مجله الکترونیک فرآوری و نگهداری مواد غذایی
جلد دوم، شماره سوم، پاییز ۸۹
۸۵-۱۰۰
http://ejfpp.gau.ac.ir

استخراج ترکیبات زیست‌فعال و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اتانولی و استونی برگ‌های اوجی

شهلا سلمانیان[۱]، *علیرضا صادقی‌ماهونک[۲]، یحیی مقصودلو[۳]، حدیثه ربیعی[۴] و بیتا طباطبایی‌عمید[۵]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۲]استادیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۳]دانشیار گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان،
[۴]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه علوم و صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد آیت‌اله آملی،
[۵]مربی آموزشیار، دانشگاه پیام‌نور واحد آق‌قلا، گلستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰۳

چکیده

گیاه اوجی با نام علمی *Mentha aquatique* یکی از گونه‌های مهم خانواده *Labiatae* است که توزیع گسترده‌ای در مناطق شمال ایران دارد. علی‌رغم این‌که گونه‌های نعنا به‌طور گسترده جهت اهداف مختلف مورد استفاده قرار گرفته‌است، اما پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی گونه‌های ایرانی هنوز ناشناخته مانده است. هدف از این پژوهش، استخراج ترکیبات فنولی اوجی با حلال‌های استون و اتانول در سه غلظت متفاوت (خالص، ۵۰ درصد و ۷۰ درصد) می‌باشد. مقدار فنول کل عصاره‌ها توسط روش فولین سیوکالتو سنجش و براساس میلی‌گرم گالیک اسید بر گرم عصاره بیان گردید. سپس فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های فنولی مختلف و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT با آزمون‌های مهار رادیکال‌های آزاد DPPH، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی مورد بررسی قرار گرفت. بیش‌ترین میزان فنول کل در همه عصاره‌ها، در غلظت ۵۰ درصد به‌دست آمد. به‌طوری‌که در این شرایط میزان فنول کل عصاره‌های استونی و اتانولی به‌ترتیب ۵۳/۴۱ و ۴۰/۳۶ میلی‌گرم گالیک

* مسئول مکاتبه: sadeghiaz@yahoo.com

اسید بر گرم عصاره بود (P<۰/۰۵). عصاره‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی وابسته به غلظت را نشان دادند. در بین عصاره‌های فنولی اوجی در هر سه آزمون ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، عصاره استونی بالاترین فعالیت ضدرادیکالی و آنتی‌اکسیدانی را نسبت به عصاره اتانولی به خود اختصاص داد. این عصاره تنها در آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، عملکرد بهتری داشت و از این نظر قابل رقابت با BHT بود (P<۰/۰۵). بدین‌ترتیب، می‌توان گیاه اوجی را به‌عنوان منبع جدید و بالقوه‌ای از ترکیبات فنولی و آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: اوجی، استخراج، ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

عدم پذیرش افزودنی‌ها و نگهدارنده‌های شیمیایی از سوی مصرف‌کنندگان به‌دلیل سرطان‌زایی و سمیت احتمالی، منجر به پژوهش‌های گسترده در زمینه کشف ترکیبات فعال طبیعی با خواص آنتی‌اکسیدانی و ضدمیکروبی شده است. ترکیبات طبیعی قادر به افزایش عمر نگهداری مواد غذایی از طریق بازدارندگی رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن و فاسدکننده مواد غذایی و نیز حفاظت مواد غذایی از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو می‌باشند [۵، ۱۵]. آنتی‌اکسیدان‌ها به موادی گفته می‌شود که قادر به ایجاد تأخیر، کند کردن و حتی توقف فرآیندهای اکسیداسیون هستند. این ترکیبات می‌توانند به‌نحو مطلوبی از تغییر در رنگ و طعم مواد غذایی ناشی از واکنش‌های اکسیداسیون، جلوگیری کنند [۸]. در کل آنتی‌اکسیدان‌ها برای دو هدف مشخص به مواد غذایی افزوده می‌شوند: ممانعت از اکسیداسیون لیپیدها و تشکیل رادیکال‌های آزاد در مواد غذایی تحت شرایط طولانی نگهداری یا حرارت‌دهی و نیز جلوگیری از افزایش غلظت رادیکال‌های آزاد پس از صرف غذا در شرایط بدن [۱۶]. در سال‌های اخیر استفاده از آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی هم‌چون بوتیلات هیدروکسی تولوئن (BHT)، بوتیلات هیدروکسی آنیزول (BHA) و ترت‌بوتیلات هیدروکسی کینون (TBHQ) همانند افزودنی‌های شیمیایی دیگر، به‌دلیل اثرات سوء جانبی آن‌ها محدود شده است. بنابراین نیاز به منابع آنتی‌اکسیدانی ایمن، اقتصادی و با فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالا از منابع طبیعی جهت جایگزینی با آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی رو به افزایش است. اخیراً استفاده از ترکیبات فنولی موجود در گیاهان به‌دلیل ویژگی‌های بالقوه آنتی‌اکسیدانی و اثرات سلامتی‌بخش، به‌ویژه هنگامی‌که این ترکیبات در مقادیر بالا

در مواد غذایی حضور دارند، افزایش یافته است [۳، ٦]. ترکیبات فنولی دسته بزرگی از متابولیت‌های ثانویه گیاهی می‌باشند که توانایی آنتی‌اکسیدانی آن‌ها ناشی از حضور گروه‌های هیدروکسیل در ساختارشان است. توجه و کاربرد فنول‌های طبیعی در صنعت غذا رو به افزایش است. زیرا این ترکیبات تجزیه اکسیداتیو لیپیدها را به تاخیر انداخته و از این‌رو کیفیت و ارزش تغذیه‌ای مواد غذایی را بهبود می‌دهند [١٤].

اوجی با نام علمی *Mentha aquatique* از خانواده *Labiatae*، گیاهی علفی و چندساله به ارتفاع ١٠٠-٤٠ سانتی‌متر با برگ‌هایی تخم‌مرغی شکل دارای دندانه‌های اره‌ای بدون کرک و گل‌هایی آبی رنگ است [١]. گیاهان متعلق به خانواده *Labiatae* غنی از ترکیبات پلی‌فنولی‌اند و تعداد زیادی از آن‌ها (مانند رزماری، آویشن، اسطوخودوس و سرسم) به‌دلیل ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی، معروف می‌باشند و به‌عنوان منبع غنی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی در نظر گرفته می‌شوند. جنس *Mentha* عضوی از این خانواده است که در فلور ایران ٦ گونه را به خود اختصاص داده است. گونه‌های این جنس به‌طور کلی تحت نام نعنا و پونه در ایران معروف است. نعنا از جمله گیاهانی است که به‌علت اهمیت اقتصادی و دارویی آن، توجه بیش‌تر محققان را به خود جلب نموده است و معمولاً به‌عنوان چای، عامل طعم‌دهنده و گیاه دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد [۷، ۹]. علی‌رغم کاربرد فراوان نعنا جهت اهداف مختلف، بیش‌تر پژوهش‌ها انجام شده بر روی اسانس‌های این گیاه بوده است، اما پتانسیل آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی به‌ویژه گونه‌های ایرانی ناشناخته مانده است. هیچ گزارشی در منابع علمی در زمینه ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اوجی یافت نشده است. با در نظر گرفتن خصوصیات ذکر شده، هدف از این پژوهش بررسی فعالیت ضدرادیکالی، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی عصاره‌های اتانولی و استونی اوجی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه عصاره: در این پژوهش سبزی اوجی در فروردین‌ماه ۱۳۹۰ از حواشی مناطق مرطوب و جنگلی استان گلستان- گرگان جمع‌آوری گردید. سبزی‌ها را پس از شستشو و خشک کردن در آون (Memert- UFE500 ساخت آلمان) با دما ٤٠ درجه سانتی‌گراد، توسط آسیاب صنعتی (توس شکن خراسان، مدل تی ۳۸۰۰)، به پودر تبدیل گردید و از الک با مش ٤٠ گذرانده شد. برای تهیه عصاره فنولی از حلال‌های اتانول و استون با غلظت‌های خالص، ٥٠ درصد و ٧٠ درصد (حجمی: حجمی)

استفاده شد. پودر میوه ولیک با نسبت ۱: ۱۰ با حلال مخلوط و به‌مدت ٢٤ ساعت در دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد توسط انکوباتور شیکردار (ژال تجهیز- JTSL20) هم زده شد. بعد از طی مدت زمان استخراج، عصاره‌ها با کاغذ صافی واتمن شماره یک فیلتر شدند و بخش جامد جدا گردید. عصاره اتانولی ابتدا توسط تبخیرکننده چرخشی تحت خلاء (IKA- RV05 Basic ساخت آلمان) و عصاره استونی توسط آون تحت خلاء (BINDER- VD23 ساخت آلمان) در دما ٤٠ درجه سانتی‌گراد تغلیظ و سپس همه عصاره‌ها توسط خشک‌کن انجمادی (Operun-FDB550 ساخت کره جنوبی) در دما ۵۰- درجه سانتی‌گراد، خشک و به پودر تبدیل شدند. پودرهای فنولی حاصل تا زمان استفاده در ظروف غیرقابل نفوذ به هوا و رطوبت در فریزر با دما ۱۸- درجه سانتی‌گراد (Whirlpool- WVG301 ساخت آمریکا) نگهداری شدند.

اندازه‌گیری مقدار کل ترکیبات فنولی عصاره‌ها: میزان کل ترکیبات فنولی با روش فولین سیوکالتو به روش اسلینکارد و سینگلتون [۲۲]، اندازه‌گیری شد. به‌طور خلاصه ۲۰ میکرولیتر از محلول عصاره با ١/١٦٠ میلی‌لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۱ تا ۸ دقیقه، ۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم (۲۰ درصد) به آن‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن درون حمام آب با دما ٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر (PG instrument Ltd- T80+) در طول موج ٧٦٠ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از اسید گالیک استفاده شد. میزان کل ترکیبات فنلی موجود در عصاره بر حسب معادل اسید گالیک و با استفاده از معادله به‌دست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میلی‌گرم اسید گالیک در هر گرم عصاره بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش شد. روش فولین- سیوکالتو از متداول‌ترین روش‌های اندازه‌گیری ترکیبات فنولی می‌باشد. اساس کار در این روش، احیاء معرف فولین توسط ترکیبات فنولی در محیط قلیایی و ایجاد کمپلکس آبی رنگ است که حداکثر جذب را در طول موج ٧٦٠ نانومتر نشان می‌دهد.

ارزیابی فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH[1]: توانایی مهار رادیکال آزاد به روش شیمادا و همکاران [۲۰]، انجام شد. برای این منظور، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۷۵۰-۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودرهای فنولی (پودر به‌دست آمده از عصاره‌های استونی ۵۰ درصد و متانولی ۵۰ درصد) و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در حلال متانول آماده شدند. یک میلی‌لیتر از محلول متانولی DPPH (با

1- Diphenyl picrylhydrazyl

غلظت یک میلی‌مولار) به ۳ میلی‌لیتر از عصاره افزوده و مخلوط به‌دست آمده به‌شدت هم زده شد. لوله‌های آزمایش به‌مدت ۳۰ دقیقه در محل تاریک قرارگرفتند. بعد از این مدت میزان جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. لازم به ذکر است که در نمونه کنترل، عصاره با ۳ میلی‌لیتر متانول جایگزین شد. در نهایت درصد مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره با فرمول زیر محاسبه گردید.

درصد مهار رادیکال آزاد = $(A_c-A_s)/Ac\times100$

که در آن، A_c و A_s: به‌ترتیب جذب کنترل و جذب نمونه می‌باشند.

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل: در این روش محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۵۰۰-۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودرهای به‌دست آمده از حلال‌های بهینه (استون ۵۰ درصد و اتانول ۵۰ درصد) و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT به‌ترتیب در حلال‌های استخراجی و متانول آماده شدند. ۰/۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره با ۱ میلی‌لیتر از معرف (اسید سولفوریک ۰/٦ مولار، فسفات سدیم ۲۸ میلی‌مولار و آمونیوم مولیبدات ٤ میلی‌مولار) را در لوله اپندورف ریخته و پس از دربندی به‌مدت ۱/۵ ساعت در حمام آب با دما ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از سرد کردن، جذب نمونه‌ها در طول موج ٦۹۵ نانومتر خوانده شد. در نمونه کنترل به جا عصاره از ۰/۱ میلی‌لیتر حلال مصرفی استفاده شد [۱۷].

ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها به روش قدرت احیاءکنندگی: توانایی عصاره‌ها برای احیا آهن سه‌ظرفیتی توسط روش یلدریم و همکاران [۲۷]، تعیین شد. در این روش، محلول‌هایی با غلظت‌های مختلف (۸۰۰-۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از پودر عصاره‌های فنولی به‌دست آمده از استون ۵۰ درصد، اتانول ۵۰درصد و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی به‌ترتیب در حلال‌های استخراجی و متانول تهیه گردید. ۱ میلی‌لیتر از محلول عصاره یا آنتی‌اکسیدان سنتزی با ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (pH= ٦/٦ و M= ۰/۲) و ۲/۵ میلی‌لیتر پتاسیم فری‌سیانید (۱۰ گرم در لیتر) مخلوط شد و به‌مدت نیم‌ساعت در حمام آب با دما ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس ۲/۵ میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد (وزنی: حجمی) به نمونه‌ها اضافه شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت g ۱٦۵۰ سانتریفوژ (Centurion-K 2042 ساخت کانادا) شدند. از محلول روئی پس از سانتریفوژ ۲/۵ میلی‌لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی‌لیتر کلرید آهن (III) (۱ گرم در لیتر)، جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر خوانده شد. میزان جذب بالا نشان‌دهنده قدرت احیاءکنندگی بالا عصاره‌ها می‌باشد.

تجزیه و تحلیل آماری: در این پژوهش، تیمارها در سه تکرار انجام شد و تجزیه و تحلیل نتایج به‌دست آمده از آزمون‌های مربوط به اندازه‌گیری میزان کل ترکیبات فنولی، و ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی (مهار رادیکال‌های آزاد، قدرت احیاءکنندگی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) با استفاده از روش آنالیز واریانس (ANOVA) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح ($P<۰/۰۵$) صورت گرفت. آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و رسم نمودارها با نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

مقدار کل ترکیبات فنولی: جدول ۱ نتایج آنالیز واریانس و مقایسه میانگین مقدار کل ترکیبات فنولی به‌دست آمده از حلال‌های اتانولی و استونی را در غلظت‌های مختلف در روش استخراج غرقابی در سطح احتمال ۵ درصد نشان می‌دهد. با توجه به جدول و نتایج به‌دست آمده، اختلاف معنی‌داری ($P<۰/۰۵$) بین غلظت‌های خالص، ۵۰ درصد و ۷۰ درصد حلال‌ها مشاهده می‌گردد و در همه غلظت‌های مورد بررسی، بیش‌ترین میزان استخراج ترکیبات فنولی به حلال استونی تعلق یافت. در این بین، بیش‌ترین میزان استخراج ترکیبات فنولی کل در غلظت ۵۰ درصد هر دو حلال به‌دست آمد. هر دو حلال در حالت مخلوط با آب توانایی بیش‌تری را برای استخراج مواد مؤثره از بافت‌های گیاه اوجی نسبت به حالت خالص داشتند. با افزایش میزان آب (افزایش قطبیت)، میزان استخراج ترکیبات فنولی کل افزایش یافت.

جدول ۱- مقدار کل ترکیبات فنولی (میلی‌گرم گالیک اسید در گرم عصاره) عصاره‌های حاصل از اوجی.

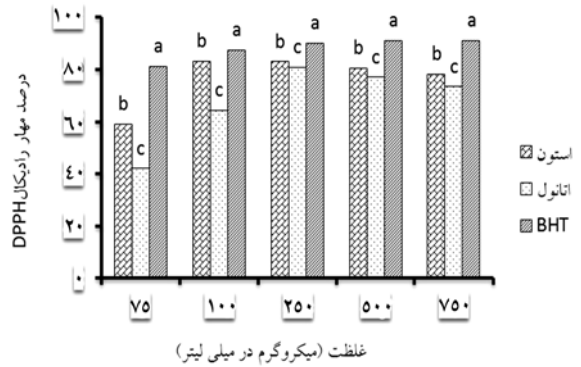
حلال	غلظت		
	خالص	۵۰ درصد	۷۰ درصد
استون	۱۷/۱۶ ± ۰/۴۹^{d}	۵۳/۴۱ ± ۳/۰۸^{a}	۴۷/۱۳ ± ۱/۹۹^{b}
اتانول	۱۳/۹۸ ± ۰/۷۳^{f}	۴۰/۳۶ ± ۱/۶۸^{c}	۳۹/۷۴ ± ۲/۵۹^{c}

حروف غیرمشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است.

تاکنون هیچ گزارشی در ارتباط با استخراج ترکیبات فنولی از گیاه اوجی با حلال‌های مختلف در منابع علمی یافت نشده است، اما پژوهش‌ها در زمینه استخراج این ترکیبات با حلال‌های مختلف از سایر منابع گیاهی انجام شده است. ترکیبات فنولی کل، پروآنتوسیانیدین‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره جو با سه حلال قطبی استون ۷۰ درصد، اتانول ۷۰ درصد و متانول ۷۰ درصد مورد بررسی قرار گرفت. بالاترین میزان ترکیبات فنولی کل و پروآنتوسیانیدین‌ها از استخراج با حلال استون ۷۰ به‌دست آمد. اختلاف در میزان ترکیبات فنولی کل و پروآنتوسیانیدین‌های سه عصاره به قطبیت حلال‌های مختلف مورد استفاده در آزمایش نسبت داده شد [۱۱]. در بررسی میزان ترکیبات فنولی پالپ سه میوه گرمسیری با حلال‌های متانول، اتانول و استون در غلظت‌های مختلف و نیز آب مقطر، مؤثرترین سیستم حلال برای استخراج فنول‌ها از این میوه‌ها حلال استون به‌ترتیب با غلظت‌های ۵۰ درصد، ۷۰ درصد و ۹۰ درصد معرفی گردید [۲]. حلال‌های الکلی عموماً جهت استخراج فنول‌ها از منابع طبیعی مورد استفاده قرار می‌گیرند. به‌ویژه مخلوط‌های الکل- آب که در مقایسه با حالت خالص حلال‌ها، میزان استخراج ترکیبات فنولی را چندین برابر افزایش می‌دهند [۱۳، ۲۳، ۲۵، ۲۶]. مهم‌ترین دلیل افزایش میزان ترکیبات فنولی در طی خیساندن در حلال استونی، حلالیت بالا این ترکیبات در این حلال می‌باشد [۲۹].

توانایی مهار رادیکال‌های DPPH توسط عصاره‌ها: آزمون DPPH اطلاعات پایه‌ای و اساسی در زمینه فعالیت ضدرادیکالی عصاره فنولی گیاهی را فراهم می‌نماید. از آن‌جا که این روش نسبت به روش‌های دیگر نیاز به زمان کوتاه‌تری دارد، بنابراین به‌طور گسترده برای ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی به‌کار می رود. وقتی آنتی‌اکسیدان دهنده الکترون و/ یا اتم هیدروژن به محلول DPPH اضافه می‌گردد جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد، زیرا رادیکال آزاد DPPH مهار می‌شود [۱۰]. شکل ۱ میزان کاهش جذب محلول DPPH را در حضور غلظت‌های مختلف عصاره‌های فنولی متفاوت گیاه اوجی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که نوع و غلظت عصاره‌ها و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی تأثیر معنی‌داری روی مهار رادیکال آزاد DPPH دارد ($P<۰/۰۵$). فعالیت ضدرادیکالی در هر دو عصاره و نیز در آنتی‌اکسیدان سنتزی وابسته به غلظت بود، به‌طوری‌که با افزایش غلظت میزان فعالیت مهارکنندگی عصاره‌ها نیز افزایش یافت. در محدوده غلظت ۷۵۰-۷۵ میکروگرم در میلی‌لیتر، آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT فعالیت ضدرادیکالی بالاتری نسبت به عصاره‌های فنولی اوجی داشت و از این نظر هیچ‌یک از عصاره‌ها قابل رقابت با آنتی‌اکسیدانی سنتزی BHT

نبودند. در غلظت‌های بالاتر فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد هر دو عصاره فنولی افزایش یافت. در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، عصاره استونی ۵۰ درصد نسبت به عصاره اتانولی ۵۰ درصد عملکرد قوی‌تری در ارتباط با مهار رادیکال‌های آزاد داشت. بیش‌ترین درصد مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH برای عصاره‌های استونی و اتانولی به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر با درصد مهارکنندگی ۸۳/۱۸ درصد و ۸۰/۸۵ درصد به‌دست آمد. بالاتر بودن فعالیت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH را می‌توان به محتوا فنولی عصاره‌ها نسبت داد. در کل، افزایش غلظت ترکیبات فنولی به‌طور مستقیم میزان توانایی عصاره‌های مختلف را در مهار رایکال آزاد افزایش می‌دهد [۱۹]. در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنولی، به‌دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژن به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد [۱۲].

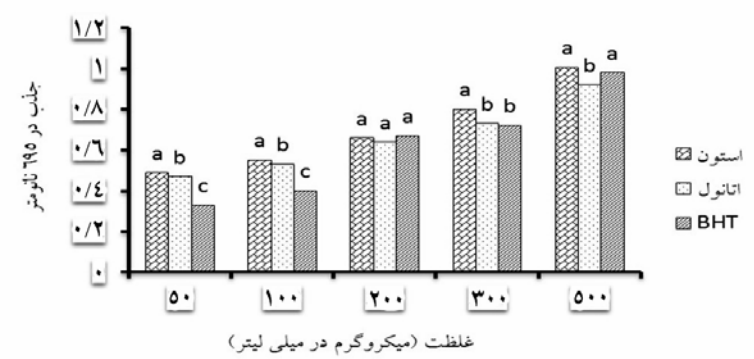


شکل ۱- مقایسه میانگین درصد مهار رادیکال‌های DPPH در غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی و اتانولی گیاه اوجی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است).

مطالعات مختلف نشان داده است که توانایی الکترون‌دهی ترکیبات زیست فعال با فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد مرتبط است و نتایج بیانگر آن است که عصاره‌های فنولی با بالاترین مقدار ترکیبات فنولی، بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را دارا بود [٤، ۱۸، ۲۱].

ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها: روش فسفومولیبندیوم روش کمی برای ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدان‌های محلول در آب و محلول در چربی (ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل) می‌باشد. این روش بر مبنا احیا مولیبدن ٦ ظرفیتی به مولیبدن ۵ ظرفیتی در محیط اسیدی می‌باشد که با تشکیل کمپلکس سبز

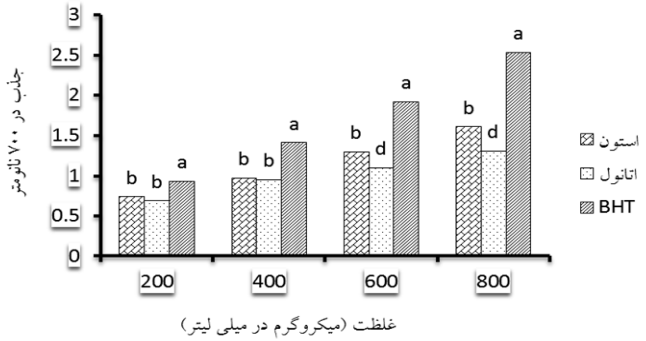
رنگ فسفومولیبدن با بیشینه جذب در ٦٩٥ نانومتر همراه است. این کمپلکس‌ها بسیار پایدار بوده و با حلال مورد استفاده برای استخراج ترکیبات فنولی تحت‌تأثیر قرار نمی‌گیرد. عصاره‌هایی که شدت جذب بالاتری دارند، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بالاتری نیز دارند [٤]. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) بین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT وجود دارد (شکل ٢). ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌ها وابسته به غلظت بود؛ به‌طوری‌که با افزایش غلظت، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز به‌طور معنی‌داری ($P<0/05$) افزایش یافت.



شکل ٢- مقایسه میانگین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی و اتانولی گیاه اوجی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد است).

در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، عصاره استونی بالاترین ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل را دارا بود. عصاره استونی در غلظت‌های ٥٠٠ و ٢٠٠ و عصاره اتانولی در غلظت‌های ٣٠٠ و ٢٠٠ میکروگرم در میلی‌لیتر با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT از نظر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل تفاوت معنی‌داری نداشتند. عصاره‌های استونی و اتانولی اوجی در غلظت‌های پایین (١٠٠ و ٥٠ میکروگرم در میلی‌لیتر)، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل بالاتری از آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشتند و در سطح احتمال ٥ درصد قابل رقابت با آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بودند. در واقع یک غلظت بحرانی از ترکیبات فنولی برای مهار رادیکال‌های آزاد کافی است. این نتایج بیانگر حضور ترکیبات آنتی‌اکسیدانی لیپوفیل و هیدروفیل در گیاه اوجی است. نتایج سایر محققان نیز نشان داد، وجود مقادیر بیشتری از ترکیبات فنولی در عصاره با ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بالا آن مرتبط است [١٨، ٢٤].

ارزیابی قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها: در این روش توانایی عصاره‌ها برای احیاء آهن سه‌ظرفیتی و تبدیل آن به آهن دوظرفیتی سنجیده می‌شود. فعالیت احیاءکنندگی بر مبنا توانایی عصاره‌ها یا آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT برای احیاء کمپلکس فری سیانید/ Fe^{3+} و تبدیل آن به فرم فروس است [٤]. فعالیت احیاءکنندگی عصاره‌های استونی ۵۰ درصد و اتانولی ۵۰ درصد از گیاه اوجی و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در شکل ۳ نشان داده شده است. افزایش در جذب مخلوط واکنش قدرت احیاءکنندگی نمونه‌ها را نشان می‌دهد. همان‌طورکه در شکل نشان داده شده، قدرت احیاءکنندگی همه عصاره‌ها با افزایش میزان غلظت عصاره، افزایش یافته و همه مقادیر، فعالیت بالایی را نشان دادند. نتایج آنالیز واریانس نشان داد که تأثیر نوع حلال و غلظت روی قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها و در نتیجه فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).



شکل ۳- مقایسه میانگین قدرت احیاءکنندگی غلظت‌های مختلف عصاره‌های استونی و اتانولی گیاه اوجی و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT (حروف غیرمشابه در هر غلظت بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد است).

همان‌طورکه از شکل پیداست با افزایش غلظت عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT میزان جذب و در نتیجه قدرت احیاءکنندگی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت ($P<۰/۰۵$). نتایج مقایسه میانگین میزان جذب در تمامی غلظت‌های مورد بررسی، نشان داد که آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT دارای بیش‌ترین قدرت احیاءکنندگی است. در غلظت ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر میزان قدرت احیاءکنندگی عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT نزدیک به یکدیگر بود. توانایی عصاره استونی برای احیاء یون‌های آهن سه‌ظرفیتی در غلظت‌های ٤۰۰ و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر اختلاف

معنی‌داری با عصاره اتانولی نداشت اما با افزایش غلظت به ۸۰۰، میزان جذب نمونه‌های حاوی عصاره استونی به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای افزایش یافت. در کل ویژگی‌های احیاءکنندگی با حضور ترکیبات اهداءکننده الکترون همراه است. به‌عبارتی با افزایش میزان ترکیبات فنولی موجود در عصاره، قدرت احیاءکنندگی آن‌ها افزایش می‌یابد. اختلاف مشاهده شده بین عصاره‌ها از نظر قدرت احیاءکنندگی را می‌توان به تفاوت در نوع ترکیبات فنولی استخراج شده توسط حلال نسبت داد. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی ترکیبات فنولی مختلف با توجه به ساختار شیمیایی آن‌ها متفاوت است. علاوه‌بر این در طی فرآیند استخراج ترکیبات دیگری که حلالیت بالایی در محلول‌های الکلی دارند، همراه با ترکیبات فنولی وارد عصاره می‌شوند. از آنجایی‌که برخی از این ترکیبات مانند اسید آسکوربیک، اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و قندها خود اهداءکننده الکترون می‌باشند، از این‌رو درصد بیش‌تری از یون‌های آهن سه‌ظرفیتی با جذب الکترون احیاء شده و بنابراین شدت جذب محلول افزایش می‌یابد. در یک پژوهش، توانایی احیاء کردن و تبدیل Fe^{3+} به Fe^{2+} توسط عصاره‌های استونی ۷۰ درصد، اتانولی ۷۰ درصد و متانولی ۷۰ درصد جو و نیز آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT مورد بررسی قرار گرفت. قدرت احیاءکنندگی همه عصاره‌های جو با افزایش غلظت نمونه افزایش یافت. در مقدار ۲۰۰ میکروگرم قدرت احیاءکنندگی عصاره استونی ۷۰ درصد جو به‌همین مقدار در BHT نزدیک بود [۱۱]. در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی ۷۰ درصد برگ خرمالو، نتایج بیانگر آن بود که تأثیر این عصاره در فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل، و قدرت احیاءکنندگی به‌طور معنی‌داری از روتین به‌عنوان نمونه شاهد، بهتر بود [۲٤]. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش‌ها با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

مقادیر EC_{50} در روش‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی: جدول ۲ مقادیر مختلف EC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر) را در عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT در روش‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی نشان می‌دهد. EC_{50} در روش مهار رادیکال‌های آزاد DPPH به غلظتی از عصاره اطلاق می‌گردد که در آن ۵۰ درصد از رادیکال‌های آزاد DPPH موجود در محیط واکنش مهار شوند. بنابراین هرچه این غلظت کم‌تر باشد، نشان‌دهنده این است که عصاره مورد نظر فعالیت ضدرادیکالی بیش‌تری دارد. در روش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل نیز منظور از EC_{50} غلظتی از عصاره است که در طول موج ٦۹۵ نانومتر جذبی معادل ۰/۵ را دارا باشد. بنابراین هرچه این غلظت کم‌تر باشد بیانگر فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر عصاره‌هاست.

جدول ۲- مقادیر EC_{50} عصاره‌ها و آنتی‌اکسیدان سنتزی در روش‌های مختلف ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی.

نمونه	EC_{50} (میکروگرم در میلی‌لیتر)	
	مهار رادیکال‌های آزاد	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل
استونی	٦٥/٥٥^{b}	٥٩/٠٩^{c}
اتانولی	٨٣/٩٢^{a}	٧٧/٢٧^{b}
BHT	٣٧/١٧^{c}	١٣٧/٠٣^{a}

حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ٥ درصد است.

همان‌طورکه در جدول مشاهده می‌شود، در آزمون فعالیت مهارکنندگی رادیکال‌های آزاد کم‌ترین EC_{50} و در آزمون قدرت احیاءکنندگی بیش‌ترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی متعلق به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT بود، اما در آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل کم‌ترین مقدار EC_{50} به عصاره استونی و سپس به عصاره اتانولی تعلق یافت. تفاوت‌های مشاهده شده بین EC_{50} عصاره‌های مختلف در این پژوهش را می‌توان به تفاوت در مقادیر و نوع ترکیبات فنولی آن‌ها نسبت داد. مقدار فنول کل دارای همبستگی و ارتباط مستقیم با فعالیت آنتی‌اکسیدانی می‌باشد. بنابراین فعالیت آنتی‌اکسیدانی منعکس‌کننده مقدار ترکیبات فنولی است. ترکیبات فنولی و آنتوسیانین‌ها مسئول فعالیت آنتی‌اکسیدانی بخش آبدوست بوده در حالی‌که کاروتنوئیدها و توکوفرول‌ها ترکیبات آنتی‌اکسیدانی اصلی در عصاره لیپوفیلی می‌باشند. طبق نتایج به‌دست آمده در این بررسی، عصاره استونی با بالاترین مقدار ترکیبات فنولی نسبت به عصاره اتانولی، دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل بیشینه نیز بود. در یک پژوهش، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی عصاره اتانولی بافت‌های مختلف (پوست، دانه و پالپ) عناب چینی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در همه رقم‌ها پوست دارای بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی (فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH و نیروی احیاءکنندگی) و در نتیجه بالاترین مقدار ترکیبات فنولی، فلاونوئیدی و آنتوسیانین می‌باشد [۲۸]. در بررسی دیگر، در ارزیابی فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های استخراجی با حلال‌های مختلف از میوه *Carissa opaca* مشخص شد، عصاره‌هایی که بالاترین میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی را دارا بودند از سایر عصاره‌ها فعالیت آنتی‌اکسیدانی قوی‌تری داشتند [۱۸]. نتایج به‌دست آمده در این بررسی‌ها، نتایج این پژوهش را مبنی‌بر وجود رابطه بین مقدار ترکیبات فنولی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تایید می‌نماید. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاهی از ترکیبات فنولی و پلی‌فنولی ناشی می‌شود. بنابراین باید ارتباط و همبستگی نزدیکی بین مقدار ترکیبات فنولی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشته باشد.

نتایج به‌دست آمده از این بررسی نشان داد، گیاه اوجی غنی از ترکیبات فنولی با خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالا است. تفاوت در فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های اوجی با روش‌های مختلف (روش ارزیابی فنول کل، سنجش مهار رادیکال DPPH، سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی کل و قدرت احیاءکنندگی) به میزان زیادی به‌طبیعت آبدوست و آب‌گریز فنول‌های موجود در عصاره و نسبت آن‌ها وابسته است. عصاره استونی ۵۰ درصد به‌دست آمده از اوجی با بیش‌ترین مقدار فنول کل، بالاترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی را به خود اختصاص داد که در آزمون ظرفیت آنتی‌اکسیدانی کل عملکرد بهتری نسبت به آنتی‌اکسیدان سنتزی BHT داشت. با توجه به اثرات نامطلوب آنتی‌اکسیدان‌های سنتزی بر سلامت انسان، مطالعات بیش‌تر در زمینه کاربرد این عصاره در سیستم‌های غذایی مستعد به اکسیداسیون پیشنهاد می‌گردد.

منابع

۱- قهرمان، ا. ۱۳۸٦. فلور رنگی ایران. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع- بخش گیاهشناسی، ۹۲٤.

2.Alothman, M., Bhat, R., and Karim, A.A. 2009. Antioxidant capacity and phenolic content of selected tropical fruits from Malaysia, extracted with different solvents. *Food Chemistry*, 115, 785-788.

3.Anagnostopoulou, M.A., Kefalas, P., Papageorgiou, V.P., Assimepoulou, A.N., and Boskou, D. 2006. Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). *Food Chemistry*, 94, 19-25.

4.Arabshahi-D, S., and Urooj, A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. *Food Chemistry*, 102, 1233-1240.

5.Cao, L., Si, J.Y., Liu, Y., Sun, H., Jin, W., Li, Z., Zhao, X.H., and Pan, R.L. 2009. Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant properties of Mosla chinensis Maxim. *Food Chemistry*, 115, 801-805.

6.Dillard, C.G., and German, G.B. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Science of Food and Agriculture*, 80, 1744-1756.

7.Gulluci, M., Shin, F., Sokmen, M., Ozer, H., Deferera, D., Sokmen, A., Polissiou, M., Adiguzel, A., and Ozkan, H. 2006. Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia* L. ssp. *Longifolia*. *Food Chemistry*, 103, 1449-1456.

8.Halliwell, B., Aeschbach, R., Loliger, J., and Arouma, O.I. 1995. The characterization of antioxidants . *Food Chemistry and Toxicology*, 33, 601-617.

9.Kamkar, A., Jebelli Javan, A., Asadi, F., and Kamalinejad, M. 2010. The antioxidative effect of Iranian Mentha pulegium extracts and essential oil in sunflower oil. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1796-1800.

10.Li, J.W., Ding, S.D., and Ding, X.I. 2005. Comparison of antioxidant capacities of extracts from five cultivars of Chinese jujube. *Process Biochemistry*, 40, 3607-3613.
11.Liu, Q., and Yao, H. 2007. Antioxidant activity of barley seeds extracts. *Food Chemistry*, 102, 732-737.
12.Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C., and Jimenez, L. 2004. Polyphenol: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
13.Mohsen, S.M., and Ammar, A.S.M. 2009. Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112, 595-598.
14.Muanda, F.N., Soulimani, R., Diop, B., and Dicko, A. 2011. Study on chemical composition and biological activities of essential oil and extracts from Stevia rebaudiana Bertoni leaves. *LWT- Food Science and Technology*, 44, 1865-1872.
15.Padmashree, A., Roopa, N., Semwal, A.D., Sharma, G.K., Agatian, G., and Bawa, A.S., 2007. Star-anise (Illicium verum) and black caraway (Carum nigrum) as natural antioxidants. *Food Chemistry*, 104, 59-66.
16.Pokorny, J. 2007. Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants. *Lipid Science and Technology*, 109, 629-642.
17.Prieto, P., Pineda, M., and Aguilar, M. 1999. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269, 337-341.
18.Sahreen, S., Rashid Khan, M., and Ali Khan, R. 2010. Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of Carissa opaca fruits. *Food Chemistry*, 122, 1205-1211.
19.Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J.A., and Saura- Calixto, F. 1999. Free radical scavenging capacity and inhibition of lipid oxidation of wines, prape juices and related polyphenolic constituents. *Food Research International*, 32, 407-412.
20.Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K., and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthin on autoxidation of soybean oil in cyclodextrin emulsion. *Agricultural and Food Chemistry*, 40, 945-948.
21.Shukla, Sh., Mehta, A., Bajpai, V.K., and Shukla, S. 2009. In vitro antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic leaf extract of Stevia rebaudiana Bert. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 2338-2343.
22.Slinkard, K., and Singleton, VL. 1977. Total phenol analysis; automation and comparison with manual methods. *American Journal of Enology and Viticulture*, 28, 49-55.
23.Spigno, G., Tramelli, L., and De Faveri, D.M. 2007. Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc Phenolics. *Journal of Food Engineering*, 81, 200-208.

24. Sun, L., Zhang, J., Lu, X., Zhang, L., and Zhang, Y. 2011. Evaluation to the antioxidant activity of total flavonoids extract from persimmon (*Diospyros kaki* L) leaves. *Food and Chemical Toxicology*, 49, 2689-2696.
25. Trabelsi, N., Megdiche, W., Ksouri, R., Falleh, H., Oueslati, S., Soumaya, B., Hajlaoui, H and Abdelly, C. 2010. Solvent effects on phenolic contents and biological activities of the halophyte *Limoniastrum monopetalum* leaves. *LWT-Food Science and Technology*, 43, 632-639.
26. Turkmen, N., Sari, F and Velioglu, Y.S. 2006. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin- Ciocalteu methods. *Food Chemistry*, 99, 835-841.
27. Yildirim, A., Mavi, A., and Kara, A.A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *Agricultural and Food Chemistry*, 49, 4083-4089.
28. Zhang, H., Jiang, L., Ye, S., Ye, Y., and Ren, F. 2010. Systematic evaluation of antioxidant capacities of the ethanolic extract of different tissues of jujube (*Ziziphus jujube* Mill) from China. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 1461-1465.
29. Zhou, K., and Yu, L. 2004. Effects of extraction solvent on wheat bran antioxidant activity estimation. *Lebensm.- Wiss. u.-Technology,* 37, 717-721.

Iranian Association of Food Scientists and Technologists

EJFPP, Vol. 2 (3): 85-100
http://ejfpp.gau.ac.ir

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Extraction of bioactive compounds and determination of antioxidant activity of ethanolic and acetonic extracts of *Mentha aquatique* leaves

Sh. Salmanian[1], *A.R. Sadeghi Mahoonak[2], Y. Maghsoudlou[3], H. Rabiee[4] and B. Tabatabaei Amid[5]

[1]M.Sc. Student., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [2]Assistant Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [3]Associate Prof., Dept. of Food Sciences and Technology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, [4]M.Sc. Student, Dept. of Food Sciences and Technology, Islamic Azad University, Ayatollah Amoli Branch, [5]Instructor, Payam Noor University, Aqala Branch, Golestan

Received: 2012-02; Accepted: 2012-05

Abstract

Mentha aquatique is one of important species of *Labiatae* family and commonly found in the North of Iran. Despite *Mentha* species are widely used for various purposes, the antioxidant potential of Iranian species are still lacking. In this study, extraction of total phenolic compounds from *Mentha aquatique* by Acetone and Ethanol solvents in three different concentrations (pure, 50% and 70%) were investigated. Total phenolic contents were determined by Folin-Ciocaltue assay and were expressed as mg of gallic acid per g of extract. Then the antioxidant capacity of extracts were assessed by DPPH radical-scavenging activity, total antioxidant capacity and reducing power assay and compared with BHT. In all extracts, the highest total phenolic contents was observed in 50 percentage concentration. In these conditions, total phenolic contents of acetonic and ethanolic extracts were obtained as 53.41 and 40.36 mg gallic acid equivalents (GAE)/g extract, respectively, ($P<0.05$). Extracts showed antioxidant activity in a dose-dependent manner. Acetonic extract had more antioxidant activity than ethanolic exrtact. In total antioxidant capacity assay in all concentrations the extraction had better antioxidant activity than BHT. Hence the *Mentha aquatique* can be used as a potential source of phenolic compounds and natural antioxidant and can be used in food formulation.

Keywords: *Mentha aquatique*; extraction; Phenolic compounds; Antioxidant activity

* Corresponding Author; Email: sadeghiaz@yahoo.com