



*A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Pixabay*

Mikulka Petra¹, Iva Čanak², Jadranka Frece², Mohácsiné Farkas Csilla³

Érkezett: 2017. június – Elfogadva: 2017. augusztus

A feketeköményszemmag-olaj antimikrobás hatásának vizsgálata *Staphylococcus aureus* törzseken

Kulcsszavak: feketeköményszemmag-olaj, timokinon, alternatív tartósítás, multidrog rezisztencia, *Staphylococcus aureus*

1. Összefoglalás

A vásárlói tudatosság növekedésével egyre nagyobb fogyasztói igény mutatkozik a minimálisan feldolgozott, csökkentett adalékanyag-tartalmú élelmiszeripari termékekre. Az élelmiszerek biztonságának és stabilitásának megőrzése érdekében a tartósítószer használata a legtöbb esetben szükséges, de mennyiségük alternatív tartósítószer alkalmazásával csökkenthető vagy helyettesíthető. A szakirodalomban számos kutatási eredmény található, amelyek alátámasztják a feketeköményszemmag-olaj antimikrobás hatását, oxidatív stabilitását és gyökfogó képességét. Ezek a tulajdonságok kedvező élettani hatásaival társulva különösen alkalmassá teszik természetes tartósítószerként való alkalmazásra.

A munka célja a feketeköményszemmag-olaj antimikrobás hatásának vizsgálata volt – egy élelmiszerbiztonsági szempontból fontos kórokozó – a *Staphylococcus aureus* esetében. A hatásmechanizmus pontosabb feltérképezésének érdekében eritromicinnel dolgoztunk, majd az olaj kombinált tartósítási eljárásban való alkalmazhatóságának vizsgálatához szerves savakkal végeztünk kombinált kezeléseket.

2. Bevezetés

Az élelmiszer-eredetű megbetegedések hazánkban mintegy 3 millió főt érintenek évente [10], így az élelmiszerbiztonsági kockázatok minimalizálására való törekvés alapvető fontosságú [15], [25].

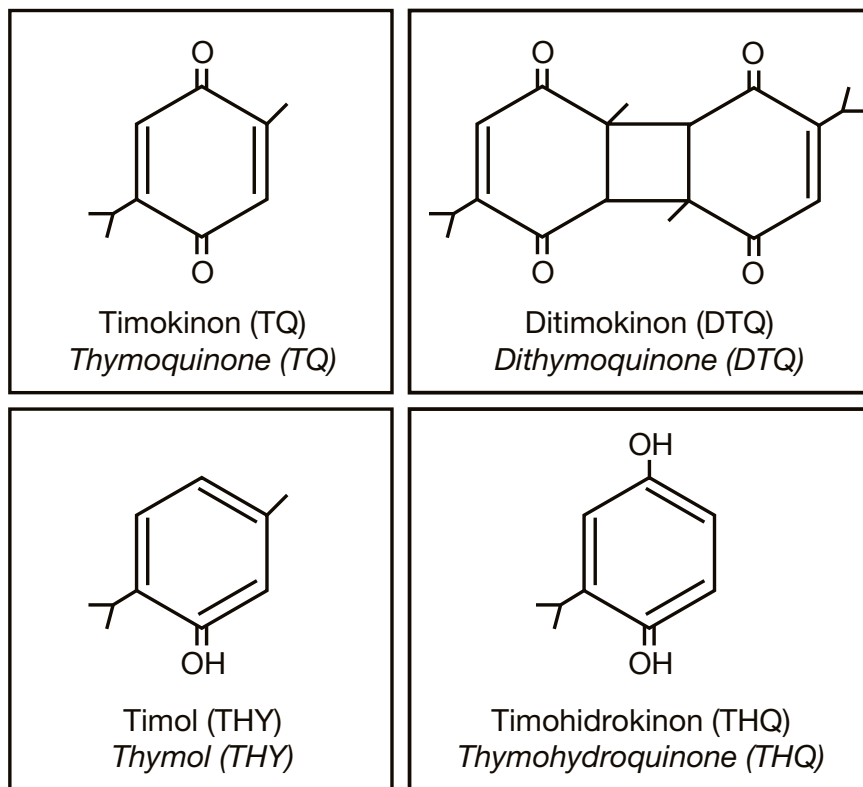
A tartósítószer alkalmazása részben megoldást jelent, ugyanakkor a fogyasztók igénye növekvő tendenciát mutat az élelmiszerekben lévő adalékanyagok mennyiségének csökkentésére, amelyeknek – esetenként jogosan – egészségkárosító hatást tulajdonítanak [9]. Alternatív antimikrobás hatású anyagok alkalmazásával – járulékos egészségkárosító hatás nélkül – redukálható lehet az élelmiszerekhez hozzáadott tartósítószer mennyiség.

A Dél-Európában, Észak-Afrikában és Délnyugat-Ázsiában őshonos feketekömény (*Nigella sativa*) magjából készült extraktum széles hatásspektrumban gátol számos bakteriális eredetű izolátumot, különösen Gram-pozitív kokkusztokat [1], [4]. Emberi

szervezetre való pozitív hatása – főként emésztési, nőgyógyászati és légzőszervi megbetegedések terén – fitokémiai vizsgálatok által bizonyított [3], [14], [31]. Vércukorszint-stabilizáló, koleszterinszint-csökkentő, gyomornyálkahártya-regeneráló és parazitaölő hatását szintén számos tanulmány alátámasztja [1], [2], [7], [8], [21], [28].

Az 1. ábra szemlélteti a feketeköményszemmag-olaj HPLC analízis alapján megállapított fő aktív komponenseit: timokinon (TQ), a ditimokinon (DTQ), a timol (THY) és a timohidrokinon (THQ) [23], amelyek közül a legnagyobb biológiai aktivitással a TQ rendelkezik [14]. Előzetes kutatások alapján a TQ egyike lehet az új, antibakteriális és multirezisztencia-módosító hatóanyagok valamelyikének [16]. Amennyiben Efflux-pumpa gátló hatását további vizsgálatokkal sikerül alátámasztani, segítségünkre lehet a rohamos mértékben terjedő multidrog-rezisztencia (MDR) elleni harcban, amely nemzetközi szintű problémát jelent [22], [24], [26], [30].

¹ Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal, Élelmiszerbiztonsági Kockázatértékelési Igazgatóság
² Zágrábi Egyetem, Élelmiszertechnológiai és Biotechnológiai Tanszék
³ Szent István Egyetem, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék



1. ábra. A feketeköménymag-olaj aktív alkotóinak kémiai szerkezete: TQ, DTQ, THY, THQ
(Forrás: Omar et al. (1999): A *Nigella sativa* L. mag immunmoduláló és terápiás sajátosságai)
Figure 1 Chemical structure of the active ingredients of black cumin seed oil: TQ, DTQ, THY, THQ
(Source: Omar et al. (1999): A *Nigella sativa* L. mag immunmoduláló és terápiás sajátosságai)

1. táblázat. Felhasznált *Staphylococcus aureus* törzsek
Table 1 *Staphylococcus aureus* strains used

Kódszám Code no.	Információ az izolátumok forrásáról Information on the source of the isolates
1462	emberi seb human wound
2174	emberi klinikai izolátum, Kansas, USA human clinical isolate, Kansas, USA
2261	emberi seb human wound
2399	emberi klinikai izolátum, kontroll törzs érzékenységi vizsgálatoknál human clinical isolate, control strain in sensitivity tests
1065	emberi mellhártyafolyadék human pleural effusion
1186	genny, Budapest, Magyarország pus, Budapest, Hungary
1314	Orvosi Baktériumok Magyar Nemzeti Gyűjteménye Hungarian National Collection of Medical Bacteria
1755	az FDA antibiotikum érzékenység vizsgálatára használtja used by the FDA in antibiotic sensitivity testing
2033	emlőmirigy gyulladásban szenvedő juh teje milk of sheep with mammary gland infection
2046	nincs információ no information

3. Anyag és módszer

3.1. Felhasznált anyagok

Kísérleteink során 100%-os tisztaságú feketeköménymag-olajat használtunk, amely a gyártó (Amazing Herbs Rt.) információi alapján 9,6 mg TQ-t tartalmazott ml-enként. Az olaj extrakciója hidegen préseléssel történt, így szignifikáns mennyiségű lipofil alkotót tartalmaz (pl. antioxidánsok, TQ származékok) [19].

10 db *Staphylococcus aureus* törzssel dolgoztunk, amelyek a Szent István Egyetem, Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből származtak. Választásunkat szakirodalmi adatok indokolták, amelyek alapján a *Staphylococcus aureus* mutatkozott a leginkább szenszitiv fajnak a feketeköménymag-olaj hatására [16], [27]. A törzsek kódszámát és a forrásukról való információt az **1. táblázat** foglalja össze.

A vizsgálatokat nutrient agarral végeztük: 1000 ml desztillált vízben 28 g por táptalajt oldottunk (összetétel: 1 g marhahús extraktum, 5 g pepton, 5 g NaCl, 2 g élesztő extraktum, 15 g agar-agar), majd 121°C-on 15 percig sterilizáltuk.

3.2. Alkalmazott módszer

A természetes antimikrobás anyagok kvalitatív vizsgálatára az agardiffúziós módszert tartják a leghatékonyabb eljárásnak [32], ezért a feketeköménymag-olaj esetében agarlyuk diffúziós módszert alkalmaztuk. 10^7 TKE/ml koncentrációjú mikroba szuszpenzióval dolgoztunk, amelyből 1 cm³-t pipettáztunk sterilizált Petri-csészére. A lemezöntést

15 cm³ 45°C hőmérsékletű táptalajjal végeztük. A megszilárdult agarlemezekbe fúrt 10 mm átmérőjű lyukakba 100 µl vizsgálandó komponenst pipettáztunk. A mintákat 24 óráig 37°C-os hőmérsékleten inkubáltuk, majd az inkubációs idő lejártával megálapítottuk a gátlási zónák átmérőit.

4. Eredmények

4.1. Minimális gátló koncentráció (MIC)

A feketeköménymag-olaj MIC (Minimum inhibitory concentration) értéke a *Staphylococcus aureus* törzsekre nézve 50 mg/ml, amely 0,48 µg/ml TQ tartalommal egyenértékű. A gátlási zónák átmérőit a **2. táblázat** szemlélteti. A legellenállóbbnak az emlőmirigy gyulladásból izolált (2033) törzs, a legszenzitivebbnek az FDA antibiotikum-érzékenységi vizsgálataiban alkalmazott (1755) törzs bizonyult. Fontosnak tartjuk megemlíteni, hogy a szükséges mikrobagátló koncentráció az élelmiszerekben eltérést mutathat a laboratóriumi kísérlet által kimutatott 5%-tól, ugyanis az élelmiszer-matrix számos interakción keresztül befolyásolhatja a bakteriosztatikus, illetve bactericid hatást [13].

4.2. Kombináció eritromicinnel

A feketeköménymag-olaj antimikrobás hatásmechanizmusának pontosabb megismerését célzó eritromicines kombinációt az antibiotikum MIC értékének meghatározása előzte meg. 10-ből 8 törzs esetén 3,5 és 7,0 µg/ml között mozogtak az értékek. A 2174 kódszámú emberi klinikai mintából származó és a 1186 kódszámú gennyből izolált törzs rezisztensnek bizonyult, így ezeknél a törzseknél 7,0 µg/ml-es koncentrációval dolgoztunk tovább. Az eritromicin MIC értékeit a *Staphylococcus aureus* törzsekre nézve és



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Pixabay

a kialakult gátlási zónák átmérőit a **3. táblázatban** foglaltuk össze.

A kombináció eredményei megerősítették az előző kutatásokban tapasztalt additív hatást [16], amelyeknek keretein belül bár tetraciklinnel dolgoztak, a két antibiotikum hatásmechanizmusa hasonló: a tetraciklin a 30S, az eritromicin az 50S riboszóma alegységen gátolja a peptidlánc elongációját [5], [20]. A **4. táblázat** szemlélteti, hogy a feketeköménymag-olaj és az eritromicin a legtöbb törzs esetén felerősítette egymás hatását. Az eritromicinre rezisztens 2174 kódszámú törzsnél 100%-os, a szintén rezisztens 1186 kódszámú törzsnél 50%-os gátlási zóna növekedés történt. A kombináció hatékonyságát támasztja alá a feketeköménymag-olaj hatására

legkevésbé érzékeny 2033 kódszámú törzs gátlási zónájának közel 50%-os növekedése is.

4.3. Kombináció ecetsavval és citromsavval

Az étkezési savakkal alkalmazott kombinációk elvégzését indokolta, hogy az olaj minimális gátló koncentrációja viszonylag magas: 5%. Ebben a koncentrációban valószínűleg rontaná az élelmiszerek élvezeti értékét (jellegzetes borsos, enyhén csípős ízvilággal rendelkezik) [29], ugyanakkor kombinált tartósítási eljárásban, egyéb gátló faktoral társítva kisebb koncentrációban is hatásos lehet [17]. Az **5. táblázat** eredményeiből jól látszik, hogy az étkezési savak közel megegyező mértékben gátolták a tíz törzs szaporodását, 5 - 15 mg/ml-es koncentráció tarto-

2. táblázat. A feketeköménymag-olaj MIC értékei és a gátlási zónák átmérője
Table 2 MIC values of black cumin seed oil and the diameters of the inhibition zones

Törzs kódszáma Strain code no.	MIC (mg/ml)	Gátlási zóna átmérője (mm) Inhibition zone diameter (mm)
1462	50	13
2174	50	12
2261	50	12
2399	50	13
1065	50	15
1186	50	12
1314	50	12
1755	50	16
2033	50	9
2046	50	11

3. táblázat. Az eritromicin MIC értékei és a gátlási zónák átmérője
Table 3 MIC values of erythromycin and the diameters of the inhibition zones

Törzs kódszáma Strain code no.	MIC (µg/ml)	Gátlási zóna átmérője (mm) Inhibition zone diameter (mm)
1462	5	9
2174	rezisztens / resistant	0
2261	7	10
2399	7	9
1065	5	10
1186	rezisztens / resistant	0
1314	3,5	9
1755	3,5	10
2033	7	9
2046	7	9

mányban. A kombinációk hatására a legtöbb törzs esetén nem történt jelentős gátlási zóna növekedés. Az ecetsavas kombinációkban két törzs (2399, 1314) esetén 5 és 6 mm-rel nőtt a gátlási zónák átmérője, míg a citromsavas kombinációk eredményei alapján egyedül a 2033 kódszámú juh emlőmirigy gyulladásából izolált törzs esetén történt 5 mm-es gátlási zóna növekedés. A kapott eredmények nem adnak okot a kombinációk eredményességének feltételezésére.

5. Következtetések

Kísérleteink alapján a feketeköménymag-olaj fő alkalmazási lehetőségeként a kombinált tartósítási eljárást javasoljuk, többek között olyan, kis koncentrációban is hatékony biológiai eredetű anyagokkal, mint a nizin vagy a pimaricin. Hatékony kombináció esetén, akár olyan kíméletes tartósító eljárások energiaszükségletének csökkentésére is szolgálhat, mint a magas hidrosztatikus nyomású kezelés vagy a modern besugárzási módszerek.

4. táblázat. A feketeköménymag-olaj és az eritromicin kombinációjának hatása a *Staphylococcus aureus* törzsekre
Table 4 Effect of the combination of black cumin seed oil and erythromycin on *Staphylococcus aureus* strains

Törzs kódszáma Strain code no.	Feketeköménymag-olaj minimális gátló koncentrációban (50 mg/ml) <i>Black cumin seed oil in minimum inhibitory concentration (50 mg/ml)</i>	Eritromicin minimális gátló koncentrációban (3,5-7,0 µg/ml) <i>Erythromycin in minimum inhibitory concentration (3.5-7.0 µg/ml)</i>	Kombináció Combination
	Gátlási zóna átmérője (mm) / <i>Inhibition zone diameter (mm)</i>		
1462	13	9	20
2174	12	rezisztens / <i>resistant</i>	24
2261	12	10	32
2399	13	9	19
1065	15	10	16
1186	12	rezisztens / <i>resistant</i>	18
1314	12	9	19
1755	16	10	30
2033	9	9	17

5. táblázat. Az ecetsav és a citromsav MIC értékei
Table 5 MIC values of acetic acid and citric acid

Törzs kódszáma Strain code no.	Ecetsav minimális gátló koncentráció (mg/ml) <i>Acetic acid minimum inhibitory concentration (mg/ml)</i>	Citromsav minimális gátló koncentráció (mg/ml) <i>Citric acid minimum inhibitory concentration (mg/ml)</i>
1462	7,5	7,5
2174	7,5	5
2267	7,5	5
2399	15	5,5
1065	7,5	5
1186	5	5,5
1314	15	5,5
1755	5	5
2033	7,5	5
2046	7,5	5,5

A hatásmechanizmus megismerésére végzett vizsgálatok eredményei alapján a feketeköménymag-olaj jelenlétében az eritromicinre rezisztens törzsek érzékenyíthetők. Valószínűsíthető, hogy a 2174 és 1186 kódszámú törzs esetén a TQ jelenlétének hatására az Efflux-pumpa képtelenné vált a sejtplazmába jutott eritromicin kipumpálására, így rezisztenciájuk megszűnt az antibiotikum ellen. A TQ Efflux-pumpa gátló hatásával magyarázható lehet a többi törzs szenzitivitásának növekedése is: az olaj lipofil tulajdonságának köszönhetően önmagában is képes áthatolni a sejtmembránon és gátolni a sejtfunciókat (pl. ATP szintézist) [11], [12], [18]. A kombinációkban viszont eritromicin is jutott a sejtekbe, amely a fehérjeszintézis gátlásával akadályozta a *Staphylococcus aureus* törzsek szaporodását. Ebben az esetben az olaj már nem csak hidrofób tulajdonságaival gátolta a sejtek életműködését, de az eritromicin bejutását is elősegítette a citoplazmába, így dupla stresszhatásnak tette ki a sejteket. Amennyiben további kísérletekkel sikerül alátámasztani a feketeköménymag-olaj – avagy az abból extrahált TQ – Efflux-pumpa gátló hatását, valószínűleg segítséget nyújthat a rohamos mértékben terjedő multidrog-rezisztens törzsekkel szemben.

Az étkezési savakkal végzett kombináció nem volt kellően hatékony, amelyre magyarázatként szolgálhat, hogy mivel a savak antimikrobás hatása főként a pH csökkentésén és a proton gradiens megszüntetésén keresztül a membrántranszport folyamatok gátlásán alapul [6], a TQ Efflux-pumpa gátló hatása nem tudott érvényesülni.

6. Köszönetnyilvánítás

Szeretnénk köszönetet mondani a Szent István Egyetem, Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszék, valamint a Zágrábi Egyetem, Élelmiszertechnológiai és Biotechnológiai Tanszék munkatársainak, amiért szaktudásukkal hozzájárultak a kísérleteink végrehajtásához.

7. Irodalom

- [1] Ali, B. H., Blunden, G. (2003): Pharmacological and Toxicological Properties of *Nigella sativa*. *Phytotherapy Research*. 17. p. 299-305
- [2] Bhatt, I., Fazal, U. R., Khan, M. A., Khan, S. M. (2009): Effect of prophetic medicine Kalonji (*N. sativa*) on lipid profile of human beings: An In Vivo Approach. *World Applied Science Journal*. 6. (8) p. 1053-1057
- [3] Boskabady, M. H., Shirmohammadi, B. (2002): Effect of *Nigella sativa* on Isolated Guinea Pig Trachea. *Arch Iranian Med*. 5. (2) p. 103-107
- [4] Chaieb, K., Kouidhi, B., Jrah, H., Mahdouani, K., Bakhrouf, A. (2011): Antibacterial activity of Thymoquinone, an active principle of *Nigella sativa* and its potency to prevent bacterial biofilm formation. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 11:29
- [5] Chopra, I., Roberts, M. (2001): Tetracycline Antibiotics: Mode of Action, Applications, Molecular Biology, and Epidemiology of Bacterial Resistance. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 65.2. p. 232-260
- [6] Deák, T., Kiskó, G., Maráz, A., Mohácsiné, F. Cs. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó. Kémiai tartósítási módszerek.
- [7] Demir, H., Kanter, M., Coskun, O., Uz, Y. H., Koc, A., Yildiz, A. (2006): Effect of black cummin (*Nigella sativa*) on heart rate, some hematological values and pancreatic beta-cell damage in cadmium-treated rats. *Biological Trace Element Research*. 110. (2) p. 151-162
- [8] El Shenawy, N. S., Soliman, M. F., Reyad, S. I. (2008): The effect of antioxidant properties of aqueous garlic extract and *Nigella sativa* as anti-schistosomiasis agents in mice. *Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine*. 50. (1) p. 29-36



A kép illusztráció / Picture is for illustration only
Fotó/Photo: Shutterstock

- [9] European Food Information Council (2004): Tartósítószer az élelmiszerek hosszabb és biztonságosabb eltarthatóságáért. Food Today.
- [10] Élelmiszerlánc-biztonsági Stratégia 2013-2022 (2013): Földművelésügyi Minisztérium, Nemzeti Élelmiszerlánc-biztonsági Hivatal. http://elelmiszerlanc.kormany.hu/download/4/39/70000/%C3%89LBS%204_1_20130711.pdf Hozzáférés: 2017.02.20.
- [11] Friedly, E. C., Crandall, P. G., Ricke, S. C., Roman M., O'Bryan, C., Chalova, V. I. (2009): In vitro antilisterial effects of citrus oil fractions in combination with organic acids. *Journal of Food Science*. 74. p. 67-72
- [12] Guinoiseau, E., Luciani A., Rossi, P. G., Quilichini, Y., Ternengo, S., Bradesi, P. (2010): Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils in *Staphylococcus aureus*. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 29. p. 873-879
- [13] Hyldgaard, M., Mygind, T., Meyer, R. L. (2012): Essential Oils in Food Preservation: Mode of Action, Synergies, and Interactions with Food Matrix Components. *Frontiers in Microbiology*. 3:12
- [14] Ismail M. Y. M. (2009): Therapeutic Role of Prophetic Medicine Habbat El Baraka (*Nigella sativa* L.). *World Applied Sciences Journal*. 7. (9) p. 1203-1208
- [15] Kasza Gy., Szeitzné Sz. M., Mészáros L., Oravec, M., Zoltai, A., Vásárhelyi, A., Cseh, J., Hidi, E., Horváth, Zs., Süth, M., Laczay, P. (2011): Élelmiszer eredetű megbetegedések Magyarországon, EU-tagságunk tükrében. *Magyar állatorvosok lapja*, 133. 6. p. 368-375
- [16] Kouidhi, B., Zmantar, T., Jrah, H., Souiden, Y., Chaieb, K., Mahdouani, K., Bakhrouf, A. (2011): Antibacterial and resistance-modifying activities of thymoquinone against oral pathogens. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 10:29
- [17] Leistner, L. (2000): Basic aspects of food preservation by hurdle technology. *International Journal of Food Microbiology*. 55, p. 181-186
- [18] Li, M., Muthaiyan, A., O'Bryan, C. A., Gustafson, J. E., Li, Y., Crandall, P. G. (2011): Use of natural antimicrobials from a food safety perspective for control of *Staphylococcus aureus*. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 12. p. 1240-1254
- [19] Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J., Parry, J., Gao, J., Yu, L. (2010): Fatty acid profile, thymoquinone content, oxidative stability, and antioxidant properties of cold-pressed black cumin seed oils. *LWT - Food Science and Technology*. 43. p. 1409-1413
- [20] Mazzei, T., Mini, E., Novelli, A., Periti, P. (1993): Chemistry and mode of action of macrolides. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 31. p. 1-9
- [21] Meddah, B., Ducroc, R., El Abbes Faouzi, M., Eto, B., Mahraoui, L., Benhaddou-Andaloussi, A., Martineau, L. C., Cherrah, Y., Haddad, P. S. (2009): *Nigella sativa* inhibits intestinal glucose absorption and improves glucose tolerance in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 121. (3) p. 419-424
- [22] Monecke, S., Coombs, G., Shore, A. C. (2011): A Field Guide to Pandemic, Epidemic and Sporadic Clones of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Plos One Tenth Anniversary*
- [23] Omar, A., Ghoshe, S., Abdulghani, A., Houdi, A., Crookscor, P. A. (1999): High performance liquid chromatographic analysis of the pharmacologically active quinones and related compounds in the oil of the black seed (*Nigella sativa* L.). *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 19. (5) p. 757-762
- [24] Pál, T. (2012): Az orvosi mikrobiológiai tankönyve. *Medicina Könyvkiadó*. p. 425-524
- [25] Pesavento, G., Calonico, C., Bilia, A. R., Barnabei, M., Calesini, F., Addona, R., Mencarelli, L., Carmagnini, L., DiMartino, M.C., Lo Nostro, A. (2015): Antibacterial activity of *Oregano*, *Rosmarinus* and *Thymus* essential oils against *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* in beef meatballs. *Food Control*. 54. p. 188-199
- [26] Piddock, L. J. (2006): Clinically relevant chromosomally encoded multidrug resistance efflux pumps in bacteria. *Clinical Microbiological Reviews*. 19. (2) p. 382-402
- [27] Rafati, S., Niakan, M., Naseri, M. (2014): Anti-microbial effect of *Nigella sativa* seed extract against staphylococcal skin infection. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*. 28:42
- [28] Salem, M. L. (2005): Immunomodulatory and therapeutic properties of the *Nigella sativa* L. seed. *International Immunopharmacology*. 5. (13-14) p. 1749-1770
- [29] Sharma, N. K., Ahirwar, D., Jhade, D., Gupta, S. (2009): Medicinal and Pharmacological Potential of *Nigella sativa*: A Review. *Ethnobotanical Leaflets*. 13. p. 946-955
- [30] Szeitzné, Sz., M., Krisztalovics, K., Sréterné, L., Zs., Fehér, Á., Cseh, J. (2008): Magyarország mikrobiológiai élelmiszerbiztonsági helyzete. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*. 54. p. 36-37
- [31] Toma, C., Simu, G. M., Hanganu, D., Olah, N., Vata, F. M. G., Hammami, C., Hammami, M. (2010): Chemical Composition of the tunisian *Nigella sativa*. Note 1. Profile on Essential oil. *Farmacologia*. 58. p. 454-458
- [32] Valgas, C., Souza, S., Smânia, E. F. A., Smânia Jr., A. (2007): Screening methods to determine antibacterial activity of natural products. *Brazilian Journal of Microbiology*. 38. p. 369-380