

بررسی اثر زمان برداشت بر برخی از خصوصیات فیتوشیمیایی برگ گیاه دارویی (*Cynara scolymus* L.)

مرضیه اله دادی^{۱*}، لاله مشرف^۲

^۱دکتری، گروه اکولوژی گیاهان زراعی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
^۲استادیار، بخش تحقیقات فنی و مهندسی کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی
و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۰۵ تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۰/۱۹

چکیده

کنگرفرنگی (*Cynara scolymus* L.) گیاهی چند ساله از تیره Asteraceae است که در سراسر جهان جایگاه ویژه‌ای در صنایع داروسازی و غذایی دارد. به منظور ارزیابی برخی خصوصیات فیتوشیمیایی برگ کنگرفرنگی در مراحل مختلف رشدی، آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان طی دو سال زراعی متوالی (۱۳۹۴-۱۳۹۳ و ۱۳۹۴-۱۳۹۵) به اجرا درآمد. تیمارها شامل برداشت برگ در مراحل مختلف رشدی (مرحله رشد رویشی، غنچه دهی و گلدهی) در سال دوم رشد بودند. پس از برداشت برخی خصوصیات کیفی برگ از جمله میزان فنل کل (روش فولین سیوکالتیو)، فلاونوئید کل (روش رنگ سنجی آلومینیوم کلرید)، کلروژنیک اسید (کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا) و توانمندی آنتی‌اکسیدانی به دو روش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که خصوصیات فیتوشیمیایی و توانمندی آنتی‌اکسیدانی برگ طی مراحل مختلف رشدی از مقادیر متفاوتی برخوردار بود به نحوی که بیشترین مقدار فنل کل (۷۶/۲۵ میلی‌گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک)، فلاونوئید کل (۱/۲۸ میلی‌گرم کوئرستین در گرم ماده خشک)، کلروژنیک اسید (۲/۲۵ درصد در ماده خشک)، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH (۹۲/۳۴ درصد) و قدرت احیاءکنندگی (۲/۱۶) عصاره برگ در مرحله غنچه دهی مشاهده شد. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فنل کل با فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی وجود داشت. همچنین رابطه بین کلروژنیک اسید با قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی مثبت و معنی‌دار بود. با توجه به نتایج حاصله، برداشت برگ کنگرفرنگی در مرحله غنچه دهی به لحاظ دارا بودن ویژگی‌های فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی مطلوب، مناسب‌تر از سایر مراحل رشدی است.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، زمان برداشت، فلاونوئید و فنل کل، کلروژنیک اسید، کنگرفرنگی

مقدمه

اساسی که مواد اولیه در گیاه انجام می‌دهند را بر عهده ندارند اما این ترکیبات نقش اساسی در سازگاری گیاهان به محیط اطراف دارند. ترکیبات فنلی از مهمترین گروه‌های متابولیت‌های ثانویه در گیاهان هستند که به طور گسترده در سراسر گیاه پخش شده‌اند و تأثیرات بیولوژیکی متعددی همچون فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد باکتریایی دارند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل‌ها در گیاهان عمدتاً به علت ویژگی‌های کاهش اکسایشی در ساختار شیمیایی آنهاست که نقش مهمی در خنثی کردن رادیکال‌های آزاد، احاطه کردن فلزات انتقالی و فرونشاندن مولکول‌های اکسیژن یگانه و سه گانه از طریق تغییر مکان یا تجزیه پراکسیدها دارند. این ویژگی‌ها با تأثیرات مفید آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بر سلامت، در ارتباط است که به دلیل تأثیرات بازدارندگی این ترکیبات در مقابل پیشرفت بسیاری از بیماری‌های وابسته به تنش است (Sheikhi et al., 2014). علاوه بر این آنتی‌اکسیدان‌ها به صورت گسترده‌ای به عنوان مواد افزودنی برای به تأخیر انداختن فرآیند اکسیداسیون و جلوگیری از تخریب مواد غذایی مورد استفاده قرار می‌گیرند (Kamkar et al., 2010). فلاونوئیدها نیز گروه بزرگی از ترکیبات فنلی با بیش از ۳۰۰۰ ساختار و یکی از مهمترین ترکیبات ثانوی در گیاهان هستند که عمدتاً در اکثر گیاهان دارویی با مقادیر مختلف یافت می‌شوند، حدود ۴۰۰۰ نوع ترکیب متعلق به گروه فلاونوئیدها در گیاهان وجود دارند که طی مسیر سنتز فنل پروپانویید در گیاه سنتز می‌شوند و عمدتاً شامل فلاون، فلاونول و آنتوسیانین‌ها هستند (Siriamornpus et al., 2010). نتایج تحقیقات مختلف نشان داده است که مواد مؤثره در اندامهای گیاه هیچگاه ثابت نیست و متناسب با مراحل رشد گیاه و شرایط متفاوت محیطی قابل تغییر است و کاملاً وابسته به فاکتورهای محیطی،

کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) گیاهی چندساله و متعلق به خانواده *Astraceae* است که بومی جنوب مدیترانه و شمال آفریقا می‌باشد (Lattanzio et al., 2009). طبق آخرین آمار فائو، در سال ۲۰۱۴ سطح زیر کشت کنگر فرنگی در ایران برابر ۹۱۶ هکتار با عملکرد و میزان تولیدی به ترتیب معادل ۱۸۱۵۲ کیلوگرم در هکتار و ۱۷۲۳۹ تن بوده است (FAO, 2014). این گیاه در بسیاری از مناطق جهان جهت مصرف غنچه‌ها که بخش‌های خوراکی آن هستند کشت می‌شود و به صورت سبزی تازه، کنسرو شده یا منجمد مورد مصرف قرار می‌گیرد (Pistón et al., 2014). برگ‌های کنگر فرنگی در منابع به عنوان اندام دارویی گیاه معرفی شده‌اند و به دلیل دارا بودن خواص فارماکولوژیک بسیاری از جمله اثرات محافظت کننده از کبد (Aksu & Altinterim, 2013)، کاهش دهنده قند خون (Mohamed Abdel Magied et al., 2016)، کاهش دهنده چربی خون (Mocelin et al., 2016)، اثر آنتی‌اکسیدانی (Alencar et al., 2014) و خواص ضد میکروبی (Fратиanni et al., 2014) مورد توجه زیادی در عرصه مطالعات دارویی قرار گرفته‌اند. در طب سنتی تأثیر این گیاه در افزایش ترشح صفرا و کاهش کلسترول به سینارین و کلروژنیک اسید موجود در برگ و برچه‌های آن نسبت داده شده است (Alonso et al., 2006) و خواص دارویی آن عمدتاً به این دو ترکیب مربوط می‌باشد که در برگ‌های آن به وفور یافت می‌گردد (Melilli et al., 2007; Allahdadi & Raei, 2017) در حال حاضر این گیاه در تعدادی از کارخانه‌های داروسازی داخل کشور در مقیاس وسیع جهت فرآوری و استخراج مواد دارویی مورد استفاده قرار می‌گیرد.

متابولیت‌های ثانویه ترکیباتی هستند که توسط گیاهان تولید می‌شوند و فعالیت‌های فیزیولوژیکی

از آنجایی که میزان مواد مؤثره گیاه متناسب با میزان رشد آن متغیر است لذا تعیین بهترین زمان برداشت به منظور دستیابی به میزان مطلوب متابولیت-های ثانویه در راستای تامین گیاه مناسب برای صنایع دارویی از اهمیت بسزایی برخوردار است. با توجه به اینکه تمرکز اکثر تحقیقات انجام شده بر بخش خوراکی گیاه (غنچه) معطوف بوده است و هنوز گزارش کاملی در رابطه با تاثیر زمان برداشت بر ترکیبات فیتوشیمیایی برگ کنگر فرنگی انجام نشده است و همچنین با در نظر گرفتن اهمیت این گیاه در صنعت داروسازی به دلیل داشتن ترکیبات پلی فنلی و فلاونوئیدی، این پژوهش با هدف بررسی تغییرات ترکیبات فیتوشیمیایی در مراحل مختلف رشد کنگر فرنگی و مدیریت بهتر زمان برداشت به اجرا در آمد.

مواد و روش ها

این پژوهش طی دو سال زراعی متوالی (۱۳۹۴-۱۳۹۳ و ۱۳۹۴-۱۳۹۵) در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان (عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۳۶ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۲۶ دقیقه شرقی با ارتفاع ۱۶۱۲ متر از سطح دریا) که بر اساس تقسیم بندی گوسن دارای اقلیم نیمه بیابانی خفیف است (Karimi, 1992) در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل برداشت برگ (اندام دارویی گیاه) در مراحل مختلف رشدی (مرحله رشد رویشی، غنچه دهی و گلدهی) بودند.

کشت بذور کنگر فرنگی در تاریخ ۶ اردیبهشت ماه ۱۳۹۳ در وسط هر پشته به صورت کپه ای انجام شد. بر اساس نتایج آزمون خاک و ویژگی های گیاه، کود شیمیایی به نسبت ۲۰۰ کیلوگرم نیتروژن خالص در هکتار از منبع کود اوره در نظر گرفته شد. نیمی از کود نیتروژنی قبل از کاشت و نیم دیگر به صورت سرک

شرایط رویشگاهی، زمان برداشت، تنوع ژنتیکی و فنولوژی گیاه است (Dambolena et al., 2010). برداشت گیاهان دارویی در زمان نامناسب نه تنها میزان محصول به دست آمده را کاهش می دهد، بلکه محصول برداشت شده نیز از کیفیت مطلوبی برخوردار نخواهد بود. زیرا عملکرد اندام مورد نظر و همچنین میزان متابولیت های ثانویه یک گیاه دارویی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاه متفاوت است (Omidbaigi, 2005). پاندینو و همکاران (Pandino et al., 2013). تغییرات پلی فنل ها در بخش های مختلف کنگر فرنگی را که از ماه نوامبر تا آوریل به صورت ماهانه برداشت شده بود مورد بررسی قرار دادند و بر اهمیت زمان برداشت و شرایط آب و هوایی در طول برداشت بر ترکیب شیمیایی اندام های مختلف کنگر فرنگی تاکید نمودند. همچنین اظهار داشتند که محتوای کمی و کیفی پلی فنل در بخش های مختلف گیاه به زمان برداشت واکنش نشان داد و زمان مطلوب برداشت غنچه ها را از ماه فوریه تا آوریل عنوان نمودند. قاسم نژاد و همکاران (Ghasemnezhad et al., 2012) تاثیر زمان برداشت بر کیفیت برگ گیاهان حاصل از پاجوش کنگر فرنگی را در ۱۲ زمان مختلف با فاصله زمانی ۱۵ روزه مورد بررسی قرار دادند و اظهار داشتند که شاخص های کیفی برگ (فنل کل، فلاونوئید کل و توانمندی آنتی اکسیدانی) اغلب تحت تاثیر زمان برداشت متفاوت بود و با توجه به فقدان جهت گیری مشخص تغییرات پتانسیل آنتی اکسیدانی و عوامل آن در عصاره برگ کنگر فرنگی تحت تاثیر یک دوره زمانی ۶ ماهه با ۱۲ برداشت در شرایط یکسان مواد غذایی، تغییرات دمایی و نور مهمترین عامل ایجاد تغییرات مشاهده شده بود و ارتباط مشخصی بین سن فیزیولوژیکی برگ با میزان مواد مؤثره و فعالیت آنتی اکسیدانی وجود نداشت.

در مرحله ۷-۸ برگگی مصرف شد. در مرحله سه برگگی (۱۵ روز پس از کاشت) عملیات تنک انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز تا زمان استقرار گیاه به روش مکانیکی انجام گرفت. طول هر کرت ۵ و عرض آن ۳/۵ متر در نظر گرفته شد که شامل ۵ ردیف با فاصله ۷۰ سانتی متر بود. فواصل بوته‌ها روی پشته ۳۵ سانتی متر با تراکم ۴ بوته در مترمربع در نظر گرفته شدند. مطابق نتایج آزمون خاک، در سال دوم نصف میزان کود نیتروژنی سال قبل، به کرت‌های آزمایشی اضافه شد. جهت تعیین برخی صفات کیفی برگ‌های گیاه در سال دوم رشد و در مراحل رشد رویشی، غنچه دهی و گلدهی برداشت شدند. ابتدا برگ‌ها در محیط آزمایشگاه و در دمای طبیعی خشک شده سپس در آسیاب به صورت پودر در آمدند. برای تهیه عصاره متانولی از برگ گیاه از روش خیساندن استفاده شد. نمونه‌های پودر شده وزن شده و مقدار ۵ گرم از پودر نمونه در ارلن ۵۰ میلی لیتری ریخته شد سپس به آن ۵۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد (نسبت نمونه به محلول متانولی ۱ به ۱۰ بود) و بر روی شیکر در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا عمل خیساندن کامل و ترکیبات گیاه از آن خارج گردد. پس از ۲۴ ساعت با استفاده از کاغذ صافی محلول متانولی حاوی نمونه صاف شد. پس از آن محلول متانولی به منظور خارج کردن متانول از عصاره به دستگاه روتاری انتقال داده شد. پس از تبخیر متانول در دستگاه، عصاره خالص تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۴+ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات فنلی کل به روش سیوکالتیو انجام گرفت. برای اندازه‌گیری فنل ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی (۱۶۰ میلی گرم عصاره حل شده در ۵۰ میلی لیتر متانول) با ۵ میلی لیتر فولین سیوکالتیو (۱ به ۱۰ رقیق شده با آب مقطر) مخلوط شده، سپس ۴ میلی لیتر کربنات سدیم یک مولار

در مرحله ۷-۸ برگگی مصرف شد. در مرحله سه برگگی (۱۵ روز پس از کاشت) عملیات تنک انجام شد. مبارزه با علف‌های هرز تا زمان استقرار گیاه به روش مکانیکی انجام گرفت. طول هر کرت ۵ و عرض آن ۳/۵ متر در نظر گرفته شد که شامل ۵ ردیف با فاصله ۷۰ سانتی متر بود. فواصل بوته‌ها روی پشته ۳۵ سانتی متر با تراکم ۴ بوته در مترمربع در نظر گرفته شدند. مطابق نتایج آزمون خاک، در سال دوم نصف میزان کود نیتروژنی سال قبل، به کرت‌های آزمایشی اضافه شد. جهت تعیین برخی صفات کیفی برگ‌های گیاه در سال دوم رشد و در مراحل رشد رویشی، غنچه دهی و گلدهی برداشت شدند. ابتدا برگ‌ها در محیط آزمایشگاه و در دمای طبیعی خشک شده سپس در آسیاب به صورت پودر در آمدند. برای تهیه عصاره متانولی از برگ گیاه از روش خیساندن استفاده شد. نمونه‌های پودر شده وزن شده و مقدار ۵ گرم از پودر نمونه در ارلن ۵۰ میلی لیتری ریخته شد سپس به آن ۵۰ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد اضافه شد (نسبت نمونه به محلول متانولی ۱ به ۱۰ بود) و بر روی شیکر در دمای آزمایشگاه قرار داده شد تا عمل خیساندن کامل و ترکیبات گیاه از آن خارج گردد. پس از ۲۴ ساعت با استفاده از کاغذ صافی محلول متانولی حاوی نمونه صاف شد. پس از آن محلول متانولی به منظور خارج کردن متانول از عصاره به دستگاه روتاری انتقال داده شد. پس از تبخیر متانول در دستگاه، عصاره خالص تا زمان انجام آزمایش در یخچال ۴+ درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

به منظور اندازه‌گیری محتوی فلاونوئید کل ۰/۵ میلی لیتر از عصاره متانولی با ۱/۵ میلی لیتر متانول، ۰/۱ میلی لیتر آلومنیوم کلرید ۱۰ درصد در اتانول (۱۰ گرم آلومنیوم کلرید در ۱۰۰ میلی لیتر اتانول و آب مقطر)، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم یک مولار (۲/۴۱ گرم در ۱۰ میلی لیتر آب مقطر) و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شد (Chang et al., 2002). برای تهیه شاهد به جای عصاره متانولی، تنها از متانول خالص استفاده شد. مخلوط نمونه نیم ساعت در تاریکی نگه داشته شده و سپس بلافاصله در طول موج ۴۱۵ نانومتر قرائت شد. غلظت‌های مختلف از استاندارد کوئرستین (۰، ۱۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی گرم در لیتر) ساخته شده و منحنی استاندارد رسم شد.

نتایج

همانطور که در جدول ۲ مشاهده می‌شود میزان فنل برگ تحت تاثیر برداشت در مراحل مختلف رشد قرار گرفت. با توجه به جدول ۳ بیشترین میزان فنل برگ (۷۶/۲۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در مرحله غنچه دهی و کمترین میزان (۷۰/۵ میلی گرم گالیک اسید در گرم ماده خشک) در مرحله گلدهی مشاهده گردید البته بین مرحله گلدهی و رویشی اختلاف معنی داری وجود نداشت (جدول ۳). تاثیر برداشت در مراحل مختلف رشدی بر میزان فلاونوئید برگ کنگرفرنگی معنی دار بود (جدول ۲). همانطور که در جدول مشاهده می‌شود، بیشترین میزان فلاونوئید (۱/۲۸ میلی گرم کوئرستین در گرم ماده خشک) در مرحله غنچه دهی حاصل شد که با مرحله رویشی اختلاف معنی داری نداشت. کمترین میزان آن (۰/۹۳ میلی گرم کوئرستین در گرم ماده خشک) هم به مرحله گلدهی اختصاص داشت (جدول ۳).

همانگونه که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می‌شود، زمان برداشت میزان کلروژنیک اسید برگ را به شکل معنی داری تحت تاثیر قرار داد. با توجه به جدول ۳، بالاترین میزان کلروژنیک اسید (۲/۲۵ درصد در ماده خشک) مربوط به مرحله غنچه دهی بود و کمترین میزان آن (۱/۹۷ درصد در ماده خشک) در مرحله رویشی مشاهده شد که از لحاظ آماری اختلاف معنی داری با مرحله گلدهی نداشت.

نتایج حاصل از سنجش فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره‌های گیاه بر اساس روش قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH تاثیر معنی دار زمان برداشت را بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ نشان داد (جدول ۲). بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی (۹۲/۳۴ درصد) در مرحله غنچه دهی مشاهده شد و کمترین میزان آن (۸۴/۳۴ درصد) به مرحله گلدهی مربوط بود که با مرحله رویشی اختلاف معنی داری نداشت (جدول ۳).

نمونه با استفاده از رابطه زیر به درصد مهار تبدیل شد (Wong et al., 2006).

رابطه (۱)

$$\text{درصد مهار رادیکال} = (Ac - As/Ac) \times 100$$

آزاد DPPH

که در این رابطه As و Ac به ترتیب جذب محلول متانولی DPPH و جذب نمونه‌ها در ۵۱۵ نانومتر می‌باشند. در روش آزمون قدرت احیاءکنندگی ۲/۵ میلی لیتر عصاره با ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ($pH = 6.6$) و ۲/۵ میلی لیتر پتاسیم فری سیانید ۱٪ مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس ۲/۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰٪ (وزنی: حجمی) به نمونه‌ها اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۶۵۰ سانتریفوژ شدند. از محلول رویی پس از سانتریفوژ ۵ میلی لیتر به دقت برداشته و پس از افزودن ۵ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر کلرید آهن III (۰/۱٪) جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۰۰ نانومتر قرائت شد (Koksal et al., 2011). افزایش جذب در مخلوط واکنش به مفهوم افزایش قدرت احیاءکنندگی است.

جهت اندازه گیری کلروژنیک اسید ۰/۲۵ گرم نمونه پودر شده برگ کنگرفرنگی را با ۱۰ میلی لیتر متانول به مدت ده دقیقه روی حمام آب گرم ۷۰ درجه سانتیگراد حرارت داده سپس صاف کرده و حلال رابه حجم ۱۰ میلی لیتر رسانده، پس از آن نمونه مورد نظر به دستگاه HPLC مدل ولکروم^۱ ۲۰۰۰، تزریق شد و در نهایت مقدار کلروژنیک اسید در طول موج ۳۲۵ نانومتر قرائت گردید (Zhanget al., 2004). سپس برای تجزیه واریانس داده‌ها و محاسبه ضرایب همبستگی ساده بین صفات از نرم افزار SPSS استفاده شد و میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شدند.

1. Well Chrom 2000

بررسی همبستگی بین صفات فیتوشیمیایی مورد مطالعه نشان داد که همبستگی مثبت و معنی داری بین فنل کل با فلاونوئید کل، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی وجود داشت. کلروژنیک اسید نیز رابطه مثبت و معنی داری با قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی نشان داد. رابطه میان قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH با فنل کل و فلاونوئید کل هم مثبت و معنی دار بود (جدول ۴).

عصاره‌های حاصل از مراحل مختلف رشدی از نظر قدرت احیاءکنندگی اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که مرحله غنچه دهی بیشترین میزان قدرت احیاءکنندگی را داشت و مرحله رشد رویشی و گلدهی هم از لحاظ آماری اختلاف معنی داری نداشتند و در یک گروه آماری قرار گرفتند (جدول ۳).

جج

جدول ۱: ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک محل آزمایش

هدایت الکتریکی (dS/m)	اسیدیته (%)	کربن آلی (%)	نیتروژن کل (%)	فسفر (mg/kg)	پتاسیم (mg/kg)	بافت خاک
۲/۸	۷/۷	۰/۰۶۵	۰/۰۴	۱۴	۲۵۰	لومی رسی

جدول ۲: تجزیه واریانس برخی صفات کیفی برگ کنگر فرنگی در مراحل مختلف رشدی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		فنل	فلاونوئید	کلروژنیک اسید	قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH
تکرار	۳	۴/۱۳۵ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۶/۱۹۴ ^{ns}
مرحله رشدی گیاه	۲	۲۶/۲۶۹*	۰/۰۹۴*	۰/۰۶۱**	۴۹/۱۶۹*
خطا	۶	۱/۷۷	۰/۰۰۶	۰/۰۰۲	۴/۰۸۷
ضریب تغییرات (%)		۱/۵۱	۳/۸۷	۲/۱۳	۲/۷۷

ns، * و ** به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال پنج درصد و یک درصد

جدول ۳: تاثیر برداشت در مراحل مختلف رشدی بر برخی صفات کیفی برگ کنگر فرنگی

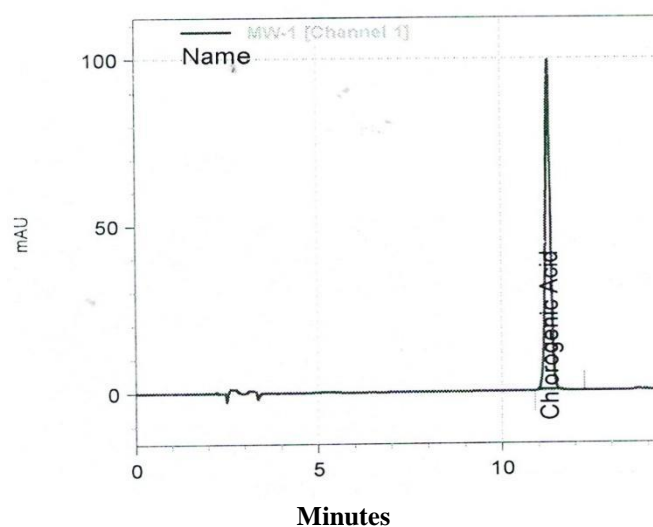
مرحله فنولوژیکی	فنل (mg GAE g ⁻¹ DW)	فلاونوئید (mg QE g ⁻¹ DW)	کلروژنیک اسید (%DM)	قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH (%)	قدرت احیاءکنندگی (جذب در ۷۰۰nm)
رویشی (رزت)	۷۲/۱۵ b	۱/۱۷ a	۱/۹۷ b	۸۷/۲۸ b	۱/۹۲ b
غنچه دهی	۷۶/۲۵ a	۱/۲۸ a	۲/۲۵ a	۹۲/۳۴ a	۲/۱۶ a
گلدهی	۷۰/۵ b	۰/۹۳ b	۲/۰۴ b	۸۴/۳۴ b	۱/۹۱ b

میانگین‌هایی با حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشند.

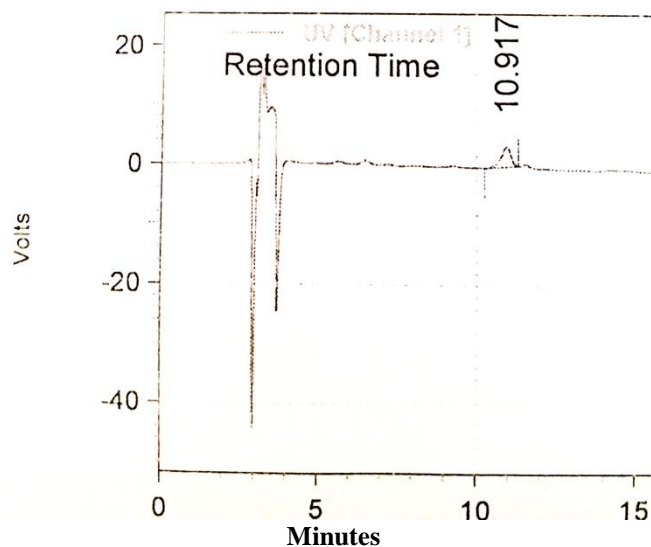
جدول ۴: ضریب همبستگی میان صفات اندازه‌گیری شده در مراحل مختلف رشدی

صفات	فنل	فلاونوئید	مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH	قدرت احیاکنندگی	کلروژنیک اسید
فنل	۱				
فلاونوئید	۰/۷۸*	۱			
مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH	۰/۷۴*	۰/۷۲*	۱		
قدرت احیاکنندگی	۰/۸۸**	۰/۶۵	۰/۷۱*	۱	
کلروژنیک اسید	۰/۶۳	۰/۴۹	۰/۶۷*	۰/۷۹**	۱

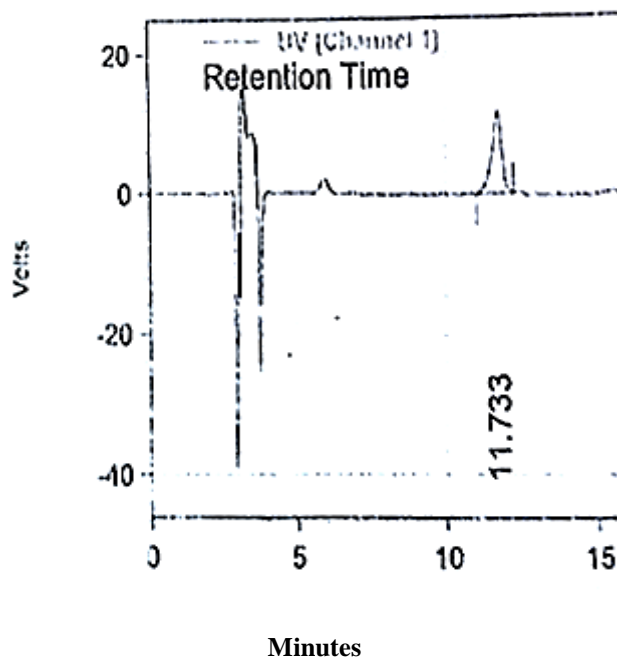
** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد * معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد



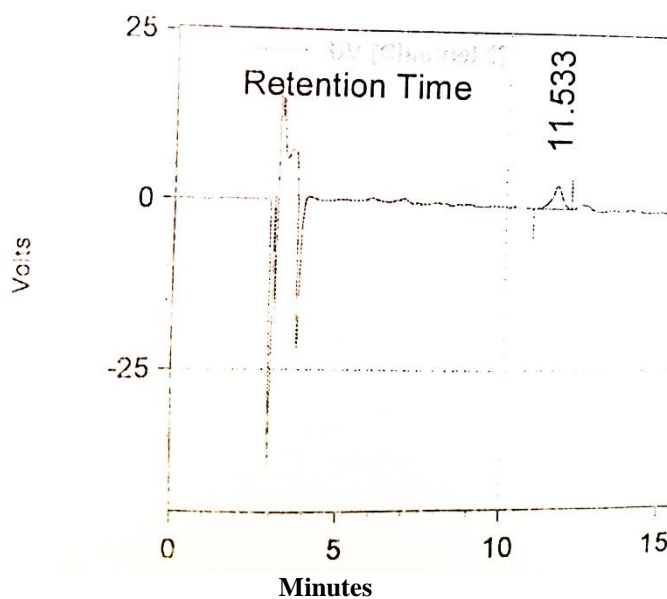
شکل ۱: کروماتوگرام استاندارد کلروژنیک اسید



شکل ۲: کروماتوگرام HPLC مربوط به ترکیب کلروژنیک اسید در عصاره متانولی برگ کنگر فرنگی در مرحله رشد رویشی



شکل ۳: کروماتوگرام HPLC مربوط به ترکیب کلروژنیک اسید در عصاره متانولی برگ کنگر فرنگی در مرحله غنچه دهی



شکل ۴: کروماتوگرام HPLC مربوط به ترکیب کلروژنیک اسید در عصاره متانولی برگ کنگر فرنگی در مرحله گلدهی

پتانسیل دارویی گیاه به حضور این ترکیبات
 فیتوشیمیایی مرتبط است (Ceccarelli et al., 2010;
 Pandino et al., 2011; Lombardo et al., 2013;

بحث
 ترکیبات فعال زیستی شامل فنولها و فلاونوئیدها
 در اندام‌های مختلف کنگر فرنگی وجود دارد و

این گیاه هستند. بر اساس تحقیقات انجام شده در غلظت‌های بالاتر ترکیبات فنلی، به دلیل افزایش تعداد گروه‌های هیدروکسیل موجود در محیط واکنش، احتمال اهداء هیدروژون به رادیکال‌های آزاد و به دنبال آن قدرت مهارکنندگی عصاره افزایش می‌یابد (Zhang et al., 2009). نتایج بررسی قابلیت احیاکنندگی عصاره بذر کنگر فرنگی نشان داد که قابلیت احیاکنندگی بالاتر با کمک انتقال الکترون باعث پایان یافتن واکنش‌های زنجیره‌ای می‌شود (Mansol Mollashahi Khumaki & Varasteh Moradi, 2015).

کلروژنیک اسید از جمله ترکیبات آنتی‌اکسیدان و ضد سرطان بوده و تعیین مقادیر ناچیز آن در انواع فرآورده‌های دارویی حاصل از این گیاه از دغدغه‌های صنایع دارویی می‌باشد. رابطه بین کلروژنیک اسید با قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاءکنندگی نیز مثبت و معنی‌دار بود. فعالیت آنتی‌اکسیدانی کلروژنیک اسید توسط سیتو و همکاران (Sato et al., 2011) گزارش شده است.

لازم به ذکر است که تحقیقات چندانی در مورد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فیتوشیمیایی کنگر فرنگی در مراحل فنولوژیک انجام نشده است. با این حال، مطالعات متعدد در رابطه با سایر گیاهان نشان داده است که محتوای ترکیبات ثانویه گیاه به مراحل فنولوژیک بستگی دارد. از جمله بررسی میزان متابولیت‌های ثانویه گیاه آرتیشوی خاردار (*Cynara cardunculus*) نشان داد که اسیدهای فنلی برگ‌ها با رشد گیاه روند افزایشی داشتند (Borgognone et al., 2014). در گیاه مرزنجوش (*Origanum majorana*) L. مرحله ابتدای رشد رویشی حداکثر محتوای فنلی را داشت اما در اواخر رشد رویشی، از آنجایی که گیاه فنول‌ها را برای آماده سازی خود برای فرآیند چوبی شدن تجمع می‌دهد میزان این ترکیبات کاهش می‌یابد

(Tsevegsuren et al., 2014). همچنین اثر آنتی‌اکسیدانی این گیاه در تحقیقات متعددی (Alencar et al., 2014; Pistón et al., 2014; Magielse et al., 2014) گزارش شده است. مطالعات مختلف نشان داده که ساخت و تجمع متابولیت‌های ثانویه در گیاهان دارویی به وسیله‌ی برهمکنش پیچیده بین عوامل درونی (فنولوژی و مراحل رشد) و عوامل محیطی شامل فاکتورهای زیستی و فاکتورهای غیرزیستی تنظیم می‌شود (Abdalla & El-Khoshiban, 2007). نتایج پژوهش حاضر نیز حاکی از این است که برداشت در مراحل مختلف فنولوژیک می‌تواند خصوصیات کیفی برگ کنگر فرنگی را تحت تأثیر قرار دهد (جدول ۲). مقادیر فنل کل، فلاونوئید کل، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH، قدرت احیاکنندگی و میزان کلروژنیک اسید عصاره برگ کنگر فرنگی طی مراحل مختلف رشدی از مقادیر متفاوتی برخوردار بود به نحوی که بیشترین مقدار فنل کل، فلاونوئید کل، کلروژنیک اسید، قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH و قدرت احیاکنندگی در مرحله غنچه دهی مشاهده شد و با ورود گیاه به مرحله گلدهی به علت مسن شدن و ریزش برگ‌ها و در نتیجه کاهش تولید مواد فتوسنتزی فعالیت آنتی‌اکسیدانی و غلظت ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی برگ کاهش یافت. ارتباط مثبتی بین میزان ترکیبات فنلی و قدرت آنتی‌اکسیدانی گیاه وجود داشت که نشان می‌دهد بالا بودن ترکیبات فنلی دلیل عمده بالا بودن فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره متانولی برگ می‌باشد. نتایج تحقیقات گذشته (Alghazeer et al., 2012; Lombardo et al., 2013; Pandino et al., 2016; Nouraei et al., 2011) نیز همبستگی بین محتوای فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی کنگر فرنگی را تایید نموده و نشان داده‌اند که ترکیبات فنلی عامل تعیین کننده بسیار مهم در فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی

majus L.) به مرحله فنولوژیکی گیاه بستگی دارد. بررسی تغییرات محتوای فنل، فلاونوئید کل و ارزیابی عملکرد آنتی‌اکسیدانی عصاره گیاه کنگر (*Gundelia tournefortii* L.) در مراحل مختلف رشدی شامل مرحله رویشی، گلدهی و بذردهی نشان داد که گیاه در مرحله گلدهی از بیشترین محتوای ترکیبات فنلی، فلاونوئیدی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برخوردار است (Khalasi Ahwazi et al., 2016). علیرضایی نقندر و همکاران (Alirezai Noghondar et al., 2016) با بررسی گیاه ترشک وحشی (*Rumex turcomanicus* Czerep) طی چهار مرحله نموی مختلف (رشد رویشی، تورم جوانه انتهایی ساقه گلدهنده، گلدهی کامل و رسیدن بذر) گزارش کردند که بیشترین مقادیر فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌کسیدانی اندام هوایی در مرحله رسیدن بذر مشاهده شد. نتایج ترابی و زرین کمر (Torabi & Zarin-Kamar, 2015) نشان داد که از دوره جوانه زنی تا زمان گلدهی هر چه بر سن برگ زعفران (*Crocus sativus* L.) افزوده می‌شود از میزان فنل کل آن کاسته شده و گیاه به سمت تولید سایر ترکیبات ثانویه از جمله فلاونوئیدها پیش می‌رود همچنین با طی شدن مراحل رشد، بر میزان خواص آنتی‌اکسیدانی افزوده می‌شود. اما پس از گلدهی میزان ترکیبات بدست آمده تقریباً در سطح مشخصی باقی می‌ماند. صائب و همکاران (Saeb et al., 2011) خصوصیات فیتوشیمیایی برگ‌های بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.) را در سه مرحله مختلف (مرحله رشد رویشی، مرحله گلدهی و مرحله بعد از گلدهی) بررسی نموده و بیان نمودند که در مرحله گلدهی بیشترین میزان فنل کل، فلاونوئیدها و قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH در برگ گیاه مشاهده شد. هوشانی و همکاران (Hoshani et al., 2013) اظهار داشتند که بیشترین میزان فنل کل و فعالیت به دام‌اندازی رادیکال DPPH در برگ گیاه

زیرا لیگنین پلیمری است که از ترکیبات فنلی تشکیل شده است (Baâtour et al., 2012). نتایج تحقیق بر روی مقادیر ترکیبات فنولیک و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در عصاره گیاه گون (*Astragalus compactus* L.) نشان داد که مقدار این ترکیبات به مرحله نموی گیاه بستگی داشته و بالاترین مقادیر در مرحله میوه‌دهی دیده می‌شود. همچنین مقادیر ترکیبات فنولی به شدت وابسته به شرایط محیطی همچون دما و تابش خورشید می‌باشد (Naghilooet al., 2012). با مطالعه درصد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنل کل مرزه سهندی (*Satureja sahandica* Bornm.) مشخص شد که این خصوصیات تحت تأثیر مراحل مختلف فنولوژیکی گیاه قرار می‌گیرند و بیشترین میزان را در مرحله گلدهی کامل دارند (Ghamari et al., 2016). عصاره نعناع ارغوانی (*Perilla frutescens* L.) دارای بالاترین مقدار کل ترکیبات فنلی در مرحله گلدهی کامل بود در حالی که بالاترین قدرت مهارکنندگی رادیکال آزاد DPPH عصاره در مراحل اولیه رویشی مشاهده شد (Gai et al., 2017). در طول دوره رشد مرزنجوش بستانی (*Origanum majorana* L.) غلظت فنل کل هم توسط مراحل فنولوژیکی و هم توسط فاکتورهای آب و هوایی تحت تأثیر قرار گرفت و به طور معنی‌داری با مرحله رشد تغییر پیدا کرد (Sellami et al., 2009). گیاهان بالغ خرفه (*Portulaca oleracea* L.) نسبت به گیاهان نابالغ از ترکیبات فنلی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری برخوردار بودند (Uddin et al., 2012). شنبلیله (*Trigonella foenum-graecum* L.) در مرحله رشد رویشی بیشترین میزان فلاونوئیدها و محتوای کل فنلی را داشت (Omezzine et al., 2014). جاکولجویچ و همکاران (Jakovljević et al., 2013) گزارش دادند که مقدار فنل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی در گیاه مامیران بزرگ (*Chelidonium*

مرحله فنولوژیکی اثر مهمی در تولید این ترکیبات دارد و عصاره گیاه در مرحله رویشی بالاترین میزان فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی را نشان داد (Pretti et al., 2018).

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان ترکیبات فیتوشیمیایی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی برگ کنگر فرنگی بسته به سن گیاه و مراحل فنولوژیکی متفاوت بود. بیشترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوی فنل کل، فلاونوئید کل و کلروژنیک اسید در مرحله غنچه دهی به دست آمد. همچنین همبستگی معنی‌دار بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و محتوای فنولی نشان داد که ترکیبات فنلی می‌توانند نقش مهمی در فعالیت آنتی‌اکسیدانی داشته باشند. با توجه به نتایج حاصله می‌توان مرحله غنچه دهی را مرحله نموی مناسب به منظور برداشت برگ‌ها جهت مصارف دارویی عنوان نمود.

عروسک پشت پرده (*Physalis alkekengi*) در مرحله بلوغ میوه به دست آمد. همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره برگ در روش سنجش قدرت احیا کنندگی آهن طی رشد گیاه از مرحله رویشی به مرحله زایشی افزایش معنی‌داری داشت و علت این امر را به سطوح بالای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی محلول در آب از جمله فنل، آنتوسیانین و فلاونوئیدهایی مانند لوتولین و کوئرستین در برگ این گیاه در مرحله رسیدگی میوه نسبت دادند. یافته‌های سالم و همکاران (Salem et al., 2018) در گیاه پسته وحشی (*Mentha pulegium*) نشان داد که محتوای پلی‌فنول، فلاونوئیدها و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی به مراحل رشدی این گیاه بستگی دارد و حداکثر تولید فنل در مرحله گلدهی کامل به دست آمد. بررسی فنول، فلاونوئید و فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره آفتابگردان مکزیکی (*Mexican sunflower*) در مراحل رشد رویشی و زایشی نشان داد که ترکیبات شیمیایی گیاهی، محتوای آنها و فعالیت‌های بیولوژیکی آنها به عوامل محیطی، مرحله فنولوژیکی و صفات ژنتیکی وابسته است و

Journal of Pharmacy and Pharmacology, 8(5): 136-147.

References

1. Abdalla, M. M. and El-Khoshiban, N. H. 2007. The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Science Research, 3: 2062-2074.
2. Aksu, Ö. and Altinterim, B. 2013. Hepatoprotective effects of artichoke (*Cynara scolymus*). Bilim ve Genclik Dergisi, 1(2): 44-49.
3. Alencar, M.V.O.B., Oliveira, G.L.S., Oliveira, F.R.A.M., Gomes Junior, A.L., Souza, A.A., Melo Cavalcante, A.A.C. and Freitas, R.M. 2014. Evaluation of antioxidant capacity of the aqueous extract of *Cynara scolymus* L. (Asteraceae) in vitro and in *Saccharomyces cerevisiae*. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 8(5): 136-147.
4. Alghazeer, R., El-Saltani, H., Saleh, N.A., Al-Najjar, A., Naili, M.B., Hebal, F. and El-Deeb, H. 2012. Antioxidant and antimicrobial activities of *Cynara scolymus* L. rhizomes. Modern Applied Science, 6: 54-63.
5. Alirezaie Noghondar, M., Azizi, M., Neamati, S., Rezvani Moghaddam, P. and Rezazadeh, S. 2016. Variation of some phytochemical compound in shoot and root of *Rumex turcomanicus* Czerep. at different phenological stages. Journal of Medicinal Plants, 2 (58):25-36.
6. Allahdadi, M. and Raei, Y. 2017. Growth and chlorogenic acid content of artichoke (*Cynara scolymus* L.) affected by bio and chemical fertilizer. Journal of Biodiversity and

- Environmental Sciences (JBES), 11(5): 63-73.
7. Alonso, M.R.; García, M.D.C., Bonelli, C.G., Ferraro, G. and Rubio, M. 2006. Validated HPLC Method for Cynarin Determination in Biological Sample. *Acta Farm. Bonaerense*, 25(2): 267-70.
 8. Baâtour, O., Tarchoun, I., Nasri, N., Kaddour, R., Harrathi, J., Drawi, E., Ben Nasri-Ayachi, B. M. and Lachaâl, M. 2012. Effect of growth stages on phenolics content and antioxidant activities of shoots in sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) varieties under salt stress. *African Journal of Biotechnology*, 11(99): 16486-16493.
 9. Borgognone, D., Cardarelli, M., Rea, E., Lucini, L. and Colla, G. 2014. Salinity source-induced changes in yield, mineral composition, phenolic acids and flavonoids in leaves of artichoke and cardoon grown in floating system. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 9(4): 1231-1237.
 10. Ceccarelli, N., Curadi, M., Picciarelli, P., Martelloni, L., Sbrana, C. and Giovannetti, M. 2010. Globe artichoke as functional food. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3: 197-201.
 11. Chang, C., Yang, M., Wen, H. and Chern, J. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10: 178-182.
 12. Dambolena, J.S., Zunino, M.P., Lucini, E.I., Olmedo, R., Banchio, E., Bima, P.J. and Zygadlo, J.A. 2010. Total phenolic content, radical scavenging properties and essential oil composition of *Origanum* species from different populations. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 58: 1115-1120.
 13. FAO, Food Agriculture Organization. 2014. The total world production of artichoke. www.fao.org.
 14. Fazli, R., Nazarnejad, N.A. and Ebrahimzadeh, M.P. 2002. To evaluate the phenolic antioxidant activity total flavonoids of beech, hornbeam and spruce. *Journal of the forest and wood products, natural resources of Iran*, 66 (3): 339-349.
 15. Fratianni, F., Pepe, R. and Nazzaro, F. 2014. Polyphenol composition, antioxidant, antimicrobial and quorum quenching activity of the "Carciofo di Montoro" (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*) Global Artichoke of the Campania Region, Southern Italy. *Food and Nutrition Sciences*, 5: 2053-2062.
 16. Gai, F., Peiretti, P.G., Karamac, M. and Amarowicz, R. 2017. Changes in the total polyphenolic content and antioxidant capacities of perilla (*Perilla frutescens* L.) plant extracts during the growth cycle. *Journal of Food Quality Volume 2017*, Article ID 7214747, 8 pages.
 17. Ghamari, H., Saidi, M., Ghaasemnejaad, A. and Ghanbari, A.R. 2016. Evaluation of phytochemical composition of sahandian savory (*Satureja sahendica* Bornm.) essential oils at different phenological stages. *Journal of Agroecology*, 8(1): 1-16.
 18. Ghasemnezhad, A.S., Hemmati, K.H. and Rezazadeh, A. 2012. Effect of harvest time on antioxidant potential of artichoke leaves. Final report of research project at Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources.
 19. Hoshani, M., Mianabadi, M., Aghdasi, M. and Azim Mohseni, M. 2013. An investigation of antioxidant activity of *Physalis alkekengi* methanolic extracts in different phenological stages. *Iranian Journal of Plant Biology*, 4(14): 101-114.
 20. Jakovljević, Z.D., Stanković, S.M. and Topuzović D.M. 2013. Seasonal variability of *chelidoniummajus* l. secondary metabolites content and antioxidant activity. *EXCLI Journal*, 12: 260-268.
 21. 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(7): 1796-1800.
22. Karimi, M.M. 1992. Isfahan Province Climate. Budget and Planting Organization of Isfahan Province, Isfahan.
 23. Khalasi Ahwazi, L., Heshmati, G., Zofan, P. and Akbarlou, M. 2016. Total phenol, flavonoid contents and antioxidant activity of *Gundelia tournefortii* L. in different phenological stage and habitats of North East of khozestan province. Eco-phytochemical Journal of medicinal plants, 4(1): 33-46.
 24. Koksai, E., Bursal, E., Dikici, E., Tozoglu, F. and Gulcin, I. 2011. Antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves. Journal of Medicinal Plants Research, 5: 217-222.
 25. Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V. and Cardinali, A. 2009. Globe artichoke: a functional food and source of nutraceutical ingredients. Journal of Functional Foods, 1: 131-144.
 26. Lombardo, S., Pandino, G. and Mauromicale, G. 2013. Total polyphenol content and antioxidant activity among clones of two Sicilian globe artichoke landraces. Search Results. Acta Horticulturae, 983: 95-101.
 27. Agielse, J., Verlaet, A., Breynaert, A., Keenoy, B.M., Apers, S., Pieters, L. and Hermans, N. 2014. Investigation of the in vivo antioxidative activity of *Cynara scolymus* (artichoke) leaf extract in the streptozotocin-induced diabetic rats. Molecular Nutrition & Food Research, 58(1): 211-215.
 28. Mansol Mollashahi Khumaki, A. and Varasteh Moradi, A. 2015. Effect of different extraction methods on effective compounds and antioxidant activity of artichoke (*Cynara scolymus* L.) extract in Golestan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants 11(3): 74-85.
 29. McDonald, S., Prenzler, P.D., Autolovich, M. and Robards, K. 2001. Phenolic content and antioxidant activity of olive extracts. Food Chemistry, 73:73-84.
 30. Melilli, M.G., Tringali, S., Riggi, E. and Raccuia, S.A. 2007. Screening of genetic variability for some phenolic constituents of globe artichoke. Acta Horticulturae, 730: 85-91.
 31. Mocelin, R., Marcon, M., Santo, G.D., Zanatta, L., Sachett, A., Schönell, A.P., Bevilaqua, F., Giachini, M., Chitolina, R., Wildner, S.M., Duarte, M.M.M.F., Conterato, M.M.G., Piato, A.L., Gomes, D.B. and Roman Junior, W.A. 2016. Hypolipidemic and antiatherogenic effects of *Cynara scolymus* in cholesterol-fed rats. Revista Brasileira de Farmacognosia, 26: 233-239.
 32. Mohamed Abdel Magied, M., Hussien, S., Mohamed Zaki, S. and Mohamed EL Said, R. 2016. Artichoke (*Cynara scolymus* L.) leaves and heads extracts as hypoglycemic and hypocholesterolemic in rats. Journal of Food and Nutrition Research, 4(1): 60-68.
 33. Naghiloo, S., Movafeghi, A., Delazar, A., Nazemiyeh, H., Asnaashari, S. and Dadpour, M.R. 2012. Ontogenetic variation of volatiles and antioxidant activity in leaves of *Astragalus compactus* lam. (Fabaceae). EXCLI Journal, 11: 436-443.
 34. Nouraei, S., Rahimmalek, M., Saeidi, G. and Bahreininejad, B. 2016. Variation in seed oil content and fatty acid composition of globe artichoke under different irrigation regimes. Journal of the American Oil Chemists' Society, 93(7):953-962.
 35. Omezzine, F., Bouaziz, M., Simmonds, M.S.J. and Haouala, R. 2014. Variation in chemical composition and allelopathic potential of mixoploid *Trigonella foenum-graecum* L. with developmental stages. Food Chemistry, 148: 188-195.
 36. Omidbaigi, R. 2005. Approach to the production and processing of medicinal plants, Volume 1, Astan Quds Publication, Tehran, Iran.
 37. Pandino, G., Lombardo, S., Mauromicale, G. and Williamson, G. 2011. Profile of polyphenols and phenolic acids in bracts and receptacles of globe artichoke (*Cynara cardunculus* var. *scolymus*)

- germplasm. Journal of Food Composition and Analysis, 24: 148-153.
38. Pandino, G., Lombardo, S., Lo Monaco, A., Mauromicale, G. 2013. Choice of time of harvest influences the polyphenol profile of globe artichoke. Journal of Functional Foods, 5: 1822-1828.
39. Pistón, M., Machado, I., Branco, C.S., Cesio, V., Heinzen, H., Ribeiro, D., Fernandes, E., Chisté, R.C. and Freitas, M. 2014. Infusion, decoction and hydroalcoholic extracts of leaves from artichoke (*Cynara cardunculus* L. subsp. *cardunculus*) are effective scavengers of physiologically relevant ROS and RNS. Food Research International, 64: 150-156.
40. Pretti, I., Carolyne da Luz, A. and Batitucci, M.C.P. 2018. Phytochemical analysis and antioxidant activity of *Tithonia diversifolia* in the vegetative and reproductive stages. In: Proceedings of Brazilian Conference on Natural Products and Annual Meeting on Micro molecular Evolution, Systematics and Ecology. Campinas: GALOÁ.
41. Saeb, K., Gholamrezaee, S. and Asadi, M. 2011. Variation of antioxidant activity of *Melissa officinalis* leaves extracts during the different stages of plant growth. Biomedical and Pharmacology Journal, 4(2). Available from: <http://biomedpharmajournal.org/?p=1933>.
42. Salem, N., Sriti, J., Bachrouch, O., Msaada, K., Khammassi, S., Hammami, M., Selmi, S., Boushah, E., Ouertani, M., Hachani, N., Abderraba, M., Marzouk, B., Limam, F. and Ben Jemaa, J.M. 2018. Phenological stage effect on phenolic composition and repellent potential of *Mentha pulegium* against *Tribolium castaneum* and *Lasioderma serricorne*. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine (APJTB), 8(4): 207-216.
43. Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M. and Iseki, K. 2011. In vitro and in vivo antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. International Journal of Pharmaceutics, 403: 136-138.
44. Sellami, I.H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W.A., Kchouk, M.E. and Marzouk, B. 2009. Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet majoram (*Origanum majorana* L.). Industrial Crops and Products, 30: 395-402.
45. Sheikhi, R., Zabih Zadeh, S.M., Nazarnejad, N. and Ebrahimzadeh, M.A. 2014. The importance of plant antioxidants and the need to research and develop them. The first national Conference of Medicinal herbs, Traditional Medicine and Organic agriculture. Hamadan, Iran.
46. Siriamompus, S. and Suttajit, M. 2010. Micro chemicals compounds and antioxidant activity of different morphological part of Thai wild purslane (*portulaca oleraceae* L.). Weed science, 58(3):182-188.
47. Torabi, N. and Zarin-Kamar, F. 2015. Total phenol, flavonoids and antioxidant properties of saffron leaves (*Crocus sativus* L.) in growth stages. 1st Conference on Horticultural Sciences and biology. Tehran, Iran.
48. Tsevegsuren, N., Davaakhuu, G. and Udval, T.S., 2014. Phytochemical analysis of *Cynara scolymus* L. cultivated in Mongolia. Mongolian Journal of Chemistry, 15 (41): 40-42.
49. Uddin, M.K., Juraimi, A.S., Ali, M.E. and Ismail, M.R. 2012. Evaluation of antioxidant properties and mineral composition of purslane (*Portulaca oleracea* L.) at different growth stages. international journal of molecular sciences, 13: 10257-10267.
50. Wong, C., Li, H. and Cheng, F. 2006. A systematic survey of antioxidant activity of 30 Chinese medicinal plants using the ferric reducing antioxidant power assay. Food Chemistry, 97: 705-711.
51. Zhang, Z. and Zhux, H. 2004. Phenolic compounds from the leaf extract of Artichoke (*Cynara scolymus*) and their antimicrobial activities. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 52(24): 7272-8.

52. Zhang, Z., Liao, L., More, J., Wu, T. and Wang, Z. 2009. Antioxidant phenolic compounds from walnut kernels (*Juglans regia* L.). Food Chemistry, 113(1): 160-165.