Research Article

Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research

DOI: 10.22092/ijmapr.2026.369857.3557

Vol. 42, No. 2, Page 371-386 (2026)

Cuminum cyminum L. husk extract: Identification of active compounds and evaluation of antimicrobial and antioxidant properties

Razieh Niazmand[1*], Elham merrikhi Ardebili[2] and Abdollah Jamshidi[2]

1*. Corresponding author, Department of food hygiene and aquaculture, faculty of veterinary medicine, ferdowsi university of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Department of food chemistry, research institute off food science and technology, Mashhad, Iran

Received: 23/06/2025 Revised: 14/07/2026 Accepted: 15/07/2026

Abstract

Background and objectives: *Cuminum cyminum* L., which contains numerous bioactive compounds, including flavonoids, terpenoids, and phenolics, is a valuable source of medicinal and therapeutic compounds. However, the generation of processing waste, particularly cumin husks, is a major challenge in the cumin industry, as these residues are often discarded or underutilized. This study investigated different extraction methods for recovering bioactive compounds from *C. cyminum* husks and evaluated the antioxidant and antimicrobial activities of the resulting extracts. The main objective was to promote agricultural waste valorization by converting cumin husks into value-added resources with potential therapeutic and industrial applications.

Methodology: Green cumin husks were collected as processing waste from a cumin-processing factory in Mashhad, Iran. The husks were thoroughly washed to remove soil and other impurities, air-dried on cotton cloth under shade, and subsequently ground using a semi-industrial mill. Bioactive compounds were extracted using three solvent systems: aqueous, alcoholic, and hydroalcoholic. Total phenolic content (TPC) was determined using the Folin–Ciocalteu method, with gallic acid used as the standard. The chemical composition of the extracts was characterized using chromatographic analyses. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical-scavenging assay. Antimicrobial activity was assessed using the broth microdilution method to determine the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC). Three pathogenic bacterial strains, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Escherichia coli*, were evaluated. The data were analyzed using Minitab software, and differences among treatment means were assessed using Tukey's test at a 95% confidence level.

Results: Extraction yield varied substantially among the extraction methods, reaching 25.00% for the aqueous extract, 5.00% for the alcoholic extract, and 8.76% for the hydroalcoholic extract. The alcoholic extract had the highest total phenolic content (251.76 ± 0.01 mg gallic acid equivalents/g), whereas the aqueous extract had the lowest content (152.80 mg/g). Chemical analysis identified several major compounds, including 6-methoxy-8-nitroquinoline, benzeneacetic acid, and *p*-xylene. Among the three extraction methods, the hydroalcoholic extract exhibited the strongest antimicrobial activity. At concentrations of 500, 800, and 1000 mg/mL, the inhibition zones against *S. aureus* were 15.0, 19.0, and 22.5 mm, respectively. For *P.*

aeruginosa, the corresponding inhibition zones were 11.0, 12.0, and 13.0 mm, respectively. In contrast, no inhibitory activity was detected against *E. coli*, indicating a limited antimicrobial spectrum. Overall, the results demonstrated that the extraction method substantially influenced both extraction yield and the biological activity of the resulting extracts.

Conclusion: The findings demonstrate that cumin husks, despite being largely underutilized as an industrial by-product, represent a promising source of phenolic and other bioactive compounds. Among the extraction methods evaluated, hydroalcoholic extraction produced the most favorable results regarding antioxidant and antimicrobial activities. Valorization of cumin husks could therefore provide an effective approach for utilizing agricultural waste and developing natural products with potential medicinal and industrial applications.

Keywords: Bioactive components, *Cuminum cyminum* husk, antimicrobial properties, antioxidant properties, extract

عصاره غلاف زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.): شناسایی ترکیبات مؤثره و ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی

راضیه نیازمند[1*]، الهام مریخی اردبیلی[2] و عبدالله جمشیدی[3]

۱*- استاد، گروه شیمی مواد غذایی، پژوهشکده علوم و صنایع غذایی، مشهد

۲- دانشجوی دکتری، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

۳- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۴/۰۲ تاریخ اصلاح نهایی: ۱۴۰۵/۰۴/۲۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۲۴

چکیده

سابقه و هدف: زیره سبز، با دارا بودن ترکیبات فعال زیستی متعدد ازجمله فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و فنولیک‌ها شناخته شده و به‌عنوان یک منبع با ارزش برای خواص دارویی و درمانی است. یکی از چالش‌های عمده در این صنعت، ضایعات حاصل از فرایند تولید، به‌ویژه غلاف‌های زیره سبز است که اغلب بدون استفاده باقی می‌مانند. این مطالعه بر روی ضایعات غلاف زیره سبز متمرکز است تا به بررسی و توسعه روش‌های مختلف استخراج ترکیبات زیست‌فعال از این ضایعات پرداخته و ویژگی‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی این ترکیبات را ارزیابی کند. هدف اصلی این تحقیق، ارتقاء استفاده بهینه از ضایعات کشاورزی و تبدیل آنها به منابع ارزشمند با کاربردهای درمانی و صنعتی و معرفی نوآوری‌های علمی در فرآیندهای استخراج و بهره‌برداری از این منابع است.

مواد و روش‌ها: غلاف‌های زیره سبز به‌عنوان ضایعات کارخانه تولید زیره در مشهد جمع‌آوری شدند. پس از شستشوی کامل با آب برای حذف ذرات خاک، نمونه‌ها به‌دقت صاف شده و روی پارچه نخی در سایه خشک گردیدند. پس از خشک شدن، غلاف‌ها از طریق آسیاب نیمه‌صنعتی پودر شدند. به‌منظور استخراج ترکیبات زیست‌فعال، از روش استخراج حلالی و سه نوع حلال استفاده شد. میزان ترکیبات فنولی کل موجود در هر عصاره با استفاده از روش فولین–سیوکالتو و با استاندارد اسید گالیک اندازه‌گیری گردید و با استفاده از روش کروماتوگرافی شناسایی شدند. برای ارزیابی توان آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها، از آزمون به دام‌اندازی رادیکال آزاد DPPH استفاده شد. بررسی خواص ضدمیکروبی عصاره‌ها از طریق روش براث میکرو دایلوشن انجام شد که امکان تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) را فراهم کرد. سه گونه باکتری بیماری‌زا شامل *Staphylococcus aureus*، *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* برای بررسی اثرهای ضدمیکروبی استفاده شدند. نتایج حاصل با استفاده از نرم‌افزار مینی‌تب مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفت و تفاوت‌های معنی‌دار بین میانگین‌ها از طریق آزمون توکی در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شد.

نتایج: نتایج این مطالعه نشان داد که میزان بازده استخراج در میان روش‌های مختلف متغیر بود. به‌طوری‌که عصاره آبی دارای بازده ۲۵ درصد، عصاره الکلی ۵ درصد و عصاره هیدروالکلی ۸/۷۶ درصد بود. بیشترین میزان ترکیبات فنولی کل متعلق به عصاره الکلی با مقدار ۲۵۱/۷۶ میلی‌گرم برابر گالیک اسید در گرم و کمترین مقدار متعلق به عصاره آبی با ۱۵۲/۸۰ میلی‌گرم برابر گالیک اسید در گرم بود. ترکیبات غالب شناسایی‌شده در عصاره‌ها شامل کینولین ۶–متوکسی–۸–نیترو، بنزن استیک اسید و پارازایلون بودند. در بررسی خاصیت ضدباکتریایی، عصاره هیدروالکلی بیشترین اثربخشی را نشان داد. این عصاره در غلظت‌های ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر توانست هاله عدم رشد با قطرهای به‌ترتیب ۱۵، ۱۹ و ۵/۲۲

میلی‌متر در مقابل *S. aureus* و ۱۱، ۱۲ و ۱۳ میلی‌متر در مقابل باکتری *P. aeruginosa* نشان دهد، در حالی که در مقابل باکتری *E. coli* هاله عدم رشد مشاهده نگردید.

نتیجه‌گیری: این پژوهش نشان داد که غلاف زیره سبز، با وجود نادیده گرفته شدن در صنعت به عنوان ضایعات کشاورزی، دارای ظرفیت بالایی در تأمین ترکیبات فنولی و زیست‌فعال است. استخراج عصاره به روش هیدروالکلی از غلاف زیره سبز به‌عنوان برترین روش از نظر فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی شناسایی شد. این یافته‌ها می‌توانند زمینه‌ساز بهره‌برداری‌های علمی و صنعتی از این ضایعات گیاهی و توسعه فراورده‌های دارویی و طبیعی نوین باشند.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات زیست فعال، غلاف زیره، ویژگی‌های ضد میکروبی، ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، عصاره.

مقدمه

زیره سبز (*Cuminum cyminum*) یکی از گیاهان دارویی و معطری است که از دیرباز در طب سنتی و آشپزی به‌کار می‌رود (Mnif & Aifa, 2015). زیره سبز با داشتن ترکیبات فعال زیستی متعدد، ازجمله فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ترکیبات فنولی، دارای خواص دارویی و درمانی فراوانی است (Srinivasan, 2018). در کشورهای مختلف، زیره سبز به‌عنوان یک ادویه مهم در غذاهای محلی استفاده می‌شود و به‌دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و ضد التهابی، در تهیه داروهای گیاهی و محصولات بهداشتی نیز کاربرد دارد (Allaq *et al*., 2020; Johri, 2011).

زیره سبز به دلیل دارا بودن طیف وسیعی از ترکیبات فعال زیستی، به‌ویژه ترکیبات فنولی، مورد توجه بسیاری از محققان و صنعتگران قرار گرفته است (Singh *et al*., 2021). ترکیبات فنولی به عنوان آنتی‌اکسیدآنهای قوی عمل می‌کنند و می‌توانند با مهار رادیکال‌های آزاد، از آسیب‌های سلولی جلوگیری کنند (Gohari & Saeidnia, 2011). این خواص باعث شده تا زیره سبز در تحقیقات علمی و صنعتی به‌عنوان یک منبع غنی از ترکیبات زیست‌فعال مورد توجه قرار گیرد (Singh *et al*., 2017). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی می‌توانند در پیشگیری و درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و دیابت مؤثر باشند (Al-Snafi, 2016; Belal *et al*., 2017; Mughal, 2022).

علاوه بر خواص آنتی‌اکسیدانی، زیره سبز دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی نیز می‌باشد (Nirmala *et al*., 2020; Sahana *et al*., 2011). این خواص می‌توانند در مبارزه با عفونت‌های میکروبی و کاهش بار میکروبی مفید باشند (Agarwal *et al*., 2017; Sowbhagya, 2013). به‌ویژه در عصر حاضر که مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌ها یک چالش بزرگ برای سیستم‌های بهداشتی جهان محسوب می‌شود، استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت ضدباکتریایی می‌تواند به‌عنوان راهکاری مؤثر و پایدار مورد استفاده قرار گیرد (Bhat *et al*., 2014; Nadeem & Riaz, 2012; Patil *et al*., 2017).

یکی دیگر از مزایای زیره سبز، تأثیرات مثبت آن بر سیستم گوارش است (Bhat *et al*., 2014; Milan *et al*., 2008). مصرف زیره سبز می‌تواند به بهبود هضم و کاهش مشکلات گوارشی مانند نفخ و سوء هاضمه کمک کند (Mohammed *et al*., 2024). ترکیبات موجود در زیره، ازجمله کومینالدهید (*Cuminaldehyde*)، می‌تواند با تحریک آنزیم‌های گوارشی، فرآیند هضم را تسریع کرده و جذب مواد مغذی را بهبود بخشد (Koohsari *et al*., 2020). این ویژگی‌ها، زیره سبز را به یک افزودنی مهم در رژیم‌های غذایی سالم تبدیل کرده است (Akbar *et al*., 2019).

غلاف زیره، که به‌عنوان یکی از ضایعات گیاهی در فرآیند تولید زیره محسوب می‌شود، می‌تواند منبعی غنی از ترکیبات زیست‌فعال باشد که تاکنون کمتر مورد توجه قرار گرفته است (Ghasemi *et al*., 2019). با توجه به افزایش توجه به استفاده بهینه از ضایعات کشاورزی و کاهش پسماندها، بررسی و استخراج ترکیبات فعال از غلاف زیره می‌تواند ارزش افزوده‌ای به این محصول ببخشد (Mehdizadeh *et*

al., 2017). استخراج ترکیبات فعال از غلاف زیره می‌تواند به توسعه محصولات جدید و بهبود فرآیندهای استخراج ترکیبات زیست‌فعال از منابع طبیعی کمک کرده و به بهره‌برداری بهینه از ضایعات کشاورزی یاری رساند (Rana *et al*., 2018).

زیره سبز یکی از محصولات کشاورزی با ارزش و پرکاربرد در ایران، به‌ویژه در استان خراسان، به‌شمار می‌آید. این استان با شرایط اقلیمی مناسب و تجربیات دیرینه در کشت زیره، یکی از تولیدکنندگان اصلی این محصول در کشور است. با این حال، بخش قابل توجهی از محصول تولیدی به ضایعات تبدیل می‌شود که عمدتاً به خوراک دام اختصاص می‌یابد. این ضایعات، اگرچه در حال حاضر به عنوان یک کالای کم‌ارزش مورد استفاده قرار می‌گیرند اما ظرفیت تبدیل شدن به محصولاتی با ارزش افزوده بالا را دارند.

در صنعت فراوری زیره، پس از استخراج روغن یا اسانس، مقدار قابل توجهی از دانه به صورت کیک یا تفاله باقی می‌ماند که می‌تواند ۸۰ تا ۹۰ درصد وزن اولیه دانه را شامل شود (Sowbhagya, 2019). این ضایعات سرشار از فیبر غذایی (بیش از ۶۰ درصد)، پروتئین (حدود ۳۰ درصد)، مواد معدنی و ترکیبات زیست‌فعال مانند پلی‌فنول‌ها و فلاونوئیدها هستند (Sowbhagya *et al*., 2007; Bouchra Sayed Ahmad *et al*., 2018). بقایای زیره پس از استخراج روغن و اسانس، دارای ۶۲ درصد فیبر کل، ۵۱ درصد فیبر نامحلول و ۱۰ درصد فیبر محلول هستند که این میزان فیبر از بسیاری از میوه‌ها و سبزیجات بالاتر است (Sowbhagya *et al*., 2007). همچنین، این ضایعات حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتریایی بوده و می‌توانند در تولید مواد غذایی غنی از فیبر، مکمل‌های تغذیه‌ای، مواد زیست‌پایه و حتی کربن فعال برای کاربردهای زیست‌محیطی مورد استفاده قرار گیرند (Sowbhagya, 2019; Sowbhagya *et al*., 2007; Bouchra Sayed Ahmad *et al*., 2018).

بنابراین، استفاده بهینه از ضایعات زیره سبز نه تنها می‌تواند به کاهش ضایعات کشاورزی و آلودگی زیست‌محیطی کمک کند، بلکه فرصت‌های اقتصادی جدیدی را برای صنایع غذایی و زیست‌محیطی فراهم می‌کند (Sowbhagya, 2019; Sowbhagya *et al*., 2007; Bouchra Sayed Ahmad *et al*., 2018).

پیشنهاد می‌شود که به منظور افزایش بهره‌وری و کاهش ضایعات، برنامه‌ریزی‌هایی برای توسعه فناوری‌های جدید و فرآیندهای بهینه در این حوزه انجام شود. این اقدامات می‌تواند شامل تحقیق و توسعه در زمینه‌های استفاده از ضایعات زیره سبز و تبدیل آن به محصولات جدید و با ارزش افزوده باشد. به این ترتیب، علاوه بر کاهش ضایعات، می‌توان به ایجاد فرصت‌های شغلی جدید و ارتقاء ارزش اقتصادی این محصول کمک کرد. در نهایت، توجه به این نکته که ضایعات زیره سبز می‌توانند به یک منبع ارزشمند تبدیل شوند، می‌تواند راهگشای بسیاری از چالش‌ها در صنعت کشاورزی و تولید زیره باشد.

هدف اصلی این مطالعه، دستیابی به عصاره با مناسب‌ترین خواص ضدمیکروبی و آنتی اکسیدانی بود. با توجه به موجود بودن کارهای بسیار سایر محققان در مورد ارزیابی نوع حلال و روش استخراج، در این پژوهش روش استخراج حلالی با سه نوع حلال مختلف براساس کارهای پیشین انتخاب شد. همچنین شناسایی ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌های مختلف با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته مانند کروماتوگرافی مایع–طیف‌سنجی جرمی (LC-MS) می‌تواند به درک بهتر از خواص و کاربردهای بالقوه این ضایعات گیاهی کمک کند. تحقیق در زمینه بهره‌برداری از ضایعات زیره سبز می‌تواند به شناسایی ترکیبات زیست‌فعال با ارزش و طراحی فرآیندهای بهینه استخراج این مواد کمک نماید. با تحلیل دقیق این ضایعات و استفاده از تکنیک‌های پیشرفته استخراج، می‌توان محصولات جدیدی مانند مکمل‌های غذایی، مواد آرایشی و داروهای طبیعی تولید کرد که به کاهش ضایعات، افزایش ارزش افزوده و ایجاد فرصت‌های شغلی جدید منجر می‌شود. این رویکرد نه تنها به بهبود اقتصاد و حفاظت از محیط‌زیست کمک می‌کند، بلکه به بهره‌برداری بهینه از منابع کشاورزی و ارتقاء صنعت تولید محصولات طبیعی نیز یاری می‌رساند.

مواد و روش‌ها

مواد اولیه

غلاف زیره سبز از ضایعات کارخانه زیره ایران واقع در مشهد تهیه و برای خاک‌زدایی با آب شسته و بعد صاف گردید. سپس روی پارچه نخی در سایه خشک شده و با آسیاب نیمه‌صنعتی پودر گردید. پودر حاصل تا زمان استفاده در جای خنک و به دور از نور آفتاب نگه‌داری شد.

محلول ۲،۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، اتانول و محیط‌های کشت آگار مولر هینتون آگار و سابروز دکستروز از شرکت مرک (Merck) تهیه شد. سویه‌های باکتری شامل *S. aureus* (ATCC:25923)، *E. coli* (NCTC:12900) و *P. aeruginosa* (ATCC:27853) از گروه بهداشت مواد غذایی (دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد) تهیه گردید و فعال‌سازی در شرایط کاملاً استریل انجام شد.

تهیه عصاره

به‌منظور استخراج عصاره غلاف زیره، ۳ نوع حلال هیدروالکلی، الکلی و آبی به شرح ذیل استفاده شد.

عصاره هیدروالکلی غلاف زیره

برای تهیه عصاره، مقدار ۵۰ گرم پودر غلاف زیره با نسبت ۱ به ۶ با حلال استخراج مخلوط شد (یعنی به ازای هر گرم پودر، ۶ میلی‌لیتر حلال در نظر گرفته شد). حلال مورد استفاده، مخلوطی از اتانول ۹۶ درصد و آب مقطر به نسبت حجمی ۷۵ به ۲۵ بود؛ به‌عبارت‌دیگر، ۳۰۰ میلی‌لیتر حلال کلی شامل ۲۲۵ میلی‌لیتر اتانول و ۷۵ میلی‌لیتر آب مقطر تهیه گردید. پس از اختلاط، مخلوط به‌مدت۳ ساعت در حمام فراصوت در دمای ۴۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس عصاره حاصل با استفاده از فیلتر تحت خلأ صاف شده و الکل آن توسط دستگاه تبخیرکننده دوار (روتاری اواپراتور) حذف گردید. پودر خشک عصاره تا زمان انجام آزمون در دمای یخچال نگهداری شد (Bettaieb Rebey *et al*., 2014; Tuzcu *et al*., 2017).

عصاره الکلی غلاف زیره

۲۰ گرم پودر غلاف زیره با ۶۰ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد مخلوط و به‌طور مرتب روزانه تا مدت ۷ روز هم زده شد و بعد با فیلتر تحت خلأ توسط کاغذ صافی جدا شده و در روتاری حلال‌زدایی گردید. نمونه به دست آمده در دمای یخچال تا زمان مصرف نگهداری شد (Al Juhaimi & Ghafoor, 2013).

عصاره آبی غلاف زیره

۱۰۰ گرم پودر غلاف زیره با ۴۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر (نسبت ۱ به ۴) مخلوط و با همزن مغناطیسی به مدت ۲ ساعت مخلوط و بعد صاف گردید. عصاره بدست آمده در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد و به مدت ۱۸ ساعت خشک شده و تا زمان مصرف عصاره در یخچال نگهداری شد (Allaq *et al*., 2020; Bettaieb *et al*., 2010).

اندازه‌گیری مقدار ترکیبات فنلی کل (TPC)

میزان ترکیبات فنولی کل براساس روش رنگ‌سنجی فولین سیو کالتیو (Folin-Ciocalteu) و برحسب اسید گالیک اندازه‌گیری شد (Niazmand & Razavizadeh, 2021). ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره (نسبت ۰/۲۵ گرم در ۲۵ میلی‌لیتر) با ۲/۵ میلی‌لیتر واکنشگر فولین سیوکالتیو ۱۰ درصد مخلوط و به مدت ۵ دقیقه هم زده شد. سپس ۲ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد سدیم کربنات به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در مکان تاریک در دمای اتاق نگهداری شد. جذب نمونه‌ها در طول‌موج ۷۶۰ نانومتر توسط طیف‌سنج مرئی فرابنفش اندازه‌گیری شد. مقادیر فنول کل عصاره با استفاده از منحنی استاندارد براساس میکروگرم برابر گالیک اسید در گرم عصاره اندازه‌گیری و گزارش گردید.

اندازه‌گیری خاصیت آنتی‌اکسیدانی

به منظور تعیین خاصیت آنتی‌اکسیدانی از روش به دام‌اندازی رادیکال DPPH استفاده شد (Soleimanifar *et al*., 2019). ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره با ۴ میکرولیتر محلول

متانولی DPPH ۰/۰۸ میلی‌مول بر لیتر مخلوط و ۳۰ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جذب نمونه در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان درصد مهار رادیکال آزاد DPPH با استفاده از فرمول ۱ تعیین مقدار شد.

$$RSC\ (\%) = (A_{blank} - A_{sample}/A_{blank}) \times 100 \quad (۱)$$

A_{sample} میزان جذب نمونه و A_{blank} میزان جذب شاهد می‌باشد

تعیین ترکیبات عصاره هیدروالکلی غلاف زیره با LC-MS

برای تعیین نوع و میزان ترکیبات موجود در عصاره هیدروالکلی غلاف زیره، از روش کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنجی جرمی (LC-MS) به‌صورت جداگانه استفاده شد. آنالیز LC-MS با استفاده از دستگاه Waters Alliance 2695انجام شد. ستون کروماتوگرافی از نوع C18 با اندازه ذرات ۳ میکرون و ابعاد ۱۰۰×۲/۱میلی‌متر بود. به‌عنوان بخش متحرک، از ترکیب دو حلال شامل حلال C (استونیتریل به‌همراه ۰/۱ درصد اسید فرمیک) و حلال B (آب مقطر به‌همراه ۰/۱ درصد اسید فرمیک) استفاده شد. دمای ستون در طول آنالیز ۳۵ درجه سانتی‌گراد حفظ شد و میزان جریان بخش متحرک ۲/ ۰میلی‌لیتر بر دقیقه در نظر گرفته شد. همچنین حجم تزریق نمونه برابر با ۵ میکرولیتر بود.

تعیین خاصیت ضد میکروبی

در این مطالعه از روش براث میکرودایلوشن (Broth micro dilution method) برای تعیین MIC استفاده شد. به‌این‌ترتیب که سویه باکتریایی *S. aureus* (ATCC:25923), *E. coli* (NCTC:12900) و *P. aeruginosa* (ATCC:27853)در محیط مولر هینتون مایع کدورتی برابر ۰/۵ مک‌فارلند (معادل غلظت $۱/۵ \times ۱۰^{۸}$ واحد تشکیل کلنی در میلی لیتر) تهیه شد و پس از رقت‌سازی، سوسپانسیونی با غلظت ۱×۱۰^{۴} واحد تشکیل کلنی در میلی‌لیتر به دست آمد. همچنین، از عصاره هیدروالکلی غلاف زیره با غلظت ۸۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در محیط براث تهیه گردید و در میکروپلیت ۹۶ خانه، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۸۰۰ عصاره ریخته شد. سپس ۸۰ میکرولیتر از محیط کشت براث اضافه و بعد به روش میکرو دایلوشن رقت‌سازی شد و ۲۰ میکرولیتر از سوسپانسیون باکتری‌ها اضافه گردید. این آزمون در سه تکرار انجام شد. همچنین چاهک‌های حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت براث با باکتری به‌عنوان کنترل مثبت و یک چاهک حاوی محیط کشت با حلال دی متیل سولفوکساید، به‌عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. سپس میکروپلیت لرزانده شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری گردید. پس از ۲۴ ساعت، کدورت در طول‌موج ۶۲۰ نانومتر به کمک الایزاریدر (آمریکا--ELX-808-BioTeh) خوانده شد و نتایج ثبت گردید.

همچنین برای تأیید بیشتر به تمام خانه‌های هر پلیت ۵۰ میکرولیتر محلول تری فنیل تترازولیوم کلراید با غلظت ۰/۰۱ درصد برای تأیید اضافه شد. پس از گذشت این مدت، میکروپلیت از گرمخانه خارج و از نظر ایجاد رنگ قرمز بررسی شد.

به منظور تعیین حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) ۲۰ میکرولیتر از چاهک‌ها برداشته و در پلیت‌های حاوی محیط کشت مولر هینتون جامد کشت داده شد. این پلیت‌ها به مدت ۲۴ـ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه‌گذاری شدند و پس‌از این مدت عدم افزایش کدورت نشان‌دهنده حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و عدم رشد باکتری در غلظت‌هایی که عدم افزایش کدورت داشتند نشان‌دهنده حداقل غلظت‌های کشنده آن عصاره (MBC) در نظر گرفته شد. همه آزمایش‌ها سه بار تکرار شد.

تجزیه‌وتحلیل آماری

در این پژوهش تجزیه‌وتحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار Minitab در سطح معنی‌داری ۵ درصد انجام شد. تمامی آزمون‌ها در سه تکرار انجام شدند. مقایسه میانگین‌ها

با استفاده از آزمون توکی انجام گردید و در تمام ارزیابی‌ها $P< ۰/۰۵$ به‌عنوان حد معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

درصد استخراج (بازده وزنی)

عصاره‌گیری به سه روش آبی، الکلی و هیدروالکلی از غلاف زیره سبز انجام شد. درصد بازدهی وزنی عصاره به‌ترتیب برای این سه روش، ۲۵ درصد، ۵ درصد و۸/۷۶ درصد به دست آمد. بازده وزنی به‌صورت نسبت وزن عصاره خشک به وزن نمونه اولیه و برحسب درصد محاسبه و گزارش شد. نتایج نشان داد که روش آبی بیشترین بازده وزنی را در مقایسه با دو روش دیگر داشت.

محتوای فنول کل عصاره

طبق نتایج، بیشترین میزان فنول کل مربوط به عصاره الکلی غلاف زیره سبز ۲۵۱/۷۶ (۰/۰۱ میلی‌گرم برابر گالیک اسید بر گرم عصاره) و کمترین مربوط به عصاره آبی غلاف زیره سبز ۱۵۲/۸۰ (۰/۰۱ میلی‌گرم برابر گالیک اسید بر گرم) بود.

خاصیت آنتی‌اکسیدانی

نتایج نشان داد که بیشترین میزان خاصیت آنتی‌اکسیدانی مربوط به عصاره هیدروالکلی و کمترین مربوط به عصاره الکلی غلاف زیره سبز بود. نتایج نشان داد که میزان مهار رادیکال آزاد DPPH در عصاره آبی غلاف زیره سبز ۶۳/۵۶، عصاره الکلی غلاف زیره سبز ۳۲/۴ و عصاره هیدروالکلی غلاف زیره سبز ۷۱/۹۱ درصد بود. جدول ۱ خاصیت آنتی‌اکسیدانی، مقدار ترکیبات فنولی کل و درصد استخراج عصاره‌های مختلف غلاف زیره سبز را نشان می‌دهد (جدول ۱).

جدول ۱- فعالیت آنتی‌اکسیدانی، محتوای ترکیبات فنولی کل و بازده استخراج عصاره‌های مختلف غلاف زیره سبز

Table 1. Antioxidant activity, total phenolics content, and extraction yield of various *Cuminum cyminum* husk extracts

Extract type	Yield (%)	Total phenolics content (mg GAE.g^{-1})	Radical Scavenging Capacity (%)
Water	25±1.2^{b}	152.8±9.2^{c}	63.56±4.32^{b}
Alcoholic	5±1.2^{e}	251.76±12.28^{a}	32.4±1.84^{d}
Hydroalcoholic	8.76±0.38^{d}	196.14±7.58^{b}	71.91±2.55^{a}

Means±SD with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test).

شناسایی ترکیبات عصاره شده توسط کروماتوگرافی

با توجه به وجود بیشترین مقدار خاصیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره هیدروالکلی، ترکیبات این عصاره توسط روش کروماتوگرافی مورد شناسایی قرار گرفت. جدول ۲ ترکیبات شیمیایی عصاره غلاف زیره سبز شناسایی شده با روش LC-MSرا نشان می‌دهد.

در این میان، حضور ترکیبات مهمی مانند فرولیک اسید، روتین و کوئرستین نیز با روش‌های کروماتوگرافی تأیید شد. این ترکیبات دارای خواص شیمیایی و درمانی قابل توجهی هستند. فرولیک اسید با فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی، ظرفیت توسعه مواد زیست‌پایه برای کاربردهای پزشکی و غذایی را دارد (Ghosh *et al*., 2017; Zduńska *et al*., 2018; Silva *et al*., 2025). روتین و کوئرستین نیز به عنوان فلاونوئیدهای کلیدی، دارای اثر قوی آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضدسرطانی هستند و حتی در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و التهابی مؤثرند (Muvhulawa *et al*., 2022; Ghanbari-Movahed *et al*., 2021; Başaran *et al*., 2022; Bispo da Silva *et al*., 2020). این ترکیبات همچنین با مهار رشد باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم، ظرفیت بالایی برای مقابله با مقاومت آنتی‌بیوتیکی دارند (Cherrak *et al*., 2016). مطالعات جدید نشان داده‌اند که این فلاونوئیدها در مدل‌های حیوانی و سلولی باعث کاهش کلسترول، تنظیم

متابولیسم و افزایش سطح استرادیول می‌شوند که می‌تواند در بهبود اختلالات متابولیک و باروری مؤثر باشد (Habtemariam, 2016). به‌طورکلی، شناسایی این ترکیبات با روش‌های کروماتوگرافی مدرن، اهمیت آنها را به عنوان عوامل مؤثر در توسعه داروهای گیاهی و مکمل‌های غذایی نشان می‌دهد (Ghosh *et al*., 2017; Muvhulawa *et al*., 2022; Ghanbari-Movahed *et al*., 2021; Başaran *et al*., 2022; Bispo da Silva *et al*., 2020; Cherrak *et al*., 2016; Habtemariam, 2016).

جدول ۲- شناسایی ترکیبات شیمیایی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره سبز با روش کروماتوگرافی مایع-طیف‌سنج جرمی

Table 2. Identification of chemical compounds in the hydroalcoholic extract of *Cuminum cyminum* husk by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS)

No.	Compound	RT (min)	[M-H] m/z	Main fragment (m/z)	Molecular weight	Reference
1	Ferulic acid	1.55	195	192/71, 169/55, 135/52, 87, 104/2	194.18	PubChem CID 445858
2	Xylene	2.54	107	51/10, 105/10, 77/10, 106/10, 91/10	106.16	PubChem CID 7809
3	2(3H)-Furanone, 5-methyl	3.98	99	98/10, 55/10, 42/10, 105/10, 41/10	98.09	PubChem CID 102550
4	Benzene, 1-ethyl-4-methyl	5.40	121.2	117/10, 91/10, 77/10, 120/10, 105/10	120.19	NIST SRD 69
5	Glycerin	5.87	93.2	44/10, 105/10, 43/10, 61/10	92.09	PubChem CID 753
6	Hemellitene	7.95	121.19	91/10, 119/10, 77/10, 105/10, 120/10	120.16	PubChem CID7247
7	Undecane	9.64	157.31	85/10, 71/10, 41/10, 57/10, 43/10	156.31	PubChem CID 14257
8	Rutin	10.59	611	464, 450, 434, 535/94, 520	610	PubChem CID 5280805
9	Dodecane	11.71	171.30	85/20, 71/10, 41/10, 57/10	170.33	PubChem CID 8182
10	Cuminaldehyde	12.58	149.2	77/10, 119/10, 148/10, 105/10, 133/10	148.21	PubChem CID 326
11	α-D-glucopyranuronic acid	13.19	195.14	105/10, 57/10, 44/10, 43/10, 75/10	194.14	PubChem CID 444791
12	α-Longipinene	15.96	205.35	91/10, 121/10, 105/10, 119/10, 93/10	204.35	PubChem CID 520957
13	Quercetin	16.48	303.2	300, 288, 232, 157/63	302.2	PubChem CID 5280343
14	Betulin	17.87	442.72	236, 308, 425/14, 400, 353/218, 190/277, 208	442.72	PubChem CID 72326
15	β-Selinene	18.80	204.35	55/10, 157/10, 156/10, 204/10, 83/10	204.35	PubChem CID 442393

فعالیت ضدمیکروبی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره به روش ایجاد چاهک

هاله عدم رشد عصاره هیدروالکلی غلاف زیره با غلظت ۵۰۰، ۸۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر در مقابل باکتری *S. aureus* به ترتیب ۱۵، ۱۹ و ۲۲/۵ میلی‌متر، باکتری *P. aeruginos*۱۱، ۱۲ و ۱۳ میلی‌متر بود، در حالی که در مقابل باکتری *E. coli* هاله عدم رشد مشاهده نگردید. قطر هاله عدم رشد باکتری در اطراف دیسک آنتی‌بیوتیک جنتامایسین به ترتیب ۳۰، ۳۳ و ۳۵ میلی‌متر بود (جدول ۳).

جدول ۳- قطر هاله عدم رشد (میلی‌متر) برای غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی غلاف زیره سبز و جنتامایسین

Table 3. Diameter of the growth inhibition zone (mm) for different concentrations of *Cuminum cyminum* hydroalcoholic husk extract and gentamicin

Microorganism	Hydroalcoholic concentration (mg.ml^{-1})			
	1000	800	500	Gentamicin
Staphylococcus aureus	22.1±5.25^{c}	19±0.87^{b}	15.41±1.0^{a}	35.33±2.0^{c}
Pseudomonas aeruginosa	13.54±0.0^{c}	12.65±0.0^{b}	11.78±0.0^{a}	33.41±2.0^{d}
Escherichia coli	-	-	-	30

Means±SD with common letters are in the same statistical group at 5% probability level (Tukey test).

حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) و حداقل غلظت کشندگی (MBC) عصاره هیدروالکلی غلاف زیره

حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره علیه باکتری *S. aureus* ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره علیه باکتری *S. aureus* در غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. حداقل غلظت مهارکنندگی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره علیه باکتری *P. aeruginosa* ۲۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر و حداقل غلظت کشندگی باکتری *P. aeruginosa* در عصاره هیدرو الکلی غلاف زیره غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود (جدول ۴). رنگ قرمز به‌دست‌آمده در میکروپلیت با محلول تری فنیل تترازولیوم کلراید (Triphenyl tetrazolium chloride) ۰/۰۱ درصد پس از ۳ ساعت گرمخانه‌گذاری، با نتایج به دست آمده از الایزاریدر مطابقت داشت.

بحث

ترکیبات فنولی موجود در زیره سبز به عنوان آنتی‌اکسیدآنهای قوی عمل کرده و با مهار رادیکال‌های آزاد، از آسیب‌های سلولی جلوگیری می‌کنند که این موضوع زیره سبز را به منبعی غنی از ترکیبات زیست‌فعال برای تحقیقات علمی و صنعتی تبدیل کرده است (Derakhshan *et al*., 2010; Karik *et al*., 2021). مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی حاوی ترکیبات فنولی در پیشگیری و درمان بیماری‌هایی مانند سرطان، بیماری‌های قلبی و عروقی و دیابت مؤثر هستند (Iacobellis *et al*., 2005; Sabet & Mortazaeinezhad, 2018). علاوه بر این، زیره سبز دارای خواص ضدباکتریایی و ضدقارچی بوده که می‌تواند در مبارزه با عفونت‌های میکروبی و کاهش بار میکروبی مفید باشد (Abbazadegan *et al*., 2016; Kedia *et al*., 2014). این خواص به‌ویژه در مواجهه با چالش مقاومت میکروبی به آنتی‌بیوتیک‌ها، استفاده از ترکیبات طبیعی با خاصیت ضدمیکروبی را به‌عنوان راهکاری مؤثر و پایدار معرفی می‌کند (Mohammadpour *et al*., 2012). غلاف زیره که به‌عنوان ضایعات گیاهی در فرآیند تولید زیره محسوب می‌شود، می‌تواند منبعی غنی از ترکیبات زیست‌فعال باشد که تاکنون کمتر مورد توجه قرار گرفته است. با توجه به افزایش توجه به استفاده بهینه از ضایعات کشاورزی و کاهش پسماندها، بررسی و استخراج ترکیبات فعال از غلاف زیره می‌تواند ارزش افزوده‌ای به این محصول بدهد و به‌طور قابل‌توجهی از

ضایعات کشاورزی جلوگیری کند.

در این مطالعه، بیشترین درصد میزان بازده وزنی استخراج در غلاف زیره مربوط به عصاره آبی و کمترین مربوط به عصاره الکلی بود. میزان فنل کل عصاره غلاف زیره مطابق با نتایج Fatima و همکاران (۲۰۱۸) و Shan و همکاران (۲۰۰۵) بود. در این مطالعه، با وجود اینکه عصاره الکلی غلاف زیره سبز حاوی میزان بالاتری از ترکیبات فنولی بود، خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن کمتر از عصاره آبی بود. این موضوع می‌تواند به تفاوت در حلالیت و پایداری ترکیبات فنولی در حلال‌های مختلف، تغییرات ساختاری ناشی از حلال‌های الکلی، رقابت ترکیبات غیرفعال با فنول‌ها برای رادیکال‌های آزاد و احتمال وجود ناخالصی‌های مؤثر در عصاره الکلی مرتبط باشد. بنابراین، تأثیر حلال بر فعالیت بیولوژیکی ترکیبات نیاز به بررسی و تحلیل دقیق‌تری دارد.

Merah و همکاران (۲۰۲۰) که در پژوهش خود ترکیبات شیمیایی و بیوشیمیایی زیره سبز را مورد ارزیابی قرار دادند، به نتایجی هم‌راستا با نتایج پژوهش اخیر دست یافتند. Alizadeh Behbahani و همکاران (۲۰۱۹) در پژوهشی به بررسی میزان ترکیبات فنلی اسانس زیره پرداختند که نتایج آنها مؤید نتایج این مطالعه بود. طبق مطالعات گذشته، محققان ترکیبات فنلی نسبتاً کمتری را در عصاره آبی در مقایسه با عصاره متانولی زیره گزارش کردند که عمدتاً به دلیل این واقعیت است که استخراج متانولی قادر به استخراج ترکیبات فنلی غیرقطبی و نیمه قطبی است (Thippeswamy & Naidu, 2005). در مطالعه دیگری، محتوای فنول کل عصاره دانه زیره سیاه به ترتیب ۱۲/۱، ۳۲/۱، ۲۷/۸ و ۷۸/۸ میلی‌گرم برابر اسید گالیک در هر گرم در عصاره‌های هگزانی، آب، متانولی خام و اتیل استات بود (Mariod *et al*., 2009). El-Ghorab و همکاران (۲۰۱۰) میزان کل ترکیبات فنلی عصاره متانولی را نسبت به عصاره هگزانی بالاتر گزارش کردند. این تغییرات را می‌توان به تغییرات آب و هوا و محل رشد گیاهان در ترکیب با استفاده از حلال‌های مختلف برای استخراج ترکیبات فعال زیستی نسبت داد.

آنتی‌اکسیدانهای طبیعی می‌توانند فساد اکسایشی غذاها را کاهش دهند (Deshmukh & Gaikwad, 2004; Rangaraj *et al*., 2021). ماهیت و غلظت ترکیبات پلی فنلی به‌طورکلی مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهیست (Basavegowda & Baek, 2021). همان‌طور که نشان داده شد در تمام روش‌های استخراج عصاره، غلاف زیره دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بود که بیشترین مقدار مربوط به عصاره هیدروالکلی غلاف زیره سبز و کمترین مقدار مربوط به عصاره الکلی غلاف زیره سبز بود. عصاره هیدروالکلی غلاف زیره دارای ترکیبات زیادی بود که مهمترین آنها شامل کینولین، اسید بنزوئیک، پارا–زایلون (p-Xylene) و تولوئن بود که مطابق با نتایج سایر محققان بود (Li & Jiang, 2004).

نتایج نشان داد که عصاره هیدروالکلی غلاف زیره در برابر *E. coli* اثر ضدمیکروبی نداشت ولی در مقابل *S. aureus* و *P. aeruginosa* اثر ضدمیکروبی قابل قبولی داشت. با افزایش غلظت، خاصیت ضدمیکروبی نیز افزایش یافت. Alizadeh Behbahani و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که تمام غلظت‌های عصاره زیره به‌طورکلی بر رشد قارچ‌ها و باکتری‌های گرم مثبت مؤثر بود، اما هیچ اثر بازدارنده‌ای روی گونه‌های باکتری گرم منفی *E. coli* و *P. aeruginosa* مشاهده نشد.

حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی عصاره هیدروالکلی غلاف زیره مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد که این عصاره از خاصیت آنتی‌باکتریال مطلوبی برخوردار می‌باشد که هم‌راستا با نتایج سایر مطالعات بود (Merah *et al*., 2020). Alizadeh Behbahani و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که حداقل غلظت اسانس زیره که قادر به مهار رشد میکروبی یا کشتن میکروارگانیسم‌ها بود، برای مخمر *C. albicans* به دنبال گونه‌های باکتری گرم مثبت و گرم منفی کمتر بود. علاوه بر این، توجه به این نکته مهم است که باکتری‌های گرم منفی در مقایسه با باکتری‌های گرم مثبت، مقاومت بالاتری نسبت به اسانس زیره دارند، احتمالاً به دلیل ساختار پیچیده‌تر غشای سلولی مبتنی بر لیپوپلی ساکارید در مقایسه با ساختار موکوپپتیدیک تک لایه‌ای است. اثر ضدمیکروبی عصاره غلاف زیره به دلیل حضور ترکیبات فعال

زیستی که از طریق مهار آنزیمی ترکیب اکسیدشده یا واکنش با گروه‌های سولفیدریل پروتئین‌ها از طریق حالت‌های غیراختصاصی، نقش بازدارنده رشد میکروبی را ایجاد می‌کنند و عملکرد پروتئین را اصلاح می‌کنند.

در روش کروماتوگرافی، تحلیل ترکیبات فعال در غلاف زیره سبز می‌تواند به شناسایی مواد مؤثر در ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن کمک کند. برای نمونه، نتایج مطالعات گذشته نشان داده‌اند که ترکیب کینولین به عنوان یک عامل ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شود (Mirjalili *et al*., 2018). تحقیقات مختلف نشان داده‌اند که کینولین دارای فعالیت ضدمیکروبی قوی علیه باکتری‌های گرم‌مثبت و گرم‌منفی است و قادر به مهار فعالیت رادیکال‌های آزاد می‌باشد (Abu Ahmed *et al*., 2022; Elmongy *et al*., 2022). در عین حال، مطالعات دیگری تأثیرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی سایر ترکیبات شناسایی شده در غلاف زیره سبز را بررسی کرده‌اند (Jirovetz *et al*., 2005; Wanner *et al*., 2010). ترکیباتی مانند اسیدهای فنولیک و فلاونوئیدها نیز در این ضایعات شناسایی شده و نشان داده‌اند که به‌طور قابل توجهی به فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی کمک می‌کنند. نتایج این تحقیقات حکایت از آن دارد که ترکیبات مختلف در غلاف‌های زیره سبز می‌توانند اثرهای متنوعی بر گروه‌های مختلف میکروارگانیسم‌ها داشته باشند. در نهایت، استفاده از روش‌های کروماتوگرافی برای شناسایی و تحلیل ترکیبات فعال در غلاف زیره سبز، به درک بهتر از ویژگی‌های بیوشیمیایی این ماده و کاربردهای آن در صنایع مختلف منجر خواهد شد.

با وجود نتایج امیدوارکننده این مطالعه، چالش‌های متعددی مانند بهینه‌سازی روش‌های استخراج، افزایش بازدهی و کاهش هزینه‌های تولید ترکیبات زیست‌فعال از غلاف زیره سبز همچنان وجود دارد. همچنین، نیاز به تحقیقات بیشتر برای تعیین دوزهای مؤثر و ایمن و بررسی اثرهای جانبی احتمالی در کاربردهای صنعتی و دارویی این ترکیبات احساس می‌شود. با این حال، آینده این مطالعه با توجه به قابلیت‌های فراوان زیره سبز و غلاف آن در ارائه ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی طبیعی، روشن است. این تحقیق می‌تواند به توسعه محصولات جدید و بهره‌برداری بهینه از ضایعات کشاورزی کمک کرده و نقش مهمی در کاهش وابستگی به ترکیبات شیمیایی مصنوعی ایفا کند. استفاده بهینه از غلاف زیره سبز می‌تواند تأثیرات اقتصادی قابل توجهی داشته باشد. استخراج مؤثر ترکیبات ارزشمند از این ضایعات کشاورزی می‌تواند به کاهش هزینه‌های ضایعات و بهبود بهره‌وری اقتصادی کمک کند. علاوه بر این، ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی غلاف زیره سبز موجب می‌شود که این ماده به عنوان یک افزودنی ارزشمند در صنایع غذایی و دارویی شناخته شود، که می‌تواند منجر به ایجاد فرصت‌های جدید تجاری و افزایش درآمد برای تولیدکنندگان و فرآوری‌کنندگان گردد.

نتیجه‌گیری

در این تحقیق، به بررسی روش‌های مختلف استخراج ترکیبات زیست‌فعال از غلاف زیره سبز و ارزیابی ویژگی‌های ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی آنها پرداخته شد. نتایج نشان داد که غلاف زیره، با وجود نادیده‌گرفته‌شدن به‌عنوان ضایعات کشاورزی، دارای ترکیبات فنولی قابل‌توجه و خواص دارویی مهمی است. استخراج ترکیبات فعال از این ضایعات می‌تواند به بهینه‌سازی منابع طبیعی و کاهش پسماندهای کشاورزی کمک کند. این مطالعه با استفاده از تکنیک‌های پیشرفته مانند انواع کروماتوگرافی، ترکیبات شیمیایی موجود در عصاره‌های مختلف را شناسایی کرد و نشان داد که غلاف زیره می‌تواند به عنوان یک منبع غنی از ترکیبات زیست‌فعال در صنایع غذایی، دارویی و بهداشتی مورد استفاده قرار گیرد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه فردوسی مشهد و مؤسسه پژوهشی علوم و صنایع غذایی (RIFST) انجام شده است، از دست‌اندرکاران هر دو مجموعه قدردانی می‌گردد.

References

- Abbaszadegan, A., Gholami, A., Ghahramani, Y., Ghareghan, R., Ghareghan, M., Kazemi, A., Iraji, A. and Ghasemi, Y., 2016. Antimicrobial and cytotoxic activity of *Cuminum cyminum* as an intracanal medicament compared to chlorhexidine gel. Iranian Endodontic Journal, 11(1): 44-50. https://doi.org/10.7508/iej.2016.01.009
- Abu Ahmed, S.E.S., Alshiteewi, S.A., Moawed, E.A. and Ayyad, S.N., 2022. Phytochemical composition of *Cuminum cyminum* and its biological activity. Scientific Journal for Damietta Faculty of Science, 12(1): 29-38. https://doi.org/10.21608/sjdfs.2022.269864
- Agarwal, U., Pathak, D.P., Kapoor, G., Bhutani, R., Roper, R., Gupta, V. and Kant, R., 2017. Review on *Cuminum cyminum* - nature's magical seeds. Journal of Chemical and Pharmaceutical Research, 9(9): 180-187. https://doi.org/10.21608/sjdfs.2022.269864
- Akbar, A., Ali, I., Samiullah, N.U., Khan, S.A., Rehman, Z. and Rehman, S., 2019. Functional, antioxidant, antimicrobial potential and food safety applications of *Curcuma longa* and *Cuminum cyminum*. Pakistan Journal of Botany, 51(3): 1129-1135. https://doi.org/10.30848/PJB2019-3
- Al Juhaimi, F. and Ghafoor, K., 2013. Extraction optimization and in vitro antioxidant properties of phenolic compounds from cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed. International Food Research Journal, 20(4): 1669-1675. https://www.researchgate.net/publication/286123665
- Alizadeh Behbahani, B., Noshad, M. and Falah, F., 2019. Cumin essential oil: Phytochemical analysis, antimicrobial activity and investigation of its mechanism of action through scanning electron microscopy. Microbial Pathogenesis, 136: 103716. https://doi.org/10.1016/j.micpath.2019.103716
- Allaq, A.A., Sidik, N.J., Abdul-Aziz, A. and Ahmed, I.A., 2020. Cumin (*Cuminum cyminum* L.): A review of its ethnopharmacology, phytochemistry. Biomedical Research and Therapy, 7(9): 4016-4021. https://doi.org/10.15419/bmrat. v7i9.634
- Al-Snafi, A.E., 2016. The pharmacological activities of *Cuminum cyminum*- A review. IOSR Journal of Pharmacy, 6(6): 46-65. https://www.researchgate.net/publication/313742829
- Başaran, E., Öztürk, A.A., Şenel, B., Demirel, M. and Sarıca, Ş., 2022. Quercetin, rutin and quercetin-rutin incorporated hydroxypropyl β-cyclodextrin inclusion complexes. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 174: 106202. https://doi.org/10.1016/j.ejps.2022.106153
- Basavegowda, N. and Baek, K.H., 2021. Synergistic antioxidant and antibacterial advantages of essential oils for food packaging applications. Biomolecules, 11(9): 1267. https://doi.org/10.3390/biom11091267
- Belal, A.A., Ahmed, F.B. and Ali, L.I., 2017. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. oil on six types of bacteria. American Journal of BioScience, 5(4): 70-73. https://doi.org/10.11648/j.ajbio.20170504.13
- Bettaieb Rebey, I., Bourgou, S., Ben Slimen Debez, I., Jabri Karoui, I., Hamrouni Sellami, I., Msaada, K., Limam, F. and Marzouk, B., 2012. Effects of extraction solvents and provenances on phenolic contents and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Food and Bioprocess Technology, 5: 2827-2836. https://link.springer.com/article/10.1007/s11947-011-0625-4
- Bettaieb Rebey, I., Kefi, S., Bourgou, S., Ouerghemmi, I., Ksouri, R., Tounsi, M.S. and Marzouk, B., 2014. Ripening stage and extraction method effects on physical properties, polyphenol composition and antioxidant activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds. Plant Foods for Human Nutrition, 69: 358-364. https://doi.org/10.1007/s11130-014-0442-9
- Bettaieb, I., Bourgou, S., Wannes, W.A., Hamrouni, I., Limam, F. and Marzouk, B., 2010. Essential oils, phenolics, and antioxidant activities of different parts of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(19): 10410-8. https://doi.org/10410-10418. 10.1021/jf102248j
- Bhat, S.P., Rizvi, W. and Kumar, A., 2014. Effect of *Cuminum cyminum* L. seed extracts on pain and inflammation. Journal of Natural Remedies, 14(2): 186-192. https://doi.org/10.18311/JNR/2014/81
- Bispo da Silva, A., Coelho, P., Oliveira, M.N., Oliveira, J.L., Amparo, J., Costa da Silva, K., Soares, J., Pitanga, B.P., Souza, C.S., Lopes, G.P.F., Silva, V., Costa, M.D.F.D., Junier, M., Chneiweiss, H., Moura-Neto, V. and Costa, S., 2020. The flavonoid rutin and its aglycone quercetin modulate the microglia inflammatory profile, improving anti-glioma activity. Brain, Behavior, and Immunity, 87: 132-150. https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.05.003
- Bouchra Sayed Ahmad, M., El Sohaimy, S.A., Zeitoun, A.M. and Mehaya, F.M. 2018. Protein bread fortification with cumin and caraway seeds and by-product flour. Foods, 7(11): 186. https://doi.org/10.3390/foods7030028
- Cherrak, S., Mokhtari-Soulimane, N., Berroukeche, F., Bensenane, B., Cherbonnel, A., Merzouk, H. and Elhabiri, M., 2016. In vitro antioxidant versus metal ion chelating properties of flavonoids: A structure-activity investigation. PLOS One, 11(10): e0165575. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165575
- Derakhshan, S., Sattari, M. and Bigdeli, M., 2010.

Effect of cumin (*Cuminum cyminum*) seed essential oil on biofilm formation and plasmid integrity of *Klebsiella pneumoniae*. Pharmacognosy Magazine, 6(21): 57. https://doi.org/10.4103/0973-1296.59967
- Deshmukh, R.K. and Gaikwad, K.K., 2024. Natural antimicrobial and antioxidant compounds for active food packaging applications. Biomass Conversion and Biorefinery, 14(4): 4419-4440. https://doi.org/10.1007/s13399-022-02623-w
- El-Ghorab, A.H., Nauman, M., Anjum, F.M., Hussain, S. and Nadeem, M., 2010. A comparative study on chemical composition and antioxidant activity of ginger (*Zingiber officinale*) and cumin (*Cuminum cyminum*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 58(14): 8231-8237. https://doi.org/10.1021/jf101202x
- Elmongy, E.I., Ahmed, A.A., El Sayed, I.E.T., Fathy, G., Awad, H.M., Salman, A.U. and Hamed, M.A., 2022. Synthesis, biocidal and antibiofilm activities of new isatin–quinoline conjugates against multidrug-resistant bacterial pathogens along with their in silico screening. Antibiotics, 11(11): 150-157. https://doi.org/10.3390/antibiotics11111507
- Fatima, T., Beenish, N.B., Gani, G., Qadri, T. and Bhat, T.A., 2018. Antioxidant potential and health benefits of cumin. Journal of Medicinal Plants Studies, 6(2): 232-236. https://www.plantsjournal.com/archives/?year=2018&vol=6&issue=2&part=D&ArticleId=808
- Ghanbari-Movahed, M., Farzaei, M. and Bishayee, A., 2021. Quercetin and rutin-based nano-formulations for cancer treatment: A systematic review of improved efficacy and molecular mechanisms. Phytomedicine, 91: 153652. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2021.153909
- Ghasemi, G., Fattahi, M., Alirezalu, A. and Ghosta, Y., 2019. Antioxidant and antifungal activities of a new chemovar of cumin (*Cuminum cyminum* L.). Food Science and Biotechnology, 28(3): 669-677. https://doi.org/10.1007/s10068-018-0506-y
- Ghosh, S., Basak, P., Dutta, S., Chowdhury, S. and Sil, P., 2017. New insights into the ameliorative effects of ferulic acid in pathophysiological conditions. Food and Chemical Toxicology, 103: 41-55. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.028
- Gohari, A.R. and Saeidnia, S., 2011. A review on phytochemistry of *Cuminum cyminum* seeds and its standards from field to market. Pharmacognosy Journal, 3(25): 1-5. https://doi.org/10.1007/s10068-018-0506-y
- Habtemariam, S., 2016. Rutin as a natural therapy for Alzheimer's disease: Insights into its mechanisms of action. Current Medicinal Chemistry, 23(9): 860-873. https://doi.org/10.2174/0929867323666160217124333
- Iacobellis, N.S., Lo Cantore, P., Capasso, F. and Senatore, F., 2005. Antibacterial activity of *Cuminum cyminum* L. and *Carum carvi* L. essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(1): 57-61. https://doi.org/10.1021/jf0487351
- Jafraian Asl, P., Niazmand, R. and Sherazi, S.T.H., 2021. Rapid determination of bioactive lipid-type materials of rapeseed oil deodorizer distillate by GC-MS. Research and Innovation in Food Science and Technology, 9(4): 351-362. https://doi.org/10.22101/JRIFST.2020.198661.1137
- Jirovetz, L., Buchbauer, G., Stoyanova, A.S., Georgiev, E.V. and Damianova, S.T., 2005. Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years. International Journal of Food Science & Technology, 40(3): 305-310. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.00915.x
- Johri, R., 2011. *Cuminum cyminum* and *Carum carvi*: An update. Pharmacognosy Reviews, 5(9): 63. https://doi.org/10.4103/0973-7847.79101
- Karik, U., Demirbolat, I., Toluk, Ö. and Kartal, M., 2021. Comparative study on yields, chemical compositions, antioxidant and antimicrobial activities of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed essential oils from different geographic origins. Journal of Essential Oil-Bearing Plants, 24(4): 724-735. https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1983472
- Kedia, A., Prakash, B., Mishra, P.K. and Dubey, N., 2014. Antifungal and antiaflatoxigenic properties of *Cuminum cyminum* (L.) seed essential oil and its efficacy as a preservative in stored commodities. International Journal of Food Microbiology, 168: 1-7. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.008
- Koohsari, S., Sheikholeslami, M.A., Parvardeh, S., Ghafghazi, S., Samadi, S., Poul, Y.K., Pouriran, R. and Amiri, S., 2020. Antinociceptive and antineuropathic effects of cuminaldehyde, the major constituent of *Cuminum cyminum* seeds: Possible mechanisms of action. Journal of Ethnopharmacology, 255: 112786. https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.112786
- Li, R. and Jiang, Z.T., 2004 .Chemical composition of the essential oil of *Cuminum cyminum* L. from China. Flavour and Fragrance Journal, 19(4): 311-313. https://doi.org/10.1002/ffj.1302
- Mariod, A.A., Ibrahim, R.M., Ismail, M. and Ismail, N., 2009. Antioxidant activity and phenolic content of phenolic rich fractions obtained from black cumin (*Nigella sativa*) seedcake. Food Chemistry, 116(1): 306-312. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.051

- Mehdizadeh, L., Ghasemi Pirbalouti, A. and Moghaddam, M., 2017. Storage stability of essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) as a function of temperature. International Journal of Food Properties, 20(2): 1742-1750. https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1354018
- Merah, O., Sayed-Ahmad, B., Talou, T., Saad, Z., Cerny, M., Grivot, S., Evon, P. and Hijazi, A., 2020. Biochemical composition of cumin seeds, and biorefining study. Biomolecules, 10(7): 1054. https://doi.org/10.3390/biom10071054
- Milan, K.M., Dholakia, H., Tiku, P.K. and Vishveshwaraiah, P., 2008. Enhancement of digestive enzymatic activity by cumin (*Cuminum cyminum* L.) and role of spent cumin as a bionutrient. Food Chemistry, 110(3): 678-683. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.062
- Mirjalili, S., Kavoosi, B. and Peyro, Y., 2018. Assessment of vase life and postharvest quality of cut rose (*Rosa hybrida* cv. Angelina) flowers by application of cumin (*Cuminum cyminum* L.) essential oil and 8-hydroxyquinoline sulfate. Advances in Horticultural Science, 32(3): 363-370. https://doi.org/10.13128/ahs-22320
- Mnif, S. and Aifa, S., 2015. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) from traditional uses to potential biomedical applications. Chemistry & Biodiversity, 12(5): 733-742. https://doi.org/10.1002/cbdv.201400305
- Mohammadpour, H., Moghimipour, E., Rasooli, I., Fakoor, M.H., Astaneh, S.A., Moosaie, S.S. and Jalili, Z., 2012. Chemical composition and antifungal activity of *Cuminum cyminum* L. essential oil from Alborz mountain against *Aspergillus* species. Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products, 7(2): 50. https://doi.org/10.17795/jjnpp-3445
- Mohammed, F.S., Sevindik, M., Uysal, İ., Çesko, C. and Koraqi, H., 2024. Chemical composition, biological activities, uses, nutritional and mineral contents of cumin (*Cuminum cyminum*). Measurement: Food, 14: 100157. https://doi.org/10.1016/j.meafoo.2024.100157
- Mughal, S.S., 2022. A review on potential antioxidant effects of cumin (*Cuminum cyminum*), phytochemical profile and its uses. Global Scientific Journal, 8(9): 1-20. https://doi.org/10.22541/au.166401164.45578619/v1
- Muvhulawa, N., Dludla, P., Ziqubu, K., Mthembu, S., Mthiyane, F.T., Nkambule, B. and Mazibuko-Mbeje, S., 2022. Rutin ameliorates inflammation and improves metabolic function: A comprehensive analysis of scientific literature. Pharmacological Research, 175: 106035. https://doi.org/10.1016/j.phrs.2022.106163
- Nadeem, M. and Riaz, A., 2012. Cumin (*Cuminum cyminum*) as a potential source of antioxidants. Pakistan Journal of Food Sciences, 22(2): 101-107. https://www.academia.edu/78964020
- Niazmand, R. and Razavizadeh, B.M., 2021. *Ferula asafoetida*: chemical composition, thermal behavior, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and gum hydroalcoholic extracts. Journal of Food Science and Technology, 58(6): 2148-2159. https://doi.org/10.1007/s13197-020-04724-8
- Nirmala, M.J., Durai, L., Rao, K.A. and Nagarajan, R., 2020. Ultrasonic nanoemulsification of *Cuminum cyminum* essential oil and its applications in medicine. International Journal of Nanomedicine, 15: 795-807. https://doi.org/10.2147/IJN.S230893
- Patil, A., Baghel, R., Nayak, S., Malapure, C., Govil, K., Kumar, D. and Yadav, P.K., 2017. Cumin (*Cuminum cyminum*): As a feed additive for livestock. Journal of Entomology and Zoology Studies, 5(3): 365-369. https://www.entomoljournal.com/archives/?year=2017&vol=5&issue=3&ArticleId=1829
- Rana, A., Kumar, V., Mirza, A. and Panghal, A., 2018. Efficacy of cumin (*Cuminum cyminum* L.) as a bionutrient and its management. Annals of Applied Biology, 34(2): 218-222. https://www.researchgate.net/publication/326667804
- Rangaraj, V.M., Rambabu, K., Banat, F. and Mittal, V., 2021. Natural antioxidants-based edible active food packaging: An overview of current advancements. Food Bioscience, 43: 101251. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101251
- Rebey, I.B., Zakhama, N., Karoui, I.J. and Marzouk, B., 2012. Polyphenol composition and antioxidant activity of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed extract under drought. Journal of Food Science, 77(6): 734-739. https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2012.02731.x
- Sabet, H. and Mortazaeinezhad, F., 2018. Yield, growth and Fe uptake of cumin (*Cuminum cyminum* L.) affected by Fe-nano, Fe-chelated and Fe-siderophore fertilization in the calcareous soils. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 50: 154-160. https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.06.020
- Sahana, K., Nagarajan, S. and Rao, L.J.M., 2011. Cumin (*Cuminum cyminum* L.) seed volatile oil: Chemistry and role in health and disease prevention: 417-427. In: Preedy, V.R., Watson, R.R. and Patel, V.B., (Eds.). Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention. Elsevier, 1189p. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-375688-6.10050-7
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H., 2005. Antioxidant capacity of 26 spice extracts and

characterization of their phenolic constituents. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(20): 7749-7759. https://doi.org/10.1021/jf051513y
- Silva, T., Oliveira, C., Borges, F. and Cagide, F., 2025. Ferulic acid derivatives: A patent review. European Journal of Medicinal Chemistry, 258: 115723. https://www.sciencedirect.com/journal/european-journal-of-medicinal-chemistry/vol/258
- Singh, N., Yadav, S.S., Kumar, S. and Narashiman, B., 2021. A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, and clinical research of dietary spice *Cuminum cyminum* L. Phytotherapy Research, 35(9): 5007-5030. https://doi.org/10.1002/ptr.7133
- Singh, R.P., Gangadharappa, H. and Mruthunjaya, K., 2017. *Cuminum cyminum*– A popular spice: An updated review. Pharmacognosy Journal, 9(3): 292-301. https://doi.org/10.5530/pj.2017.3.51
- Soleimanifar, M., Niazmand, R. and Jafari, S.M., 2019. Evaluation of oxidative stability, fatty acid profile, and antioxidant properties of black cumin seed oil and extract. Journal of Food Measurement and Characterization, 13(1): 383-389. https://doi.org/10.1007/s11694-018-9953-7
- Sowbhagya, H.B., 2019. Value-added processing of by-products from spice industry. Food Quality and Safety, 3(2): 77-89. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyy029
- Sowbhagya, H.B., Sampathu, S.R., Krishnamurthy, N. and Rao, M.R., 2007. Spent residue from cumin – A potential source of dietary fiber. Food Chemistry, 104(3): 1229-1233. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.01
- Sowbhagya, H., 2013. Chemistry, technology, and nutraceutical functions of cumin (*Cuminum cyminum* L): An overview. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 53(1): 1-10. https://doi.org/10.1080/10408398.2010.500223
- Srinivasan, K., 2018. Cumin (*Cuminum cyminum*) and black cumin (*Nigella sativa*) seeds: Traditional uses, chemical constituents, and nutraceutical effects. Food Quality and Safety, 2(1): 1-16. https://doi.org/10.1093/fqsafe/fyx031
- Thippeswamy, N. and Naidu, K.A., 2005. Antioxidant potency of cumin varieties-cumin, black cumin and bitter cumin-on antioxidant systems. European Food Research and Technology, 220: 472-476. https://doi.org/10.1007/s00217-004-1087-y
- Tuzcu, Z., Koclar, G., Agca, C.A., Aykutoglu, G., Dervisoglu, G., Tartik, M. and Sahin, K., 2017. Antioxidant, antimicrobial and anticancer effects of different extracts from wild edible plant *Eremurus spectabilis* leaves and roots. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 10(3): 4787-4797. https://acikerisim.bingol.edu.tr/handle/20.500.12898/4516
- Vieira, I.R.S., de Carvalho, A.P.A.d. and Conte-Junior, C.A., 2022. Recent advances in biobased and biodegradable polymer nanocomposites, nanoparticles, and natural antioxidants for antibacterial and antioxidant food packaging applications. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 21(4): 3673-3716. https://doi.org/10.1111/1541-4337.12990
- Wanner, J., Bail, S., Jirovetz, L., Buchbauer, G., Schmidt, E., Gochev, V., Girova, T., Atanasova, T. and Stoyanova, A., 2010. Chemical composition and antimicrobial activity of cumin oil (*Cuminum cyminum*; Apiaceae). Natural Product Communications, 5(9): 1934578X1000500904. https://doi.org/10.1177/1934578X1000500904
- Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A. and Rotsztejn, H., 2018. Antioxidant properties of ferulic acid and its possible application. Skin Pharmacology and Physiology, 31(6): 332-336. https://doi.org/10.1159/000491755