THE PROTECTIVE EFFECTS OF MARJORAM AND LICORICE EXTRACTS AS HYPOCHOLESTEROLEMIC AGENTS

By

MARWA TAHA HUSSEIN SOLIMAN
B.Sc. Agric. Sci. (Food Science), Fac. Agric., Cairo Univ., 2001

THESIS
Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of

Master of Science

In

Agricultural Sciences
(Food Science)

Department of Food Technology
Faculty of Agriculture
Cairo University
EGYPT

2009

APPROVAL SHEET

THE PROTECTIVE EFFECTS OF MARJORAM AND LICORICE EXTRACTS AS HYPOCHOLESTEROLEMIC AGENTS

M.Sc. Thesis
In
Agric. Sci. (Food Science)

By

MARWA TAHA HUSSEIN SOLIMAN
B.Sc. Agric. Sci. (Food Science), Fac. Agric., Cairo Univ., 2001

Approval Committee

Dr. MOHAMED MAGDI MOSTAFA ……..……...
Professor of Food Science, Fac. Agric., Ain Shams University

Dr. FERIAL SAYED AHMED EL-HASHIMI ……...
Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University

Dr. MONA MOHAMED ABDEL-MAGIED …….....
Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University

Dr. SHAHINAZ AHMED HELMY …….....
Assistant Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University

Date: / /

SUPERVISION SHEET

THE PROTECTIVE EFFECTS OF MARJORAM AND LICORICE EXTRACTS AS HYPOCHOLESTEROLEMIC AGENTS

M.Sc. Thesis
In
Agric. Sci. (Food Science)

By

MARWA TAHA HUSSEIN SOLIMAN
B.Sc. (Food Science), Fac. Agric., Cairo Univ., 2001

SUPERVISION COMMITTEE

Dr. MONA MOHAMED ABDEL-MAGIED
Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University

Dr. SHAHINAZ AHMED HELMY
Assistant Professor of Food Science, Fac. Agric., Cairo University

Dr. LOBNA ABD EL-FATTAH MOHAMED HAERRDY
Senior Researcher of Food Technology, Food Tech. Res. Inst., Agric. Res. Center, Egypt

DEDICATION

I dedicate this work to whom my heart felt thanks; to my father, my mother and my Sister for their patience and help, as well as to my brothers for all the support they lovely offered along the period of my post graduation.

ACKNOWLEDGEMENT

In the name of God most gracious, most merciful, all praise be to God, the lord of the universe, without whose bounty I would not have complete this work.

I wish to express my sincere thanks, deepest gratitude and appreciation to ***Dr. Mona Mohamed Abdel-Magied,*** *Professor of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Cairo University for her sincere help, suggesting the problem, her noble supervision, spiritual, kind, generous support and scientific advises, and guidance through the study and the revision the manuscript of this thesis.*

Sincere thanks to ***Dr. Shahinaz Ahmed Helmy,*** *Assistant Professor of Food Science & Technology, Faculty of Agriculture, Cairo University for supervision, sincere helping, her kind advice and kind help throughout the work and help in writing this work.*

I extended my grateful thanks to ***Dr. Lobna Abdel Fattah Mohamed*** *Senior Researcher of Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza, for suggesting the problem, sincere helping and her kind advice, continuous support and encouragement through this work.*

Grateful appreciation is also extended to all staff members of Food Technology Research Institute, Agricultural Research Center, Giza.

Special deep appreciation is given to my mother, my sister, and my brothers. Also I feel deeply grateful to all my friends.

استمارة معلومات الرسائل التى تمت مناقشتها

الكلية / المعهد : **الزراعة** **القسم :** صناعات غذائية

١ - **الدرجة العلمية :** ماجستير ☑ دكتوراه ☐

٢ - بيانات الرسالة :

عنوان الرسالة باللغة العربية : التأثير الحافظ لمستخلصات البردقوش والعرقسوس كمخفضات للكوليستيرول

عنوان الرسالة باللغة الأجنبية :

The protective effects of marjoram and licorce extracts as hypocholesterolemic agents

التخصص الدقيق : زيوت عطريه ومستخلصات طبيه

تاريخ المناقشة : ٢٠٠٩/١٢/٢٢

٣ - بيانات الطالب :

الاسم : مروه طه حسين سليمان الجنسية : مصريه النـوع : أنثى

العنوان : ٤ موسى حبشى –ش الجامع –عمرانيه غربيه–جيزه رقم التليفون :٣٥٦١٩١٦٣

جهة العمل : مركز البحوث الزراعيه رقم الفاكس : البريد الإلكترونى :

٤ - المشرفون على الرسالة :

الاسم	القسم	الكلية	الجامعة
١ أ/د منى محمد عبد المجيد	الصناعات الغذائيه	الزراعه	القاهره
٢ د. شاهيناز أحمد حلمى	الصناعات الغذائيه	الزراعه	القاهره
٣ د. لبنى عبد الفتاح محمد هريدى	معهد بحوث تكنولوجيا الأغذية– مركز البحوث الزراعيه		

٥ - مستخلص الرسالة (Abstract)

٥ - ١ باللغة العربية : بشرط ألا يزيد عن ٧ أسطر

(**الكلمات الدالة :** البردقوش- العرقسوس- مضادات للميكروبات- مضدات الأكسدة- التقييم البيولوجى)

ينتشر استخدام االبردقوش و العرقسوس كنباتات طبيه، تم تقدير تركيب الزيت العطرى باستخدام GC/MS ، وكانت المركبات السائده هى المركبات الهيدروكربونيه (٦١.٤٨%). أما الفينولات الكليه للمستخلص الإيثانولى للعرقسوس فقد تم التعرف عليها من خلال جهاز HPLC وكانت الفلافونيدات هى المركبات السائده (٥٦.٨%). تم تقدير النشاط المضاد للميكروبات لكلا المستخلصين بطريقة إنتشار القرص. كذلك تم تقدير النشاط المضاد للأكسده لكلا المستخلصين . بالإضافة إلى أن المستخلصين كان لهم تأثير مخفض للكوليسيرول ومحسن لمستوى إنزيمات الكبد ووظائف الكلى على فئران التجارب.

٥ ـ ٢ باللغة الأجنبية : بشرط ألا يزيد عن ٧ أسطر

(Key Words : Marjoram, Licorice, Antioxidant, Antimicrobial, Biological evaluation**)**

Marjoram and licorice are extensively used as medicinal plants. Marjoram essential oil (MEO) was determined by GC/MS. The main compounds were hydrocarbons (61.48%). Total phenolic compounds of licorice ethanolic extract (LEE) were identified using HPLC. Flavonoids were the main compounds (56.8%). The antimicrobial activity of MEO and LEE was determined by using Disc Diffusion method. Additionally, antioxidant activity of MEO and LEE was determined. Also, MEO and LEE had hypocholesterolemic effect and improved liver and kidney function.

٦- **<u>أهم النتائج التطبيقية التى تم التوصل إليها</u>** : -

(لا تزيد عن سطرين لكل منها)

٦-١ وجد أن مركبات الهيدروكربونات هى الجموعه السائده يليها المركبات الكحولية بينما وجد أن المركبات الرئيسية هى الفينولات والفلافونيدات.

٦-٢ أظهر زيت البردقوش وكذلك المستخلص الإيثانولى للعرقسوس تأثير مضاد للبكتريا وبعض الخمائر خاصة عند التركيزات المرتفعة.

٦-٣ أظهر زيت البردقوش وكذلك المستخلص الإيثانولى للعرقسوس نشاطاً مضاداً للأكسدة من خلال التأثير الإزاحى على الشق الحر DPPH.

٦-٤ إنخفض مستوى الكوليسترول وإنزيمات الكبد وتحسن فى وظائف الكلى عند إعطاء زيت البردقوش العطرى والمستخلص الإيثانولى للعرقسوس لفئران التجارب.

٧ – ما هى الجهات التى يمكن أن تستفيد من هذا البحث :

(اذكر هذه الجهات مع شرح أهمية البحث لهذه الجهة بما لا يزيد عن أربعة سطور لكل جهة)

٧ – ١ هيئة البحوث الدوائيه وشركات الأدويه

حيث أنه من الممكن العمل على تركيز الدراسه لهذين النباتين بمستحضراتما المختلفه (المائيه والكحوليه) بالإضافه إلى الزيت العطرى حيث يمكن استخلاص المكونات الفعاله واستخدامها فى المستحضرات الطبيه والدوائيه المختلفه بالإضافه إلى أن العرقسوس له تأثيرات حيويه هامه تم ذكرها فى الرساله ولهذا من الممكن العمل على استخلاص مكوناته الفعاله بالطرق التى تم ذكرها فى الرساله.

٧ – ٢ وزارة الزراعة

استحداث أصناف جديده من البردقوش والعمل على زيادة رقعة الأرض المزروعه به لإستخدامه محليا أو لاستخدامه فى التصدير لما له من تأثيرات غذائيه وطبيه تهم كثير من الباحثين والعامه حيث يستخدم فى الطب الشعبى بانتشار واسع .

٧ – ٣

٧ – ٤

٨ – هل توجد علاقة قائمة بإحدى هذا الجهات : **نعم** ☐ **لا** ☑

فى حالة نعم اذكر هذه الجهات :

٨ – ١

٨ – ٢

٨ – ٣

ما هى طبيعة العلاقة :

مشروع بحثى ☐

تعاون أكاديمى ☐

مشروع ممول من جهة ثالثة ☐ (اذكر ما هى :)

أخرى ☐ (تذكر)

٩ - <u>هل توافق على التعاون مع جهات مستفيدة من خلال الجامعة :</u>

لا ☐ **(لماذا** **)**

نعم ☑

(I) لتطبيق البحث : ☑

(II) لاستكمال البحث : ☐

(ج) أخرى ☐ **(تذكر** **)**

١٠ - <u>هل تم نشر بحوث مستخرجة من الرسالة فى مجلات أو مؤتمرات علمية</u>

(تذكر مع جهة النشر و المكان و التاريخ)

١٠ - ١ المجلة المصرية للتكنولوجيا الحيوية

جهة النشر: الجمعيه المصريه للتكنولوجيا الحيويه

المكان: صيدلة الأزهر التاريخ: فبراير -٢٠٠٩

١٠ - ٢

١٠ - ٣

١١ - <u>هل سبق التقدم لتسجيل براءات اختراع</u> (تذكر مع الجهة و المكان و التاريخ)

لا

١٢ - <u>هل توافق على إعطاء البيانات المذكورة فى هذه الاستمارة لجهات أخرى</u>

نعم ☑ لا ☐

توقيع الطالب : توقيع المشرفين :

-

-

-

-

وكيل الكلية (المعهد) للدراسات العليا و البحوث : التاريخ

Name of Candidate: Marwa Taha Hussein **Degree:** M.Sc.
Title of Thesis: The protective effects of marjoram and licorce extracts as hypocholesterolemic agents
Supervisors: Dr. Mona Mahamed Abdel Magied
Dr. Shahinaze Ahmed Helmy
Dr. Lobna Abd El-Fattah Mohamed Hareedy
Department: Food Science **Approval:** 22 /12/2009

ABSTRACT

Marjoram and licorice are extensively used as medicinal plants. Marjoram essential oil (MEO) was determined by GC/MS. The main compound was α-terpinene (7.37%), γ-terpinene(7.25%), champhene (4.64%) and terpinene 4-ol (6.33%). The antimicrobial activity of MEO was determined by using Disc Diffusion method. Data ascertained that MEO had an inhibitory effect against all tested bacteria and fungal strains. In addition, antioxidant activity of MEO was examined by the 2, 2'- diphenyl-1- picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method. Data show that MEO exhibited antioxidant activity, especially, at a high concentration (50000 ppm) that recorded 88.82% inhibition. The biological effect of MEO on hypercholesterolemic rats compared with BHT was determined. The MEO decreased the serum total cholesterol, LDL, triglycerides and total lipids of tested rats. Also, MEO reduced the liver and kidney functions compared with BHT. Total phenolic compounds of licorice ethanolic extract (LEE) were identified using HPLC. The major compounds were glabridin (11.72%), cinnamic acid (8.22%) and apigenin (7.81%). The antimicrobial activity of LEE could inhibit Gram-positive bacteria more than Gram-negative bacteria. Antioxidant activity of LEE was examined by Electron Spin Resonance-technique (ESR). The antioxidant activity was 99.93%. The biological evaluation of LEE on hypercholesterolemic rats was examined. Serum total cholesterol, LDL, triglycerides and total lipids levels were decreased compared with rats fed with high fat diet + cholesterol.

Keywords: Marjoram, Licorice, Antioxidant, Antimicrobial, Biological evaluation.

CONTENTS

	Page
INTRODUCTION	**1**
REVIEW OF LITERATURE	**5**
1. Chemical composition of marjoram	**5**
2. Antimicrobial activity of marjoram	**10**
3. Antioxidant activity of marjoram	**17**
4. Biological effects of marjoram essestail oil as antioxidant agent	**24**
5. Chemical composition of licorice	**26**
6. Antimicrobial activity of licorice	**30**
7. Antioxidant activity of licorice	**33**
8. Biological effect of licorice extract as antioxidant agent	**38**
MATERIALS AND METHODS	**44**
RESULTS AND DISCUSSION	**77**
1. Chemical Composition of dried marjoram leaves	**77**
a. Gross chemical composition of dried marjoram leaves	**77**
b. Minerals content of dried marjoram	**78**
2. Total phenolic content of marjoram essential oil	**78**
3. Fraction and identification of marjoram essential oil by GC/MS	**79**
4. Physico-chemical properties of marjoram essential oil	**82**
5. The antimicrobial activity of marjoram essential oil	**85**
6. The antioxidant activity of marjoram essential oil by 2,2'-diphenyl-1picylhydrazyl(DPPH)radical scavenging"colorimetric method"	**88**
7. Biological evaluation of marjoram essential oil	**91**
a. Effect of marjoram essential oil on food intake and body weight gain (%)	**91**
b. Effect of different antioxidants "marjoram essential oil and BHT "on total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides and total lipids in serum of rats	**94**
c. Effect of marjoram essential oil on liver functions	**102**

enzymes (ALT, AST and ALP)..... 105
d. Effect of marjoram essential oil kidney functions (urea, uric acid and creatinine)..... 108
e. Effect of marjoram essential oil on the internal organs weight (%) of rats..... 110
8. Chemical composition of licorice roots..... 110
a. Gross chemical composition of licorice roots..... 111
b. Minerals content of dried licorice roots..... 112
9. Total phenolic content of licorice ethanolic extract..... 113
10.Fractionation and identification of licorice ethanolic extract by HPLC..... 115
11.The antimicrobial activity of licorice ethanolic extract..... 118
12. The antioxidant activity of licorice ethanolic extract by 2,2'-diphenyl-1picylhydrazyl(DPPH)radical scavenging"Electron Spin Resonance technique (ESR)"..... 120
13. Biological evaluation of licorice ethanolic extract..... 120
a. Effect of licorice ethanolic extract on food intake and body weight..... 124
b. Effect of different antioxidants "licorice ethanolic extract and BHT "on total cholesterol, HDL, LDL, triglycerids and total lipids in serum of rats..... 130
c. Effect of licorice ethanolic extract on liver function enzymes (ALT, AST and ALP)..... 133
d. Effect of licorice ethanolic extract on kidney functions (urea, uric acid and creatinine)..... 136
e. Effect of different tested diets on the internal organs weight (%) of rats 139
SUMMARY..... 146
REFERENCES .....
ARABIC SUMMARY

LIST OF TABLES

No.	Title	Page
1.	Gas chromatographic analysis using a Hewlett-packard Mode 6890	49
2.	Mass Spectrometer conditions	50
3.	Composition of the control and high fat diet (g/100g diet)	56
4.	Composition of salt mixture (g/kg mixture)	56
5.	Composition of vitamin mixture	57
6.	Chemical composition of marjoram leaves	77
7.	Minerals content of dried marjoram leaves	78
8.	Chemical composition of the marjoram essential oil identifiedby GC/MS	81
9.	Physico-chemical properties of marjoram essential oil	84
10.	Antimicrobial activity of different concentrations of marjoram essential oil by using disc diffusion method	88
11.	Antioxidant activity of marjoram oil at different concentrations and BHT at (200 ppm) by using the method of DPPH radical scavenging	89
12.	Effect of marjoram oil and BHT oral administration on body weight gain and food intake on hypercholesterolemic rats	92
13.	Effect of marjoram oil and BHT oral administration on the level of serum total cholesterol, HDL, LDL cholesterol, triglycerides and total lipids on hypercholesterolemic rats	95