

Original Article

Antioxidant and antimicrobial effects of methanolic and aqueous extracts of *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa* against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*

Mina Baharlouei¹, Mojtaba Ranjbar^{1*}

ABSTRACT

Background and Aims: Nowadays, due to the toxic effects of synthetic compounds, we are witnessing a marked increase in the use of natural types, such as plant extracts. The present study aimed to assess the total phenolic and flavonoid content and *in vitro* comparative study of the biological activities of methanolic and aqueous extracts of *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa*.

Materials and Methods: This study measured the total phenolic and flavonoid contents. Thereafter, antioxidant capacity was measured by the DPPH free radical scavenging and reducing power methods. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) were evaluated using the broth microdilution method.

Results: Based on the results, total phenol and flavonoid contents varied from 6.1 to 37.7 mg GAE/g dw and 6.2 to 56.2 mg QE /g dw in the studied species. The species showed high antioxidant capacities. The extracts from the studied species exhibited significant antioxidant activity, with the highest percentage of DPPH free radical inhibition being attributed to the methanolic extract of *Carum carvi* at a concentration of 400 µg/mL (74.67%) and the highest iron-reducing capacity being attributed to the methanolic extract of *Carum carvi* at a concentration of 1000 µg/mL (54.0%). The results also pointed out that the methanolic extracts of all three plants, *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa*, have antibacterial activity against four bacterial species: *Escherichia coli* (PTCC1399), clinical *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus* (PTCC1015), and *Staphylococcus aureus* (ATCC25923). The lowest inhibitory concentration (25.6 mg/ml) and the lowest bactericidal concentration (5.12 mg/ml) were observed for the methanolic extract of *Nigella sativa* against *E. coli*, while among the aqueous extracts, only the aqueous extracts of *Cuminum cyminum* and *Nigella sativa* exhibited antibacterial effects against the four studied species.

Conclusion: As evidenced by the results of this study, methanolic extract of three *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa* had significant antioxidant and antibacterial activity against pathogenic bacteria. Therefore, these extracts can be considered natural herbal products for the management of bacterial infections.

Keywords: Antioxidant activity, Antimicrobial activity, *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, *Nigella sativa*



Citation: Baharlouei M, Ranjbar M. [Antioxidant and antimicrobial effects of methanolic and aqueous extracts of *Cuminum cyminum*, *Carum carvi*, and *Nigella sativa* against *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, and *Staphylococcus aureus*]. J Birjand Univ Med Sci. 2023; 30(2): 164-175. [Persian]

DOI [10.61186/JBUMS.30.2.164](https://doi.org/10.61186/JBUMS.30.2.164)

Received: June 24, 2023

Accepted: September 16, 2023

¹ Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

*Corresponding author: Department of Microbial Biotechnology, Faculty of Biotechnology, Amol University of Special Modern Technologies, Amol, Iran

Tel: +981144442135

Fax: +981144154265

E-mail: ranjbarf@ausmt.ac.ir

بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی عصاره متانولی و آبی زیره سبز، زیره سیاه و سیاه‌دانه علیه اش‌ریشیا کلی، سالمونلا تیفی موریوم، باسیلوس سرئوس و استافیلوکوکوس اورئوس

مینا بهارلویی¹ ID، مجتبی رنجبر^۱ ID*

چکیده

زمینه و هدف: امروزه به دلیل اثرات سمی ترکیبات سنتتیک، استفاده از انواع طبیعی آن‌ها از جمله عصاره‌های گیاهی افزایش یافته است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی محتوای فنل و فلاونوئید کل، مقایسه فعالیت‌های بیولوژیکی عصاره‌های متانولی و آبی گیاه زیره سبز، زیره سیاه و سیاه‌دانه در شرایط *in vitro* است.

روش تحقیق: در این مطالعه تجربی میزان فنل و فلاونوئید کل اندازه‌گیری شد. سپس ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاء کنندگی سنجیده شد. حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) به روش میکرودايلوشن برات مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که محتوای فنل کل در سه گونه مطالعه شده از ۶/۱ تا ۳۷/۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک و محتوای فلاونوئید کل از ۶/۲ تا ۵۶/۲ میلی‌گرم گوئرستین بر گرم وزن خشک متغیر است. عصاره‌های گونه‌های مطالعه شده فعالیت آنتی‌اکسیدانی درخورد توجهی نشان دادند که بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۶۷/۷۴ درصد) و بالاترین میزان احیاء کنندگی آهن مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۰/۵۴) می‌باشد. نتایج نشان داد که عصاره متانولی هر سه گیاه زیره سبز، زیره سیاه و سیاه‌دانه دارای فعالیت ضد باکتریایی بر روی چهار گونه باکتری (*Escherichia coli* (PTCC1399)، (بالینی) *Salmonella typhimurium*، *Bacillus cereus* (PTCC1015) و *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) می‌باشند. کمترین غلظت بازدارندگی (۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین غلظت کشندگی (۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط به عصاره متانولی سیاه‌دانه و بر روی گونه *E. coli* مشاهده شد. درحالی‌که، از بین عصاره‌های آبی تنها عصاره آبی زیره سبز و سیاه‌دانه اثر ضد باکتریایی بر روی چهار گونه مورد مطالعه داشتند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج تحقیق حاضر، مشخص شد که عصاره متانولی زیره سبز، زیره سیاه و سیاه‌دانه دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی قابل توجهی علیه باکتری‌های بیماری‌زا می‌باشند؛ لذا این عصاره‌ها می‌توانند به عنوان فراورده‌های گیاهی طبیعی جهت کنترل عفونت‌های باکتریایی مد نظر قرار گیرند.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنتی‌اکسیدانی، فعالیت ضد میکروبی، زیره سبز، زیره سیاه، سیاه‌دانه

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی بیرجند. ۱۴۰۲؛ ۳۰ (۲): ۱۷۵-۱۶۴.

دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۶/۲۵

¹ گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

***نویسنده مسئول:** گروه زیست فناوری میکروبی، دانشکده زیست فناوری، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
آدرس: آمل - دانشگاه فناوری های نوین آمل - دانشکده زیست فناوری - گروه زیست فناوری میکروبی
تلفن: ۰۱۱۴۴۴۴۲۱۳۵ نمابر: ۰۱۱۴۴۱۵۴۲۶۵ پست الکترونیکی: ranjbarf@ausmt.ac.ir

مقدمه

بیماری‌های عفونی با منشأ باکتریایی سلامت انسان‌ها را در سراسر جهان تهدید می‌کنند. این درحالی است که مقاومت دارویی برخی از باکتری‌ها سبب کاهش عملکرد بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها شده‌است (۱). بنابراین نیازمند رویکردهای خلاقانه و نوآورانه برای کشف و توسعه آنتی‌بیوتیک‌های جدید هستیم. ترکیبات موجود در گیاهان، منابع امیدوارکننده‌ای از ترکیبات ضدباکتریایی هستند که می‌توانند به عنوان یک کاندید داروی جدید در مقابل بحران رو به رشد مقاومت آنتی‌بیوتیکی معرفی گردند (۲). به‌طور کلی، گیاهان ترکیبات متنوعی را به عنوان متابولیت‌های ثانویه تولید می‌کنند. این متابولیت‌ها به عنوان عوامل زیستی قوی برای درمان بیماری و همچنین کشف داروهای جدید، افزودنی‌های غذایی، طعم دهنده‌ها و سایر محصولات صنعتی با ارزش در نظر گرفته می‌شوند (۳). مطالعات نشان داده است که بدن انسان برای متابولیسم نرمال، پیام‌رسانی و تنظیم فعالیت‌های سلولی به رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی احتیاج دارد. بنابراین وجود تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای انجام عملکردهای فیزیولوژیکی بدن ضروری بوده و در صورت عدم تعادل بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها، رادیکال‌های آزاد نقش مضر داشته و باعث استرس‌های اکسیداتیو می‌شوند. استرس اکسیداتیو می‌تواند غشاهای سلولی و ساختارهای مهم سلولی مانند پروتئین‌ها، لیپیدها، دئوکسی ریبونوکلوئید و کربوهیدرات‌ها را تغییر دهد. استرس اکسیداتیو یکی از عوامل مؤثر در بروز بسیاری از بیماری‌ها است. بنابراین برای ایجاد تعادل مورد نظر از آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی استفاده می‌کنند. با این حال، مطالعات نشان داده است که آنتی‌اکسیدان‌های مصنوعی ممکن است عوارض جانبی داشته و برای سلامت انسان مضر باشند. در دهه‌های اخیر توجه محققان به سمت شناسایی و کشف آنتی‌اکسیدان‌هایی با منشأ طبیعی سوق پیدا کرده است. یکی از منابع اصلی آنتی‌اکسیدانی با منشأ طبیعی گیاهان می‌باشند (۴). فعالیت آنتی‌اکسیدانی یک گیاه عموماً به دلیل وجود متابولیت‌ها و ترکیبات فنلی موجود در آن می‌باشد. ترکیبات فنلی و مشتقات آن مانند فلاونوئیدها از مهم‌ترین متابولیت‌های

ثانویه تولید شده توسط گیاهان هستند. این ترکیبات می‌توانند فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی، ضدتوموری، ضدویروسی و آنتی‌بیوتیکی داشته باشند (۵). استفاده از عصاره‌های گیاهی به دلیل مزایای منحصر به فرد آن‌ها از جمله اثربخشی درمانی بالا، عوارض جانبی کم و هزینه ارزان‌تر نسبت به محصولات مصنوعی، بسیار مورد علاقه مردم می‌باشد. از این رو، امید است که در آینده نزدیک بسیاری از داروها با منشأ طبیعی در بازار عرضه شوند (۳).

زیره سبز (*Cuminum cyminum*) و زیره سیاه (*Carum carvi*)، متعلق به خانواده *Apiaceae* از قدیمی‌ترین گیاهان کشت شده در آسیا، آفریقا و اروپا هستند. در طب سنتی، زیره سبز و زیره سیاه برای درمان بیماری‌های گوارشی، اسهال، سوءهاضمه، سردرد، نفخ، اختلالات ریوی، سرفه و بهبود عملکرد کبد مورد استفاده قرار می‌گیرند (۶).

سیاه دانه (*black seed*) از خانواده *Ranunculacea* است که با نام‌های *nigella sativa* و *black cumin seed* نیز شناخته می‌شود. قرن‌هاست در طب سنتی از سیاه دانه برای درمان بیماری‌های مختلف از جمله آسم، سرماخوردگی، سردرد، احتقان بینی، بیماری‌های روماتیسمی، زگیل و بسیاری دیگر استفاده می‌شود. این گیاه دارای خواص آنتی‌اکسیدانی، ضد التهابی، ضد سرطانی، ضد میکروبی و همچنین ضد فشارخون، ضد دیابت و تنظیم‌کننده سیستم ایمنی بوده و دارای خواص محافظت‌کننده از کلیه، کبد، قلب، دستگاه گوارش و سیستم عصبی نیز می‌باشد (۷).

مطالعات نشان داده‌اند که نوع و میزان ترکیبات مؤثر موجود در گیاه به نوع گیاه بستگی دارد. همچنین نوع حلال مورد استفاده نیز در میزان و نوع ترکیبات استخراجی تأثیر دارد. بنابراین هدف از مطالعه حاضر تأثیر نوع حلال و نوع گیاه (زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه) بر میزان فنل کل، فلاونوئید، فعالیت‌های ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی می‌باشد تا بتوان عصاره مناسب با بالاترین ظرفیت ضد باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی را جهت به کارگیری در داروهای جدید، افزودنی‌های غذایی، طعم دهنده‌ها و سایر محصولات صنعتی با ارزش شناسایی کرد.

روش تحقیق

تهیه عصاره‌های آبی و الکلی

برای تهیه عصاره آبی مقدار ۸ گرم دانه پودر شده زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه توزین شده و در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب استریل حل شد. سپس به مدت ۴۵ دقیقه روی همزن با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در ادامه محلول حاصل را به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس عصاره به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. در نهایت عصاره‌ها با استفاده از کاغذ واتمن صاف و توسط دستگاه خشک‌کن انجمادی خشک شد. برای تهیه عصاره هیدروالکلی مقدار ۸ گرم دانه پودر شده زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه توزین و در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰٪ حل شده و به مدت ۷۲ ساعت درون انکوباتور شیکردار با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. در ادامه محلول به‌دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ و با استفاده از کاغذ واتمن صاف شد. سپس حلال عصاره‌ها را با استفاده از دستگاه روتاری تبخیر کرده و در نهایت عصاره‌ها تا زمان استفاده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (۸).

تعیین میزان فنول کل عصاره‌ها

تعیین میزان فنل کل عصاره‌ها به روش فولین-سیوکالتیو انجام شد. در این روش ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره (یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) برداشته شده و با ۱۵۰۰ میکرولیتر معرف فولین و ۱۲۰۰ میکرولیتر کرینات سدیم (۷۵ گرم بر لیتر) مخلوط شد و به مدت ۵۰ دقیقه در دمای اتاق قرار گرفته و میزان جذب در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با استفاده از غلظت‌های مختلف گالیک اسید تهیه شد. محتوای فنل عصاره‌ها برحسب میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم وزن خشک عصاره گزارش شد (۸).

تعیین میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها

میزان فلاونوئید کل عصاره‌ها با استفاده از روش رنگ‌سنجی آلومینیوم کلرید مشخص شد. در این روش مقدار ۱۵۰۰ میکرولیتر عصاره (یک میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) با ۱۵۰۰ میکرولیتر کلرید آلومینیوم (۲۰ گرم بر لیتر) مخلوط شده و به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شد. در نهایت میزان جذب در طول موج ۴۱۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و محتوای فلاونوئید کل عصاره‌ها برحسب میلی‌گرم کوئرستین بر گرم وزن خشک عصاره گزارش شد (۸).

بررسی فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها

فعالیت ضدباکتریایی عصاره‌ها از روش حداقل غلظت بازدارندگی (MIC^1) و حداقل غلظت کشندگی (MBC^2) بر روی ۴ گونه باکتری (*Escherichia coli* (PTCC1399)، (بالینی) *Bacillus cereus*، *Salmonella typhimurium* (PTCC1015) و *Staphylococcus aureus* (ATCC25923) انجام شد. تست حساسیت ضد میکروبی بر اساس روش مرجع میکرودابیلوشن براث بر طبق دستورالعمل مؤسسه استانداردهای بالینی انجام شد (۹) از استوک عصاره سریال‌های رقت دو برابر در محیط مولر هیتون براث تهیه شد (برای هر عصاره ۶ رقت سریال بین ۶/۲۵ - ۲۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر). در ادامه داخل هر میکروپلیت ۱۰۰ میکرولیتر از هر کدام از رقت‌های تهیه شده، ریخته شد و به آن ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون‌های باکتریایی با رقت $10^5 \times 1/5$ اضافه شد. سپس به مدت ۱۸ ساعت درون انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. اولین غلظتی که در آن هیچ کدورتی ناشی از رشد باکتری مشاهده نشده به عنوان حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) در نظر گرفته شد. برای تعیین حداقل غلظت کشندگی، ابتدا پتری دیش‌های محیط کشت مولر هیتون آگار به ۱۰ قسمت تقسیم شده و ۱۰ میکرولیتر از میکروپلیت‌های بدون کدورت بر روی محیط کشت جامد کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه در انکوباتور قرار داده شد. کمترین غلظتی که در آن باکتری رشد نکرده باشد، به عنوان

¹ Minimum inhibitory concentration (MIC)² Minimum bactericidal concentration (MBC)

حداقل غلظت کشندگی (MBC) در نظر گرفته شد (۹).

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش مهار رادیکال آزاد DPPH

به منظور تعیین مهار رادیکال آزاد DPPH در هر کدام از عصاره‌ها، در ابتدا غلظت‌های مختلف ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر از هر یک از عصاره‌ها تهیه شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های مختلف با ۲۰۰۰ میکرولیتر محلول DPPH (۴ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد) ترکیب شده و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در انتها میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$100 \times I (\%) = \frac{(AD-AS)}{AD}$$

که در این فرمول AD جذب کنترل و AS جذب نمونه حاوی عصاره می‌باشد.

بررسی فعالیت آنتی اکسیدانی به روش احیاء کنندگی آهن

جهت بررسی میزان احیاء کنندگی آهن هریک از عصاره‌ها، ابتدا غلظت‌های مختلف ۱۲۵، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر تهیه شد. سپس ۱۰۰۰ میکرولیتر از هر کدام از غلظت‌های تهیه شده از عصاره‌های مختلف برداشته و با ۱۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات (۰/۲ M) و ۱۰۰۰ میکرولیتر پتاسیم فری سیانات (۱٪) ترکیب شد و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس فالكونها روی سکوی آزمایشگاه قرار داده شد تا سرد شوند. در ادامه به هر کدام از فالكونها ۱۰۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید (۱۰٪) اضافه شد. در نهایت ۱۰۰۰ میکرولیتر از ترکیب فوق به ۱۰۰۰ میکرولیتر آب استریل و ۴۰۰ میکرولیتر کلرید آهن (۰/۱٪) اضافه شده و جذب آن در طول موج ۷۰۰ نانومتر اندازه‌گیری شد (۸).

طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ (FTIR)

طیف‌سنجی مادون قرمز توسط دستگاه perkin elmer- spectrum 65 برای شناسایی گروه‌های عاملی عصاره‌ها مورد آزمایش قرار گرفته شد.

آنالیز آماری

برای بررسی و مقایسه میانگین‌ها از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده شد. همچنین ضرایب همبستگی ساده بین زوج صفات برای به‌دست آوردن میزان ارتباط صفات با یکدیگر با روش پیرسون انجام گرفت.

مطالعه حاضر پس از تأیید شورای پژوهشی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل و کمیته اخلاق در پژوهش‌های زیست پزشکی با کد IR.ASMT.REC.1402.005 انجام شد.

یافته‌ها

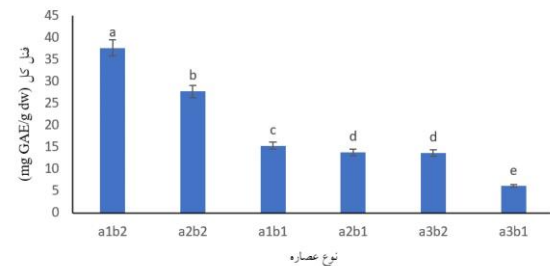
ارزیابی میزان فنول و فلاونوئید کل

مقایسه میزان فنول و فلاونوئید کل مورد بررسی نشان داد که بین گونه‌ها و حلال‌های مورد استفاده تفاوت معنی‌داری در سطح ۰/۰۱ وجود دارد. به‌طوری که بیشترین میزان فنول کل مربوط به عصاره متانولی زیره سبز (۳۷/۶۸ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک) و کمترین میزان فنل کل مربوط به عصاره آبی سیاه دانه (۶/۱۷ میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره خشک) می‌باشد (نمودار ۱الف). همچنین بیشترین میزان فلاونوئید کل مربوط به عصاره متانولی زیره سبز (۵۶/۲۸ میلی‌گرم گوئرستین بر گرم عصاره خشک) و کمترین میزان فلاونوئید کل مربوط به عصاره آبی زیره سیاه (۶/۵۶ میلی‌گرم گوئرستین بر گرم عصاره خشک) می‌باشد (نمودار ۱ب). همان‌طور که نتایج نمودار ۱ نشان داده است بالاترین میزان فنل و فلاونوئید کل در عصاره متانولی زیره سبز بوده و در مرحله بعدی مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه می‌باشد که در ادامه شاهد یک کاهش چشمگیر در میزان فنل و فلاونوئید کل دیگر نمونه‌ها می‌باشیم.

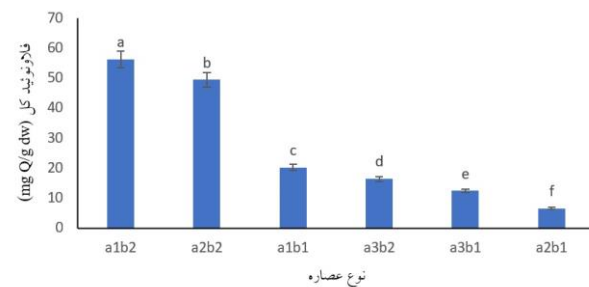
ارزیابی فعالیت ضدباکتریایی

حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره‌ها در مقابل گونه‌های باکتریایی مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۱). نتایج نشان دادند که بین گیاهان مختلف و حلال‌های مختلف از نظر حداقل غلظت بازدارندگی و حداقل غلظت کشندگی تفاوت معنی‌داری وجود دارد. نتایج آنالیز اثر متقابل حلال در گیاهان مختلف نشان داد که کمترین غلظت بازدارندگی (۶/۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) و کمترین غلظت کشندگی (۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) مربوط به عصاره متانولی سیاه دانه و بر روی گونه *E. coli* مشاهده شد. همچنین در مراحل بعدی کمترین غلظت بازدارندگی و کمترین غلظت کشندگی به ترتیب مربوط به عصاره متانولی سیاه دانه بر روی گونه‌های *S. typhimurium* و *B. cereus* و عصاره آبی و متانولی سیاه دانه و بر روی گونه *S. aureus* با میزان ۱۲/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر و ۲۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. همچنین در محدوده غلظت بررسی شده از عصاره آبی زیره سیاه، اثر ضدباکتریایی بر روی هیچ‌کدام از باکتری‌ها مشاهده نشد.

الف



ب



نمودار ۱- الف: تاثیر حلال آبی و متانولی بر روی میزان فنل کل؛ ب: میزان فلاونوئید کل گونه‌های زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه؛ ا: گونه، a1 زیره سبز، a2 زیره سیاه، a3 سیاه دانه؛ (b : حلال، b1 حلال آب، b2 حلال متانول)-میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار معرف عدم معنی‌داری ($P>0.05$)

جدول ۱- حداقل غلظت بازدارندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) (بر حسب mg/ml) عصاره آبی و متانولی گونه‌های زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه بر روی باکتری‌های منتخب

سیاه دانه		زیره سیاه		زیره سبز		سیاه دانه		زیره سیاه		زیره سبز		سویه باکتری
آبی	متانولی	آبی	متانولی	آبی	متانولی	آبی	متانولی	آبی	متانولی	آبی	متانولی	
MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	
۱۲/۵ ^{ab}	۵۰ ^b	۶/۲۵ ^a	۱۲/۵ ^a	.	.	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	<i>E. coli</i>
۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۱۲/۵ ^{ab}	۲۵ ^{ab}	.	.	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۲۵ ^b	۱۰۰ ^c	<i>S. typhimurium</i>
۲۵ ^b	۵۰ ^b	۱۲/۵ ^{ab}	۲۵ ^{ab}	.	.	۲۵ ^b	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	<i>B. cereus</i>
۱۲/۵ ^{ab}	۲۵ ^{ab}	۱۲/۵ ^{ab}	۲۵ ^{ab}	.	.	۲۵ ^b	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۱۰۰ ^c	۵۰ ^c	۵۰ ^b	<i>S. aureus</i>

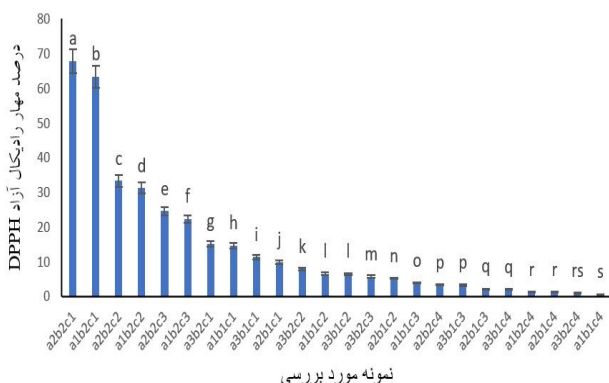
* میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار، در سطح احتمال ۵ درصد فاقد اختلاف معنی‌دار بودند.

ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی

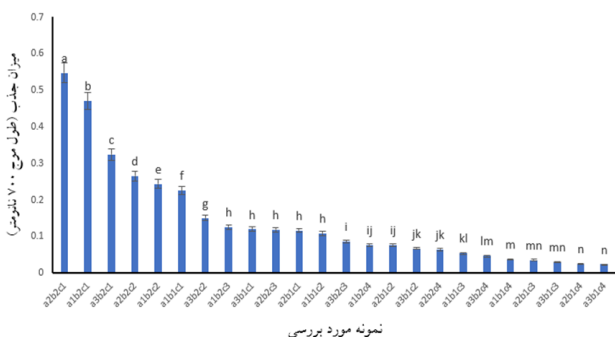
به منظور ارزیابی فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره‌ها از دو روش درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن استفاده شد. تعیین ظرفیت آنتی اکسیدانی روش احیاء کنندگی آهن بر اساس ساز و کار انتقال اتم هیدروژن و در روش مهار رادیکال آزاد DPPH بر اساس ساز و کار روش انتقال الکترون می‌باشد. از جمله مزیت‌های این دو روش می‌توان به سادگی، عدم نیاز به تجهیزات پیچیده و امکانات آزمایشگاهی، دقت و قابل اعتماد بودن آن‌ها اشاره کرد. بعلاوه استفاده از این روش محدودیت‌های مالی برای انجام تست‌های آنتی اکسیدانی را کاهش می‌دهد (۱۰). نتایج آنالیز درصد مهار رادیکال آزاد DPPH نشان داد که بین گیاهان مختلف، حلال‌های مختلف و غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد و آنالیز اثر متقابل گیاهان مختلف در حلال‌های مختلف در غلظت‌های مختلف نشان داد که بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۶۷/۷۴ درصد) می‌باشد (نمودار ۲). در مرحله بعدی بالاترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مربوط به عصاره متانولی زیره سبز با غلظت ۴۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۶۳/۳۳ درصد) می‌باشد. کمترین درصد مهار رادیکال آزاد DPPH مربوط به عصاره آبی زیره سبز با غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۰/۵۴) می‌باشد. نتایج نشان داد در غلظت ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر بین عصاره آبی زیره سیاه و عصاره متانولی زیره سبز تفاوت معنی‌داری وجود ندارد.

نتایج آنالیز میزان احیاء کنندگی آهن نشان داد که بین گیاهان مختلف، حلال‌های مختلف و غلظت‌های مختلف تفاوت معنی‌داری وجود دارد و آنالیز اثر متقابل گیاهان مختلف در حلال‌های مختلف در غلظت‌های مختلف نشان داد که بالاترین میزان احیاء کنندگی آهن مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه با غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر (۰/۵۴) می‌باشد (نمودار ۳). در مراحل بعدی بالاترین جذب اسپکترومتری مربوط به غلظت ۱۰۰۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر عصاره متانولی زیره سبز (۰/۴۷) و عصاره متانولی سیاه دانه (۰/۲۶)

می‌باشد. کمترین میزان جذب اسپکترومتری مربوط به عصاره آبی زیره سیاه (۰/۲۳) و سیاه دانه (۰/۲۴) با غلظت ۱۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر می‌باشد. همچنین نتایج آزمایش نشان داده است که با افزایش غلظت، میزان جذب اسپکترومتری و بالطبع میزان احیاء کنندگی آهن افزایش می‌یابد (نمودار ۳).



نمودار ۲- اثر غلظت، حلال و گونه گیاهی بر روی درصد مهار رادیکال آزاد DPPH؛ (a: گونه، a1 زیره سبز، a2 زیره سیاه، a3 سیاه دانه)؛ (b: حلال، b1 حلال آب، b2 حلال متانول)؛ (c: غلظت بر حسب $\mu\text{g/ml}$)، c1، c2، c3، c4، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰. میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار معرف عدم معنی‌داری ($P > 0.05$)



نمودار ۳: اثر غلظت، حلال و گونه گیاهی بر روی میزان احیاء کنندگی آهن؛ (a: گونه، a1 زیره سبز، a2 زیره سیاه، a3 سیاه دانه)؛ (b: حلال، b1 حلال آب، b2 حلال متانول)؛ (c: غلظت بر حسب $\mu\text{g/ml}$)، c1، c2، c3، c4، ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰، ۴۰۰، ۵۰۰. میانگین‌های دارای حروف مشابه برای هر تیمار معرف عدم معنی‌داری ($P > 0.05$)

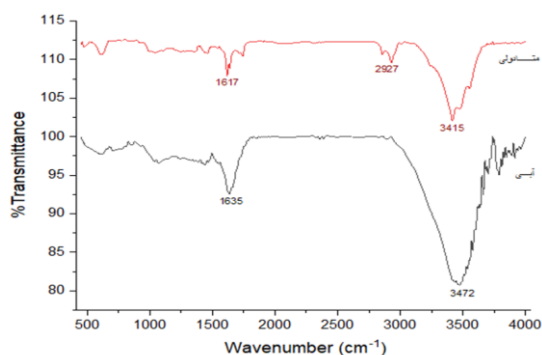
تجزیه و تحلیل طیف سنجی FTIR¹

از طیف سنجی FTIR برای شناسایی گروه عملکردی اجزای زیست فعال براساس مقدار پیک در ناحیه تابش مادون قرمز استفاده شد. بنابراین هدف از این آنالیز وجود ارتباط گروههای پیوندی شناسایی شده با ترکیبات موجود در عصاره می باشد به عنوان مثال بر اساس گروههای هیدروکسیل در محدوده فرکانس ۳۳۰۰ تا ۳۴۰۰ سانتی متر احتمالاً مربوط به ترکیبات فنلی موجود در عصاره می باشد و بر اساس این آنالیز و گروههای پیوندی شناسایی شده در آن و بر اساس مطالعات قبلی احتمالاً به یکی از ترکیبات موجود در عصاره نسبت داده و بر اساس آن اثر نوع حلال را تا حدودی بر روی ترکیبات استخراج شده در عصاره می توان حدس زد. طیف FTIR عصاره های آبی و متانولی سیاه دانه در محدوده فرکانس ۴۰۰-۴۰۰۰ سانتی متر در ۴ نمایش داده شده است. مطابق با این نمودار جذب در ناحیه ۱۶۳۵ و ۱۶۱۷ سانتی متر در عصاره های آبی و متانولی مربوط به ارتعاش کششی C=O آمیدها می باشد که مشخصه پروتئین ها می باشد. پیک مشاهده شده در ناحیه ۲۹۲۷ سانتی متر در عصاره متانولی نشان دهنده پیوند C-H آلدهیدها در ارتعاشات کششی پلی ساکاریدها، لیپیدها و کربوهیدرات ها می باشد. همچنین نوارهای جذبی مشاهده شده در ۳۴۱۵ و ۳۴۷۲ سانتی متر مربوط به پیوند های N-H و O-H در ارتعاشات کششی آمین ها، آمیدها، الکل ها و فنول ها می باشد (۱۱،۱۲).

نوارهای جذبی عصاره های آبی و متانولی زیره سبز در نمودار ۵ نمایش داده شده است. مطابق با این نمودار نوارهای جذبی ۶۱۶ و ۱۱۴۸ سانتی متر در عصاره آبی به ترتیب مربوط به پیوند C-H در ارتعاشات خمشی حلقه آروماتیک و پیوند C-O در الکل ها، اترها، استرها، کربوکسیلیک اسیدها و انیدریدها می باشد. همچنین پیک مشاهده شده در ۱۴۵۸ سانتی متر در عصاره آبی نشان دهنده پیوندهای CH₃ و COO⁻ در ارتعاشات خمشی آلکان ها و آمینو اسیدها می باشد. نوارهای جذبی ۱۶۵۶ و ۱۶۱۹ سانتی متر در عصاره های آبی و متانولی مربوط به ارتعاش کششی C=O آمیدها و نوارهای جذبی ۲۸۵۵، ۲۹۲۶ و ۲۹۲۷ سانتی متر نشان دهنده پیوند

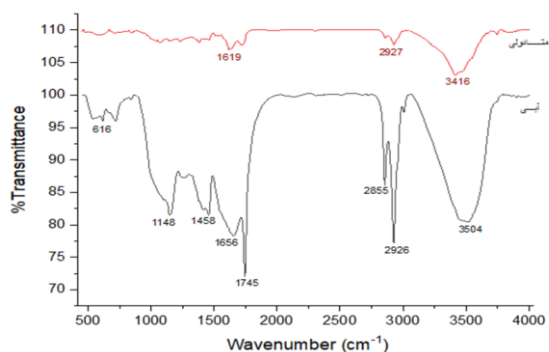
C-H آلدهیدها در ارتعاشات کششی پلی ساکاریدها، لیپیدها و کربوهیدرات ها می باشد. همچنین نوارهای جذبی مشاهده شده در ۳۴۱۶ و ۳۵۰۴ سانتی متر مربوط به پیوند های N-H و O-H در ارتعاشات کششی آمین ها، آمیدها، الکل ها و فنول ها می باشد (۱۱،۱۲). نوارهای جذبی عصاره های آبی و متانولی زیره سیاه در نمودار ۶ نمایش داده شده است. مطابق با این نمودار نوارهای جذبی ۶۲۰، ۶۱۸ و ۶۵۸ سانتی متر در عصاره آبی و متانولی مربوط به پیوند C-H در ارتعاشات خمشی حلقه آروماتیک و نوارهای جذبی ۱۱۲۳ و ۱۴۱۱ سانتی متر در عصاره آبی نشان دهنده پیوند C-O در الکل ها، اترها، استرها، کربوکسیلیک اسیدها و انیدریدها می باشد. پیک مشاهده شده در ۱۵۷۹ و ۲۹۲۹ سانتی متر در عصاره آبی به ترتیب مربوط به ارتعاشات خمشی حلقه آروماتیک و N-H در اسیدهای آمینه و پیوند C-H آلدهیدها در ارتعاشات کششی پلی ساکاریدها، لیپیدها و کربوهیدرات ها می باشد.

نمودار ۴: طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ عصاره های متانولی و



آبی سیاه دانه

نمودار ۵: تبدیل فوریه فروسرخ عصاره های متانولی و آبی زیره سبز



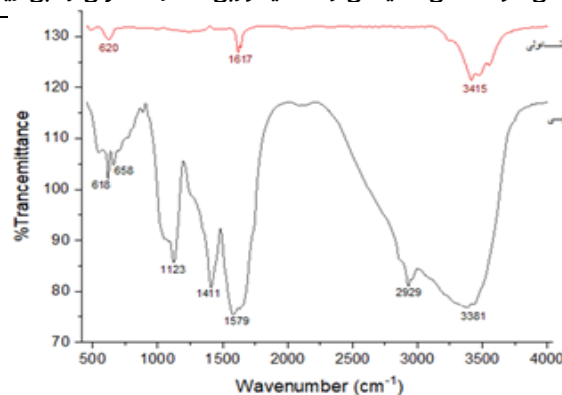
نمودار ۶: طیف سنجی تبدیل فوریه فروسرخ عصاره های متانولی و

¹ Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR)

می باشد (۱۱،۱۲).

همبستگی بین صفات

طبق نتایج همبستگی (جدول ۲)، بین میزان احیاء کنندگی آهن با میزان فلاونوئید و درصد مهار DPPH همبستگی مثبت (به ترتیب $r=0.92$ و $r=0.93$) و سطح معنی داری ۰/۰۱ وجود دارد. بین میزان فلاونوئید با میزان فنول و درصد مهار DPPH همبستگی مثبت (به ترتیب $r=0.94$ و $r=0.98$) و سطح معنی داری ۰/۰۱ وجود دارد. همبستگی بین میزان فنول با درصد مهار DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن همبستگی مثبت (به ترتیب $r=0.91$ و $r=0.85$) و سطح معنی داری ۰/۰۵ وجود دارد.



آبی زیره سیاه

همچنین نوارهای جذبی مشاهده شده در ۳۳۸۱ و ۳۴۱۵ سانتی متر در عصاره های متانولی و آبی مربوط به پیوندهای N-H و O-H در ارتعاشات کششی آمین ها، آمیدها، الکل ها و فنول ها

جدول ۲) میزان همبستگی بین میزان فنول، فلاونوئید، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن

میزان فنول	میزان فلاونوئید	درصد مهار DPPH	میزان احیاء کنندگی آهن
۱	**۰/۹۴	*۰/۹۱	*۰/۸۵
	۱	**۰/۹۸	**۰/۹۲
		۱	**۰/۹۳
			۱

* وجود همبستگی در سطح ۵ درصد ** وجود همبستگی در سطح ۱ درصد

بحث

همبستگی مثبت قوی بین میزان فنول کل، فلاونوئید کل، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن در تمام نمونه های مورد بررسی می باشد. Yeni Maulidah همکاران نیز در مطالعه ای که بر روی ۱۲ گیاه بومی اندونزی انجام دادند وجود یک رابطه مثبت بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی اکسیدانی گیاه را تایید کردند (۱۵). با این وجود نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بیشترین خاصیت آنتی اکسیدانی مربوط به عصاره متانولی زیره سیاه و بیشترین میزان فنول و فلاونوئید کل مربوط به عصاره متانولی زیره سبز می باشد. در همین راستا Zheng Wei و همکاران در مطالعه ای نشان دادند که علاوه بر ترکیبات فنلی، عوامل دیگری نیز بر سطح فعالیت آنتی اکسیدانی تاثیر می گذارند. بنابراین، به دلیل پیچیدگی ترکیبات موجود در گیاهان، ایجاد رابطه بین فعالیت آنتی اکسیدانی و ترکیبات به خصوصی در گیاه مشکل

افزایش تقاضای جهانی در استفاده از محصولات گیاهی برای اهداف درمانی و تغذیه منجر به افزایش تحقیقات درباره ترکیبات طبیعی موجود در گیاهان مختلف و فعالیت های دارویی آنها شده است. علاوه بر این، در طول سال ها نیاز محققان به جستجوی آنتی اکسیدان های طبیعی نسبت به آنتی اکسیدان های مصنوعی به دلیل سرطان زا بودن آنها افزایش یافته است (۱۲). در این مطالعه علاوه بر ارزیابی میزان فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره های آبی و متانولی زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه، محتوای فنول و فلاونوئید کل نیز اندازه گیری شد زیرا ترکیبات فنلی به دلیل فعالیت های بیولوژیکی و فیزیولوژیکی (مانند اثرات آنتی اکسیدانی، ضد سرطانی، ضد جهش زا و ضد التهابی) از اهمیت قابل توجهی برخوردار هستند (۱۴). تجزیه و تحلیل آزمون همبستگی پیرسون تایید کننده یک

است (۱۶). زهرا زرگوش و همکاران نیز در مطالعه‌ای دیگر گزارش دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی در برخی از گیاهان ممکن است به دلیل ترکیبات ناشناخته یا فعل و انفعالات هم افزایی بین مواد مختلف باشد (۱۷). بنابراین تحقیقات بیشتر برای شناسایی ترکیبات عصاره متانولی زیره سیاه به شناسایی ترکیبات آنتی‌اکسیدانی کمک خواهد کرد. نتایج ما همچنین نشان دادند که میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها در روش‌های مهار رادیکال آزاد DPPH و احیاء کنندگی آهن متفاوت است. در همین راستا مطالعات انجام شده توسط Natividad Chaves و همکاران نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتر یا کمتر نسبت داده شده به یک گونه به روش‌های مورد استفاده بستگی دارد (۱۰). علاوه بر این، یافته‌ها در این مطالعه حاکی از آن بود که فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وابسته به غلظت است. چنانچه با افزایش غلظت، درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن به طور معنی‌داری افزایش پیدا کرده است و در غلظت‌های پایین، بین عصاره‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود که با نتایج رنجبر و همکاران مطابقت داشت (۸). مطالعات قبلی همچنین بیان کردند که مجموعه‌های قطبی و غیر قطبی در ایجاد خواص آنتی‌اکسیدانی نقش دارند (۱۶). متانول در بیشتر موارد در استخراج اجزای زیست‌فعال قطبی از گیاهان استفاده می‌شود. با این حال بسیاری از اجزای غیر قطبی نیز در متانول حل می‌شوند و می‌توان آن‌ها را استخراج کرد. بنابراین، متانول برای استخراج طیف گسترده‌ای از ترکیبات زیست‌فعال استفاده می‌شود (۸). بازیابی پلی‌فنل‌ها از مواد گیاهی نیز تحت تأثیر حلالیت آن‌ها در حلال، قطبیت حلال، درجه پلیمریزاسیون فنل‌ها، برهمکنش با سایر ترکیبات گیاهی و تشکیل کمپلکس‌های نامحلول است. بنابراین استفاده از حلال‌های قطبی مانند متانول، منجر به نرخ بازیابی بالاتر ترکیبات فنلی می‌شود. به طور کلی، نتایج ما نشان داد که متانول می‌تواند حلال انتخابی برای تولید سطوح بالایی از ترکیبات قابل استخراج باشد که با نتایج Nuraniye Eruygur و همکاران مطابقت داشت (۱۸). نتایج طیف FTIR نیز تفاوت قابل توجه پیوندهای شیمیایی را در عصاره‌های آبی و متانولی در هر سه گیاه زیره سبز، زیره سیاه و سیاه دانه نشان

می‌دهد که حاکی از تفاوت در استخراج اجزای زیست‌فعال توسط حلال‌های آبی و متانولی می‌باشد زیرا ترکیبات زیست‌فعال در گیاهان به گروه‌های شیمیایی مختلفی تعلق دارند. بنابراین در حلال‌های مختلف حلالیت متفاوتی از خود نشان می‌دهند. نتایج همچنین نشان دادند که تفاوت حلال‌های آبی و متانولی در استخراج اجزای زیست‌فعال، بر روی خاصیت ضد باکتریایی نیز تأثیرگذار بوده است. به گونه‌ای که در عصاره آبی زیره سیاه، برخلاف عصاره متانولی آن، هیچگونه خاصیت ضد میکروبی مشاهده نشد. همچنین برای زیره سبز و سیاه دانه نیز حلال متانول در مقایسه با حلال آب نتایج بهتری را نشان داده است. با توجه به نتایج به دست آمده، عصاره متانولی سیاه دانه در مقایسه با دیگر عصاره‌ها دارای بالاترین خاصیت ضد میکروبی علیه ۴ گونه باکتری *E. coli*، *S. aureus*، *S. Typhimurium* و *B. cereus* می‌باشد. مطالعات زیادی نشان داده‌اند که این باکتری‌ها در غذاهای آلوده یافت می‌شوند و می‌توانند منجر به مسمومیت غذایی شوند. همچنین این پاتوژن‌های غذایی مقاومت آنتی‌بیوتیکی از خود نشان می‌دهند. بنابراین در مقابل درمان، چالش برانگیزتر بوده و خطر مرگ و میر را افزایش می‌دهند (۱۹). در نتیجه سیاه دانه ممکن است یک کاندید بالقوه برای به دست آوردن یک عامل ضد میکروبی در مدیریت بیماری‌های عفونی باشد. مطالعات زیادی وجود دارند که بیان می‌کنند ترکیبات فنلی و فلاونوئیدها دارای فعالیت ضد باکتریایی هستند (۲۰). با این حال در مطالعه حاضر همبستگی بین میزان فنل و فلاونوئید و خاصیت ضد باکتریایی مشاهده نشده است. در همین راستا *Vanja Todorovic* و همکاران و *Sonia ancuta* و همکاران در مطالعات جداگانه بر روی عصاره‌های مختلف نتایجی مشابه با نتایج حاصل در این مطالعه را گزارش کردند (۲۱، ۲۲). تفاوت در نتایج به دست آمده از عملکرد ضد باکتریایی عصاره‌های مختلف را می‌توان به تفاوت در اجزای زیست‌فعال و حلالیت آن‌ها در حلال‌های مختلف نسبت داد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که نوع گونه، نوع حلال و میزان

این مقاله مستخرج از پایان نامه دانشجو در مقطع کارشناسی ارشد تحت عنوان تاثیر ضد التهابی عصاره زیره سیاه و نانو کیتوزان سنتز شده توسط عصاره زیره سیاه در التهاب القاء شده با لیپوپلی ساکارید در موش در سال ۱۳۹۹ با کد رهگیری ۱۶۹۵۸۷۳ می باشد که با حمایت دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل اجرا شده است. از دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل به دلیل همکاری در اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی به عمل می آید.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافی در پژوهش حاضر وجود ندارد.

غلظت در میزان فعالیت آنتی اکسیدانی اندازه گیری شده به دو روش درصد مهار رادیکال آزاد DPPH و میزان احیاء کنندگی آهن، تفاوت چشمگیری ایجاد می کنند. بطوریکه حلال متانول باعث استخراج بهتر ترکیبات فنلی و فلاونوئیدی شده و با افزایش غلظت، میزان فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر می شود. نتایج همچنین نشان دادند بین میزان فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی همبستگی مثبت وجود دارد. علاوه بر این در هر دو نوع حلال، عصاره بدست آمده از سه گونه به جز عصاره آبی زیره سیاه قادر به مهار رشد گونه های باکتری مورد مطالعه بوده اند. با توجه به نتایج بدست آمده عصاره های متانولی هر سه گونه می توانند در طب سنتی و صنایع غذایی بطور وسیعی مورد استفاده قرار بگیرند.

تقدیر و تشکر

منابع:

- 1- Li H-Y, Yang W-Q, Zhou X-Z, Shao F, Shen T, Guan H-Y, et al. Antibacterial and Antifungal Sesquiterpenoids: Chemistry, Resource, and Activity. *Biomolecules*. 2022; 12(9): 1271. DOI: [10.3390/biom12091271](https://doi.org/10.3390/biom12091271)
- 2- Porras G, Chassagne F, Lyles JT, Marquez L, Dettweiler M, Salam AM, et al. Ethnobotany and the role of plant natural products in antibiotic drug discovery. *Chem Rev*. 2020; 121(6): 3495-560. DOI: [10.1021/acs.chemrev.0c00922](https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c00922)
- 3- Elkordy AA, Haj-Ahmad RR, Awaad AS, Zaki RM. An overview on natural product drug formulations from conventional medicines to nanomedicines: Past, present and future. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2021; 63: 102459. DOI: [10.1016/j.jddst.2021.102459](https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102459)
- 4- Kengne IC, Feugap LDT, Njouendou AJ, Ngnokam CDJ, Djamalladine MD, Ngnokam D, et al. Antibacterial, antifungal and antioxidant activities of whole plant chemical constituents of *Rumex abyssinicus*. *BMC Complement Med Ther*. 2021; 21(1):164. DOI: [10.1186/s12906-021-03325-y](https://doi.org/10.1186/s12906-021-03325-y)
- 5- Nazliniwaty H, Avriyanti O, Pertiwi D, Satria D, Muhammad M, editors. Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid content of hydroalcoholic extract of *Artocarpus lacucha* Buch-Ham. Leaves. *American Institute of Physics Conference Series*. 2021; 2342(1): 080010. DOI: [10.1063/5.0045440](https://doi.org/10.1063/5.0045440)
- 6- Shosha NNH, Fahmy NM, Singab ANB, Mohamed RW. Anti-ulcer effects of cumin (*Cuminum cyminum* L.), thyme (*Thymus vulgaris* L.), and caraway (*Carum carvi* L.) essential oils on peptic ulcer and ulcerative colitis models in rats. *J Herbmed Pharmacol*. 2022; 11(3): 389-400. DOI: [10.34172/jhp.2022.45](https://doi.org/10.34172/jhp.2022.45)
- 7- Yimer EM, Tuem KB, Karim A, Ur-Rehman N, Anwar F. *Nigella sativa* L.(black cumin): a promising natural remedy for wide range of illnesses. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2019; 2019. DOI: [10.1155/2019/1528635](https://doi.org/10.1155/2019/1528635)
- 8- Ranjbar M, Kiani M, Nikpay A. Antioxidant and scolicidal activities of four Iranian *Mentha* species (Lamiaceae) in relation to phenolic elements. *J Herbmed Pharmacol*. 2020; 9(3): 200-8. DOI: [10.34172/jhp.2020.26](https://doi.org/10.34172/jhp.2020.26)
- 9- Halawani EM, Hassan AM, Gad El-Rab SM. Nanoformulation of biogenic cefotaxime-conjugated-silver nanoparticles for enhanced antibacterial efficacy against multidrug-resistant bacteria and anticancer studies. *Int J Nanomedicine*. 2020: 1889-901. DOI: [10.2147/IJN.S236182](https://doi.org/10.2147/IJN.S236182)

- 10- Chaves N, Santiago A, Alías JC. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*. 2020; 9(1): 76. DOI: [10.3390/antiox9010076](https://doi.org/10.3390/antiox9010076)
- 11- Ong HC, Chen W-H, Singh Y, Gan YY, Chen C-Y, Show PL, et al. A state-of-the-art review on thermochemical conversion of biomass for biofuel production: A TG-FTIR approach. *Energy Convers. Manag.* 2020; 209: 112634. DOI: [10.1016/j.enconman.2020.112634](https://doi.org/10.1016/j.enconman.2020.112634)
- 12- Thummajitsakul S, Samaikam S, Tacha S, Silprasit K. Study on FTIR spectroscopy, total phenolic content, antioxidant activity and anti-amylase activity of extracts and different tea forms of *Garcinia schomburgkiana* leaves. *LWT*. 2020; 134:110005. DOI: [10.1016/j.lwt.2020.110005](https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110005)
- 13- A El-Chaghaby G, Rashad S, F Abdel-Kader S, A Rawash E-S, Abdul Moneem M. Assessment of phytochemical components, proximate composition and antioxidant properties of *Scenedesmus obliquus*, *Chlorella vulgaris* and *Spirulina platensis* algae extracts. *Egypt J Aquat Biol Fish.* 2019; 23(4): 521-6. DOI: [10.21608/ejabf.2019.57884](https://doi.org/10.21608/ejabf.2019.57884)
- 14- Cosme P, Rodríguez AB, Espino J, Garrido M. Plant phenolics: Bioavailability as a key determinant of their potential health-promoting applications. *Antioxidants*. 2020; 9(12): 1263. DOI: [10.3390/antiox9121263](https://doi.org/10.3390/antiox9121263)
- 15- Muflihah YM, Gollavelli G, Ling Y-C. Correlation study of antioxidant activity with phenolic and flavonoid compounds in 12 Indonesian indigenous herbs. *Antioxidants*. 2021; 10(10): 1530. DOI: [10.3390/antiox10101530](https://doi.org/10.3390/antiox10101530)
- 16- Zheng W, Wang SY. Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem.* 2001; 49(11): 5165-70. DOI: [10.1021/jf010697n](https://doi.org/10.1021/jf010697n)
- 17- Zargoosh Z, Ghavam M, Bacchetta G, Tavili A. Effects of ecological factors on the antioxidant potential and total phenol content of *Scrophularia striata* Boiss. *Sci Rep.* 2019; 9(1): 1-15. DOI: [10.1038/s41598-019-52605-8](https://doi.org/10.1038/s41598-019-52605-8)
- 18- Eruygur N, Ucar E, Akpulat HA, Shahsavari K, Safavi SM, Kahrizi D. In vitro antioxidant assessment, screening of enzyme inhibitory activities of methanol and water extracts and gene expression in *Hypericum lydium*. *Mol Biol Rep.* 2019; 46(2): 2121-9. DOI: [10.1007/s11033-019-04664-3](https://doi.org/10.1007/s11033-019-04664-3)
- 19- Donkor ES. Cockroaches and food-borne pathogens. *Environmental health insights*. 2020;14: 1178630220913365. DOI: [10.1177/1178630220913365](https://doi.org/10.1177/1178630220913365)
- 20- Sieberi BM, Omwenga GI, Wambua RK, Samoei JC, Ngugi MP. Screening of the Dichloromethane: Methanolic Extract of *Centella asiatica* for Antibacterial Activities against *Salmonella typhi*, *Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Bacillus subtilis*, and *Staphylococcus aureus*. *ScientificWorldJournal*. 2020; 2020. DOI: [10.1155/2020/6378712](https://doi.org/10.1155/2020/6378712)
- 21- Socaci SA, Fărcaș AC, Diaconeasa ZM, Vodnar DC, Rusu B, Tofană M. Influence of the extraction solvent on phenolic content, antioxidant, antimicrobial and antimutagenic activities of brewers' spent grain. *J Cereal Sci.* 2018; 80: 180-7. DOI: [10.1016/j.jcs.2018.03.006](https://doi.org/10.1016/j.jcs.2018.03.006)
- 22- Todorovic V, Milenkovic M, Vidovic B, Todorovic Z, Sobajic S. Correlation between antimicrobial, antioxidant activity, and polyphenols of alkalized/nonalkalized cocoa powders. *J Food Sci.* 2017; 82(4): 1020-7. DOI: [10.1111/1750-3841.13672](https://doi.org/10.1111/1750-3841.13672)