تحديد المحتوى الستيرولي في بعض الزيوت النباتيّة ودراسة فعاليتها الحيويّة كمضادات أكسدة

جمال الحليب*، أحمد أبو حجر**، إبراهيم حساني***

*الكيمياء التحليليّة، كلية العلوم، جامعة إدلب

**الكيمياء الغذائيّة والتحليليّة، كلية الصيدلة، جامعة إدلب

الكيمياء التطبيقيّة، كلية العلوم، جامعة المعارف للعلوم التطبيقيّة

***الكيمياء الحيويّة، كلية الصيدلة، جامعة إدلب

https://orcid.org/0009-0000-5912-22 46

الملخص:

حظيت الستيرولات النباتيّة الموجودة في النباتات بوصفها مكونات طبيعيّة باهتمام متزايد لارتباط استهلاكها بتقليل خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية والسرطان. طُبقت إجراءات الاستخلاص إضافةً إلى طرائق الفصل للمركبات الستيرولية في 11 عينة من الزيوت النباتيّة المُستحصل عليها من السوق المحلي. حُدّد كل من براسيكاستيرول وكامبيستيرول وستغماستيرول وبيتا- سيتوستيرول كمياً باستخدام تقانة HPLC-DAD. أُستُعمل طور متحرك مزيج من (أسيتونتريل:0.1% حمض الفورميك في الماء) بنسبة حجمية %(20:80). وُجد أن بيتا- سيتوستيرول هو الستيرول السائد في جميع الزيوت التي حُللت، ومن بين العينات المُختبرة أظهر زيت زهرة الربيع المسائيّة أعلى محتوى إجمالي من الستيرولات، ما يُشير إلى قيمته الغذائيّة والعلاجيّة المُحتملة نظراً لمحتواه الغني بالستيرولات. كما قُيمت فعالية الستيرولات النباتيّة المدروسة بوصفها مضادات للأكسدة بطريقة طيفيّة سريعة تعتمد استعمال كاشف 2،2- ثنائي فينيل -1- بيكريل هيدرازيل (DPPH) الذي يمتلك قدرة كابحة للجذور الحرة، والجدير بالذكر أن مُستخلص زيت جوز الهند أظهر قيمة IC50 أعلى بكثير 2643.40 $\mu g.mL^{-1}$ مُقارنةً بمُستخلص زيت زهرة الربيع المسائيّة 134.95 $\mu g.mL^{-1}$، ما يُشير إلى نشاط مضاد للأكسدة أقوى في زيت زهرة الربيع المسائيّة تحت ظروف الاختبار.

الكلمات المفتاحية: الستيرولات النباتيّة، كروماتوغرافيا سائلة عالية الأداء ذات الطور المعكوس، كاشف DAD، القدرة الكابحة للجذور الحرة، الفعاليّة المضادة للأكسدة، التثبيط النصفي IC50

377 تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

"Determination of Sterol Content in Some Vegetable Oils and Study of their Biological Activity as Antioxidants"

Jamal. Al-haleb [*], Ahmed. Abo Hjer **, Ibrahim W. hasani ***

[*]Analytical Chemistry, Faculty of Science, University of Idlib
[**] Food and Analytical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Idlib
Applied Chemistry, Faculty of Science, Maaref University of Applied Sciences
****Biochemistry, Faculty of Pharmacy, University of Idlib**

Abstract:

Plant-derived phytosterols, as naturally occurring constituents in plants, have attracted increasing attention due to the association between their consumption and a reduced risk of cardiovascular diseases and cancer. Extraction procedures and separation methods for sterol compounds were applied to eleven vegetable oil samples obtained from the local market. Brassicasterol, Campesterol, Stigmasterol, and β-Sitosterol were quantitatively determined using HPLC-DAD. The mobile phase consisted of a mixture of (Acetonitrile : 0.1% Formic acid in Water) in a ratio of (80:20)% v/v. β-Sitosterol was found to be the predominant sterol in all analyzed oils. Among the tested samples, evening primrose oil exhibited the highest total sterol content, indicating its potential nutritional and therapeutic value due to its sterol-rich composition. Furthermore, the antioxidant activity of the investigated phytosterols was evaluated using a rapid spectrophotometric method based on 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging. Notably, the coconut oil extract exhibited a significantly higher IC_{50} value (2643.40 $\mu g.mL^{-1}$) compared with the evening primrose oil extract (134.95 $\mu g.mL^{-1}$), indicating a stronger antioxidant activity for evening primrose oil under the applied experimental conditions.

Keywords: Phytosterols, RP-HPLC, Detector (DAD), Free radical scavenging capacity, Antioxidant activity, The half-maximal inhibitory concentration (IC50)

1- المقدمة: Introduction

تُعدّ الستيرولات النباتيّة مركبات كيميائيّة ستيرويدية طبيعيّة تنتمي إلى عائلة التربينات Terpenes، وتوجد بشكل رئيس في النباتات، خصوصاً في الزيوت النباتيّة والبذور والمكسرات. تتشابه هذه المركبات في بنيتها الكيميائيّة مع الكوليستيرول الحيواني، لكنها تختلف عنه في طبيعة السلسلة الجانبيّة، وهو ما يمنحها خصائص ووظائف حيويّة مميزة. ومن بين هذه الستيرولات الأكثر شيوعاً وانتشاراً في الطبيعة نذكر بيتا- سيتوستيرول β-Sitosterol، وكامبيستيرول Campesterol، وستغماستيرول Stigmasterol. توجد هذه المركبات بتراكيز مختلفة في الزيوت النباتيّة، وإلى جانب دورها الغذائي تُستعمل هذه المركبات بوصفها مكونات فعّالة في بعض المستحضرات الصيدلانيّة والمكملات الغذائيّة(Piironen et al., 2000)(Ostlund Jr, 2002). نظراً لاحتواء العديد من المكسرات على الستيرولات النباتيّة، فإنها تُعدّ مصدراً مهماً للمركبات الحيويّة الفعّالة والعناصر الغذائيّة، ويُعدّ الفستق الحلبي من أبرز هذه المكسرات، إذ أظهرت الدراسات أن استهلاكه يُسهم في تقليل خطر الإصابة بأمراض القلب والأوعية الدموية، إضافةً إلى أثره في خفض مستويات الكوليستيرول الكلي TC وكوليستيرول البروتين الدهني منخفض الكثافة LDL-C المعروف بالكوليستيرول الضار(Towne, 2014). كذلك بيّنت دراسات أخرى أن الأنظمة الغذائيّة الغنيّة بالستيرولات فعّالة في خفض الكوليستيرول الكلي وتراكيز الكوليستيرول الضار LDL-C لدى الأطفال المصابين بفرط شحميات الدم، وذلك من دون ظهور آثار جانبيّة سلبية كبيرة(Garoufi et al., 2014). وقد وُجد أن استهلاك مكملات الستيرولات النباتيّة بجرعة يومية تتراوح بين gr (1.6-2.5) يؤدي إلى انخفاض في الغليسيريدات الثلاثيّة TAGs بنسبة تقارب 6% (Demonty et al., 2013)، كما أن تناول gr (2-3) يومياً من هذه المركبات قد يُخفّض مستويات الكوليستيرول الضار بنسبة تتراوح بين %(5-15)(Rawal et al., 2015). كما أشارت بعض الدراسات إلى أن تناول الستيرولات على شكل كبسولات Capsules بجرعة يومية تتراوح بين gr (1-3) مع وجبات الطعام يؤدي إلى انخفاض في مستويات LDL-C بصورة مشابهة لتأثير الأغذية المُدعمة بالستيرولات(Shaghaghi et al., 2013). إضافةً إلى ذلك للستيرولات النباتيّة أثرٌ مهمٌ في تنظيم عمليات الأكسدة واستقلاب الدهون في الدم، كما أظهرت خصائص مضادة للسرطان(Raju et al., 2013)، كما ولها أثر مهم أيضاً في الصناعات الغذائيّة والدوائيّة

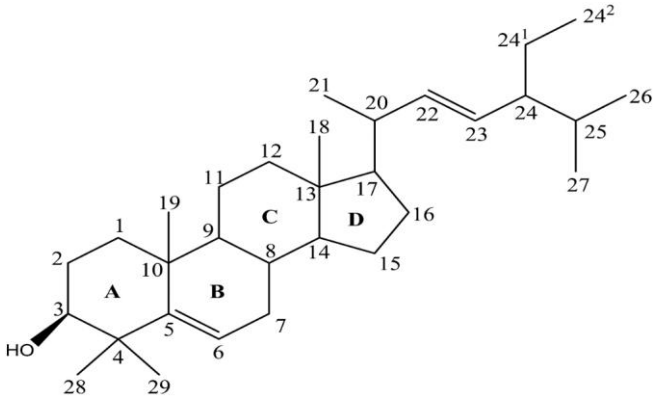
تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

لكونها تُعَد البادئات لتخليق العديد من الجزيئات الحيويّة مثل الإرغوستيرول الذي يُعدّ الطليعة الحيويّة لفيتامين D، كذلك في تصنيع مركبات دوائيّة مثل الكورتيزون، والهرمونات الفلافونية(Hartmann, 1998). كما أن لها وظيفة وقائية في تقليل مخاطر الإصابة بأنواع مختلفة من السرطان، مثل سرطان القولون والمستقيم والثدي، فضلاً عن تعزيز الوظيفة المناعيّة للجسم، وإظهار تأثيرات مضادة للالتهابات، ومضادة للحمى(Bouic, 2001).

لم تُسجَّل أي آثار جانبيّة مرتبطة باستهلاك الستيرولات النباتيّة، باستثناء حالات نادرة لدى المرضى المصابين باضطراب وراثي يُعرف باسم السيتوستيروليميا Sitosterolemia، وهو ناجم عن طفرة في جيني ABCG5/ABCG8 المسؤولَين عن ترميز بروتينات ناقلة في الأمعاء والكبد، ما يؤدي إلى زيادة امتصاص الستيرولات وانخفاض طرحها عبر الصفراء(Calandra et al., 2011)، وقد عُدّت التراكيز المرتفعة من الستيرولات النباتيّة في هذه الحالات عامل خطر للإصابة بتصلب الشرايين المُبكر(Sudhop et al., 2002). بناءً على ذلك صرّحت هيئة الغذاء والدواء الأمريكية FDA بسلامة هذه المركبات، لكنها أوصت في الوقت ذاته بتوسيع الدراسات المستقبليّة لتوضيح آثارها الصحية وفوائدها، وأُدرجت من قِبل FDA ضمن قائمة المكونات الغذائيّة الفعالة(FDA, 2010).

أكد برنامج التسجيل التطوعي لمستحضرات التجميل VCRP التابع لـ FDA على مأمونية استعمال الستيرولات بوصفها مكوّناً فعّالاً في مستحضرات التجميل. وفقاً لتقارير البرنامج فقد سُجل 177 منتجاً للبشرة تحتوي على الستيرولات ضمن تركيبتها، كما تُستعمل الستيرولات في أحمر الشفاه بنسبة 5%، ومزيلات التعرق بنسبة تصل إلى 0.06%، ومكياج العيون بنسبة 2%، وفي منتجات الشعر 2.4%، وصابون الاستحمام والمنظفات 0.005%، أيضاً يستعمل في بودرة الوجه بنسبة تصل إلى 0.05%. هذه النتائج تعزز من سلامة الستيرولات وتؤكد على إمكانية توظيفها بوصفها مكوّناً فعّالاً في الصناعات التجميليّة، مع ضمان التوافق مع متطلبات السلامة والاستعمال الآمن للمستهلك (Belsito et al., 2013). وفقاً لتوصيات IUPAC (1989) الستيرولات عبارة عن مركبات أليفاتيّة عالية الوزن الجزيئي، مشتقة حيوياً من السكوالين Squalene، تحتوي على نواة الستيرول المميزة بأربع حلقات متصلة Tetracyclic Perhydro-Cyclopentano-Phenanthrene مُرقمة بـ (A, B, C, D) مع ترقيم الكربون القياسي وتحمل مجموعة هيدروكسيل عند ذرة

الكربون C-3 ثلاث حلقات فيها سداسية (A, B, C) والحلقة الرابعة خماسية (D) كما في الشكل (1)، ولكنها تختلف في السلسلة الجانبية عند ذرة C-24 وموقع وتركيب الروابط الثنائية غير المشبعة والتدوير البصري حول ذرة الكربون غير المتناظرة (Azadmard-Damirchi & Dutta, 2010).



الشكل (1): البنية الكيميائيّة العامة للستيرولات النباتيّة وفقاً لنظام IUPAC

طُوِّرت مجموعة من الطرائق التحليليّة لفصل وتحديد الستيرولات في المُستخلصات العشبيّة بتقانات كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة TLC و^{13}C-NMR و^{1}H-NMR والتحليل الطيفي بالأشعة تحت الحمراء IR (Mishra *et al*., 2016) (Potawale *et al*., 2014) (Ahmed *et al*., 2021) (Chakraborty *et al*., 2023)(Suhartati & Yandri, 2021) (Sangwan, 2019)(Okoro *et al*., 2017). كما طُوّرت العديد من طرائق HPLC بالاقتران مع كاشف UV في المُستخلصات النباتيّة والمكملات الغذائيّة (Solich *et al*., 2017) (Khonsa *et al*., 2022) (Vemuri *et al*., 2018)(Hryniewicka *et al*., 2020) (Lee *et al*., 2015)، وفي الزيوت النباتيّة (Qi *et al*., 2019)، وكذلك في البذور والمكسرات(Saleh, 2021) (Delgado-Zamarreno et al., 2009) (Kornsteiner-krenn *et al*., 2013). كما حُددت الستيرولات في الزيوت النباتيّة بتقانة HPLC بالاقتران مع كاشف الفلورة FLD (Ito *et al*., 2017). أُستعمل (Mo *et al*., 2013) تقانة HPLC-MS مع كاشف التأين الكيميائي APCI لتحديد ستة ستيرولات في 14 زيتاً غذائياً، وأيضاً كاشف HPLC-ELSD (Warner & Mounts, 1990). كذلك حُددت الستيرولات من زيوت بذور اللفت(Pop *et al*., 2012)، وأيضاً في البذور والمكسرات والحبوب بكاشف HPLC-MS (Vecka *et al*., 2019). استعملت تقانة GC-MS لتحديد الستيرولات في الزيوت النباتيّة والمكسرات والمكملات الغذائية (Deme

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

(Matthäus & Özcan, 2020)(Li *et al*., 2023)(*et al*., 2021، وأيضاً أُستعمل كاشف GC-FID (Silva *et al*., 2020)(Islam *et al*., 2017).

1-1 الأجهزة والمواد المستعملة: Apparatus and Chemical Materials Used

1.1-1 الأجهزة والأدوات: Apparatus and Tools

– جهاز الكروماتوغرافيا السائلة عالية الأداء $UHPLC^+$ المُزود بكاشف DAD-3000 (190 - 800) nm من إنتاج شركة Thermo Scientific نموذج Dionex UltiMate 3000 $UHPLC^+$ (RS). مُزوّد بمضخة تحليليّة وحاقن آلي وعمود فصل كروماتوغرافي C8 (250×4.6 mm, 5 µm) مُطعم كيميائيّاً على سيليكا مسامية وذو حجم مسامات 120 Å.

– جهاز التحليل بطيف الامتصاص الضوئي المرئي وفوق البنفسجي UV-Vis Spectrophotometer ثنائي الحزمة الضوئيّة، من إنتاج شركة PG Instruments البريطانيّة نموذج $T\ 80^+$ يعمل ضمن مجال nm (190-1100) بدقة قياس nm 0.3±، مُزوّد بحاسوب وطابعة لإظهار النتائج باستعمال برنامج UVWin5 Software.

– جهاز المبخر الدوار Rotary Evaporator سرعته rpm/min (0-310)، درجة حرارة الحمام المائي تصل °C(1±99) إنتاج شركة LABTECH الصينيّة نموذج XD-5000.

– جهاز استخلاص وفق نظام سوكسليه Soxhlet Extractor من الزجاج البورو سيليكات من إنتاج شركة YHCHEM الصينيّة نموذج SE-2000.

– حمام مائي يعمل على الأمواج فوق الصوتية Ultra Sonic من إنتاج شركة Wincom الصينيّة نموذج WT-615HTD.

– ميزان تحليلي حساس بدقة 0.1 mg وسعة قياس قصوى 220 gr من إنتاج شركة Sartorius الألمانيّة نموذج QUINTIX224-1S.

– ماصات حجميّة دقيقة آلية Micropiptte متغيرة الحجم ذات سعات مختلفة إنتاج شركة JOANLAB الصينيّة، وهذه الماصات يمكن التحكم بحجمها عن طريق معدلة الحجم.

– مرشحات ميكرونية ذات أبعاد 0.45 µm من إنتاج شركة ISOLAB الألمانيّة.

2.1-1 المواد الكيميائيّة المستعملة: Chemical Materials

استُعملت في هذا البحث مواداً كيميائيّة عالية النقاوة من درجة GR، والماء المُستعمل ثنائي التقطير في جميع مراحل التحضير.

أُستعمل مزيج ستيرولي عياري ذي النقاوة 95% ≤ والمكوّن من (بيتا- سيتوستيرول (β-SS) 70.69%، ستغماستيرول (STS) 9.12%، كامبيستيرول (CAS) 14.55%، براسيكاستيرول (BRS) 0.82%) من إنتاج شركة Salus.

كذلك استُعملت مواد عيارية إفرادية لكل من مكونات المزيج السابق بنقاوة 98 ≤ من إنتاج شركة Solarbio.

كذلك أُستعمل الكاشف DPPH من إنتاج شركة Merck، أما الزيوت النباتيّة فقد تم الحصول عليها من الأسواق السورية.

2-1 تحضير المحاليل: Preparation of Solutions

1.2-1 المحاليل العيارية الأم للستيرولات النباتيّة:

حُضّرت أربعة محاليل عيارية أم من الستيرولات النباتيّة العيارية بتركيز 3 $mg.mL^{-1}$ بإذابة الوزن اللازم من كل مادة عيارية (حُسب على أساس الوزن الجاف) في الميتانول للحصول على التركيز المطلوب. ثم حُفظت المحاليل المُحضّرة في عبوات محكمة الإغلاق لحين الاستعمال.

2.2-1 محلول المزيج الستيرولي العياري:

وُزنَت كمية 70.73 mg من المزيج العياري، ثم وُضعت في دورق حجمي سعة 50 mL، وأُضيف إليها 20 mL من الميتانول وحُرِكت جيداً حتى تمام الانحلال، ثم أُكمِل الحجم بالميتانول حتى الدائرة العيارية، ثم وُضِع المحلول في جهاز الأمواج فوق الصوتيّة لمدة 15 min حتى تمام الانحلال، وبذلك نحصل على التراكيز: (11.6, 205, 129, 1000) $\mu g.mL^{-1}$ لـ β-SS وSTS وCAS وBRS على الترتيب، ويُحفظ المحلول في عبوة محكمة الإغلاق لحين الاستعمال.

3.2-1 محلول الكاشف 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH):

يُذاب 24 mg من الكاشف في 1000 mL بالميتانول للحصول على تركيز 0.06 mM.

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

3-1 استخلاص الستيرولات من الزيوت النباتيّة:

Extraction of Sterols from Vegetable Oils

استُخلصت الستيرولات من عينات الزيوت النباتيّة بالاعتماد على الطريقة القياسيّة(ISO, 2000)، والمتقاطعة مع طريقة تحديد المواد غير القابلة للتصبين الواردة في دستور الأدوية البريطاني(British Pharmacopoeia," 2024")، وذلك مع إدخال بعض التعديلات الطفيفة على خطوات العمل، كما يلي:

تُصبن 5 gr من عينة الزيت مع 50 mL من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الكحولي 2 M وتُوصل مع جهاز سوكسليه وتُغلى المحتويات بلطف لمدة ساعة واحدة. بعد التبريد تُغسل محتويات الحوجلة إلى قمع الفصل مرة بالماء، ثم تُغسل بثنائي إيتيل إيتر. يُستخلص محلول التصبن الكحولي المائي مرتين وفي كل مرة يستعمل 100 mL ثنائي إيتيل إيتر، ويتم تجميع مُستخلصات الإيتر الثلاثة في قمع فصل واحد يحتوي على 40 mL ماء. يُغسل المحلول الإيتري مرتين متتابعتين بـ 40 mL من الماء لكل مرة، ثم بـ 40 mL من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المائي 30 gr/L، ثم بـ 40 mL من الماء، ومرة أخرى بـ 40 mL من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم المائي، ثم مرتين على الأقل بـ 40 mL من الماء. تُنقل الخلاصة الإيترية إلى دورق حجمي مُجفف مُسبقاً ويُضاف 6 mL من الأسيتون، ويتم تبخير المذيب المتطاير تماماً في تيار لطيف من الهواء، ثم تحويلها إلى حمام مائي درجة حرارته 60°C تقريباً. يُجفّف المتبقي بالمبخر الدوار حتى ثبات الوزن بدرجة حرارة لا تزيد عن (100-105)°C ويُحفظ عند الدرجة 4°C لحين الاستعمال.

4-1 حساب تراكيز الستيرولات المدروسة في عينات الزيوت النباتية:

Calculation of Sterol Concentrations in Vegetable Oil Samples

بعد تسجيل مساحة القمة الكروماتوغرافيّة الموافقة للستيرول العياري المدروس، تُعوَّض قيمة المساحة في معادلة المنحني العياري الخاص بالستيرول قيد الدراسة، ويُحسب على أساسها التركيز مُقدَّراً بواحدة $\mu g.mL^{-1}$ وهو تركيز المحلول المُقاس ذي الحجم 50 mL. يمكن بعد ذلك تحويل التركيز إلى واحدة µg/50 mL بضرب القيمة الناتجة من المعادلات بالعدد (50)، وذلك للتحويل من mL إلى 50 mL، وهو ما يعادل الكمية المُستخلصة في 5 gr زيت. وأخيراً يُحوَّل التركيز ليُعبَّر عنه بواحدة mg/100 gr.

حُسب تركيز β-SS بواحدة $\mu g.mL^{-1}$ من العلاقة الآتية:

العلاقة (1) $C_X=\frac{Y-40330}{5604.9}$

كذلك تم حساب تركيز STS بواحدة $\mu g.mL^{-1}$ من العلاقة:

العلاقة (2) $C_X=\frac{Y-71639}{9396.4}$

وتركيز CAS بواحدة $\mu g.mL^{-1}$ من العلاقة:

العلاقة (3) $C_X=\frac{Y-218648}{10354}$

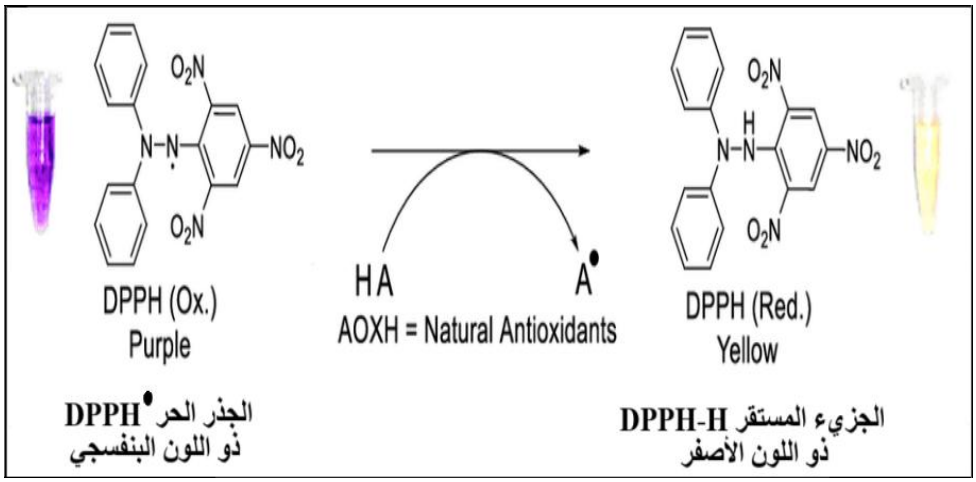
وأخيراً تركيز BRS بواحدة $\mu g.mL^{-1}$ من العلاقة:

العلاقة (4) $C_X=\frac{Y-151648}{94003}$

5-1 تحديد الفعالية المضادة للأكسدة: Determination of Antioxidant Activity

بعد تحضير المُستخلصات المختلفة للزيوت النباتيّة المدروسة، جرى إذابة المُتبقي المُستخلص من كل زيت µg والذي تمت إذابته في حجم مكافئ mL من الميتانول للحصول على محلول أم بتركيز $\mu g.mL^{-1}$ 1000، ومن هذا المحلول الأم حُضِّر سلسلة من محاليل التمديد بتراكيز تراوحت بين $\mu g.mL^{-1}$ (31.25-250). تم استخدام جذر DPPH الذي يُعد من الطرائق الشائعة لقياس قدرة المركبات على كبح الجذور الحرة. يُعتَمد في هذا الاختبار على جذر DPPH وهو جذر حر مستقر ذو لون بنفسجي مميز، وامتصاص أعظمي عند طول الموجة 515 nm، قابل للذوبان في الميتانول. عند تفاعله مع المركبات ذات النشاط المضاد لأكسدة القادرة على منح إلكترون أو ذرة هيدروجين، يتغير لون المحلول تدريجيّاً من البنفسجي إلى الأصفر، ما يعكس مدى فعالية المُستخلص في معادلة الجذور الحرة. تعتمد الآلية التحليليّة لهذا الاختبار المُوضَّحة في الشكل (2) على قدرة مضادات الأكسدة على ارجاع جذر DPPH الكحولي وتحويله إلى الشكل المستقر DPPH-H عبر تبرعها بالهيدروجين. وبالتالي فإن انخفاض شدة اللون البنفسجي يُعدّ مؤشراً كميّاً على فعاليّة المُستخلص في اصطياد الجذور الحرة (Brand-Williams et al., 1995).

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14



الشكل (2): معادلة تثبيط جذر DPPH بواسطة مضادات الأكسدة

ولتقييم فعاليّة المُستخلصات المدروسة في تثبيط الجذور الحرة جرى حساب النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH Inhibition% (I%) لكل عينة وفق العلاقة الآتية:

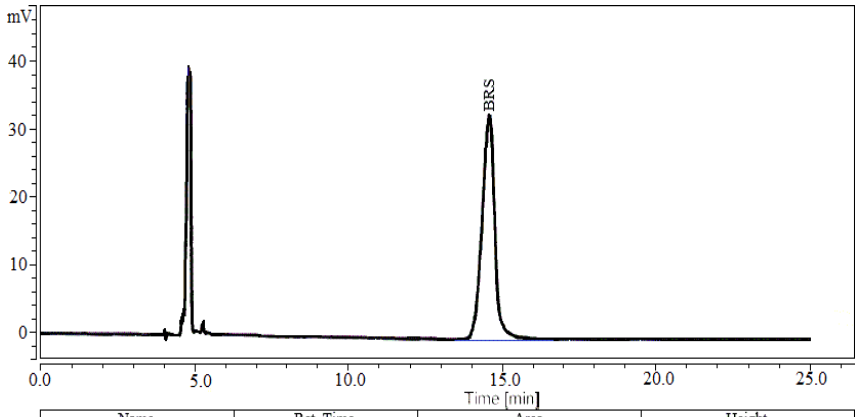
$$I\% = (A_{Blank} - A_{Sample})/A_{Blank}.100 \quad \text{العلاقة (5)}$$

حيث يُمثّل A_{Blank} امتصاصية الشاهد (مزيج الميتانول وDPPH فقط)، في حين يُمثّل A_{Sample} الامتصاصية المُقاسة بوجود عينة المُستخلص.

2- النتائج والمناقشة: Results and Discussion

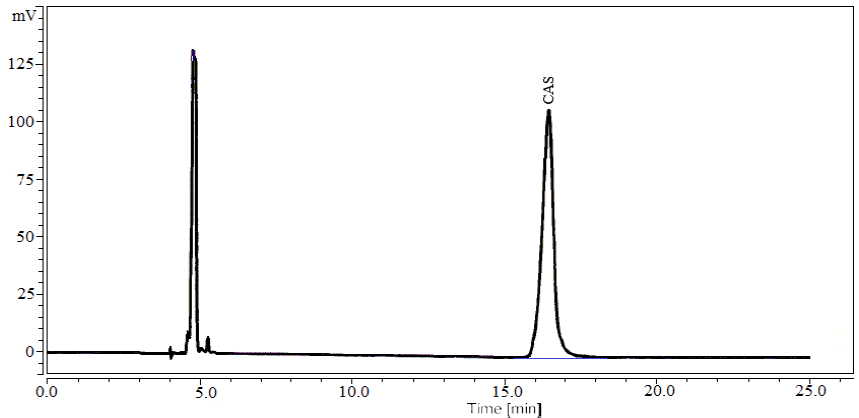
2-1 التحديد الكمي للمحتوى الستيرولي في الزيوت النباتيّة بالطريقة الكروماوغرافيّة:

حُقن 20 µL من المحاليل العيارية لكل ستيرول لإجراء التحليل الكروماتوغرافي وذلك بعمود C8 (250×4.6 mm, 5 µm) بمعدل تدفق 1.8 mL/min وطول موجة الكاشف 195 nm عند درجة الحرارة 45°C ليتم الحصول على الكروماتوغرامات المُوضحة أدناه (الحليب & أبو حجر، 2025):



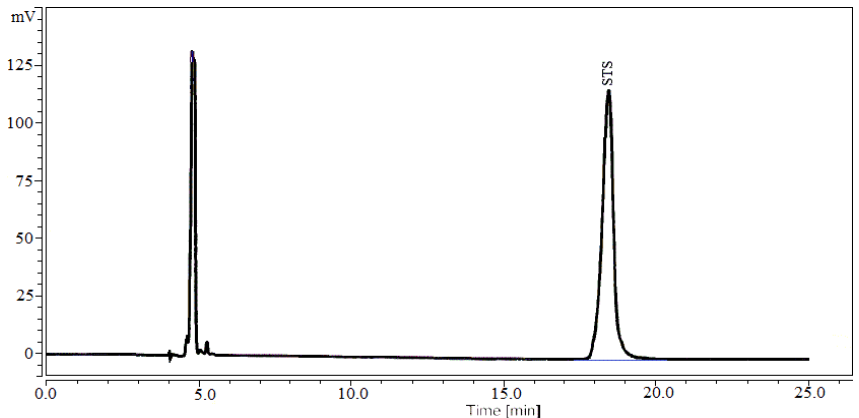
Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	14.688	1248371	32115

الشكل (3): الكروماتوغرام الموافق لتحديد BRS العياري بتركيز $11.6\ \mu g.mL^{-1}$



Name	Ret. Time	Area	Height
CAS	16.462	2346183	105995

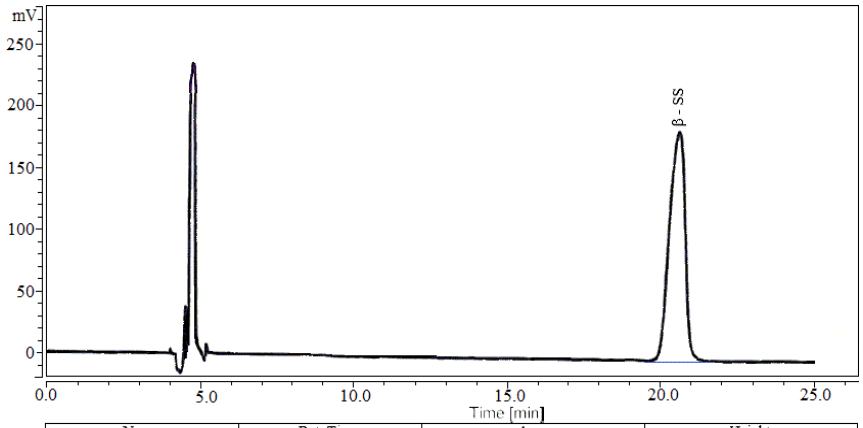
الشكل (4): الكروماتوغرام الموافق لتحديد CAS العياري بتركيز $205\ \mu g.mL^{-1}$



Name	Ret. Time	Area	Height
STS	18.375	1293857	114071

الشكل (5): الكروماتوغرام الموافق لتحديد STS العياري بتركيز $129\ \mu g.mL^{-1}$

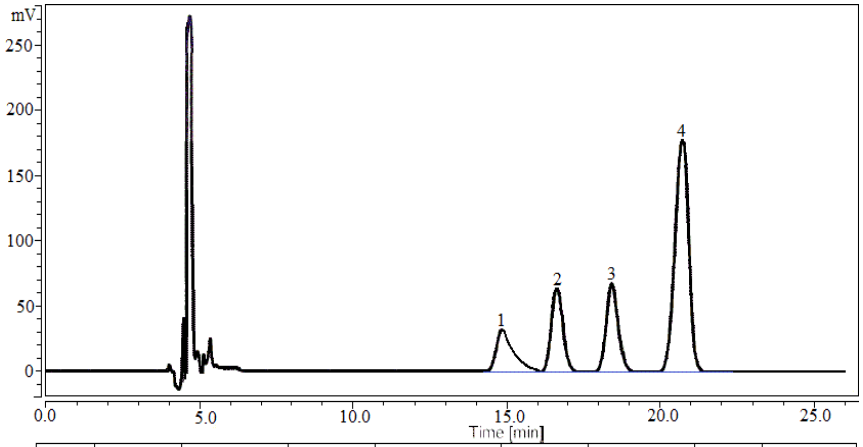
تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14



Name	Ret. Time	Area	Height
β - SS	20.776	5667381	178481

الشكل (6): الكروماتوغرام الموافق لتحديد β-SS العياري بتركيز $1000\ \mu g.mL^{-1}$

كما تم حقن مزيج ستيرولي عياري الذي يضم الستيرولات الأربعة المدروسة تراكيزها $(11.6, 205, 129, 1000)\ \mu g.mL^{-1}$ لـ β-SS وSTS وCAS وBRS على الترتيب، والمُحضّر في الفقرة **(2.2-1)**، كما هو مبيّن في الشكل (7).



Name	Ret. Time	Area	Height	Theoretical Plate	Resolution	Tailing Factor	K´	Separation
1	14.880	1218182	31809	7898	0.000	1.745	2.090	0.000
2	16.569	1646400	63408	10594	3.465	1.129	2.441	1.167
3	18.495	1945077	67976	11397	2.315	1.117	2.841	1.163
4	20.835	5629910	178074	10159	3.076	1.019	3.327	1.171

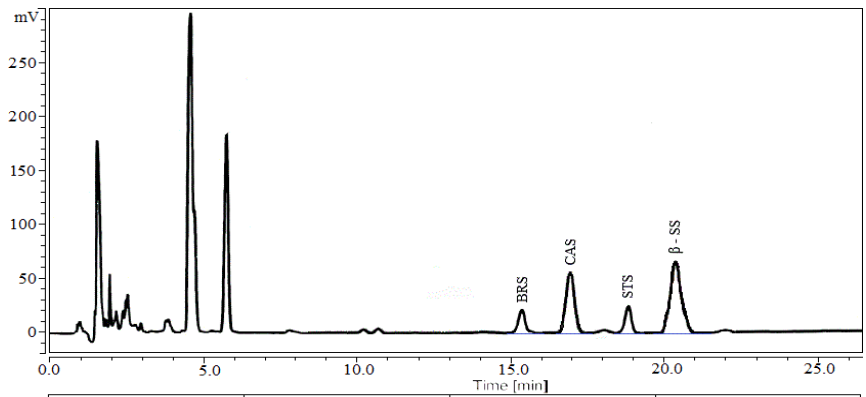
الشكل (7): الكروماتوغرام الموافق لفصل مكوّنات المزيج الستيرولي بتقانة HPLC لحجم محقون 20 µL باستخدام طور متحرك (أسيتونتريل:0.1% حمض الفورميك في الماء) بنسبة %(20:80) وبمعدل تدفق 1.8 mL/min ودرجة حرارة عمود 45°C مع الكشف عند طول موجة 195 nm

تم تحديد العوامل الكمية للستيرولات العيارية من معطيات الخط البياني العياري لخمس مكررات المُوضَّحة في الجدول (1) إذ حُدّد الميل ومعامل الارتباط ونقطة التقاطع مع محور المساحة.

الجدول (1): المعاملات التحليليّة لتحديد الستيرولات المدروسة بالطريقة الكروماتوغرافيّة

المعامل (Parameter)	β-SS	STS	CAS	BRS
المجال الخطي ($\mu g.mL^{-1}$)	10 - 2000	10 - 2500	5 - 1500	5 - 1000
معادلة المستقيم	Y = 5604.9X + 40330	Y = 9396.4X + 71639	Y = 10354X + 218648	Y = 94003X + 151648
معامل الارتباط (R^2)	0.9996	0.9993	0.9994	0.9994
حد الكشف LOD ($\mu g.mL^{-1}$)	0.295	0.316	0.177	0.144
حد التحديد الكمي LOQ ($\mu g.mL^{-1}$)	0.896	0.959	0.539	0.438

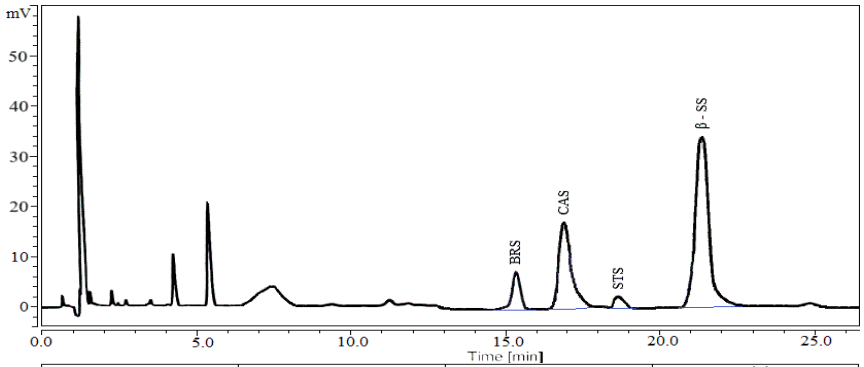
بعد عملية استخلاص الستيرولات من عينات الزيوت النباتيّة في الفقرة **(3-1)**، جرى إعادة إذابة المتبقي المُستخلص من كل نوع في حجم 50 mL من الميتانول، ثم رُشّح بمرشحات ذات قطر مسام 0.45 µm. بعد ذلك حُقنت المحاليل الناتجة في العمود الكروماتوغرافي، ثم طُبقت الشروط الكروماتوغرافيّة السابقة، فتم الحصول على الكروماتوغرامات المُبيّنة فيما يلي:



Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.287	742746	19395
CAS	16.916	1454128	56014
STS	18.875	753014	26361
β - SS	21.361	2125953	67245

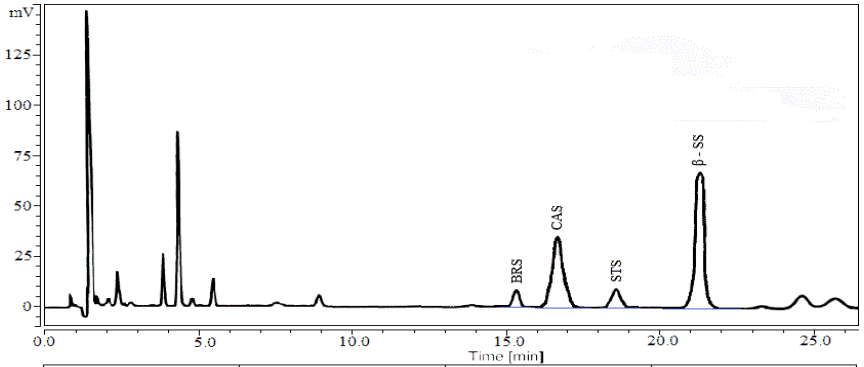
الشكل (8): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت السمسم

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14



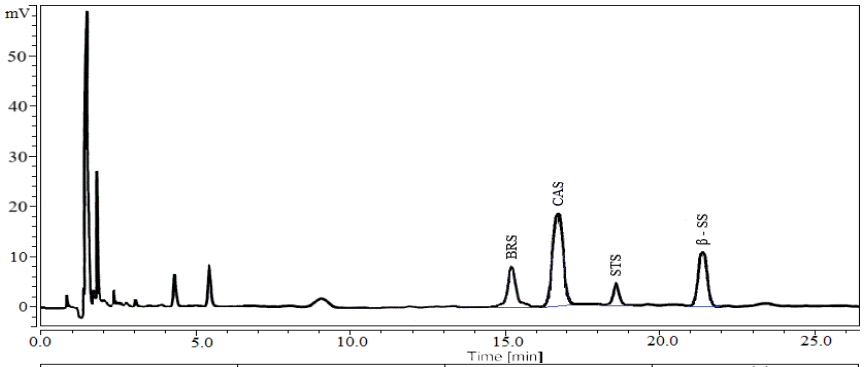
Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.256	156648	7543
CAS	16.817	254296	17239
STS	18.725	81559	2305
β - SS	21.359	553683	34265

الشكل (9): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت الزيتون



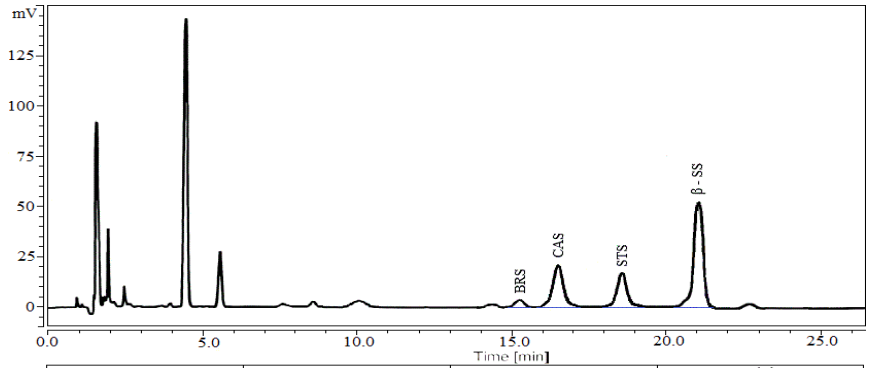
Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.307	175912	8489
CAS	16.875	521927	35381
STS	18.753	304978	8642
β - SS	21.286	1083689	67075

الشكل (10): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت دوار الشمس



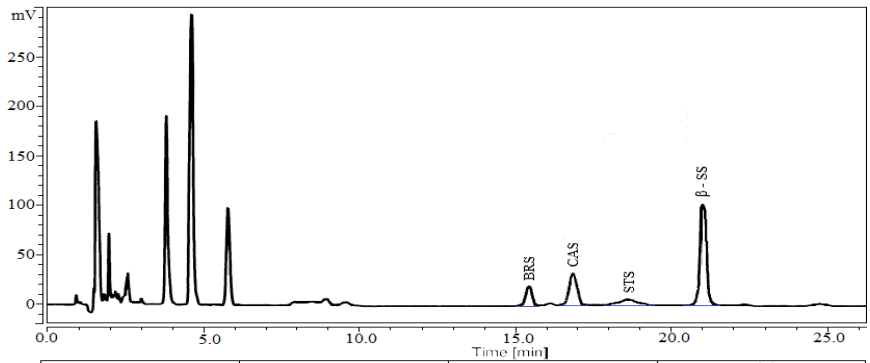
Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.189	169321	8186
CAS	16.756	269297	18724
STS	18.681	152698	4397
β - SS	21.397	187477	11589

الشكل (11): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت جوز الهند



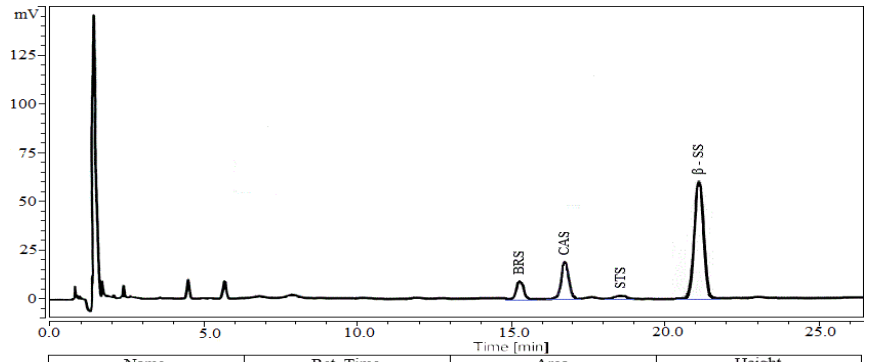
Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.217	219811	4813
CAS	16.658	464555	22136
STS	18.693	236196	17612
β - SS	21.184	628617	52975

الشكل (12): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت العصفر



Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.382	758087	19795
CAS	16.823	827519	31857
STS	18.775	139821	4899
β - SS	21.168	3229759	102156

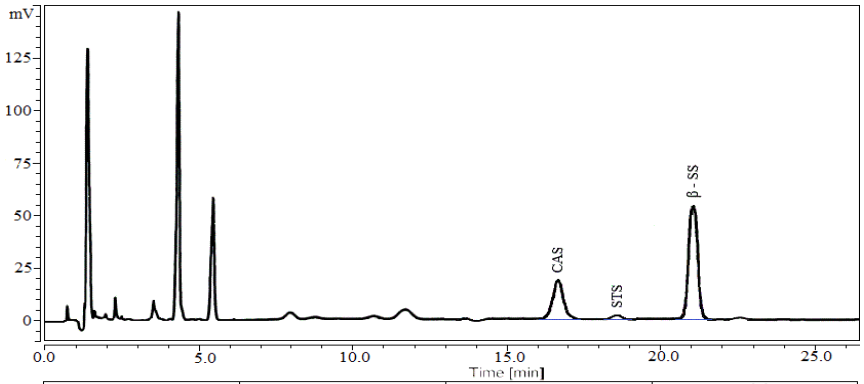
الشكل (13): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت زهرة الربيع المسائيّة



Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.246	188452	9115
CAS	16.740	287105	19964
STS	18.639	94585	2728
β - SS	21.175	999853	61873

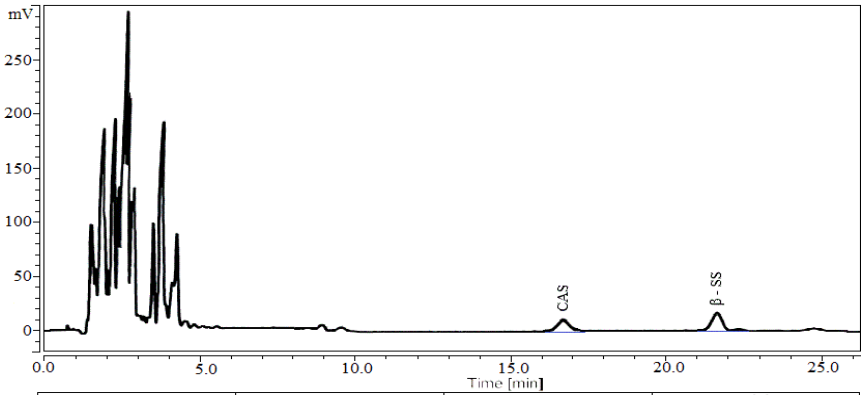
الشكل (14): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت اللوز المر

391 تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14



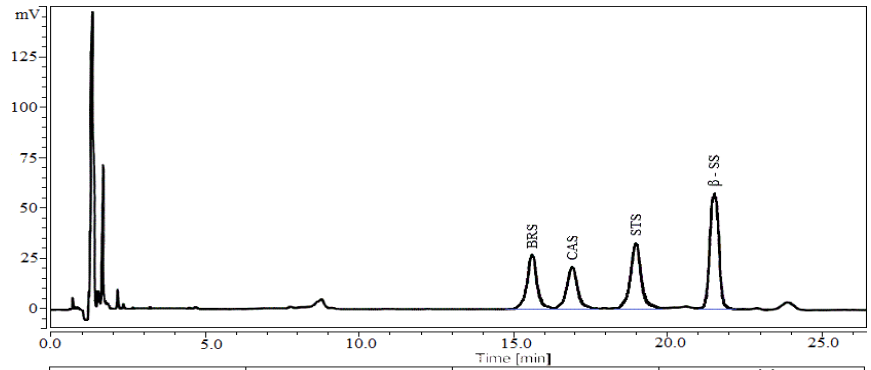
Name	Ret. Time	Area	Height
CAS	16.675	282236	19628
STS	18.582	95710	2866
β - SS	21.091	885016	54767

الشكل (15): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت اللوز الحلو



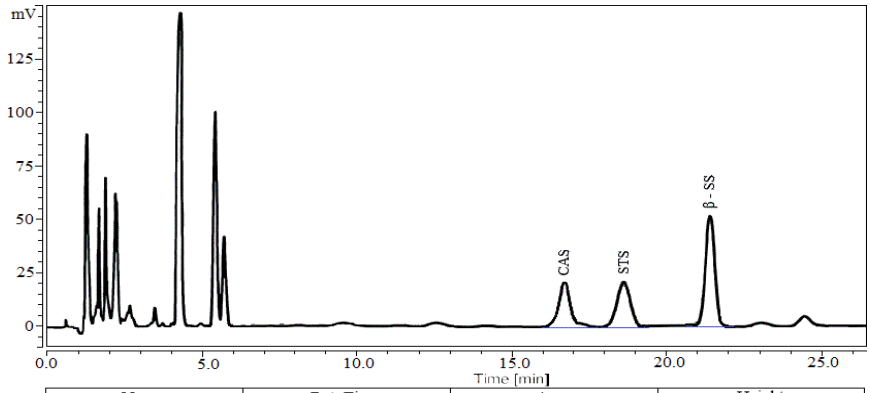
Name	Ret. Time	Area	Height
CAS	16.782	317253	12617
β - SS	21.695	483528	15925

الشكل (16): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت الشاي



Name	Ret. Time	Area	Height
BRS	15.609	1284684	27935
CAS	16.917	478911	22659
STS	18.926	466487	34826
β - SS	21.543	684593	57637

الشكل (17): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت الخروع



Name	Ret. Time	Area	Height
CAS	16.872	423457	20114
STS	18.790	290775	21725
β - SS	21.326	622939	52548

الشكل (18): الكروماتوغرام الموافق لفصل المكونات الستيرولية لزيت حبة البركة

تم حساب محتوى الستيرولات في عينات الزيوت النباتيّة المدروسة وفق الفقرة **(4-1)** كما هو مُوضَّح في الجدول (2) أدناه.

الجدول (2): التحديد الكمي للمحتوى الستيرولي في الزيوت النباتيّة المدروسة

الستيرول المُستخلص	الزيت	مساحة القمة	* التركيز المُحدد $\mu g.mL^{-1}$	الكمية المُحددة في الزيت mg/100 gr
β-SS	**السمسم**	2125953	372.107	372.107
STS		753014	72.514	72.514
CAS		1454128	119.323	119.323
BRS		742746	6.288	6.288
β-SS	**زيت الزيتون**	553683	91.590	91.590
STS		81559	1.055	1.055
CAS		254296	3.442	3.442
BRS		156648	0.053	0.053
β-SS	**دوار الشمس**	1083689	186.151	186.151
STS		304978	24.832	24.832
CAS		521927	29.291	29.291
BRS		175912	0.258	0.258
β-SS	**جوز الهند**	187477	26.253	26.253
STS		152698	8.626	8.626
CAS		269297	4.891	4.891
BRS		169321	0.188	0.188
β-SS	**العصفر (القرطم)**	628617	104.959	104.959
STS		236196	17.512	17.512
CAS		464555	23.749	23.749
BRS		219811	0.725	0.725

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

الستيرول المُستخلص	الزيت	مساحة القمة	* التركيز المُحدد $\mu g.mL^{-1}$	الكمية المُحددة في الزيت mg/100 gr
β-SS	زهرة الربيع المسائيّة	3229759	569.043	569.043
STS		139821	7.256	7.256
CAS		827519	58.805	58.805
BRS		758087	6.451	6.451
β-SS	اللوز المر	999853	171.193	171.193
STS		94585	2.441	2.441
CAS		287105	6.611	6.611
BRS		188452	0.391	0.391
β-SS	اللوز الحلو	885016	150.704	150.704
STS		95710	2.561	2.561
CAS		282236	6.141	6.141
BRS		NQ	NQ	NQ
β-SS	الشاي	483528	79.073	79.073
STS		NQ	NQ	NQ
CAS		317253	9.523	9.523
BRS		NQ	NQ	NQ
β-SS	الخروع	684593	114.946	114.946
STS		466487	42.021	42.021
CAS		478911	25.136	25.136
BRS		1284684	12.053	12.053
β-SS	حبة البركة	622939	103.946	103.946
STS		290775	23.321	23.321
CAS		423457	19.780	19.780
BRS		NQ	NQ	NQ

*** التعويض في معادلة المنحني الخطي الموافقة لكل ستيرول**

NQ: not quantified

وعند مقارنة نتائج التحديد الكمي للزيوت النباتيّة التي حصلنا عليها في الجدول (2) مع نتائج بعض الدراسات المرجعيّة (الأبحاث السابقة) كانت نتائج الطريقة المُطوَّرة لتحديد محتوى الستيرولات المدروسة في زيت السمسم أعلى من معظم الطرائق المرجعيّة (Lu et al., 2007)(Vecka et al., 2019)(Deme et al., 2021)(Phillips et al., 2005)(Gharby et al., 2015)(Mo et al., 2013)، أما في الطريقة المرجعية (Choong et al., 1999) والتي كانت أفضل في تحديد محتوى β-SS وCAS وBRS ولكن الطريقة المُطوَّرة أعطت محتوى أكبر لـ STS بقيمة 72.514 mg/100 gr، والأمر المثير للجدل أن محتوى BRS أكبر من محتوى STS إذ بلغت 97.64 mg/100 gr وهو متناقض مع

كل نتائج الطرائق المرجعيّة، ومن الممكن أن يكون مرده إلى الطريقة التحليليّة والتي استخدمت تقانة الكروماتوغرافيّة الغازية إذ صُبنت الزيوت المدروسة واستُخلصت الستيرولات منها ثم الحقن المباشر في العمود الكروماتوغرافي بدون عملية اشتقاق للستيرولات، كما أكدت معظم النتائج المرجعيّة وكذلك الطريقة المُطوَّرة أن ترتيب محتوى الستيرولات كان كالتالي: β-SS > CAS > STS > BRS. الطرائق المرجعية (López Ortíz et al., 2006)(Mo et al., 2013)(Li et al., 2023)(Qi et al., 2019) أعطت نتائج أفضل من الطريقة المُطوَّرة لتحديد محتوى (Parcerisa et al., 2000) الستيرولات النباتيّة في زيت الزيتون، باستثناء أن الطريقة المُطوَّرة حددت محتوى β-SS بقيمة 91.590 mg/100 gr وكانت أكبر من الكمية المحددة في الطريقة (Choong et al., 1999)، في حين لم يُعثر على BRS وهذا جاء مخالف مع نتائج الطريقة المُطوَّرة الواردة في الجدول (2)، كذلك حددت الطريقة المُطوَّرة محتوى CAS في زيت الزيتون ولم تستطع الطريقة المرجعيّة(Qi et al., 2019) كشفه وتحديده، كما أن محتوى الستيرولات في كل الطرائق المرجعيّة حافظ على ترتيب المحتوى في زيت السمسم. الطريقة المُطوَّرة أعطت نتائج أفضل من الطرائق المرجعيّة (López Ortíz et al., 2006)(Delgado-Zamarreno et al., 2009b)(Vecka et al., 2019)(Silva et al., 2020)(Phillips et al., 2005) لتحديد المحتوى الستيرولي في زيت دوار الشمس، كذلك استطاعت تحديد محتوى BRS والتي لم تستطع الطريقة(Warner & Mounts, 1990) تحديده، أما في الطريقة(Choong et al., 1999) كان محتوى BRS أكبر من الكمية المحددة في الطريقة المُطوَّرة 0.258 mg/100 gr. أما في الطريقة المرجعيّة (Mo et al., 2013) كانت أفضل في تحديد محتوى CAS وBRS ولكن الطريقة المُطوَّرة أعطت محتوى أكبر لـ STS وβ-SS. ولتحديد الستيرولات المدروسة في زيت جوز الهند كانت نتائج الطريقة المُطوَّرة أفضل من الطريقة المرجعيّة(Vecka et al., 2019)، أما في الطريقة(Silva et al., 2020) والتي أوجدت قيم أكبر لمحتوى β-SS وSTS وبحدود متقاربة جداً لنتائج الطريقة المُطوَّرة التي كانت أفضل في تحديد محتوى CAS. كما أن طريقة(Al-Hamoui & Ibrahim, 2013) كانت أفضل في تحديد محتوى β-SS وBRS في زيت العصفر من العينات المدروسة بعد اشتقاق الستيرولات المُستخلصة إلى إيترات TMS بالتقانة الكروماتوغرافيّة GC-FID، بينما الطريقة المُطوَّرة كانت ذات قيم أكبر لـ

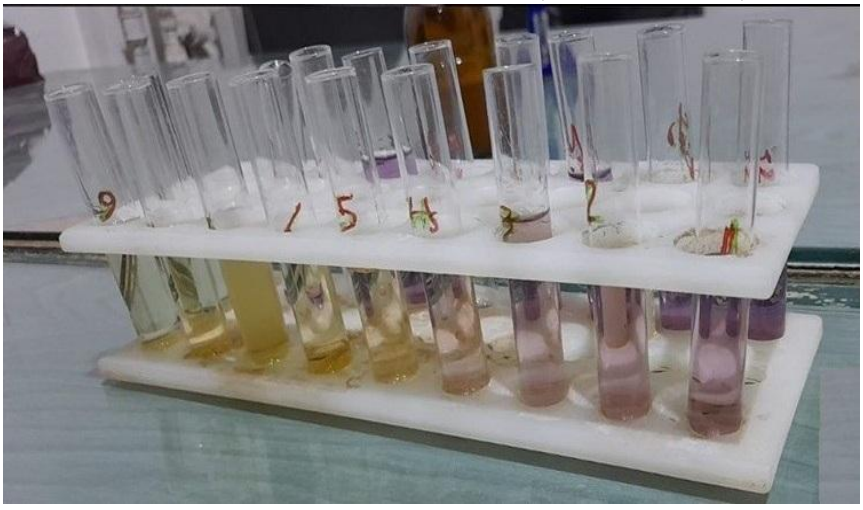
تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

CAS وSTS. أما في زيت زهرة الربيع المسائيّة كانت نتائج الطريقة المُطوَّرة الأفضل على الإطلاق لتحديد المحتوى الستيرولي، بينما الطريقة المرجعيّة (Węglarz et al., 2011) حددت محتوى الستيرولات المُستخلصة من أوراق زهرة الربيع المسائيّة. ولتحديد الستيرولات المدروسة في زيت الشاي كانت نتائج طريقة(Qi et al., 2019) أفضل في تحديد محتوى β-SS مع تأكيد نتيجة الطريقة المُطوَّرة بغياب STS ووجود CAS وتسجيل غيابه في الطريقة المرجعيّة، وبمراجعة طريقة(Bhishnurkar et al., 2020) المُتضمنة تحديد محتوى β-SS في زيت حبة البركة وقد بلغ تركيزه 0.4247 $\mu g.mL^{-1}$ في المُستخلص والذي كان أقل من الحد الأدنى لخطية التراكيز المحددة بالمجال (0.5-2.5) $\mu g.mL^{-1}$ وقيمة حد الكشف 4.8 $\mu g.mL^{-1}$، أما الطريقة المُطوَّرة استطاعت تحديده بكمية 103.946 mg/100 gr مع إمكانية الكشف عن STS وCAS وتأكيد غياب BRS.

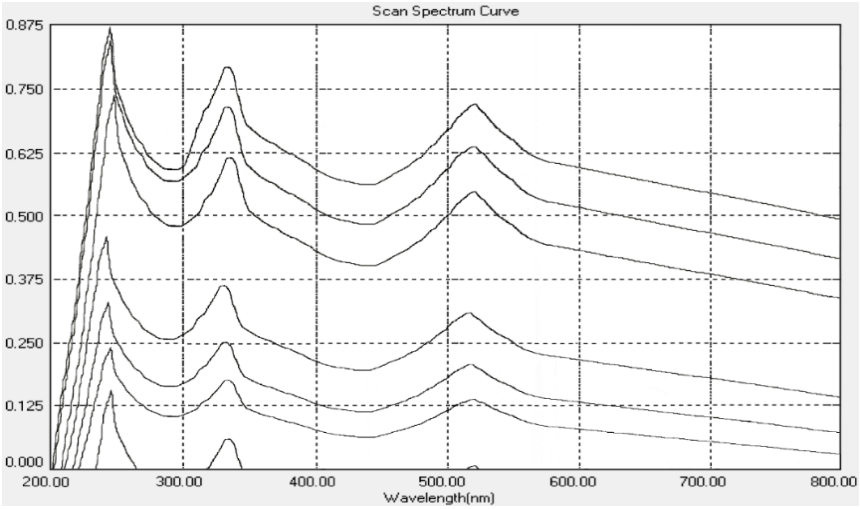
2-2 دراسة الفاعلية المضادة للجذور الحرة باستخدام اختبار DPPH:

Free Radical Scavengering Using DPPH Test

أُضيف 3.9 mL من محلول DPPH المُحضّر حديثاً إلى 0.1 mL من تراكيز مختلفة من المُستخلصات $\mu g.mL^{-1}$ (31.25, 62.5, 125, 250)، مع شاهد من حمض الأسكوربيك بتركيزات مختلفة $\mu g.mL^{-1}$ (6.25, 12.5, 25, 50, 75, 100, 200)، وبعد 30 دقيقة من الحضن في مكان مظلم قيست الامتصاصية عند 515 nm بواسطة مقياس الطيف الضوئي، كما هو مُبيّن في الأشكال (19-20).



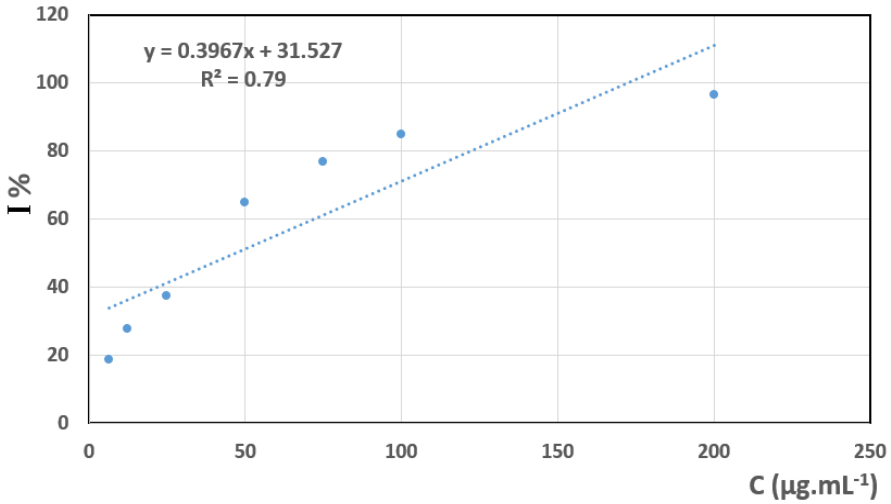
الشكل (19): تحضير السلسلة العيارية لحمض الأسكوربيك وتشكيل المعقد الملون (DPPH-Vit C)



الشكل (20): المنحني الطيفي المعبر عن المجال الخطي للمعقد الملون المتشكل (DPPH-Vit C)

أظهر مستوى تحول DPPH من اللون البنفسجي إلى اللون الأصفر أن المُستخلصات تمتلك فعاليّة ملحوظة في تثبيط الجذور الحرة. ولتقييم هذه الفعاليّة، حُسبت النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH (I%) لكل عينة وفق العلاقة (5).

رُسِمَ المنحني البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التركيز $I\%=f(C\ \mu g.mL^{-1})$ والمُوضَّح في الشكل (21).



الشكل (21): المنحني العياري لحمض الأسكوربيك

ويوضَّح الشكل (21) أن النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH تزداد تدريجيّاً مع زيادة تركيز المُستخلصات، ما يعكس علاقة طردية بين التركيز والنشاط المضاد للأكسدة.

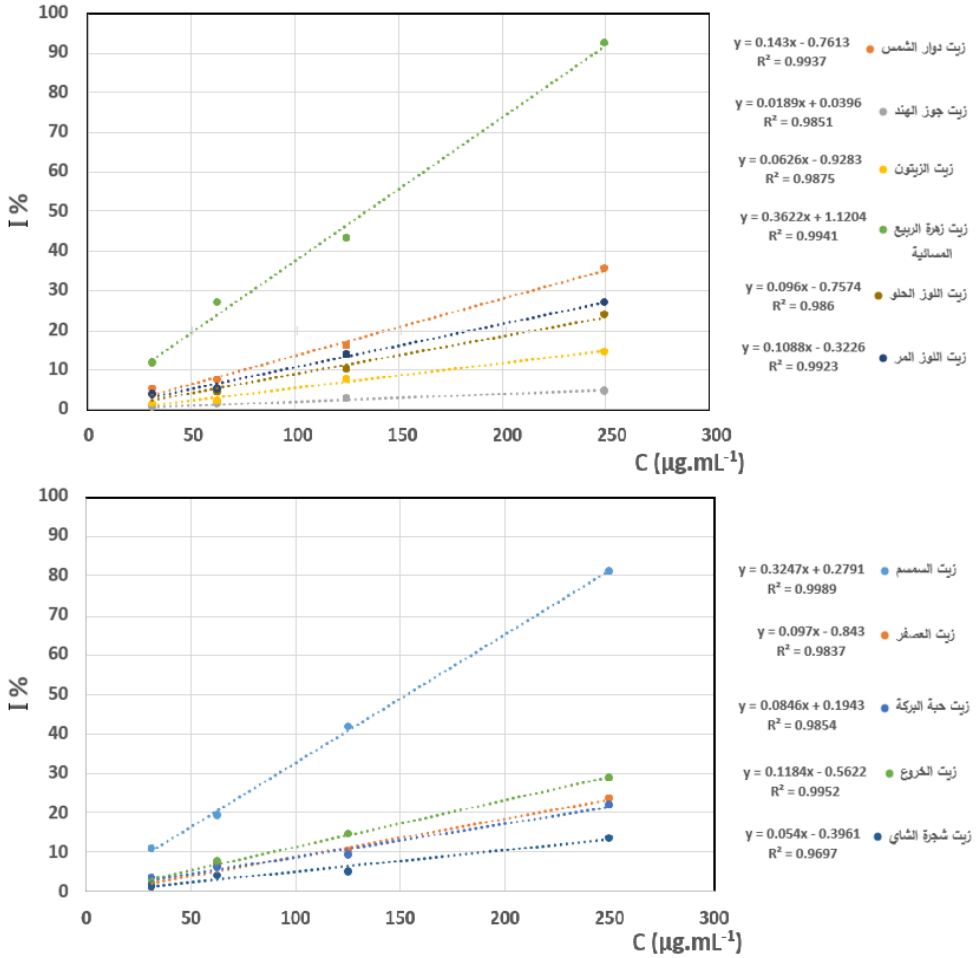
تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

كما يبيّن الجدول (3) القيم المحسوبة للنسبة المئوية لكفاءة حمض الأسكوربيك كمضادة أكسدة عياري وذلك بدلالة التركيز من خلال الاعتماد على قياسات الامتصاصية وتعويضها في معادلة حساب I% المُوضَّحة في العلاقة (5).

الجدول (3): الامتصاصية والكفاءة المضادة للجذور الحرة للتراكيز المختارة من حمض الأسكوربيك

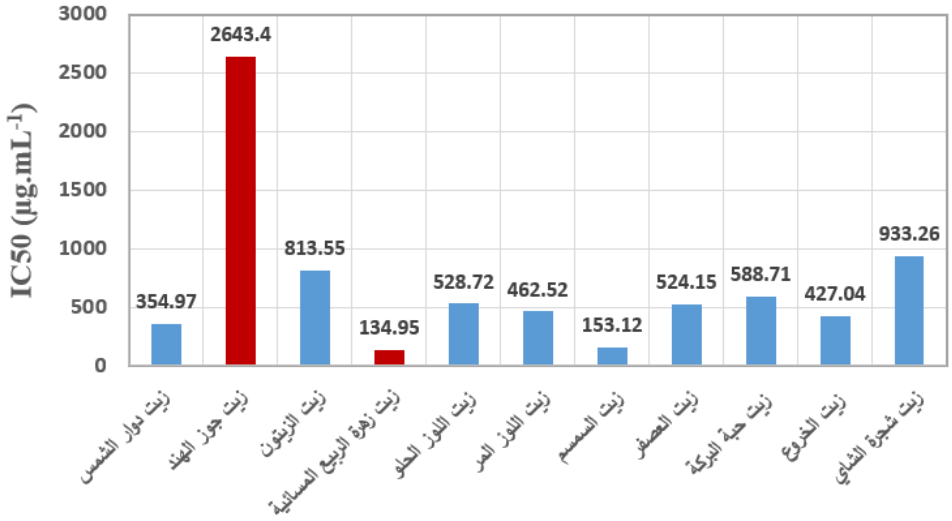
التركيز ($\mu g.mL^{-1}$)	6.25	12.5	25	50	75	100	200
الامتصاصية	0.709	0.631	0.546	0.307	0.202	0.131	0.032
الكفاءة المضادة للجذور الحرة (%)	18.692	27.637	37.385	64.793	76.834	84.977	96.330

كما جرى رسم المنحني البياني الذي يوضَّح العلاقة بين النسبة المئوية لتثبيط جذر DPPH بدلالة تراكيز العينات ($I\%=f(C\ \mu g.mL^{-1})$ كما هو مُبيّن في الشكل (22):



الشكل (22): المنحني البياني للنسبة المئوية للتثبيط بدلالة التراكيز للزيوت النباتيّة المدروسة

يُعبر عن الفعالية التثبيطية للمُستخلصات من خلال حساب قيم التثبيط النصفي IC50، والتي تُمثّل التركيز اللازم من المُستخلص لإحداث تثبيط يعادل 50% من نشاط الجذر الحر DPPH، وقد جرى تحديد هذه القيمة بيانيّاً عبر التعويض في معادلة المنحني العياري الذي يصف العلاقة بين النسبة المئوية للتثبيط وتراكيز المُستخلصات المدروسة المُوضَّح في الشكل (23).



الشكل (23): قيم التثبيط النصفي IC50 لمُستخلصات الزيوت النباتيّة المدروسة

إن نتائج الفعالية المضادة للأكسدة جاءت متناسبة مع محتوى الزيوت من المركبات الستيرولية، إذ تزداد هذه الفعالية بانخفاض قيمة IC50. فقد أظهر مُستخلص زيت زهرة الربيع المسائيّة أعلى فعاليّة مثبطة للجذور الحرة $IC50 = 134.95\ \mu g.mL^{-1}$ لاحتوائه على أعلى نسبة من الستيرولات، تلاه مُستخلص زيت السمسم $153.12\ \mu g.mL^{-1}$، بينما أعطى مُستخلص جوز الهند أقل فعاليّة مضادة للأكسدة $2643.40\ \mu g.mL^{-1}$، وكذلك الحال لكل العينات المدروسة.

عموماً، تبيّن أن كفاءة التثبيط للجذور الحرة بواسطة المُستخلصات الستيرولية للزيوت المدروسة كانت محدودة بالمُجمل مقارنةً مع حمض الأسكوربيك الذي سجل قيمة IC50 قدرها $36.78\ \mu g.mL^{-1}$، ما يعكس تفوقه كأحد أقوى المركبات الطبيعيّة في تثبيط الجذور الحرة. كما أوضحت المنحنيات العيارية أن نسبة التثبيط تزداد بازدياد التركيز لكل من الشاهد والمُستخلصات.

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

تتوافق نتائجنا جزئياً مع دراسة(Zaid et al., 2019) التي قيّمت الفعاليّة المضادة للأكسدة في الخلاصات الميتانولية لزيت السمسم الهندي والتركي والفلسطيني، إذ تراوحت قيم IC50 بين $\mu g.mL^{-1}$ (9.77±0.44, 9.3±0.37, 6.7±0.64) على الترتيب باستعمال Trolox كشاهد مرجعي، وهو ما يشير إلى الفارق في الفعاليّة بين المُستخلصات الكلية والمُستخلصات الستيرولية المُعتمدة في دراستنا. كما أظهرت دراسة(Yenn et al., 2023) أن مُستخلص زيت السمسم أبدى نشاطاً مضاداً للأكسدة بقيمة IC50 بلغت 120.9 $\mu g.mL^{-1}$ عند تركيز $\mu g.mL^{-1}$ 1000، إذ أظهر نبات Dipteracanthus patulus فعاليّة مضادة للأكسدة والجراثيم والفطريات نظراً لمحتواه المرتفع من الفينولات وبيتا- كاروتين وبيتا- سيتوستيرول والتانينات والقلويدات والفلافونويدات(Bumrela & Naik, 2011).

3- الاستنتاجات: Conclusion

طُبقت طريقة تحليليّة لتحديد المحتوى الستيرولي في الزيوت النباتيّة، إذ كانت الخطية ضمن مجال التراكيز المدروسة، وتميزت بالحساسية والدقة العاليتين. أظهرت الدراسة نجاعة استعمال كاشف DAD في كشف عدد من المركبات الستيرولية، كذلك بيّنت الدراسة تفاوت محتوى العينات موضوع البحث من المركبات المدروسة. كان بيتا- سيتوستيرول هو المكون الرئيس والأعلى تركيزاً في جميع الزيوت المدروسة، بينما ستغماستيرول كأقل محتوى كان في زيت الزيتون وغير متواجد في زيت الشاي، كذلك الكامبيستيرول في زيت الزيتون هو الأقل، أما براسيكاستيرول لم يتواجد في زيوت اللوز الحلو والشاي وحبة البركة. إن الطريقة المُطوَّرة حددت محتوى الستيرولات في زيت اللوز الحلو وزيت اللوز المر وزيت الخروع ولم يسبق أن حُددت في الزيوت المدروسة. أظهرت النتائج أن المُستخلصات لها تأثيرات مضادة للأكسدة ملحوظة مقارنة بمضادات الأكسدة العيارية مثل حمض الأسكوربيك. تضمن هذه الطريقة الموثوقة دقة عالية، كذلك امتازت طريقة تحضير العينات بالسهولة وذلك من أجل التحديد الدقيق لمحتوى الستيرولات في الزيوت النباتيّة.

4- المراجع: References

الحليب، ج.، & أبو حجر، أ. (2025). شروط تحليليّة كروماتوغرافيّة جديدة لفصل وتحديد مزيج عياري من الستيرولات النباتيّة. *مجلة بحوث جامعة إدلب*، *8*(2)، 1-25.

Ahmed, O. H., Kadhim, E. J., & Ahmed, O. H. (2021). *Isolation of Beta-Sitosterol and Stimgasterol From Rumex Acetosella By Preparative High-Performance Liquid Chromatography (HPLC)*. *January*. https://doi.org/10.17557/tjfc.834549

Al-Hamoui, M., & Ibrahim, B. (2013). Study of the content of some varieties of safflower seed oil sterols. *Damascus University Journal of Basic Sciences*, 15-22.

Azadmard-Damirchi, S., & Dutta, P. C. (2010). Phytosterol classes in olive oils and their analysis by common chromatographic methods. In *Olives and olive oil in Health and disease prevention* (pp. 249-257). Elsevier.

Belsito, D. V, Klaassen, C. D., Liebler, D. C., & Hill, R. A. (2013). *Safety Assessment of Phytosterols as Used in Cosmetics*.

Bhishnurkar, P., Deo, S. S., Inam, F. S., Mahmood, S. H., Taher, D., & Lambat, T. L. (2020). Simultaneous determination of β-sitosterol and gallic acid in Nigella Sativa seeds using reverse phase high performance liquid chromatography. *SN Applied Sciences*, *2*, 1-7.

Bouic, P. J. D. (2001). The role of phytosterols and phytosterolins in immune modulation: a review of the past 10 years. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, *4*(6), 471-475.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, *28*(1), 25-30. https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5

British Pharmacopoeia. (2024). In *Unsaponifiable matter (Appendix X H)*.

Bumrela, S. B., & Naik, S. R. (2011). Identification of β-carotene and β-sitosterol in methanolic extract of Dipteracanthus patulus (Jacq) nees and their role in antimicrobial and antioxidant activity. *Int. J. Phytomed*, *3*, 204-215.

Calandra, S., Tarugi, P., Speedy, H. E., Dean, A. F., Bertolini, S., & Shoulders, C. C. (2011). Mechanisms and genetic determinants regulating sterol absorption, circulating LDL levels, and sterol elimination: implications for classification and disease risk. *Journal of Lipid Research*, *52*(11), 1885-1926.

401 تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

Chakraborty, A., Bhattacharjee, A., Mondal, B., & Chakraborty, M. (2023). *HPTLC Method Development and Validation for Simultaneous Determination of Beta-Sitosterol and Oleanolic Acid in Eclipta alba*. *15*(5), 1344-1351.

Choong, Y., HsiuJung, L., ChungWen, C., & Wang, W. (1999). *A rapid gas chromatographic method for direct determination of free sterols in animal and vegetable fats and oils.*

Delgado-Zamarreno, M. M., Bustamante-Rangel, M., Martinez-Pelarda, D., & Carabias-Martinez, R. (2009a). Analysis of β-sitosterol in seeds and nuts using pressurized liquid extraction and liquid chromatography. *Analytical Sciences*, *25*(6), 765-768.

Delgado-Zamarreno, M. M., Bustamante-Rangel, M., Martinez-Pelarda, D., & Carabias-Martinez, R. (2009b). Analysis of β-sitosterol in seeds and nuts using pressurized liquid extraction and liquid chromatography. *Analytical Sciences*, *25*(June), 765-768.

Deme, T., Haki, G. D., Retta, N., Woldegiorgis, A., & Geleta, M. (2021). Sterols as a biomarker in tracing niger and sesame seeds oils adulterated with palm oil Heliyon Sterols as a biomarker in tracing niger and sesame seeds oils adulterated with palm oil. *Heliyon*, *April*, e06797. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06797

Demonty, I., Ras, R. T., Knaap, H. C. M. Van Der, Meijer, L., Zock, P. L., Geleijnse, J. M., & Trautwein, E. A. (2013). *The effect of plant sterols on serum triglyceride concentrations is dependent on baseline concentrations : a pooled analysis of 12 randomised controlled trials*. 153-160. https://doi.org/10.1007/s00394-011-0297-x

FDA. (2010). Department of Health and Human Services, Food labeling; health claim; phytosterols and risk of coronary heart disease. *Federal Register*, *75*(235), 76536-76571.

Garoufi, A., Vorre, S., Soldatou, A., Tsentidis, C., Kossiva, L., Drakatos, A., Marmarinos, A., & Gourgiotis, D. (2014). Plant sterols-enriched diet decreases small, dense LDL-cholesterol levels in children with hypercholesterolemia: a prospective study. *Italian Journal of Pediatrics*, *40*, 1-6.

Gharby, S., Harhar, H., Bouzoubaa, Z., Asdadi, A., El Yadini, A., & Charrouf, Z. (2017). Chemical characterization and oxidative stability of seeds and oil of sesame grown in Morocco. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, *16*(2), 105-111. https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jssas.2015.03.004

Hartmann, M.-A. (1998). Plant sterols and the membrane environment. *Trends in Plant Science*, *3*(5), 170-175.

Hossain, A., & Jayadeep, A. (2020). Analysis of bioaccessibility of campesterol , stigmasterol , and β -sitosterol in maize by in vitro digestion method. *Journal of Cereal Science*, *93*(March), 102957. https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102957

Hryniewicka, M., Starczewska, B., & Tkaczuk, N. (2020). Simple Approach Based On Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction For Determination Of β - Sitosterol In Dietary Supplements And Selected Food Products. *Microchemical Journal*, *155*(October 2019), 104775. https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104775

Islam, A., Jeong, B., Jung, J., & Shin, E. (2017). *Phytosterol Determination and Method Validation for Selected Nuts and Seeds*. https://doi.org/10.1007/s12161-017-0877-3

ISO. (2000). *ISO 3596:2000 - Animal and vegetable fats and oils - Determination of unsaponifiable matter - Method using diethyl ether extraction*. ISO.

Ito, M., Ishimaru, M., Shibata, T., Hatate, H., & Tanaka, R. (2017). *High-Performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection for Simultaneous Analysis of Phytosterols (Stigmasterol , β - Sitosterol , Campesterol , Ergosterol , and Fucosterol) and Cholesterol in Plant Foods*. https://doi.org/10.1007/s12161-017-0841-2

Katherine, M., Phillips, M., D., Ruggio, & Ashraf-Khorassan, M. (2005). *Phytosterol Composition of Nuts and Seeds Commonly Consumed in the United States*. 9436-9445.

Khonsa, K., Setyaningrum, D. L., Saputro, A. H., Amelia, T., Ibrahim, S., & Damayanti, S. (2022). *ANALYSIS OF β-SITOSTEROL IN SUPPLEMENT USING HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY : DEVELOPMENT AND VALIDATION*. *15*(3), 1997-2003.

Kornsteiner-krenn, M., Wagner, K., & Elmadfa, I. (2013). *Phytosterol Content and Fatty Acid Pattern of Ten Different Nut Types*. *October*. https://doi.org/10.1024/0300

Lee, J., Weon, J. B., Yun, B.-R., Eom, M. R., & Ma, C. J. (2015). Simultaneous determination three phytosterol compounds, campesterol, stigmasterol and daucosterol in Artemisia apiacea by high performance liquid chromatography-diode array

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

ultraviolet/visible detector. *Pharmacognosy Magazine*, *11*(42), 297.

Li, Y., Wu, M., Zhai, L., Zhang, H., & Shen, L. (2023). Qualitative and quantitative analysis of β-sitosterol marker in virgin camellia oil and virgin olive oil. *Food Quality and Safety*, *7*, fyad034.

Lopez Ortiz, C. M., MOYA, M. S., & Berenguer Navarro, V. (2006). A rapid chromatographic method for simultaneous determination of β-sitosterol and tocopherol homologues in vegetable oils. *Journal of Food Composition and Analysis (Print)*, *19*(2-3), 141-149.

Lu, B., Zhang, Y., Wu, X., & Shi, J. (2007). *Separation and determination of diversiform phytosterols in food materials using supercritical carbon dioxide extraction and ultraperformance liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization-mass spectrometry*. *588*, 50-63. https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.01.067

Mishra, A., Mishra, A., & Gupta, R. (2016). *Determination of Gallic acid and β – sitosterol in poly-herbal formulation by HPTLC*. *4*(4), 373–379. https://doi.org/10.15406/ppij.2016.04.00081

Mo, S., Dong, L., Hurst, W. J., & Breemen, R. B. Van. (2013). *Quantitative Analysis of Phytosterols in Edible Oils Using APCI Liquid Chromatography - Tandem Mass Spectrometry*. 949-956. https://doi.org/10.1007/s11745-013-3813-3

Musa, M. (2020). *Quantification of Sterol Contents in Almond (Prunus amygdalus L .) Oils*. *39*(2), 203–206.

Okoro, I. S., Tor-anyiin, T. A., & Igoli, J. O. (2018). *Isolation and Characterisation of Stigmasterol and β - Sitosterol from Anthocleista djalonensis A . Chev . March*. https://doi.org/10.9734/AJOCS/2017/37147

Ostlund Jr, R. E. (2002). Phytosterols in human nutrition. *Annual Review of Nutrition*, *22*(1), 533-549.

Parcerisa, J., Casals, I., Boatella, J., Codony, R., & Rafecas, M. (2000). Analysis of olive and hazelnut oil mixtures by high-performance liquid chromatography–atmospheric pressure chemical ionisation mass spectrometry of triacylglycerols and gas-liquid chromatography of non-saponifiable compounds (tocopherols and sterols). *Journal of Chromatography A*, *881*(1-2), 149-158.

Piironen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J., & Lampi, A. (2000). Plant sterols: biosynthesis, biological function and their importance to human nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *80*(7), 939-966.

Pop, G., Galuscan, A., Peev, C., Militaru, A., Vlase, L., Ardelean, L., & Rusu, L. C. (2012). *HPLC-MS Identification of Sterol Fractios from Vegetable Oil*. *10*, 1-5.

Potawale, S. E., Gabhe, S. Y., & Mahadik, K. R. (2014). Quantification of Gymnemagenin and β-Sitosterol in Marketed Herbal Formulation by Validated Normal Phase HPTLC Method. *Chromatography Research International*, *2014*(1), 626801.

Qi, N., Liu, Y., Liao, L., Gong, X., & Yang, C. (2019). A new method for determination of campesterol, stigmasterol and β-sitosterol in edible oils by supercritical fluid chromatography. *Journal of Food & Nutrition Research*, *58*(4), 363-369.

Raju, M. P., Babu, D. G. A., Kumar, B. R., & Rajashekar, C. H. (2013). The role of phytosterols enriched foods-A review. *IOSR J. Environ. Sci., Toxicol. Food Technol*, *7*, 40-47.

Rawal, G., Healthcare, M., Yadav, S., Clinic, C., Nagar, M., Delhi, N., Corporation, M., & Delhi, N. (2015). *Phytosterols and the health*. *2(3)*(June), 441-444.

Saleh. (2021). Isolation and identification of campesterol, stigmasterol and beta-sitosterol in Iraqi date palm pollen. *Journal of Education and Scientific Studies Chemistry*, 135-140.

Sangwan, S. (2019). Isolation and Analytic Characterization of β-Sitosterol and GC-MS Analysis of Methanolic Leaves Extract of Pongamia pinnata (L .) pierre. *Natural Products Chemistry & Research*, *6*(6). https://doi.org/10.4172/2329-6836.1000348

Shaghaghi, M. A., Abumweis, S. S., & Jones, P. J. H. (2013). Cholesterol-lowering efficacy of plant sterols/stanols provided in capsule and tablet formats: results of a systematic review and meta-analysis. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*, *113*(11), 1494-1503.

Silva, S. A. da, Sampaio, G. R., & Torres, E. A. F. da S. (2020). Phytosterols content in vegetable oils of Brazil: Coconut, safflower, linseed and evening primrose. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *63*, 1-8.

Solich, P., Fibigr, J., & Satínsk, D. (2017). A UHPLC method for the rapid separation and quantification of phytosterols using tandem UV / Charged aerosol detection - A comparison of both detection techniques ˇ. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, *140*, 274-280. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2017.03.057

تاريخ إيداع البحث:2026/12/15
تاريخ قبول النشر:2026/01/14

Sudhop, T., Gottwald, B. M., & von Bergmann, K. (2002). Serum plant sterols as a potential risk factor for coronary heart disease. *Metabolism-Clinical and Experimental*, *51*(12), 1519-1521.

Suhartati, T., & Yandri, Y. (2021). Potential Antibacterial Activity of Bioactive ß-sitosterol from Root Bark of Rhizophora apiculata from Lampung Coastal. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, *24*(4), 114-119.

Towne, A. H. (2014). *Effects of Pistachio Consumption on Body Composition, Serum Lipids, and Fatty Acid Incorporation Into Erythrocyte Membranes*.

Vecka, M., Staňková, B., Kutová, S., Tomášová, P., Tvrzická, E., & Žák, A. (2019). Comprehensive sterol and fatty acid analysis in nineteen nuts , seeds , and kernel. *SN Applied Sciences*, *1*(12), 1-12. https://doi.org/10.1007/s42452-019-1576-z

Vemuri, S., Ramasamy, M. K., Rajakanu, P., Chandra, R., Kumar, S., & Kalliappan, I. (2018). *Application of Chemometrics for the simultaneous estimation of stigmasterol and β -sitosterol in Manasamitra Vatakam-an ayurvedic herbomineral formulation using HPLC-PDA method*. *8*(07), 1-9. https://doi.org/10.7324/JAPS.2018.8701

Warner, K., & Mounts, T. L. (1990). *Analysis of Tocopherols and Phytosterols in Vegetable Oils by HPlC with Evaporative Light-Scattering Detection 1*. *67*(11), 827-831.

Weglarz, Z., Kosakowska, L., Pelc, M., Geszprych, A., Przybyl, J. L., & Baczek, K. (2011). Intraspecific variability of fireweed (Chamaenerion angustifolium/L./Scop.) and evening primrose (Oenothera biennis L.) in respect of sterol content. *Herba Polonica*, *57*(2).

Yenn, T. W., Hashim, M., Farzana, N. F., Saa, L. L., Ring, L. C., & Wen-Nee, T. (2023). Antibacterial and Antioxidant Activities of Ghee Hiang Sesame Oil Extract. *Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences*, *19*.

Zaid, A. N., Jaradat, N., Malkieh, N., Al-Rimawi, S., Hussein, F., Isa, L., Ali, I., Manasra, R., Silwadi, G., & Sadder, O. (2019). Impact of sesame oil source: a quality assessment for Cosmeceutical and pharmaceutical use. *Fabad Journal of Pharmaceutical Sciences*, *44*(3), 189-196.