مجلهٔ دانشگاه علوم پزشکی بابل
دوره نوزدهم، شماره ۵، اردیبهشت ۱۳۹۶، صفحه ۳۸-۳۲

مقاله تحقیقی

# مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتری عصاره اتانولی دانه گیاه رازیانه (Foeniculum vulgare Mill)

سامان مهدوی (PhD)[۱*]، معصومه عالیزاد (MSc)[۲]، پروین سجادی (PhD)[۳]، مهرانگیز بالغی (MSc)[۴]

۱-باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی
۲-گروه مهندسی صنایع غذایی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی
۳-مرکز تحقیقات عوامل اجتماعی موثر بر سلامت، پژوهشکده سلامت، دانشگاه علوم پزشکی بابل
۴-دانشگاه علوم پزشکی بابل

دریافت: ۹۵/۴/۸، اصلاح: ۹۵/۷/۶، پذیرش: ۹۵/۱۲/۴

## خلاصه

**سابقه و هدف:** در صنایع غذایی برای جلوگیری از آلودگی مواد غذایی از افزودنی های سنتیتیک برای کاهش رشد میکروبی استفاده می شود، که به دلیل امنیت مواد غذایی توجه بیشتری به مصرف محصولات آنتی باکتریال طبیعی شده است. از آنجائیکه گیاهان منابع بالقوه ای از عوامل ضد عفونت می باشند لذا این مطالعه به منظور بررسی اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتری عصاره اتانولی دانه گیاه رازیانه (*Foeniculum vulgare* Mill) انجام شد.

**مواد و روش ها:** در این مطالعه تجربی آزمایشگاهی، پس از تهیه دانه رازیانه، عصاره اتانولی آن گرفته شد و جهت بررسی اثر ضدمیکروبی آن از روش میکرودایلوشن( Micro dilution) در ۹ سطوح غلظتی۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ درصد بر روی جدایه‌های با منشاء مواد غذایی(نگهداری شده در بانک میکروبی) و سوش‌های استاندارد*اشریشیاکلی*PTCC۱۲۷۰، *سالمونلا انتریک* PTCC۱۷۰۹، *باسیلوس سرئوس* ATCC۱۱۷۷۸ و *استافیلوکوکوس ارئوس* PTCC۱۱۱۲ استفاده شد. برای تعیین اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی رازیانه از روش ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) در ۷ سطوح غلظتی ppm ۱۰۰۰، ۵۰۰، ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ استفاده شد.

**یافته‌ها:** جدایه‌های *سالمونلا انتریک* مواد غذایی بیشترین مقاومت(۳/۲ جدایه‌ها در غلظت‌های ۵/۱۲ درصد و بالاتر رشد کردند) و جدایه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* بیشترین حساسیت(بدون رشد در غلظت‌های بالاتر از ۵/۱۲ درصد) را در برابر عصاره اتانولی رازیانه از خود نشان دادند ($p>0/05$). در تمام غلظتهای مورد آزمایش، اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی دانه رازیانه کمتر از آنتی‌اکسیدان سنتزی (هیدروکسی تولوئن بوتیله شده)BHT گزارش شد($p<0/05$).

**نتیجه‌گیری:** بر اساس نتایج این مطالعه عصاره اتانولی دانه رازیانه از توان ضدباکتریایی و آنتی‌اکسیدانی مناسبی برخوردار بوده و بنابراین می‌توان از آن در ترکیب با سایر نگهدارنده‌ها جهت محافظت مواد غذایی در مقابل انواع سیستم‌های اکسیداتیو و میکروارگانیسم‌های عامل عفونت و مسمومیت بهره جست.

**واژه‌های کلیدی:** رازیانه، عصاره اتانولی، ضدمیکروبی، آنتی‌اکسیدانی.

## مقدمه

امروزه فساد و مسمومیت‌های مواد غذایی ناشی از میکروارگانیسم‌ها هنوز هم مهمترین چالش در صنایع غذایی و مصرف‌کنندگان مواد غذایی حتی در کشورهای توسعه یافته است (۱). در صنایع غذایی برای جلوگیری از آلودگی مواد غذایی، از افزودنی‌های سنتتیک برای کاهش رشد میکروبی یا مهار میکروارگانیسم‌ها استفاده می‌شود (۲). به‌خاطر حساسیت مصرف‌کنندگان به امنیت مواد غذایی حاوی مواد شیمیایی سنتتیک، توجه بیشتری به مصرف محصولات آنتی‌باکتریال طبیعی برای نگهداری مواد غذایی شده است (۳). باتوجه به مقاومت دارویی و عوارض جانبی داروهای آنتی‌باکتریال شیمیایی، رویکرد تحقیقات علمی به منابع طبیعی در چند دهه اخیر بسیار فراوان می‌باشد. در تحقیقات متعددی اثرات ضدمیکروبی گیاهان مختلف به اثبات رسیده است (۴). بطور کلی مشخص شده است که رشد میکروارگانیسم‌های عامل فساد مواد غذایی و پاتوژن‌های با منشاء مواد غذایی از راه کاهش کیفیت مواد مغذی موجود در غذا مثل چربی، پروتئین و کربوهیدرات، باعث کاهش کیفیت مواد غذایی می‌شوند که منجر به تغییر رنگ، کپک‌زدگی، تغییرات بیوشیمیایی، کاهش وزن و سمزایی در مواد غذایی شده که سلامت مصرف‌کنندگان را به خطر می‌اندازد (۲). اسانس‌ها و عصاره‌های حاصل از گیاهان دارویی با داشتن ترکیبات ضدمیکروبی، ضدسرطانی، آنتی‌اکسیدانی و عوامل حذف

▣ این مقاله حاصل پایان نامه معصومه عالیزاد دانشجوی کارشناسی ارشد رشته مهندسی صنایع غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه می‌باشد.

*مسئول مقاله: دکتر سامان مهدوی
آدرس: مراغه، بلوار شهید درخشی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مراغه. تلفن: ۰۴۱-۳۷۴۵۴۵۰۶
E-mail: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

کننده رادیکال‌های آزاد از توان بسیار بالایی جهت بـه‌کارگیری شـان بـه عنـوان ترکیبات نگهدارنده طبیعی جدیـد در محافظـت غـذاهای خـام و فـرآوری شـده برخوردار می‌باشند (۵).

گیـاه رازیانـه (*Foeniculum vulgare* Mill) گیـاهی اسـت علفـی و معطر از تیره جعفری (Umbelliferae) که ظاهری شبیه به شوید بـا گل‌هـای چتری زرد رنگ دارد که دارای مصارف خوراکی و درمانی می‌باشـد (۶). ایـن گیـاه دارای دو تحت گونه می‌باشد که تحت گونـه vulgare دارای دانـه‌های شـیرین بوده و بعنوان عطر دهنده در مواد غذایی پخته شده مثل غذاهای گوشـتی، مـاهی، بستنی وغیره مورد استفاده قرار می‌گیرد (۷).

دانه این گیاه دارای خواص ضد نفخ، افزایش دهنده قدرت بینـایی و افـزایش دهنده تولید شیر در زنان شیرده می‌باشد (۸). دانه گیاه رازیانه به طور سنتی بعنوان ضدالتهاب، ضد درد، ضدنفخ، مدر و ضد اسپاسم مورد اسـتفاده قـرار می‌گیـرد (۹). عصاره متانولی دانه رازیانه دارای اثرات ضدالتهابی و مهارکنندگی واکنشهای ازدیاد حساسیت تاخیری می‌باشد (۱۰).

عصاره‌های دانه رازیانه در بیماری‌های قلبی مورد استفاده قرار می‌گیـرد (۱۱). اسـانس دانـه رازیانـه (*Foeniculum vulgare*) اثـر ضـدباکتریایی را علیـه پاتوژنهـای بـا منشـاء مـواد غـذایی مثـل *اشریشـیاکلی*، *باسـیلوس مگـاتریوم*، *استافیلوکوکوس ارئوس* (۱۲) و *لیستریا مونوسیتوژنز* از خود نشان داده اسـت (۱۳). بررسی‌های گوناگونی بر روی اثر ضـدمیکروبی اسـانس و عصـاره گیـاه رازیانـه صورت پذیرفته است.

در یک مطالعه در ترکیه، بیشترین اثر ضدمیکروبی اسانس گیاه فوق بر روی *استافیلوکوکوس ارئـوس* مشـاهده شـده اسـت (۱۴). در مقابـل در پـژوهش‌هـای دیگری که به انجام رسید، فعالیت ضدمیکروبی بسیار کمـی بـرای اسـانس گیـاه رازیانه گزارش گردید (۱۶و۱۵). در یک گزارش که بر روی چنـدین گیـاه انجـام پذیرفت، اثر ضدباکتری عصاره رازیانه تنهـا بـر روی *باسیلوس‌سـرئوس* مشـاهده گردید (۳). در مطالعه‌ای که در کرمان انجام پذیرفت نیز، اثر عصاره متـانولی بـر روی *باسیلوس‌سرئوس* و *استافیلوکوکوس ارئوس* گزارش شد (۱۷).

اسـتفاده از آنتی‌اکسـیدان‌های سـنتتیک مثـل بـوتیلات هیدروکسـی تولـوئن (BHT) در مواد غذایی بدلیل خطر بالقوه سرطان‌زایی و نگرانی‌هـای مربـوط بـه امنیت غذایی توصیه نمی‌شود (۹). در تحقیقـی اسـانس و عصـاره اسـتونی رازیانـه فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی در مقایسه بـا بـوتیلات هیدروکسـی تولـوئن (BHT) نشان داده‌اند (۱۸).

در سایر تحقیقات نیز عصاره آبی و اتانولی دانه رازیانه فعالیـت آنتی‌اکسـیدانی از خود نشان دادند. مقدار ۱۰۰ میکروگـرم از عصـاره اتـانولی رازیانـه باعـث مهـار ۷۷/۵٪ پراکسیداسیون از سیستم اسید لینولئیک شده است و در مقایسه بـا همـان مقدار از آلفاتوکوفرول (۳۶/۱٪) این اثر بیشتر گـزارش شـده اسـت (۱۹). هـدف از انجام این تحقیق، مطالعه اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدباکتری عصـاره اتـانولی دانـه گیاه رازیانه می باشد.

## مواد و روش‌ها

**نمونه‌گیری و عصاره‌گیری:** در این مطالعه تجربی، دانه گیاه رازیانه از مراکز فروش گیاهان دارویی در شهرستان مراغه (اردیبهشت سال۱۳۹۴) تهیه گردید و جهت عصاره‌گیری از دانه گیاه، از روش ماسراسیون و حلال اتانول استفاده شد. بدین منظور ۳۰۰ گرم از دانه‌های خشک شده گیاه رازیانه را در ۷/۵ لیتر اتانول (۸۵ درجه) در سه نوبت ریخته و هر دفعه بمدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده و پس از آن با کاغذ صافی فیلتر و عصاره‌های فیلتر شده در دستگاه روتاری تبخیر گردید.

**تهیه جدایـه‌ها و سـوش‌های باکتریـایی:** ۳ جدایـه از باکتری‌هـای *اشریشـیاکلی* (*Escherichia coli*)(جـدا شـده از پنیـر محلـی)، سـالمونلا انتریـک (Salmonella enteric)(جـدا شـده از گوشـت قرمـز)، باسـیلوس سـرئوس (Bacillus cereus)(جـدا شـده از بـرنج) و اسـتافیلوکوکوس ارئـوس (Staphylococcus aureus)(جدا شده از پنیر محلی) کـه قـبلا شناسـایی و تعیین هویت شده بودند و در بانک میکروبی آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز نگهداری می‌شـدند جهـت بررسـی اثـر ضـدمیکروبی عصـاره اتـانولی دانـه رازیانـه مـورد اسـتفاده قـرار گرفتنـد. از سـوش‌های اسـتاندارد اشریشیاکلی*PTCC*۱۲۷۰، سالمونلا انتریـک *PTCC*۱۷۰۹، باسـیلوس سـرئوس *ATCC*۱۱۷۷۸ و استافیلوکوکوس ارئوس*PTCC*۱۱۱۲ به‌عنوان شاهد استفاده شد.

**انـدازه‌گیری فعالیـت ضـدمیکروبی عصـاره اتـانولی بـه روش میکرودایلوشـن (Microdillution):** از روش میکرودایلوشـن (Microdillution) یعنـی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد باکتری (MIC) و حداقل غلظت بـاکتری‌کشـی (MBC) جهت مطالعه اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی دانه رازیانه استفاده شد. به این ترتیب که در یک ردیف از چاهک‌هـای میکروپلیـت(بجز چاهـک اول) مقـدار ۱۰۰ میکرولیتـر از محـیط آبگوشـت مغـز و قلـب (BHI) ریختـه و سـپس ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اتانولی را در چاهک اول و دوم ریخته و از چاهـک دوم مقـدار ۱۰۰میکرولیتر از محتویات داخل چاهک را به چاهک سوم ریخته و این کـار را تـا چاهک نهم ادامه داده و در نهایـت ۱۰۰میکرولیتـر از محتویـات چاهـک نهـم بـه بیرون ریختـه می‌شـود. بنـابراین غلظـت‌هـای ۱۰۰، ۵۰، ۲۵، ۱۲/۵، ۶/۲۵، ۳/۱۲، ۱/۵۶، ۰/۷۸ و ۰/۳۹ درصد از عصاره اتانولی دانه رازیانه در چاهک اول تا چاهـک نهم وجود خواهد داشت.

از کشت تازه باکتری مورد نظر غلظتی معادل غلظت شماره نیم آزمایش مک فارلند تهیه کرده و رقت ۱/۱۰۰ از آن را به میزان ۱۰۰میکرولیتر به تمام چاهک‌ها بجز چاهک ۱۱و ۱۲ اضافه می‌کنند. در مرحله بعد از معرف رزازرین(به رنگ آبی یا بنفش) به مقدار ۳۰ میکرولیتر به تمام چاهک‌ها می‌افزایند. چاهک شماره ۱۰ برای شاهد باکتری، چاهک شماره ۱۱ برای شاهد محـیط کشـت و چاهـک شـماره ۱۲ به‌عنوان شاهد عصاره در نظر گرفته شد. سپس چاهکی را که تغییر رنـگ بینـابینی داده است(به عنوان حداقل غلظـت مهارکننـدگی رشـد بـاکتری (MIC) در نظـر می‌گیرند) را به همراه دو چاهک قبل و دو چاهـک بعـد، در محـیط کشـت BHI آگار کشت داده و پس از ۲۴ ساعت گرمخانه‌گذاری در دمای ۳۷ درجـه سـانتیگراد بررسی می‌کنند. هر کدام از پلیت‌های مربوط به گوده‌هـا کـه رشـد بـاکتری در آن صورت نگرفته باشد حداقل غلظت باکتری‌کشی (MBC) عصاره می‌باشد (۲۰).

**اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌هـای آزاد) بـه روش DPPH:** اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل از طریق غیر فعال کردن رادیکـال‌هـای آزاد تولید شده توسط ماده ۲، ۲-دی فنیل-۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH) و بی‌رنگ کردن رنگ بنفش تیره این ماده انجام شد (۲۲و۲۱). ابتدا محلول ۵۰۰ میکرومولار از محلول متانولی DPPH تهیه گردید. سپس غلظت های مختلفی از BHT به عنوان آنتی‌اکسیدان مرجع تهیه و ۴ میلی‌لیتر از هر غلظـت بـه لولـه‌های آزمـایش درب‌دار فویل پیچ شده منتقل و با ۱ میلی لیتر از محلول DPPH مخلوط گردید.

در پایان بعد از ۳۰ دقیقه جذب محلول در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد (۲۳).

همین آزمایش برای آنتی‌اکسیدان سنتزی (هیدروکسی تولوئن بوتیله شده)BHT و ۷ غلظت از عصاره (غلظت‌های ppm۱۰۰۰، ۵۰۰، ۴۰۰، ۳۰۰، ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰) تهیه و مطابق روش فوق و فرمول زیر درصد مهار رادیکال آزاد (RSA%) محاسبه گردید.

$$\text{درصد مهار رادیکال آزاد} = (A_c-A_s)/A_c\times100$$

Ac و As در این فرمول به ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند. نتایج با آزمون چند دامنه‌ای دانکن و نرم افزار SPSS ۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و $p<۰/۰۵$ معنی دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در غلظت‌های ۵/۱۲ درصد و بالاتر عصاره اتانولی رازیانه، فقط یک جدایه از سه جدایه *سالمونلا انتریک* قادر به رشد نبود(۲ جدایه رشد کردند)، در حالیکه هیچ کدام از جدایه‌های باکتری‌های مورد آزمایش، در غلظتهای بالاتر از ۵/۱۲ درصد قادر به رشد نبودند که این امر نشان دهنده مقاومت بالاتر جدایه‌های *سالمونلا انتریک* نسبت به سایر جدایه‌های مورد آزمایش بود. جدایه‌های *سالمونلا انتریک* مواد غذایی، بیشترین مقاومت را به طور معنی‌دار در برابر عصاره اتانولی رازیانه در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد آزمایش از خود نشان دادند ($p>۰/۰۵$). همچنین جدایه‌های *استافیلوکوکوس ارئوس* مواد غذایی بیشترین حساسیت را به طور معنی‌داری در برابر عصاره اتانولی رازیانه در مقایسه با سایر باکتری‌های مورد آزمایش از خود نشان دادند ($p>۰/۰۵$).

جدایه‌های باکتری‌های *اشریشیاکلی* و *باسیلوس سرئوس* حساسیت مشابهی را در برابر عصاره اتانولی رازیانه نشان دادند. سوش‌های استاندارد *اشریشیاکلی*، *سالمونلا انتریک*، *استافیلوکوکوس ارئوس* و *باسیلوس سرئوس* به ترتیب بیشترین تا کمترین مقاومت را در برابر عصاره اتانولی رازیانه از خود نشان دادند. سوش استاندارد *اشریشیاکلی* در مقایسه با جدایه‌های *اشریشیاکلی* موادغذایی، مقاومت بیشتری در برابر عصاره اتانولی رازیانه نشان داد. سوش استاندارد *باسیلوس سرئوس* در مقایسه با جدایه‌های *باسیلوس سرئوس* موادغذایی، حساسیت بیشتری در برابر عصاره اتانولی رازیانه نشان داد (جدول۱).

**جدول ۱. اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی رازیانه بر باکتری‌های مورد بررسی**

| باکتری / عصاره (درصد) | ≥۵۰ | ۲۵ | ۵/۱۲ | ۲۵/۶ | ۱۲/۳ | ≤۵۶/۱ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| *E.coli* PTCC 1270 | + | + | + | + | + | + |
| *E.coli* | −۳ | −۳ | −۱ | +۳ | +۳ | +۳ |
| *S.enteric* PTCC 1709 | − | − | + | + | + | + |
| *S.enteric* | −۱ | −۱ | −۱ | +۳ | +۳ | +۳ |
| *S.aureus* PTCC 1112 | − | − | − | − | − | + |
| *S.aureus* | −۳ | −۳ | −۲ | −۲ | −۱ | +۳ |
| *B.cereus* ATCC 11778 | − | − | − | − | − | − |
| *B.cereus* | −۳ | −۳ | −۱ | +۳ | +۳ | +۳ |

**(+) رشد باکتری، (−) عدم رشد باکتری**

مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی دانه رازیانه با BHT نشان داد که در غلظت‌های یکسان، اثر آنتی‌اکسیدانی BHT بسیار قویتر از عصاره اتانولی رازیانه است ($p<۰/۰۵$). با افزایش غلظت عصاره اتانولی رازیانه، اثر آنتی‌اکسیدانی آن نیز افزایش یافت (جدول۲).

**جدول۲. مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی رازیانه با BHT**

| غلظت عصاره / نمونه | ۵۰ ppm | ۱۰۰ ppm | ۲۰۰ ppm | ۳۰۰ ppm | ۴۰۰ ppm | ۵۰۰ ppm | ۱۰۰۰ ppm |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| عصاره (درصد) | ۸۳/۱ | ۷۱/۳ | ۹۹/۶ | ۶۳/۱۲ | ۹۲/۱۵ | ۳۳/۱۷ | ۴۲/۳۱ |
| BHT(درصد) | ۹۷/۷۷ | ۴۱/۹۰ | ۵۳/۹۲ | ۸۶/۹۲ | ۲۴/۹۳ | ۵۱/۹۳ | ۷۵/۹۳ |

## بحث و نتیجه گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که جدایه‌های *سالمونلا انتریک* و *استافیلوکوکوس ارئوس* به ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت را در برابر عصاره اتانولی رازیانه از خود نشان دادند که با نتایج Shahat و همکاران که گزارش کردند *استافیلوکوکوس ارئوس* بیشترین حساسیت را در برابر اسانس رازیانه دارد همخوانی دارد (۱۹).

Manonmani و همکاران گزارش کردند که عصاره اتانولی دانه رازیانه بر روی باکتری‌های *اشریشیاکلی*، *سالمونلا تیفی* و *استافیلوکوکوس ارئوس* اثر ضدباکتریایی ندارد (۱۱). Gulfraz و همکاران نشان دادند که اثر ضدمیکروبی عصاره اتانولی رازیانه بر روی باکتری‌های گرم مثبت بیشتر از باکتری‌های گرم منفی می‌باشد که با نتایج تحقیق اخیر همخوانی دارد (۲۵). Anwar و همکاران نیز گزارش کردند که اثر ضدمیکروبی اسانس رازیانه بیشتر بر باکتری‌های گرم مثبت می‌باشد و باکتری *اشریشیاکلی* مقاومت بیشتری نسبت به باکتری *باسیلوس سرئوس* در برابر اسانس گیاه رازیانه نشان داد (۹).

بطورکلی باکتری‌های گرم منفی به علت دارا بودن لایه لیپوپلی‌ساکارید، نسبت به باکتری‌های گرم مثبت در برابر اثرات ضدمیکروبی اسانس‌های گیاهی مقاوم‌ترند (۲۵). در مطالعه دیگری که اثر عصاره دانه گیاه رازیانه بر روی ۱۵ میکروارگانیسم از جمله *استافیلوکوکوس ارئوس*، *اشریشیاکلی* و *سالمونلا تیفی* انجام پذیرفت هیچ‌گونه اثر مهارکننده رشدی مشاهده نشد (۲۶)، که با نتایج تحقیق اخیر همخوانی ندارد.

علت این تفاوت‌ها می‌تواند مربوط به تفاوت‌های بین جدایه‌های مورد آزمایش از نظر منشاء جغرافیایی و یا اکولوژیکی باشد. سوش‌های استاندارد باکتری‌های گرم منفی نسبت به سوش‌های استاندارد باکتری‌های گرم مثبت، در برابر عصاره اتانولی دانه رازیانه مقاومت بیشتری نشان دادند که این امر در مورد جدایه‌های باکتری‌های مورد آزمایش نیز صادق بود. به طور کلی هرچه مقادیر مواد فنلیک در اسانس بالاتر باشد، خواص ضدباکتریایی آنها بر باکتری‌های بیماریزا بیشتر خواهد بود (۲۷). در این تحقیق اثر ضد میکروبی عصاره اتانولی رازیانه به روش میکرودایلوشن مورد بررسی قرار گرفت. مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که معمول‌ترین روش برای سنجش خاصیت ضدباکتریایی اسانس و عصاره گیاهان مختلف، روش میکرودایلوشن است (۲۰و۲۴). در مطالعه اخیر، مقایسه خواص آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی دانه رازیانه با BHT، نشان داد که در غلظت‌های یکسان، اثر آنتی‌اکسیدانی BHT بسیار قویتر از عصاره اتانولی

رازیانه است و با افزایش غلظت عصاره اتانولی رازیانه، اثر آنتی‌اکسیدانی آن نیز افزایش یافت. Anwar و همکاران گزارش کردند که عصاره اتانولی ۸۰٪ دانه رازیانه نسبت به اسانس آن بیشترین اثر آنتی‌اکسیدانی را داشت و این اثر با افزایش غلظت عصاره افزایش یافت. همچنین عصاره اتانولی دانه رازیانه نسبت به BHT فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری نشان داد (۹) که با نتایج تحقیق اخیر همخوانی دارد. Shahat و همکاران نشان دادند که عصاره گیاه رازیانه واریته vulgare نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتتیک BHT فعالیت آنتی‌اکسیدانی کمتری دارد (۱۹) که با نتایج تحقیق حاضر همخوانی دارد. Mata و همکاران گزارش کردند که اثر آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی دانه رازیانه نسبت به BHT بیشتر می‌باشد (۲۸) که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت ندارد. عدم هم‌خوانی نتایج دو مطالعه مستقل می‌تواند شاهدی برای تفاوت در ترکیبات شیمیایی تشکیل دهنده اسانس و عصاره یک گیاه خاص در شرایط منطقه‌ای، آب و هوایی، جغرافیایی و سنی مختلف باشد. Bagamboula و همکاران معتقدند که اختلافات موجود در اجزای تشکیل دهنده اسانس یک گونه گیاهی می‌تواند به علت تفاوت در منطقه جغرافیایی که اسانس از آن گرفته شده، تغییرات خاک، تغییرات آب و هوا، سن گیاه، فصل برداشت، قسمت‌های مورد استفاده برای تهیه اسانس، روش اسانس‌گیری ونوع حلال بکار رفته باشد (۲۹). با توجه به اثرات ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی عصاره دانه گیاه رازیانه در منطقه مراغه، استفاده از نسبت‌های بهینه این ترکیبات هم بعنوان مواد ضدمیکروبی و آنتی‌اکسیدانی و هم بعنوان طعم دهنده مناسب در محصولات غذایی می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

## تقدیر و تشکر

بدینوسیله از کلیه همکارانی که در انجام و اتمام این کار تحقیق ما را یاری نمودند، بویژه کارشناس محترم بخش آزمایشگاه میکروبیولوژی، آقای مهندس شرقی و خانم مهندس آقازاده، تقدیر و تشکر می‌گردد.

# A Study of the Antioxidant and Antimicrobial Effects of Ethanolic Extract of Fennel (Foeniculum vulgare Mill) Seeds

**S. Mahdavi(PhD)*[1], M. Alizad(MSc)[2], P. Sajjadi(PhD)[3], M. Baleghi(MSc)[4]**

1.Young Researchers and Elite Club, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, I.R.Iran
2.Department of Food Industries, Maragheh Branch, Islamic Azad University, Maragheh, I.R.Iran
3. Social Determinants of Health Research Center, Health Research Institute, Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran
4.Babol University of Medical Sciences, Babol, I.R.Iran

**J Babol Univ Med Sci; 19(5); May 2017; PP: 32-38**
**Received: Jun 28th 2016, Revised: Sep 27th 2016, Accepted: Feb 22th 2017.**

## ABSTRACT

**BACKGROUND AND OBJECTIVE:** Synthetic additives are used in food industry to prevent contamination of food and reduction of microbial growth, while special attention have been paid to the use of natural anti-bacterial products because of higher food safety. Since plants are potential sources of anti-infective agents, the present study was conducted to study the antioxidant and antimicrobial effects of ethanolic extract of fennel (Foeniculum vulgare Mill) seeds.

**METHODS:** In this experimental study, the ethanolic extract was prepared after obtaining the fennel seeds. To analyze the antimicrobial effect of the extract, the Micro dilution method was used based on 9 concentrations of 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78 and 0.39% on food isolates (kept in microbial bank) and standard strains of *Escherichia coli* 1270 PTCC, *Salmonella enterica* 1709PTCC, *Bacillus cereus* 11778ATCC and *Staphylococcus aureus* 1112PTCC. To change the antioxidant effect of the ethanolic extract of fennel, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method was used in 7 concentrations of 1000, 500, 400, 300, 200, 100 and 50 ppm.

**FINDINGS:** *Salmonella enterica* food isolates showed highest level of resistance (2.3 of isolates grew at concentrations above 12.5%) while *Staphylococcus aureus* isolates showed highest level of sensitivity (without growth at concentrations above 12.5%) against ethanolic extract of fennel ($p>0.05$). In all the examined concentrations, the antioxidant effect of the ethanolic extract of fennel seed was reported to be less than synthetic antioxidants BHA (Bytalyted Hydroxy Toluene) ($p<0.05$).

**CONCLUSION:** According to the results of this study, the ethanolic extract of fennel seed benefits from appropriate antibacterial and antioxidant properties and thus can be used in combination with other preservatives to preserve food against various oxidative systems and microorganisms that cause infection and intoxication.

**KEY WORDS:** *Fennel, Ethanolic extract, Antimicrobial, Antioxidant*.

**Please cite this article as follows:**

Mahdavi S, Alizad M, Sajjadi P, Baleghi M. A Study of the Antioxidant and Antimicrobial Effects of Ethanolic Extract of Fennel (Foeniculum vulgare Mill) Seeds. J Babol Univ Med Sci. 2017;19(5):32-38.

***Corresponding author: S. Mahdavi(PhD)**
**Address:** Maragheh Branch, Islamic Azad University, Shahid Derakhshi BLVD, Maragheh, I.R.Iran.
**Tel:** +98 41 37454506
**E-mail:** S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir

## References

1. Sokmen A, Gulluce M, Askin Akpulat H, Daferera D, Polissiou M, Sokmen M, et all. The in vitro antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts of endemic Thymus spathulifolius. Food Control. 2004;15(8):627-634.

2. Bajpai VK, Baek KH, Kang SC. Control of salmonella in foods by using essential oils: A review. Food Res Int. 2012;45(2):722-734.

3. Alzoreky NS, Nakahara K. Antibacterial activity of extracts from some edible plants commonly consumed in Asia. Int J Food Microbiol. 2003;80(3):223-30.

4. Morteza-Semnani K, Saeedi M, Mahdavi MR, Rahimi F. Antimicrobial studies on extracts of three species of phlomis. Pharm Biol. 2006;44(6):426-9.

5. Hussain AI, Anwar F, Hussain Sherazi ST, Przybylski R. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities of basil (Ocimum basilicum) essential oils depends on seasonal variations. Food Chem. 2008;108(3):986-95.

6. Zargari A. Medicinal Plants,5th ed, Tehran University publication. 1991;40-5.

7. Díaz-Maroto MC, Pérez-Coello MS, Esteban J, Sanz J. Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (foeniculum vulgare mill.) from central spain. J Agric Food Chem. 2006; 54(18):6814-18.

8. Agarwal R, Gupta SK, Agrawal SS, Srivastava S, Saxena R. Oculohypotensive effects of Foeniculum vulgare in experimental models of glaucoma. Indian J Physiol Pharmacol. 2008;52(1):77-83.

9. Anwar F, Ali M, Hussain AI, Shahid M. Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (Foeniculum vulgare Mill.) seeds from Pakistan. Flavour Frag J. 2009;24(4):170-176.

10. Choi EM, Hwang JK. Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of Foeniculum vulgare. Fitoterapia. 2004;75(6):557-65.

11. Manonmani R, Khadir VMA. Antibacterial screening on foeniculum vulgare Mill. Int J Pharma Bio Sci. 2011;2(4):390-4.

12. Mohsenzadeh M. Evaluation of antibacterial activity of selected Iranian essential oils against Staphylococcus aureus and Escherichia coli in nutrient broth medium. Pak J Biol Sci. 2007;10(20):3693-7.

13. Lo Cantore P, Iacobellis NS, De Marco A, Capasso F, Senatore F. Antibacterial Activity of coriandrum sativum L and foeniculum vulgare miller var vulgare (Miller) essential Oils. J Agric Food Chem. 2004;52(26):7862-6.

14. Soylu S, Soylu CEM, Evrendilek GA. Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of bitter fennel (Foeniculum vulgare) and dill (Anethum graveolens) against the growth of food-borne and seed-born pathogenic bacteria. Italian J Food Sci. 2009; 21(3):347-55.

15. Miguel MG, Cruz C, Faleiro L, Simoes MT, Figueiredo AC, Barroso JG, Pedro LG. Foeniculum vulgare essential oils: chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. Natur pro commun. 2010;5(2):319-28.

16. Sagdic O, Yasar S, Kisioglu AN. Antibacterial effects of single or combined plant extracts. Ann Microb. 2005;55(1):67-71.

17. Shahidi Bonjar GH. Antibacterial screening of plants used in Iranian folkloric medicine. Fitoterapia. 2004;75(2):231-35.

18. Ruberto G, Baratta MT, Deans SG, Dorman HJD. Antioxidant and antimicrobial activity of foeniculum vulgare and crithmum maritimum essential oils. Planta Medica 2000;66(08):687-93.

19. Shahat AA, Ibrahim AY, Hendawy SF, Omer EA, Hammouda FM, Abdel-Rahman FH, Saleh MA. Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. Molecules 2011;16(2):1366-77.

20. Burt S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. Int J Food Microbiol. 2004;94(3):223-53.

21. Miliauskas G, van Beek TA, Venskutonis PR, Linssen JPH, de Waard P, Sudhölter EJR. Antioxidant activity of Potentilla fruticosa. J Sci Food Agr 2004;84(15):1997-2009.

22. Leong LP, Shui G. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chem. 2002;76(1):69-75.

23. Kalyoncu IH, Akbulut M, Coklar H. Antioxidant capacity, total phenolics and some chemical properties of semi-matured apricot cultivars grown in Malatya, Turkey. World Appl Sci J. 2009;6(4):519-23.

24. Entezari M, Hashemi M, Ashki M, Ebrahimian S, Bayat M, Azizi Saraji AR, Rohani SR. Studying the effect Echinophora platyloba extract on bactira (Staphilococus aureus and Pseudomonas aeroginosa) and fungi (Candidia albicans, Aspergilus flavus and Aspergilus niger) in vitro. World J Med Sci. 2009;4(2):89-92.

25. Gulfraz M, Mehmood S, Minhas N, Jabeen N, Kausar R, Jabeen K, Arshad G. Composition and antimicrobial properties of essential oil of Foeniculum vulgare. Afri J Biotech. 2008;7(24):4364-8.

26. Sağdıç O, Özcan M. Antibacterial activity of Turkish spice hydrosols. Food Cont 2003;14(3):141-3.

27. Ghasemi Pirbalouti A, Malek poor F, Enteshari SH, Yousefi M, Momtaz H, Hamedi B. Antibacterial activity of some folklore medicinal plants used by Bakhtiari Tribal in south west Iran. Int J Biol. 2010;2(2):55-63.

28. Mata AT, Proença C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, A. MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. Food Chem. 2007;103(3):778-86.

29. Bagamboula CF, Uyttendaele M, Debevere J. Inhibitory effect of thyme and basil essential oils, carvacrol, thymol, estragol, linalool and p-cymene towards Shigella sonnei and Shigella flexneri. Food Microbiol. 2004;21(1):33-42.