ارزیابی سیتوتوکسیک نوعی دود دارویی روی دو رده سلول سرطانی دهانه رحم و حنجره (Hela و KB) و یک رده نرمال (L929) به روش MTT

حجت صادقی علی آبادی[1]، مهرسا صارمی[2]، مینا میریان[3]، علیرضا قنادی[4]

۱- استاد، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۲- دکترای داروسازی، مرکز تحقیقات علوم دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۳- دانشجوی دکترای پزشکی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

۴- استاد، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران.

یافته / دوره پانزدهم / شماره ۳ / تابستان ۹۲ / مسلسل ۵۶

چکیده

دریافت مقاله: ۹۲/۲/۱۰ ، پذیرش مقاله: ۹۲/۴/۱۹

* **مقدمه:** دود طبی حاصله از منابع طبیعی سلامتی بخش در بسیاری از کشورهای دنیا استفاده می‌گردد. یکی از این دودهای دارویی، دود ناشی از سوختن سرگین الاغ ماده با نام «عنبر نسارا» است. عنبر نسارا در طب سنتی و عامیانه ایران برای درمان بیماری-های عفونی باکتریایی و ویروسی، تومورها و کیست‌های واژینال کاربرد دارد.

* **مواد و روش‌ها:** در این مطالعه، سرگین الاغ ماده از شهرضا در استان اصفهان طی تابستان ۱۳۹۰ جمع‌آوری و توسط دستگاه طراحی شده، سوزانده شد. دود حاصله در لوله‌ای حاوی آب و n-هگزان که توسط آب و یخ احاطه شده بود، جمع آوری گردید. حلال در مجاورت هوا تبخیر و از نمونه خشک شده برای انجام آزمون سمیت سلولی به روش MTT، غلظت های ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲۵، ۰/۱۲۵، ۰/۱، ۰/۶۲۵٪ و ۰/۳۲۵٪ میلی‌گرم در میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۱٪ DMSO تهیه شد. اثر سمیت سلولی این غلظت ها پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون روی دو رده سلولی سرطانی (KB و Hela) و یک رده سلولی نرمال L929 از طریق تعیین درصد سلول های زنده بررسی گردید.

* **یافته‌ها:** نتایج نشان می‌دهد دود ناشی از سوختن عنبر نسارا روی رده‌های سلولی فوق‌الذکر در غلظت های معادل ۰/۲ میلی گرم یا کمتر اثر کشنده دارد.

* **بحث و نتیجه‌گیری:** دود دارویی عنبر نسارا، حاوی ترکیبات فرار متعددی است که آثار سیتوتوکسیک مشاهده شده را می‌توان به آنها نسبت داد. مطالعات بیشتر روی این نمونه‌ها ترکیبات مؤثره آن را مشخص خواهد نمود.

* **واژه‌های کلیدی:** عنبر نسارا، دود دارویی، درمان سرطان، سمیت سلولی، MTT , KB, Hela, L929.

آدرس مکاتبه: اصفهان، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، دانشکده داروسازی، گروه شیمی دارویی

پست الکترونیک: sadeghi@pharm.mui.ac.ir

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

مقدمه

سرطان دومین علت مرگ و میر بعد از بیماری‌های قلبی در میان جمعیت اغلب کشورهای توسعه یافته است. در سال ۲۰۰۲ حدود ۲۳ درصد کل مرگ‌ومیر های آمریکا به دلیل ابتلا به سرطان اتفاق افتاده است (۱). این نرخ بالای مرگ و میر، اهمیت تحقیق و پژوهش در قلمرو پیشگیری و درمان را انکارناپذیر کرده است.

از طرفی درمان سرطان به دلیل محدودیت‌های بنیادی در انجام کار بسیار مشکل‌تر از درمان بیماری های دیگر است. مهم‌ترین محدودیت، کشتن یا غیرفعال کردن سلول های تومور در حضور سلول های طبیعی، بدون بروز سمیت بر این‌گونه سلول‌هاست. از این رو بسیاری از محققین درصدد تهیه دارو از منابع طبیعی برآمده‌اند (۲). ترکیبات استخراج شده از گیاهان و یا عصاره‌های گیاهی تاریخچه طولانی در درمان و یا پیشگیری از ابتلا به سرطان دارند، تا جایی که بیش از ۳۰۰۰ گیاه به صورت اختصاصی برای درمان سرطان به کار رفته‌اند (۳). گرچه ترکیبات طبیعی سلامتی بخش عمدتاً در گیاهان دارویی مختلف وجود دارند ولی برخی از آنها را می‌توان در حیوانات نیز جستجو نمود. امروزه روغن شتر مرغ و محصولات ضد انعقاد (هیرودین) حاصله از زالو کاربردهای وسیعی پیدا کرده است (۵،۴). عسل که محصول فرآوری شده توسط زنبور عسل است و طی تحقیقاتی اثر ضد سرطانی آن بررسی و به اثبات رسیده است نیز از این موارد می‌باشد (۷،۶). مواد دفعی و ادرار حیواناتی نظیر فیل، شتر، گاو و الاغ ماده مثال های دیگری از ترکیبات طبیعی مورد استفاده هستند (۹،۸).

در بیش از ۵۰ کشور دنیا، استفاده از دودهای طبی مرسوم است و مصرف آن در طب سنتی و بین عوام پذیرش نسبی دارد. از جمله این دودها، دود حاصل از سوزاندن سرگین الاغ ماده است (۱۰).

در فرهنگ بومی مردم مناطق مختلفی از ایران خصوصاً استان‌های مرکزی از سرگین الاغ ماده و سوختن آن استفاده دارویی به عمل می‌آید. این مصرف که بیشتر به صورت بخور در فضای بسته است با نام ویژه دود یا بخور «عنبر نسارا» مشهور است. عمدتاً از دود حاصله از این ترکیب طبیعی حیوانی در درمان برخی از بیماری های ویروسی و میکروبی، بیماری های آلرژیک، تسکین علائم سرماخوردگی و درمان بعضی از تومورها و کیست‌های خوش‌خیم خصوصاً کیست‌های موجود در اندام تناسلی زنان استفاده می‌گردد. برخی از این اثرات در منابع طب گذشته نیز ذکر شده و تعدادی از آنها تنها در طب مردمی نقاط مختلف ایران ذکر شده است و کاربرد درمانی دارد (۱۳-۱۱).

محصولات دفعی حیوانات از جنبه‌های مختلفی مورد بررسی محققین قرار گرفته‌اند. بعضی مطالعات که روی مواد دفعی یا زاید حیوانات مختلف انجام گرفته نشان داده است که میزان مواد جامد فرار موجود در فضولات الاغ بیشتر از بز و گاو بوده است. در حالی که گاز تولید شده از فضولات بز بیشتر از گاو و الاغ می‌باشد (۱۴). بعضی مطالعات دیگر نشان داده‌اند که بخش‌هایی از فضولات دارای فعالیت اکسیداتیو قابل توجهی بوده است که عمدتاً به میزان فلزات واسطه موجود در آنها نسبت داده می‌شود (۱۵). روش‌های مختلف ارزیابی و تعیین مقدار ترکیبات گلوکوکورتیکوئیدی و متابولیت‌های وابسته به آن نیز در مورد سرگین اسب‌ها انجام شده است. شاید بتوان بخشی از ترکیبات مؤثره و آثار دارویی عنبر نسارا را نیز مرتبط با این ترکیبات دانست (۱۶).

با توجه به این که بسیاری از توصیه‌ها و روش‌های دارویی روی عنبر نسارا به صورت تجربی و عملی بوده است و

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

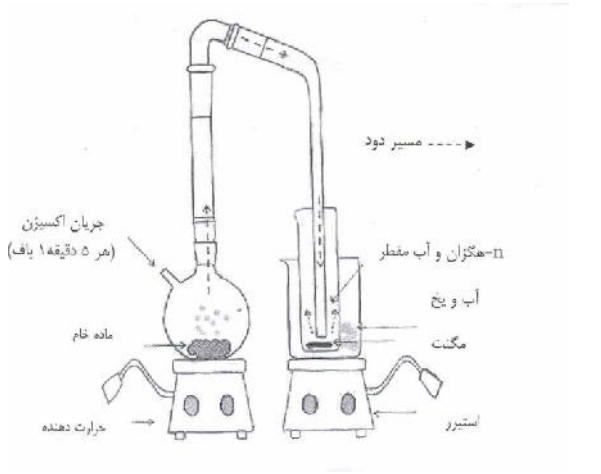
منابع علمی معتبر و بسیار اندکی در این زمینه وجود دارد بنابراین در این مطالعه اثر سمیت سلولی دود ناشی از این فرآورده روی رده سلول های سرطانی دهانه رحم (Hela) و حنجره (KB) با توجه به نوع کاربرد درمانی محلی آن و یک رده سلولی نرمال L929 بررسی شد.

مواد و روش‌ها

عنبر نسارای حاصل از الاغ ماده که به تازگی وضع حمل نموده بود در بهار سال ۱۳۹۰ از یکی از مزارع جنوب شهرضا تهیه گردید. دود حاصل از سوختن عنبر نسارا نیز با استفاده از تغییرات جزیی در دستگاهی که قبلاً طراحی شده بود (شکل۱) به دست آمد (۱۷).

در هر مرحله سوزاندن عنبر نسارا gr ۱۰۰ از نمونه خرد و داخل بالن تا دمای ۳۰۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد. جریان اکسیژن به صورت غیر مستمر (۱ پاف در هر ۵ دقیقه) در این سیستم برقرار گردید. از دهانه خروجی دود حاصله به بشری حاوی مخلوط ۸۰ میلی‌لیتر n-هگزان و ۱۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر وارد گردید. بشر فوق توسط ظرفی حاوی آب و یخ احاطه شده بود (دما در محدوده ۴-۰ درجه سانتی‌گراد ثابت نگه داشته می‌شد) و روی استیرر قرار داشت که باعث اختلاط مدام n-هگزان و آب مقطر می‌گردید.

پس از سوزاندن یک کیلوگرم نمونه در دفعات مکرر و جمع‌آوری دود آن در حلال n-هگزان، محلول حاصله در معرض هوای آزاد به مدت ۴ روز قرار گرفت تا حلال آن تبخیر گردد. از نمونه کاملاً خشک شده،غلظت‌های ۰/۴، ۰/۳، ۰/۲۵، ۰/۲، ۰/۱۲۵، ۰/۱، ۰/۰۶۲۵ و ۰/۰۳۱۲ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر حلال یک درصد DMSO در RPMI1640 برای بررسی‌های سیتوتوکسیک تهیه گردید.



شکل۱. شمایی از دستگاه طراحی شده و نحوه تولید و جمع آوری دود دارویی عنبر نسارا

مطالعات بیولوژیک

رده‌های سلولی: سلول های سرطانی اپیدرموئید حنجره (KB)، دهانه رحم (Hela) و سلول نرمال (L929) از انستیتو پاستور ایران خریداری شد. سلول ها در محیط کشت RPMI1640 حاوی ۱۰٪ سرم جنین گاو، ۱٪ پنی‌سیلین-استرپتومایسین، ۰/۲ درصد $NaHCO_3$ و ۱ درصد گلوتامین ۲ مولار کشت داده شد. محیط کشت آماده شده قبل از استفاده توسط فیلتر ۰/۲۲ میکرون استریل و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد (۱۸).

بررسی اثر سیتوتوکسیک به روش MTT: ارزیابی اثرات سایتوتوکسیک عنبر نسارا روی رده‌های سلولی مورد مطالعه با روش رنگ سنجی، با استفاده از (4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5 biphenyl tetrazolium bromide) در مقایسه با گروه کنترل انجام شد. اساس آزمایش MTT بر پایه قدرت آنزیم سوکسینات دهیدروژناز میتوکندریایی برای تبدیل نمک زرد محلول در آب MTT به کریستال های فورمازان بنفش رنگ غیر محلول در آب است که با افزودن DMSO به عنوان حلال

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

درجنت، حل و رنگ حاصل توسط روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری می‌شود (۱۹).

برای انجام این آزمون، µl ۱۸۰ از سوسپانسیون سلولی (۵×۱۰^{۴} cell/ml) در پلیت ۹۶ خانه ریخته شد و به مدت ۲۴ساعت انکوبه گردید (شرایط مناسب انکوباسیون۳۷ درجه سانتی‌گراد، ۹۵٪ هوا، ۵٪ CO_2) سپس µl ۲۰ از غلظت‌های مورد مطالعه به سلول‌ها افزوده و پلیت به مدت ۴۸ ساعت دیگر در همان شرایط انکوبه شد.

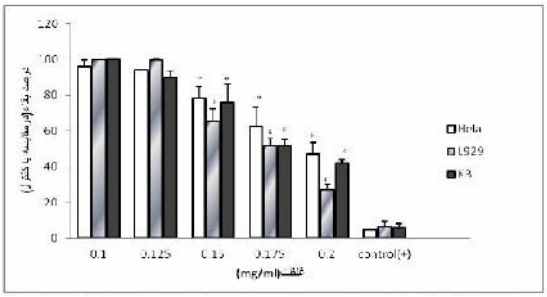
حلال بدون دارو به عنوان کنترل منفی و دوکسوروبیسین به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد و در نهایت میزان جذب هر چاهک با استفاده از دستگاه ELISA Plate Reader اندازه‌گیری شد و درصد بقای سلول ها در مقایسه با کنترل منفی تعیین گردید. هم چنین به منظور تعیین IC_{50} دود عنبر نسارا روی رده‌های سلولی مورد مطالعه، آزمایش MTT با غلظت های ۰/۲، ۰/۱۷۵، ۰/۱۵، ۰/۱۲۵ و ۰/۱ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر تکرار گردید.

تحلیل آماری:

برای بررسی اثر مهاری دود سرگین بر رشد سلول های سرطانی و نرمال، داده‌های به دست آمده توسط روش آماری ANOVA و آزمون دانکن تحلیل شد. تفاوت میانگین غلظت‌ها با گروه کنترل در سطح $P<۰/۰۵$ معنی‌دار در نظر گرفته شد. اما میانگین غلظت‌ها بین سه رده سلولی تفاوت معنی‌دار نشان ندادند.

یافته‌ها

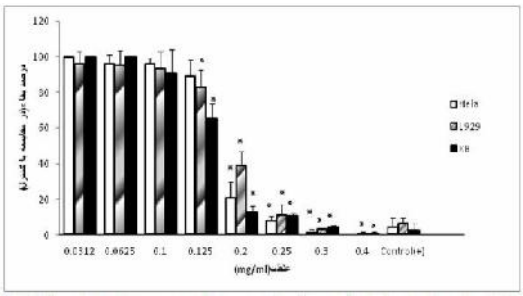
نتایج آزمون MTT پس از ۴۸ ساعت انکوبه کردن بیانگر این بود که افزایش غلظت نمونه با کاهش درصد سلول های زنده در هر سه رده هم بستگی دارد. بنابراین حداکثر کاهش درصد سلول های زنده در هر سه رده با غلظت ۴۰۰µg/ml ایجاد گردید؛ لذا با توجه به نمودار۱ می‌توان گفت تأثیر سایتوتوکسیک عنبر نسارا از الگوی وابسته به مقدار پیروی می‌کند.



نمودار۱. اثر سیتوتوکسیک غلظت های مختلف دود دارویی روی رده‌های سلولی Hela, KB , L929.

بحث و نتیجه گیری

نتایج حاصل از این پژوهش اثر مهاری دود جمع‌آوری شده از عنبر نسارا روی رشد سلول‌های سرطانی و نرمال را نشان می-دهد. بر اساس نتایج آزمون MTT، اثر ترکیب در غلظت‌های ۲۰۰µg/ml و بالاتر مشاهده می‌شود. به طوری که میزان بقا در غلظت های بیشتر از µg/ml ۲۰۰ به کمتر از ۱۰ درصد می‌رسد. با توجه به داده‌های حاصل از آزمون، IC_{50} نمونه بین غلظت‌های µg/ml ۲۰۰-۱۰۰ بود و برای محاسبه و تائید آن، آزمون MTT با غلظت‌های ۱۰۰، ۱۲۵، ۱۵۰، ۱۷۵ و µg/ml ۲۰۰ مجدداً تکرار شد. نتایج حاصله در نمودار ۲ آمده است.



نمودار۲ .تعیین IC50 غلظت‌های مختلف دود دارویی روی رده‌های سلولی Hela, KB , L929. Error barدر هر نقطه خطای

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

میانگین (Mean ± SD) جذب‌ها را در۳ آزمایش مجزا نشان می‌دهد($P < 0.05$*).

مدفوع حیوانی شامل مقادیر زیادی از مواد ارگانیک و ازت و مقادیر زیادی از مواد گیاهی خورده شده توسط حیوان است (۲۰). توجه به این نکته ضروری است که غلظت مواد سمی و اساسی در مدفوع تحت تأثیر مواد مصرف شده و هضم مواد غذایی است. در حقیقت مدفوع می‌تواند منبع غنی از ترکیبات طبیعی با اثرات متفاوت از جمله سیتوتوکسیک باشد (۲۱).

دود حاصله از سایر ترکیبات طبیعی نیز مورد بررسی محققین قرار گرفته است. مثلاً در طی مطالعاتی نشان داده شده است که اجزای اصلی دود ناشی از سوزاندن خاک اره شامل اسید فرمیک، اسید استیک، اسید بوتیریک، اسید کاپریلیک، اسید وانیلیک، اسید سیرنیژیک، دی‌متوکسی فنول، گلایوکسال، فورفورال، متانول، اکتانال، استالدهید، دی‌استیل استون و ۳ و ۴ بنزوبرین هستند و گفته می‌شود که این دود بیش از ۲۰۰ جزء دارد (۲۲).

اثر سیتوتوکسیک بسیاری از این ترکیبات و یا مشتقات آنها به تنهایی بررسی شده است. این مطالعات مربوط به دود ناشی از سوزاندن چوب است در حالی که براساس بررسی کتابخانه‌ای هیچ مطالعه‌ای درخصوص مواد موجود در دود سرگین در منابع مختلف یافت نگردید و لذا امکان توجیه مکانیسم و ذکر ترکیبات سیتوتوکسیک این دود در حال حاضر وجود ندارد.

محققزاده و همکاران نیز در مقاله خود درباره دودهای طبی به این نکته اشاره دارند که اطلاعات اندکی درخصوص ترکیب این دودهای طبی وجود دارد (۱۷،۱۰).

پروین و همکاران (۱۳۸۹) طی پژوهشی برای بررسی اثر ضد میکروبی دود سرگین الاغ، اثر آنتی‌بیوتیکی آن را به ترکیب مواد غذایی و گیاهان مصرف شده توسط حیوان نسبت داده‌اند. از طرفی آنها دریافته‌اند که دود حاصل از سوزاندن خوراک حیوان فاقد اثرات ضد میکروبی در حد و اندازه خود سرگین است که این مورد احتمالاً وجود ترکیبات دیگری را در سرگین مطرح می‌کند که ممکن است ناشی از فعل و انفعالات داخل سیستم گوارش حیوان و حتی پروبیوتیک‌های موجود در آن باشد (۲۲).

از جمله مواد موجود در سرگین، لیگنین است که هیدرولیز آن موجب تشکیل برخی ترکیبات با ویژگی مهارکنندگی رشد می‌شود. در اثر این هیدرولیز به طور عمده اسیدهای ضعیف، ترکیبات فورانی و یا ترکیبات فنلی تشکیل می‌شود که احتمالاً اثرات سیتوتوکسیک دود ناشی از سوختن سرگین به یکی از این سه گروه مواد مرتبط می‌باشد (۲۳،۲۲).

حرارت دهی موجب تبدیل مواد موجود در یک گیاه یا فرآورده به اجزای ریز میکروسکوپی می‌شود و امکان جذب بیشتر این مواد را فراهم می‌کند (۱۰). این مورد به مکانیسم نفوذ دود جمع‌آوری شده به داخل سلول ها به نوعی اشاره دارد.

بنابراین گرچه فرضیات متعددی مطرح است، اما مکانیسم واقعی اثر ضد سرطانی دود سرگین و ترکیبات اصلی آن هنوز روشن نشده است. بنابراین شواهد تجربی انکارناپذیر بیان می‌کند که عوامل موجود در ترکیب می‌توانند رشد سلول ها را مهار کنند. در صورتی که بتوان ترکیبات موثری را که تنها روی سلول های سرطانی موثر باشند بدون اثر بر سلول‌های طبیعی شناسایی نمود، می‌توان از اثر احتمالی دارویی این ترکیب استفاده بیشتری نمود.

نتایج این مطالعه، بستری باز برای انجام مطالعات بعدی در خصوص اثر ضد سرطانی انواع مختلف دود های طبی مانند دود ناشی از سوزاندن محصولات دامی و انواع گیاهان دارویی را فراهم نمود؛ لذا پیشنهاد می‌گردد در آینده مطالعات دیگری به منظور شناسایی مواد مؤثره موجود در انواع دودهای طبی انجام داد تا امکان استفاده بالینی و عملی از این فرآورده‌های طبیعی و در دسترس فراهم گردد.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

تشکر و قدردانی

هزینه‌های انجام این مطالعه از طریق طرح تحقیقاتی مصوب معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان به شماره ۱۸۸۰۷۵ تأمین گردید. نویسندگان از زحمات آقای حسن علایی تکنسین آزمایشگاه شیمی دارویی که در فراهم نمودن دستگاه و جمع آوری دود ما را در طی این پژوهش یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

References

1. Jemal A, Murry I, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Chafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer Statistics. CA Cancer J Clin. 2005;55: 10-30.
2. Cohari AR, Saeidnia S, Cohari MR, Moradi F, Malmir M, Yazdanpanah M, et al: Brine Shrimp cytotoxicity of some Medicinal plants Belongs to Lamiaceae, Asteracea, Rosaceae and Boraginaceae Families. J Med Plants. 2009;29:87-93. (In Persian)
3. Cragg GM, Newman DJ. Plants as a source of anti-cancer agents. J Ethnopharmacol. 2005; 100:72-79.
4. Wilson TA, Nicolsi RJ, Handelman C, Yoganathan S, Kotyla T, Orthoefer F, Binford P. Comparative effects of emu and olive oil on aortic early atherosclerosis and associated risk factors in hyper cholesterolemic hamsters. Nutr Res.2004;24:395-406.
5. Greinacher A, Warkentin TE. The direct thrombin inhibitor hirudin. Thromb Haemost 2008;99:819-829.
6. Lev E. Traditional healing with animals (zootherapy): medieval to present-day Levantine practice. J. Ethnopharmacol. 2003; 85:107-118.
7. Rady HM, Yahya SMM. Enhancement of the antitumor effect of honey and some of its extracts using adiponectin hormone. Aust J Basic & Appl Sci. 2011;5:100-108.
8. Moghadam K. Zootherapy. Bargozideh Press. Tehran, 1385;1-144.
9. Al-Harbi MM, Qureshi S, Ahmed MM, Reza M, Baig MZ, Shah AH. Effect of camel urine on the cytological and biochemical changes induced by cyclophosphamide in mice. J Ethnopharmacol. 1996;52:129-137.
10. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Shams-Ardakani M, Ghasemi Y. Medicinal smokes. J Ethnopharmacol. 2006;108:161-184.
11. Ebne Sina HA. Canon of Medicine, Translated by: Sharafkandi AR. Tehran; Soroush Publications.1987;2:164.
12. Al-Akhavanini Al-Najjari ARA: Hedayatol Motoallemin fi-L Tebb. Mashhad; Ferdowsi University Publication:1992;293.
13. Rhazi MZR, Al-Hawi, Translated by: Afsharypour S. Tehran; Publications of the Academy of Medical Sciences. 2005;20:195.
14. Makki EK, Eljack BE. Seasonal variation and production of biogas from three types of animal dung. Ahfad Journal, 2003;20:18-25.
15. Mudway IS, Duggan ST, Venkataraman C, Habib G, Kelly FJ, Grigg J. Combustion of dried animal dung as biofuel results in the generation of highly redox active fine particulates. Part Fibre Toxicol. 2005;2:6-16.
16. Flauger B, Krueger K, Gerhards H, Mostl E. Simplified method to measure glucocorticoid metabolites in faeces of horses. Vet Res Commun. 2010;34:185-195.
17. Mohagheghzadeh A, Faridi P, Ghasemi Y. Analysis of mount Atlas mastic smoke: A potential food preservative. Fitoterapia. 2010; 81:577-580.
18. Mirian M, Zarghi A, Sadeghi S, Tabaraki P, Tavallaee M, Dadrass O. and Sadeghi-aliabadi; Synthesis and cytotoxic evaluation of some novel sulfonamide derivatives against a few human cancer cells. Iranian J Pharm Res. 2011;10:741-748.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]

19. Saghaei L, Sadeghi-aliabadi H, Ashaeshoar M. Synthesis, analysis and cytotoxic evaluation of some hydroxypyridinone derivatives on HeLa and K562 cell lines. Res Pharm Sci. 2013;8:185-195.
20. Moral R, Moreno-Caselles J, Pesez-Murcia MD, Perez-Espinosa A, Rufete B, Paredes C. Characterisation of the organic matter pool in manures.Bioresour Technol.2005;96:153-158.
21. Palmqvist E, Hahn-Hagerdal B. Fermentation of lignocellulosic hydrolysates. II: inhibitors and mechanisms of inhibition. Bioresour Technol.2000;74:25-33.
22. Parvin N, Validi M, Banitalebi M, Mobin GHR, Ashrafi K, Farrokhi E, Rafieian M, Akbari N, Safdari F, Rafie-Vardanjani L. Effect of medicinal smokes on some nosocomial infection factors. J Shahrekord Univ Med Sci. 2010;12:76-83. (In Persian)
23. Uqartondo V, Mitjans M, Vinardell MP. Comparative antioxidant and Cytotoxic of Lignins from different Sources. Bioresour Technol.2008;99:6683-6687.

[Downloaded from yafteh.lums.ac.ir on 2026-11-04]