مقدار استرول‌های نمونه‌های واقعی از این منحنی‌ها استفاده گردید.

آنالیز نمونه مجاری

نتیجه به دست آمده از آنالیز روغن دانه کدوی نمونه مجاری سه استرول استیگماسترول، کامپسترول و آوانسترول را نشان می‌دهد (شکل شماره ۲). آنالیز کمی این سه ماده در مقایسه با نمونه‌های استاندارد بر حسب میلی‌گرم استرول در گرم روغن به ترتیب ۰/۸۲، ۰/۷۸ و ۰/۸٤ محاسبه شدند. مقدار استرول‌ها در مقایسه با هم دیگر تقریباً یکسان بودند.

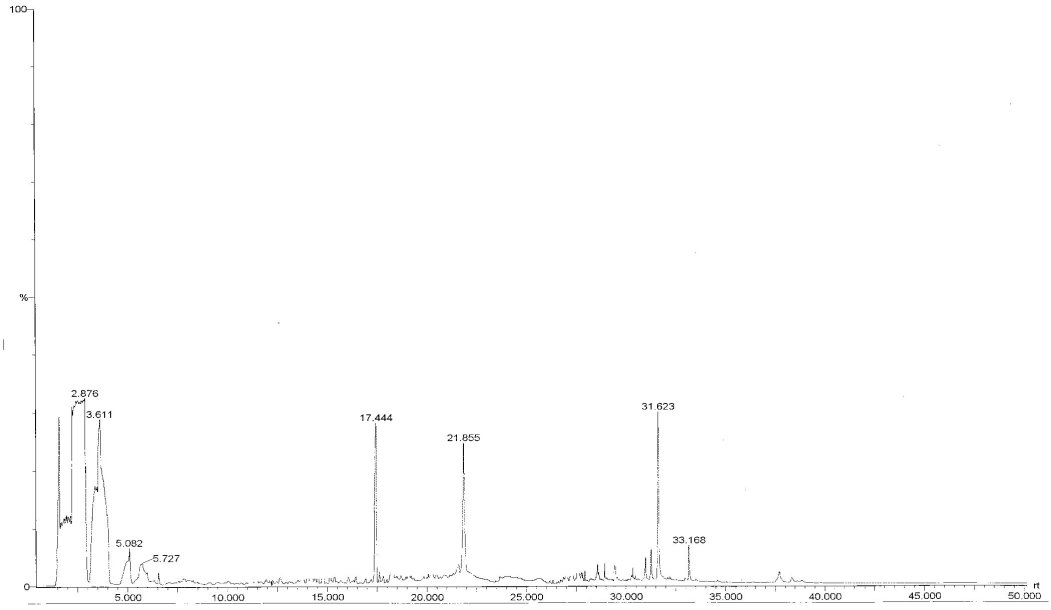
آنالیز نمونه ایرانی

روغن تخم کدوی نمونه ایرانی نیز به طرز مشابه به دستگاه GC تزریق گردید. نتایج به دست آمده تقریباً مشابه نمونه مجاری بوده و دو استیگماسترول و کامپسترول در این نمونه مشاهده می‌گردد ولی آوانسترول به دلیل غلظت پایین در این نمونه دیده نمی‌شود (شکل شماره ۳)، فرمول ساختاری این سه استروید در شکل شماره ٤ نشان داده شده است.

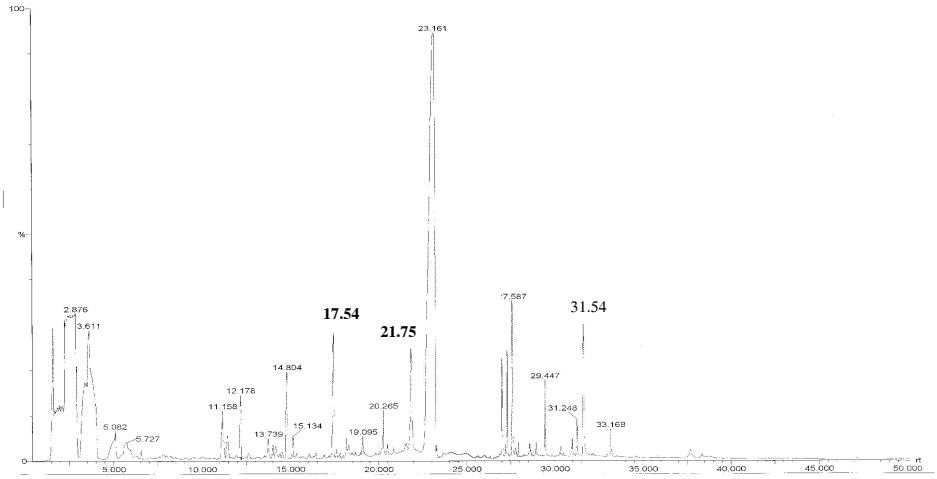
[1] THF
[2] HMDS
[3] TMCS

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

مقدار هر کدام از استرول‌ها در مقایسه با نمونه استاندارد محاسبه شد که نتایج آن‌ها بر حسب میلی‌گرم استرول در گرم روغن در جدول شماره ۱ جمع‌آوری شده است. در این نمونه مقدار کامپسترول از استرول دیگر زیادتر است.



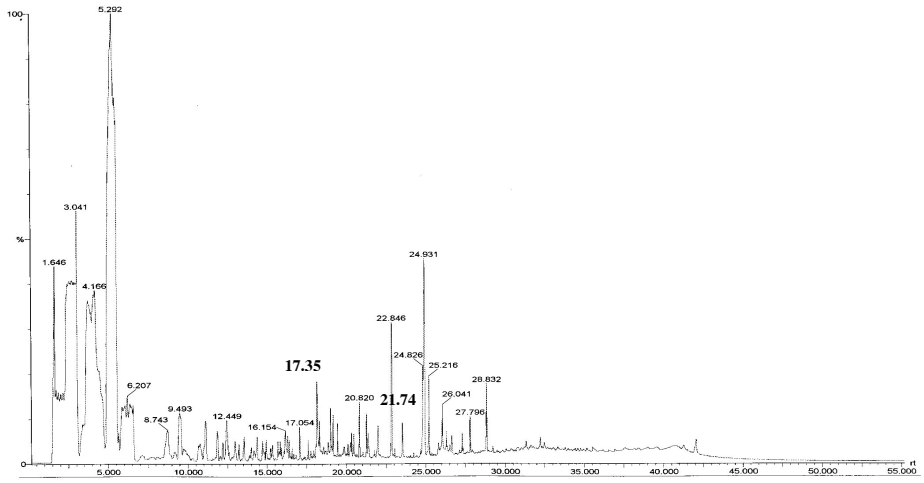
شکل شماره ۱- کروماتوگرام نمونه‌های استاندارد با زمان‌های بازداری ۱۷/٤٤٤، ۲۱/۸۵۵ و ۳۱/٦۲۳ به ترتیب برای کامپسترول، استیگماسترول و آوانسترول



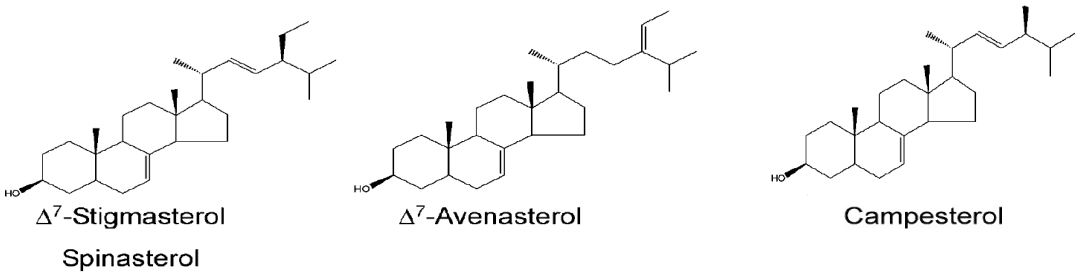
شکل شماره ۲- کروماتوگرام نمونه روغن مجاری مشتق شده با زمان‌های بازداری ۱۷/۵٤۷، ۲۱/۷۵۹ و ۳۱/۵٤۵ به ترتیب برای کامپسترول، استیگماسترول و آوانسترول

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]



شکل شماره ۳- کروماتوگرام نمونه ایرانی مشتق شده با زمان‌های بازداری ۱۷/۳۵٤و ۲۱/۷٤۲ به ترتیب برای کامپسترول و استیگماسترول (آوانسترول در نمونه ایرانی شناسایی نشد)



شکل شماره ٤- فرمول ساختاری استروییدها

جدول شماره ۱- مقدار استرول‌های موجود در نمونه روغن تخم کدوی ایرانی

استرول	مقدار استرول (روغن mg/gr)
کامپسترول	۰/٦۷
استیگماسترول	۰/۳۸
آوانسترول	-

جدول شماره ۲- مقایسه مقدار استرول‌های موجود در نمونه روغن تخم کدوی ایرانی و مجاری

استرول	مقدار استرول (mg/gr)		زمان بازداری استرول استاندارد مشتق شده
	نمونه ایرانی	نمونه مجاری	
کامپسترول	۰/٦۷	۰/۸۲	۱۷/٤٤٤
استیگماسترول	۰/۳۸	۰/۷۸	۲۱/۸۵۵
آوانسترول	-	۰/۸٤	۳۱/٦۲۳

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]
[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

بحث

تا به حال گزارشی از آنالیز استرول‌های موجود در گیاه *Cucurbita pepo* ایرانی ارایه نشده است. قبلاً از دانه‌های نمونهٔ اروپایی، ۷Δ – فیتوسترول‌ها و انواع آن، یعنی اسپیناسترول، آوانسترول، استیگماسترول و استرول‌های دیگر [۱۵] گزارش شده بود. نتایج به دست آمده از آنالیز نمونه گیاه ایرانی و داروی رسمی اروپایی (نمونه مجاری) در جدول شماره ۲ آورده شده است. مقایسه این نتایج نشان می‌دهد که نمونه ایرانی حاوی مقادیر قابل مقایسه‌ای از کامپسترول در مقایسه با نمونه مجاری است. این جدول هم‌چنین نشان می‌دهد که استیگماسترول موجود در نمونه ایرانی کمتر از نمونه مجاری بوده و آوانسترول در مقایسه بسیار اندک است. نتیجه کلی آن‌که اگر واقعاً استرول‌های موجود در روغن دانه کدو مسئول اثر دارویی آن باشند (آن‌طور که در منابع اشاره شده [۱۲،۱۳،۱٤])، لازم است روی گیاه کاشته شده در ایران تمهیداتی اندیشیده شود تا میزان استروییید آن افزایش یابد و یا آنکه روغن استخراج شده با استرول‌های گیاهی غنی‌سازی شود.

منابع

1. Goad J. In: Charlewood BV and Banthorpe DV. *Methods in Plant Biochemistry.* Vol. 7. Academic Press. London. 1991, p: 369.

2. Salt S, Xu G, Patterson J and Adler. Diversity of sterol biosynthetic capacity in the Caryophyllidae. *Lipids* 1991; 26: 604-613.

3. United States Department of Agriculture Food Composition. Website: http:/www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR13 / sr13.html, Release No. 13 (1999).

4. Evershed RP, Male VL and Goad LJ. Strategy for the analysis of steryl esters from plant and animal tissues. *J. Chromatogr.* 1987; 400: 187-205.

5. Abidi SL, List GR and Rennick KA. Effect of genetic modification on the distribution of minor constituents in canola oil. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 1999; 76: 463-471.

6. Mohamed HMA and Awatif II. The use of sesame oil unsaponifiable matter as a natural antioxidant. *Food Chem.* 1998; 62: 269-276.

7. Moreau RA, Powell MJ and Hicks KB. Extraction and quantitative analysis of oil from commercial corn fiber. *J. Agric. Food Chem.* 1996; 44: 2149-2154.

8. Akihisa T, Kinura Y, Roy K, Ghosh P, Thakur S and Tamura T. Triterpene alcohols and 3-oxo steroids of nine leguminosae seeds. *Phytochem.* 1994; 35: 1309-1313.

9. Akihisa T, Nishimura Y, Nakamura N, Roy K, Ghosh P, Thakur S and Tamura T. Sterols of *Cajanus cajan* and three other Leguminosae seeds. *Phytochem.* 1992; 31: 1765-1768.

10. Claasen FW, Haar CV, Beek TA, Dorado J, Martinez MJ and Alvarez RS. Rapid analysis of apolar low molecular weight constituents in wood using high pressure liquid chromatography with evaporative light scattering detection. *Phytochem. Anal.* 2000; 11: 251-256.

11. Heupel RC. Varietal similarities and differences in the polycyclic isopentenoid composition of sorghum. *Phytochem.* 1985; 24: 2929-2937.

12. Tsaknis J, Lalas S and Lazos E S. Characterization of crude and purified pumpkin seed oil**:** *Grasas y Aceites* 1997; 48 (5): 267-272.

13. Bombardelli E and Morazzoni P. *Curcubita pepo* L. *Fitoterapia* 1997; 68(4).

14. Wichtl M and Bisset NG. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. Stuttgart: Medpharm Scientific Publishers. 1994; pp: 170-2.

15. Nakić SN, Rade D, Škevin D, Štrucelj D, Mokrovčak Ž and Bartolić M. Chemical characteristics of oils from naked and husk seeds

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]

of *Cucurbita pepo* L. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* 2006; 108 (11), 936-943.

16. Schulz V, Hansel R and Tyler VE. Rational Phytotherapy. Berlin: Springer. 1998; pp: 229-230.

17. Carbin B, Larsson B and Lindhal O. treatment of benign prostate hyperplasia with phytosterols. *Brit. J. Urol*. 1990; 66(6): 639-41.

18. British Herbal Medicine Association. *British Herbal Pharmacopoeia* (BHP). Exeter. 1996.

19. Iranian Herbal Pharmacopoeia Committee, *Iranian Herbal Pharmacopoeia*. Tehran: Iran. 2002; p: 615.

20. Ghassempour A, Nojavan S, Talebpour Z, Amiri A and Najafi N. Monitoring of the fermentation media of citric acid by the trimethylsilyl derivatives of the organic acids formed. *J. Agric. Food Chem.* 2004; 52: 6384-6388.

21. Sivakumar G, Briccoli Bati C, Perri E and Uccella N. Gas chromatography screening of bioactive phytosterols from mono-cultivar olive oils. *Food Chem.* 2006; 95: 525–528.

22. Liu WH, Ding B, Ruanc XM, Xuc HT, Yang J and Liu SM. Analysis of free and conjugated phytosterols in tobacco by an improved method using gas chromatography–flame ionization detection. *J. Chromatogr. A*, 2007; 1163: 304–311.

23. Cunha SS, Fernández JO, Beatriz M and Oliveira PP. Quantification of free and esterified sterols in Portuguese olive oils by solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 2006; 1128: 220–227.

24. Lagarda MJ, Garc´ıa-Llatas G and Farr´e R. Analysis of phytosterols in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006; 41: 1486–1496.

[Downloaded from jmp.ir on 2026-06-11]

[DOR: 20.1001.1.2717204.2007.6.23.10.5]