Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 7671-2423
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Evalution of phytochemical screening of *Rhamnus pallasii* parts at different phenological stages

Akram Taleghani*, Soghra Mahmoudi, Majid Mokaber-Esfahani
[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran, Email: akramtaleghani@yahoo.com
[2]Department of Chemistry, Faculty of Science, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran, Email: s.m.teacher.com@gmail.com
[3]Department of Chemistry, Faculty of Science, Gonbad Kavous University, Gonbad, Iran, Email: m_mokaber@yahoo.com

Serial 68, 17th year, Number 4, Winter 2023 (69-81)

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 25.04.2022
Revised: 14.06.2022
Accepted: 17.06.2022
Published:24.12.2022

Keywords
Rhamnus pallasii subsp. *Sintenisii*
Total phenol; total flavonoid
Total phenolic acid
Total anthocyanin
Antioxidant

Abstract

Rhamnus pallasii Fisch. & C.A.Mey. is one of the most important species of the *Rhamnaceae* family, which have widely distributed in Iran. Various factors such as different harvest period, habitat, and climate affect the content of plant secondary metabolites. In this study, phytochemical screening in different morphological parts (fruit, leaf, bark and root) investigated in April, May, July, August and October based on different climatic and phenological conditions. Different parts extracted with water-methanol (80%). The content of phenolics, flavonoids, anthocyanins and phenolic acid compounds of extracts was determined by spectrophotometry method and the antioxidant diphenyl pykryl hydrazyl (DPPH) test was used. The results are significant at the level of 0/05. Methanolic extract of fruit collected in October showed the largest content of total phenolics (583.66 ± 1.02 µg GAE/g DE), anthocyanin (9.06 ± 0.019 mg /l) and phenolic acid (53.87 ± 1.52 µg CAE/g). Also, the highest total flavonoid content was found in methanol extract of leaves in April (514.48±1.77µg QE/g). The fruits exhibited excellent antioxidant properties with IC_{50} value of 7.52±0.24 µg/ml in October, followed by leaves (8.18±0.29 µg/ml in March), roots (13.50±0.29 µg/ml in March) and barks (14.79±0.37 µg/ml in May). As a result, there is seasonal variation in both the quality and quantity of phenolic compound in different parts of *Rhamnus*. The phenolic-rich extracts in this study can be effectively used for both research and industrial applications.

Please cite this article as: Taleghani, A., Mahmoudi, S., Mokaber-Esfahani, M. (2023). Evalution of phytochemical screening of *Rhamnus pallasii* parts at different phenological stages. *Journal of Plant Environmental Physiology.* 68(4): 69-81.

Doi: 10.30495/iper.2022.1956943.1790
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.9.8

© 2023. All Rights Reserved

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۷۶۷۱-۲۴۲۳
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی اندام های گیاه تنگرس طی مراحل مختلف فنولوژیکی

اکرم طالقانی[1*]، صغری محمودی[2]، مجید مکبر-اصفهانی[3]

[1]گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، رایانامه: akramtaleghani@yahoo.com
[2]گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، رایانامه: s.m.teacher.com@gmail.com
[3]گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گنبد کاووس، گنبد کاووس، ایران، رایانامه: m_mokaber@yahoo.com

سال هفدهم، شماره ۶۸، زمستان ۱۴۰۱ / صفحات: ۸۱-۶۹

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۱۲/۰۱
تاریخ بازنگری: ۱٤۰۰/۰٤/۱۹
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۰/۰٤/۲۸
تاریخ چاپ: ۱٤۰۱/۱۰/۰۳

واژه‌های کلیدی:
تنگرس
فنول کل
فلاونوئید کل
فنولیک اسید کل
آنتوسیانین کل
آنتی اکسیدان

چکیده

گیاه تنگرس با نام علمی *Rhamnus pallasii* Fisch. & C.A.Mey. یکی از گونه‌های مهم خانواده *Rhamnaceae* است، که توزیع گسترده‌ای در ایران دارد. فاکتورهای مختلف از جمله زمان‌های مختلف برداشت، رویشگاه، آب و هوا بر روی محتوای متابولیت‌های ثانویه تاثیر می‌گذارد. در این پژوهش اندام‌های مختلف میوه، برگ، پوست و ریشه این گیاه بر اساس شرایط اقلیمی و فنولوژیکی مختلف گیاهان در ماه‌های فروردین، اردیبهشت، تیر، مرداد و مهر جمع‌آوری و با روش خیساندن در حلال متانول ۸۰ درصد عصاره‌گیری شدند. محتوای ترکیبات فنولی کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل و فنولیک اسید کل عصاره‌ها به روش اسپکتروفتومتری و فعالیت ضد رادیکالی عصاره‌ها با آزمون مهار رادیکال‌های DPPH در ماه‌های مختلف اندازه‌گیری شد. نتایج در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد معنادار هستند. حداکثر ترکیبات فنولی (۱/۰۲±۵۸۳/٦٦ میکروگرم گالیک اسید/گرم گیاه خشک)، آنتوسیانین (۰/۰۱۹ ± ۹/۰٦۲ میلی‌گرم/ لیتر) و فنولیک اسید (۱/۵۲±۵۳/۸۷ میکروگرم کافئیک اسید/گرم گیاه خشک) در اندام میوه و در ماه مهر و حداکثر ترکیبات فلاونوئیدی (۱/۷۷±۵۱٤/٤۸ میلی‌گرم کوئرستین/ گرم گیاه خشک) در اندام برگ و در ماه فروردین به دست آمد. عصاره میوه‌ها دارای بیشترین خواص آنتی اکسیدانی با مقدار IC۵۰، ۰/۲٤ ± ۷/۵۲ میکروگرم بر میلی لیتر در ماه مهر بودند، پس از آن برگ ها با ۰/۲۹±۸/۱۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر در ماه فروردین، ریشه با ۰/۲۹±۱۳/۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر در ماه فروردین و پوست درخت با ۰/۳۷±۱٤/۷۹میکروگرم در میلی‌لیتر در ماه اردیبهشت به ترتیب قرار گرفتند. نتایج این پژوهش نشان داد که کیفیت و کمیت محتوی مواد موثره اندام‌های مختلف تنگرس تحت شرایط تغییرات فصلی متفاوت است و می‌توان از این نتایج برای استخراج حداکثر ترکیبات به منظور آنالیزهای بعدی و همچنین استفاده در صنایع مختلف دارویی و غذایی بهره برد.

استناد: طالقانی، ا.، محمودی، ص.، مکبر-اصفهانی، م. (۱٤۰۱). بررسی خصوصیات فیتوشیمیایی اندام های گیاه تنگرس طی مراحل مختلف فنولوژیکی. *نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ٦۸ (٤)، ۸۱-٦۹.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi: 10.30495/iper.2022.1956943.1790
Dor: 20.1001.1.24237671.1401.17.68.9.8

مقدمه

طبیعت منبع غنی از گیاهان است، نزدیک به هشت هزار گونه گیاهی شناخته شده در ایران رویش دارند که اغلب دارای خواص دارویی می‌باشند (Valizadeh et al., 2011). امروزه توجه به داروهای گیاهی به خاطر عوارض جانبی کمتر آن‌ها نسبت به داروهای شیمیایی افزایش یافته‌است و تحقیقات در زمینه استخراج ترکیبات فعال بیولوژیکی از گیاهان به سرعت درحال انجام است (Asghari and Mazaheritehrani, 2010). تیره عنابیان (*Rhamnaceae*) یک خانواده دارای ۵۹ جنس و حدود ۹۰۰ گونه است (Marzouk et al., 1999). از جنس تنگرس (*Rhamnus*) به‌عنوان یکی از بزرگ‌ترین جنس‌های تیره عنابیان تاکنون هشت گونه در ایران گزارش‌شده است (Coşkun et al., 1984). گونه‌های این جنس به شکل بوته یا درخت کوچک به بلندی ۱ تا ۱۰ متر و به ندرت تا ۱۵ متر می‌رسند و معمولاً به عنوان خولان شناخته می‌شوند، گونه‌ها به دو حالت برگریز و همیشه‌سبز وجود دارند (Zeouk and Bekhti, 2020). گونه Fisch. & *Rhamnus pallasii*.C.A.Mey درخچه‌ای خاردار به ارتفاع ۱ تا ٤ متر و بیشتر بومی مناطق خزری، ایرانی، تورانی و زاگرسی بوده و نسبت به دیگر گونه‌ها دارای برگ‌های باریکتری می‌باشد (Dinavand and Sufian, 2007). ترکیبات فنولی گروه بزرگی از مواد طبیعی گیاهی شامل فلاونوئیدها، تانن‌ها و آنتوسیانین‌ها و... می‌باشند که معمولا در قسمت‌های مختلف گیاه بیوسنتز می‌شوند (Lakshmanashetty et al., 2010). ترکیبات فنولی با داشتن خاصیت آنتی‌اکسیدانی و آنتی رادیکالی نقش مهمی در نگهداری محصولات غذایی، دارویی و آرایشی دارند (Fathiazad et al., 2010). مطالعات ترکیبات فیتوشیمیایی جنس تنگرس نشان می‌دهد که غنی از آنتراکینون بوده و جداسازی تری گلیکوزیدهای فلاونول، آنتراسن‌ها، نفتول‌ها، تری ترپن‌ها و مشتقات گلیکوزیدی از برخی از گونه‌های تنگرس گزارش شده است (Chen et al., 2016; Marzouk et al., 1999). در مطالعه‌ای دیگر از میان شانزده گونه تنگرس در جنوب و شرق آناتولی، میوه *R. Pallasii* و پوست *R. cornifolius* به‌عنوان غنی‌ترین گونه‌ها از نظر محتوای مشتقات آنتراکینونی شناخته شدند (Coşkun, 1989). همچنین بررسی‌های فیتوشیمیایی شامل محتوی آنتراکینون، تانن، فلاونوئید، آلکالوئید، ساپونین و ویتامین ث بر روی برگ و پوست گونه *R. cornifolia*، صورت گرفته‌است (Azadbakht et al., 2015).

امروزه گزارشات نشان می‌دهند که متابولیت‌های گیاهی هیچگاه در اندام‌ها ثابت نبوده و متناسب با رشد گیاه و عوامل محیطی، شرایط رویشگاه، زمان برداشت، عوامل ژنتیکی و نیز فنولوژی دستخوش تغییر می‌شوند (Dambolena et al., 2010; Conforti et al., 2007). محتوی ترکیبات فنولی و آنتی اکسیدانی گیاه خرزهره(*Secondatia floribunda*) تحت تاثیر فصل رشد، تفاوت معنادار مشاهده شده است (Ribeiro et al., 2020). در مطالعه‌ای بر روی تغییرات ترکیبات شیمیایی در مراحل رشد بر روی دو گیاه هالوفیت (*Climacoptera turcomanica* *Frankenia hirsute;*) و همچنین گیاه چای اختلاف معناداری در مقادیر ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در فصل های مختلف برداشت گزارش شده‌است (Rezaei Kenti and Ghorbanli, 2016). به هر حال، تاکنون هیچ گزارشی مبنی بر اندازه‌گیری و مقایسه محتوی فنول، فلاونوئید، فنولیک اسید، آنتوسیانین و ظرفیت آنتی اکسیدانت گونه‌های جنس تنگرس از جمله *R. Pallasii* در طول دوره‌های رویشی وجود ندارد. هدف از این مطالعه گزارش بهترین زمان برداشت اندام‌های مختلف گیاه تنگرس از لحاظ

حداکثر میزان مواد موثره به منظور استفاده در صنایع مختلف دارویی و غذایی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاهی: در این تحقیق اندام‌های مختلف (میوه، برگ، پوست و ریشه) گیاه *R. pallasii* subsp. *Sintenisii* از رویشگاه طبیعی آن واقع در خراسان شمالی، با مختصات جغرافیایی ٥٦ درجه و ٥٦ دقیقه طول شرقی و ۳۷ درجه و ۲۹ دقیقه عرض شمالی و ارتفاع ۱۰۱۲متر از سطح دریا در مراحل فنولوژیکی خود به ترتیب در بهار، تابستان و پاییز سال ١٤٠٠ جمع‌آوری و در هرباریوم دانشکده کشاورزی گنبد کاووس مورد شناسایی قرارگرفت (شماره هرباریوم ۸۰۳۸۹۳). اندام‌های مختلف بعد از خشک شدن در سایه جهت آنالیز مورد استفاده قرار گرفتند.

تهیه عصاره: اندام‌های پوست، میوه، برگ، ریشه پس از جمع‌آوری در دمای زیر ۳۰ درجه سانتی‌گراد و تا رسیدن به وزن ثابت در سایه خشک، سپس آسیاب و بعد ازچربی‌زدایی با اترپترولیوم، با حلال متانول ۸۰ درصد به روش خیساندن برای انجام تست‌ها عصاره‌گیری شدند. به این صورت که به ۱ گرم از هر اندام بعد از چربی زدایی، ۱۰ سی سی متانول ۸۰ درصد اضافه شد و بعد به مدت ٢٤ ساعت بر روی شیکر قرارگرفت و بعد با کاغذ واتمن صاف و خشک شده و جهت آنالیزهای (فنول کل، فلاونوئید کل، فنولیک اسید کل، آنتوسیانین کل و آنتی اکسیدان)، در دمای منفی ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری ترکیبات فنولی کل: میزان فنول کل بر اساس روش فولین سیوکالتو (Folin-ciocalteu) اندازه‌گیری شد (Hayouni et al., 2007). 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. مقدار۲۰میکرولیتر از محلول عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه با ۱/۱٦۰میکرولیتر آب مقطر و ۱۰۰میکرولیتر معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. بعد از گذشت ۵ دقیقه،۳۰۰ میکرولیتر محلول کربنات سدیم ۲۰٪(وزنی/حجمی) به آن‌ها افزوده شد. لوله‌های آزمایش بعد از تکان دادن درون حمام آب گرم با دمای٤٠ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و پس از گذشت ۳۰ دقیقه جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومترUV/Vis در طول موج ٧٦٠ نانومتر خوانده‌شد. جهت رسم منحنی استاندارد از اسیدگالیک استفاده شد و نتایج برحسب میکروگرم اسیدگالیک در هر گرم گیاه خشک بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش شد.

اندازه‌گیری ترکیبات فلاونوئیدی کل: سنجش میزان فلاونوئید کل به روش رنگ سنجی آلومینیوم اندازه‌گیری شد (Chang et al., 2002). میزان ۰/۵ میلی‌لیتر عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ ٪، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰٪ ،۰/۱میلی‌لیتر استات پتاسیم یک مولار و ۲/۸میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید. بعد از نگهداری نمونه‌ها در دمای اتاق به مدت ٤٠ دقیقه، جذب مخلوط در ٤١٥ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده‌شد. از کوئرستین به منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد. میزان کل ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره با استفاده ازمعادله بدست آمده از منحنی استاندارد محاسبه و نتایج بر حسب میکروگرم کوئرستین در هرگرم گیاه خشک بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش گردید.

اندازه‌گیری ترکیبات آنتوسیانین: اصول روش کار تعیین مقدار ترکیبات آنتوسیانین بر اساس تغییر مقدار جذب UV مولکول آنتوسیانین با تغییر pH محیط

انحلال می‌باشد (Camelo-Méndez et al., 2013). برای سنجش آنتوسیانین ابتدا ۲ میلی‌لیتر از عصاره استخراج شده گیاهی با محلول بافر (pH=1 مخلوط ۱۲۵میلی‌لیتر پتاسیم کلرید۰/۲مولار و۳۷۵میلی‌لیتر کلریدریک اسید۰/۲مولار) به حجم نهایی ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس ۲ میلی‌لیتر دیگر از این عصاره استخراج شده گیاهی نیز با محلول بافر (pH=4.5) شامل مخلوط ۲۰۰ میلی‌لیتر سدیم استات ۱ مولار و ۱۲۰ میلی‌لیتر کلریدریک اسید ۱ مولار و ۱۶۰ میلی لیتر آب مقطر) به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۱۰ نانومتر خوانده‌شد. غلظت آنتوسیانین‌ها توسط معادله زیر محاسبه گردید.

$$C(mg/l) = (Abs\ pH_{1} - Abs\ pH_{4.5}) \times 484.82 \times 1000/24825 \times DF$$

در معادله بالا C غلظت (میلی‌گرم بر لیتر) ترکیبات آنتوسیانینی عصاره‌ی گیاه بر اساس مولکول سیانیدین-۳-گلوکوزید، $Abs\ pH_1$، میزان جذب نمونه در pH=1 و $Abs\ pH_{4.5}$، میزان جذب نمونه در pH=4.5 می‌باشد. عددهای ۴۸۴/۸۲ و ۲۴۸۲۵ به ترتیب وزن مولکولی و ضریب جذب مولی مولکول سیانیدین-۳- گلوکوزید در طول موج ۵۱۰ نانومتر در محلول بافری می‌باشد. DF نیز عامل رقت محسوب می‌شود.

اندازه‌گیری محتوی ترکیبات فنولیک اسید: برای اندازه‌گیری فنولیک اسید کل در عصاره‌ها، مقدار یک میلی‌لیتر از عصاره هیدرومتانولی اندام‌های مختلف گیاه را با همان حجم معرف آرانو (سدیم مولیبدات ۱۰٪وزنی/حجمی و سدیم نیتریت ۱۰٪ وزنی/ حجمی) و هیدروکلریک اسید ۰/۱ مولار و سدیم هیدروکسید ۱مولار مخلوط کردیم و بعد مخلوط بدست آمده را در یک ظرف حجمی به حجم ۱۰ میلی‌لیتر رساندیم و بعد بلافاصله جذب آن را در ۴۹۰ نانومتر اندازه‌گیری کردیم، از کافئیک اسید به‌منظور رسم منحنی استاندارد استفاده شد، میزان کل ترکیبات فنولیک اسید موجود در عصاره با استفاده از معادله بدست آمده از منحنی استاندارد محاسبه گردید و عددها براساس میکروگرم اسیدکافئیک بر گرم گیاه خشک بیان شد. آزمایش‌ها در سه تکرار انجام و میانگین آن‌ها گزارش گردید (Mihailović et al., 2016).

تعیین فعالیت آنتی اکسیدانتی (روش ارزیابی میزان مهار رادیکال آزاد DPPH): ۲و′۲ دی فنیل ۱-پیکریل هیدرازیل (DPPH)، رادیکال چربی دوستی است که دارای جذب بیشینه در طول موج ۵۱۷ نانومتر است. در آزمون DPPH گروه‌های هیدروکسیل ترکیبات آنتی‌اکسیدانتی با دادن H به رادیکال‌های آزاد DPPH منجر به کاهش مولکول‌های DPPH می‌گردند که با تغییر رنگ محلول واکنش از رنگ بنفش تیره به زرد روشن همراه است. در نتیجه جذب در طول موج۵۱۷ نانومتر کاهش می‌یابد. جذب در طول موج ۵۱۷ نانومتر بیانگر مقدار DPPH باقی مانده است. در این روش به غلظت‌های مختلف عصاره، ۵ میلی‌لیتر محلول متانولی ۰/۰۰۴٪ DPPH اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرارداده و میزان جذب آن در ۵۱۷ نانومتر خوانده شد. درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید.

$$I\%=100\times(A_0-A_s)/A_0$$

A_0، جذب کنترل (حاوی همه اجزا واکنشگر بدون نمونه) و A_s جذب نمونه است. سپس نتایج به صورت (IC_{50} غلظتی از عصاره که می‌تواند ۵۰ درصد رادیکال آزاد DPPH را مهار کند) بیان شد (Brand-Williams et al., 1995).

آزمون‌های آماری

آزمایش‌ها به صورت سه بار تکرار صورت گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها توسط نرم‌افزار SAS با نسخه ۹/۳ و مقایسه میانگین‌ها با کمک آزمون حداقل

اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Microsoft Excel ورژن ۲۰۱۰ تعیین گردید.

نتایج

نتایج بیانگر اختلاف معنادار در اندام‌های مختلف گیاه تنگرس در مراحل فنولوژیکی از لحاظ میزان فنول کل، فلاونوئید کل، آنتوسیانین کل، فنولیک اسید کل و آنتی اکسیدانت در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد. مطابق نتایج کمترین ضریب تغییرات مربوط به آنتی اکسیدان و فنول کل به‌ترتیب معادل ۰/۱۷ و ۰/۲۲ اختصاص داشت (جدول۱).

جدول۱: تجزیه واریانس تغییرات محتوای فنولی کل، فلاونوئید کل، فنولیک‌اسید کل، آنتوسیانین‌کل و آنتی‌اکسیدانت در زمان‌های مختلف جمع آوری در اندام‌های میوه، پوست، برگ و ریشه

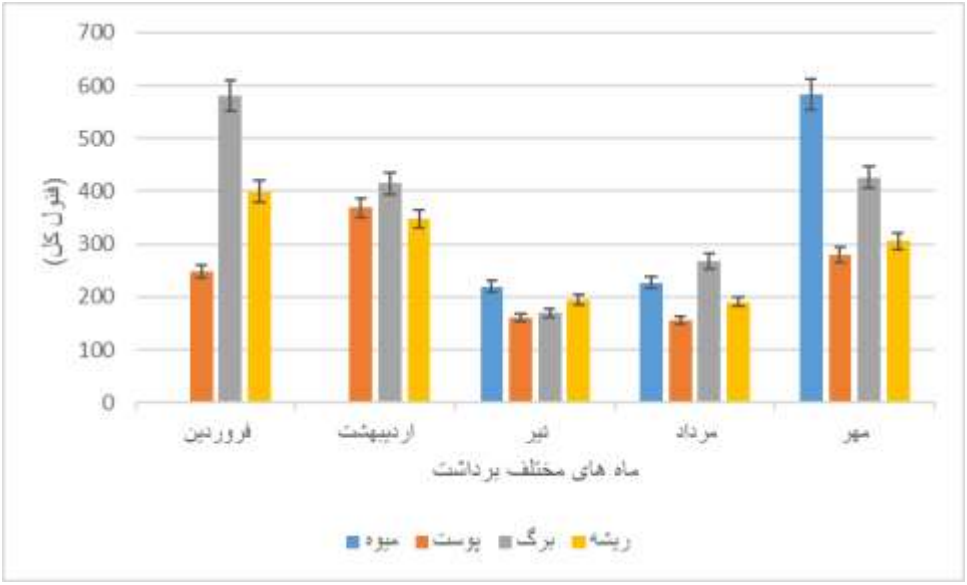
منابع تغییرات	درجه آزادی	فنول کل	فلاونوئید کل	فنولیک اسید کل	آنتوسیانین	DPPH
تیمار	٤	۱۷۰٤٤/۸۲*	۱۲۷۳۵/۹۸*	۱۸۱/٦٤*	۵/۷۵*	۳۷/۹۱*
خطا	۸	۰/۰٤۵	۰/۰۳۸	۰/۰۰۵	۰/۰۰۱	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات		۰/۲۲	۰/۲٤	۰/۳٦	۰/۷٦	۰/۱۷

* نشان دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد

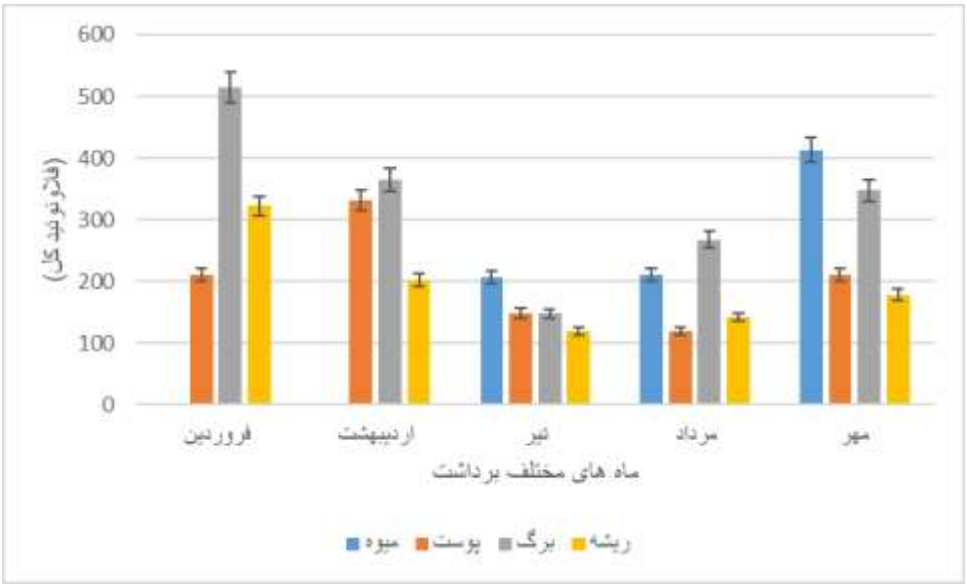
ترکیبات فنولی کل: میزان ترکیبات فنولی کل عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه تنگرس برمبنای مقادیر جذب ناشی از واکنش عصاره با معرف فولین سیوکالتو و بر اساس مقایسه آن با محلول‌های استاندارد گالیک اسید و طبق معادله‌ی خط بدست آمده از منحنی استاندارد گالیک اسید (R^2= 0.9909; y=0.0086x-0.0104) محاسبه گردید.

در این بررسی ۳ نمونه میوه، ۵ نمونه پوست، ۵ نمونه برگ و ۵ نمونه ریشه در فصل‌های مختلف رویشی (فروردین، اردیبهشت، تیر، مرداد و مهر) بررسی شدند که اعداد بدست آمده در جدول ۲ قرار گرفته است، تمام اعداد در سطح احتمال ۵ درصد برای اندام میوه، پوست و برگ معنادار و در اندام ریشه به جز مقادیر تیر و مرداد معنادار می‌باشند. مطابق نتایج میزان فنول کل رابطه مثبت و معناداری با میزان فلاونوئید کل و فنولیک اسید کل نشان داد. همبستگی فنول کل با میزان آنتوسیانین نیز مثبت و غیرمعنی‌دار می‌باشد. در مقابل بین متغیر فنول کل با حداقل غلظت مهار کنندگی (IC_{50}) یک رابطه منفی و معنی‌داری برقرار بود (جدول ۳). مقایسه میزان فنول کل در فصل‌های مختلف رویشی در شکل ۱ نشان داده شده است.

ترکیبات فلاونوئیدی کل: میزان ترکیبات فلاونوئیدی کل عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه تنگرس به روش رنگ سنجی آلومینیوم اندازه‌گیری شد. پس از قرار دادن میزان جذب عصاره متانولی اندام‌های مختلف تنگرس در معادله خط منحنی استاندارد کوئرستین ($y=0.0071x+0.0338;R^2=0.9849$) میزان ترکیبات فلاونوئیدی محاسبه گردید. در این بررسی ۳ نمونه میوه، ۵ نمونه پوست، ۵ نمونه برگ و ۵ نمونه ریشه در فصل های مختلف رویشی بررسی شدند که اعداد بدست آمده در جدول ۲ قرار گرفته است، تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۵ درصد معنادار می باشند. طبق همبستگی پیرسون، ترکیبات فلاونوئیدی با فنول کل همبستگی مثبت و معنی دار و با ترکیبات فنولیک اسید و آنتوسیانین‌ها همبستگی مثبت وغیر معناداری و با حداقل غلظت مهار کنندگی همبستگی منفی و معنی‌دار داشته است (جدول۳). مقایسه میزان فلاونوئید کل در فصل‌های مختلف رویشی نیز در شکل ۲ نشان داده شده است.



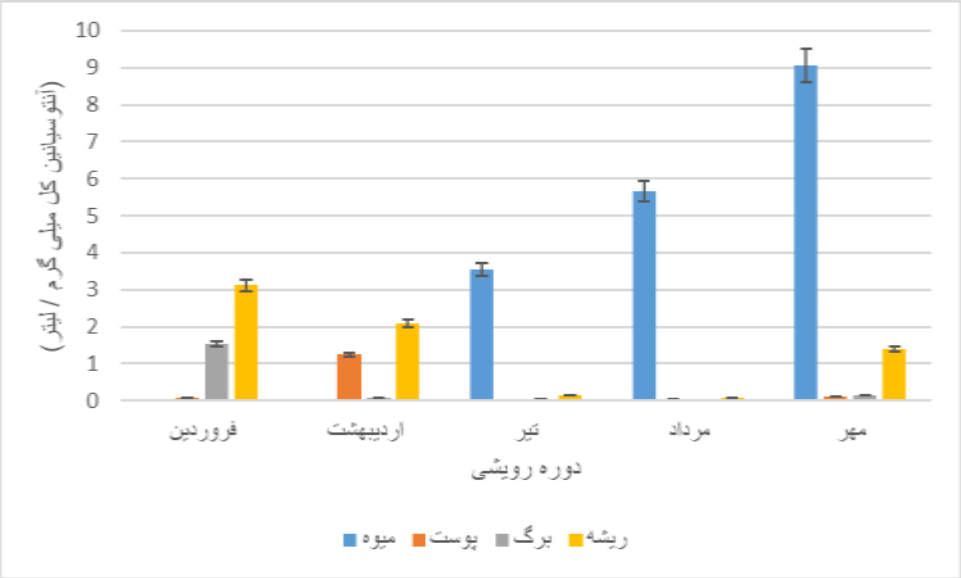
شکل ۱: تغییرات محتوای فنولی کل در زمان های مختلف جمع آوری در اندام‌های مختلف. مقادیر میانگین سه تکرار ±SD است. تمام اعداد مربوط به یک اندام (به جز اندام ریشه در ماه تیر و مرداد) در سطح احتمال ۰/۰۵ P معنادار می‌باشند.



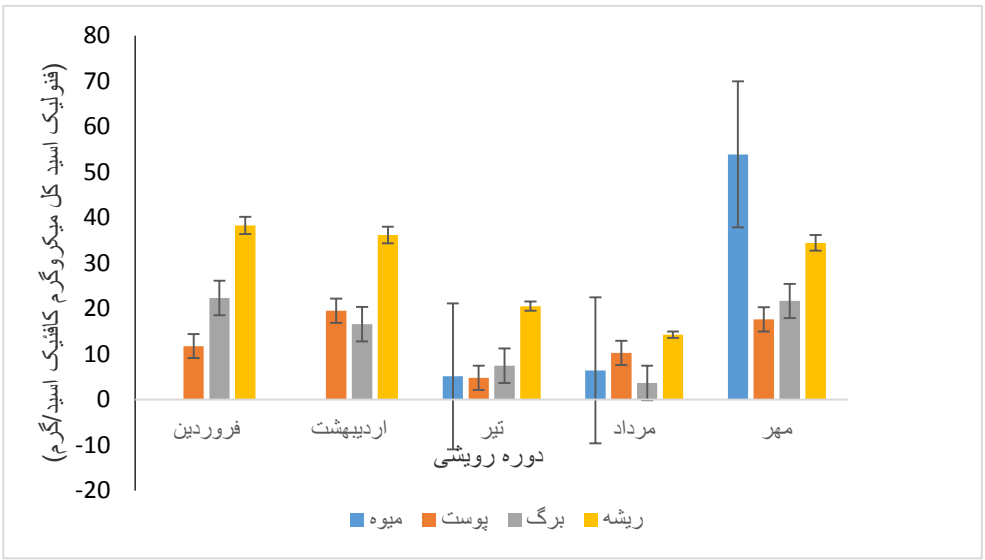
شکل ۲: تغییرات محتوای فلاونوئید کل در زماهای مختلف جمع آوری در اندام های مختلف. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۰/۰۵ P معنادار می‌باشند.

ترکیبات آنتوسیانین: آنتوسیانین‌ها به عنوان ترکیبات فنولی مسئول رنگ بسیاری از گیاهان هستند (Longo et al., 2005). تاکنون ترکیبات آنتوسانین *R. pallasii* گزارش نشده است. میزان آنتوسانین عصاره متانولی اندام‌های مختلف گیاه تنگرس بر اساس تغییر جذب UV مولکول آنتوسیانین با تغییر PH محیط انحلال اندازه‌گیری شد. در این بررسی ۳ نمونه میوه، ۵ نمونه پوست، ۵ نمونه برگ و ۵ نمونه ریشه در فصل‌های مختلف رویشی بررسی شدند. اعداد بدست آمده در جدول ۲ قرار گرفته‌است، تمام اعداد مربوط به یک

اندام در سطح احتمال ۵ درصد معنادار می باشند. ترکیبات آنتوسیانین با ترکیبات فنولیک اسید همبستگی مثبت و معنادار داشته و با بقیه متغیرها دارای تفاوت معنادار نمی‌باشد (جدول ۳). مقایسه میزان آنتوسیانین کل در فصل‌های مختلف رویشی نیز در شکل ۳ نشان داده شده است.



شکل ۳: تغییرات محتوای آنتوسیانین کل در زمان‌های مختلف جمع آوری در اندام‌های مختلف. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۰/۰۵ □ P معنادار می‌باشند.



شکل ٤: تغییرات محتوای فنولیک اسید کل در زمان‌های مختلف جمع آوری در اندام‌های مختلف. مقادیر میانگین سه تکرار ± SD است. تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۰/۰۵ □P معنادار می‌باشند.

ترکیبات فنولیک اسیدی: برای اندازه‌گیری میزان فنولیک اسید کل از منحنی استاندارد کافئیک اسید با معادله خط (Y=0.0622X-0.017; R2=0.9144) استفاده شد. مقدار جذب‌ها در معادله قرار گرفت و مقادیر محاسبه گردید. در این بررسی ۳ نمونه میوه، ۵ نمونه پوست، ۵ نمونه برگ و ۵ نمونه ریشه در

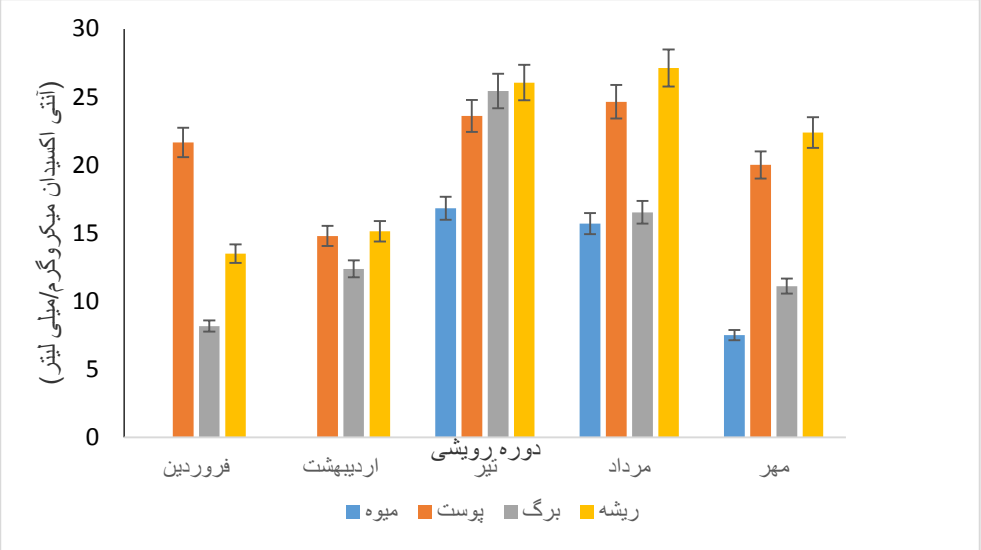
فصل‌های مختلف رویشی بررسی شدند که اعداد بدست آمده در جدول ۲ قرار گرفته‌است، تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۵ درصد معنادار می‌باشند. طبق نتایج ترکیبات فنولیک اسید با متغیر فنول کل و آنتوسیانین دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار و با بقیه متغیرها رابطه معنی‌دار نمی‌باشد (جدول۳). مقایسه میزان فنولیک اسید کل در فصل‌های مختلف رویشی نیز در شکل ٤ نشان داده شده است.

فعالیت مهار رادیکال های آزاد DPPH: در این مطالعه فعالیت آنتی‌اکسیدانتی گیاه تنگرس برای اولین بار به روش DPPH مورد ارزیابی قرارگرفت. در این بررسی ۳ نمونه میوه، ۵ نمونه پوست، ۵ نمونه برگ و ۵ نمونه ریشه در فصل‌های مختلف رویشی بررسی شدند که اعداد بدست آمده در جدول ۲ قرار گرفته است، تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۵ درصد معنادار می باشند. همبستگی حداقل غلظت مهار کنندگی با متغیرهای فنول کل و فلاونوئید کل منفی و معنی‌دار می‌باشد که نشان دهنده این است که با افزایش ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در اندام‌های گیاه مقدار کمتری عصاره جهت مهار رادیکال‌های آزاد مورد نیاز می‌باشد (جدول۳). مقایسه میزان آنتی اکسیدان در فصل‌های مختلف رویشی نیز در شکل ۵ نشان داده شده‌است.

جدول ۲: تغییرات محتوای فنول کل، فلاونوئیدکل، فنولیک‌اسیدکل، آنتوسیانین‌کل و آنتی‌اکسیدان در زمان‌های مختلف جمع آوری در اندام های میوه، پوست، برگ و ریشه

نمونه	دوره رویشی	فنول کل	فلاونوئید کل	فنولیک اسید	آنتوسیانین	مهار رادیکال آزاد
		µg GAE/g	µg QE/g	µg CAE/g	mg/l	µg/mg
میوه	تیر	۲۲۰/۱۵±۱/۰۵*	۲۰۵/۵۸ ±۱/۵۱*	۵/۱۰ ±۰/۲٤*	۳/٥٤۱ ±۰/۰۲۱*	۱٦/۸۲ ±۰/۲٥*
	مرداد	۲۲٦/۷۳±۱/۲۳*	۲۱۰/۰۹ ± ۱/۳۷*	٦/۳۹ ±۰/۳۳*	٥/٦٥٦ ±۰/۰۳۲*	۱٥/۷۰ ±۰/۳۳*
	مهر	٥۸۳/٦٦±۱/۰۲*	٤۱۳/٤۰ ± ۰/۷۰*	٥۳/۸۷ ±۱/٥۲*	۹/۰٦۲ ±۰/۰۱۹*	۷/٥۲ ±۰/۲٤*
برگ	فروردین	٥۸۱/۸۰±۱/۸۲*	٥۱٤/٤۸ ± ۱/۷۷*	۲۲/۳۳ ±۰/۲٦*	۱/٥۳۲ ±۰/۰۱٥*	۸/۱۸ ± ۰/۲۹*
	اردیبهشت	٤۱٤/۷٥±۱/۷۷*	۳٦٤/۸۲ ± ۱/۲۳*	۱٦/٥٦ ±۰/٤۲*	۰/۰۸۳ ±۰/۰۰۳*	۱۲/۳۸ ±۰/٤۲*
	تیر	۱۷۰/۳۱±۰/۹۸*	۱٤۸/۰۲ ± ۱/٥۷*	۷/٤۳ ± ۰/٥۲*	۰/۰٤۲ ±۰/۰۰۲*	۲٥/٤۳ ± ۰/٤۲*
	مرداد	۲۷۲/۸۲±۱/۷٦*	۲٦۷/٥٥ ± ۱/۹٤*	۳/٦٥ ±۰/۳٥*	۰/۰۱٥ ± ۰/۰۰٤*	۱٦/٥۳ ±۰/۳٤*
	مهر	٤۲٦/٤٤ ±/۹۸*	۳٤۷/۳٥ ± ۱/٦٥*	۲۱/٦۷ ±۰/۸۳*	۰/۱۳۷ ±۰/۰۲۰*	۱۱/۱۱ ±۰/۲۰*
پوست	فروردین	۲٤۸/۷۸±۱/۳۱*	۲۰۹/۹۷ ± ۱/٤۲*	۱۱/۷٥ ±۰/٤۲*	۰/۰۷۳ ±۰/۰۰٤*	۲۱/٦٦ ± ۰/۳۳*
	اردیبهشت	۳٦۹/۲۸±۱/۰٦*	۳۳۱/۷۱ ± ۱/٥۱*	۱۹/٥۲ ±۰/۲۳*	۱/۲۳۸ ±۰/۰۳٤*	۱٤/۷۹ ±۰/۳۷*
	تیر	۱٦۰/٥۲±۱/۰٥*	۱٤۸/۱٦ ± ۱/۷۷*	٤/۷٥ ± ۰/۳۱*	۰/۰۱۲ ±۰/۰۲۲*	۲۳/٦۱ ±۰/۳۳*
	مرداد	۱٥٥/٤۱±۱/۱۳*	۱۱۸/٤۰ ± ۲/۱۷*	۱/۲٥ ± ۰/٥٤*	۰/۰٥٤ ±۰/۰۲۰*	۲٤/٦٤ ±۰/٤۰*
	مهر	۲۸۰/۲۸±۱/۱۳*	۲۰۹/۸۹ ± ۱/۸٤*	۱۷/٦۳±۰/۸٥*	۰/۰۹۸±۰/۰۲۰*	۲۰/۰۱ ±۰/۳٦*
ریشه	فروردین	۳۹۹/٤٦±۰/۹۸*	۳۲۲/۲٦ ± ۲/۰۷*	۳۸/۲٥ ± ۰/۲۷*	۳/۱۲۱ ±۰/۰۱۲*	۱۳/٥۰ ± ۰/۲۹*
	اردیبهشت	۳٤۷/٥۷±۰/٦۲*	۲۰۲/۸٥ ± ۱/٤۹*	۳٦/۱٤ ±۰/۳٥*	۲/۰۸۲ ±۰/۰٤۳*	۱٥/۱٤ ±۰/۳۳*
	تیر	۱۹۳/٥۷±۱/٤٥	۱۱۹/٥۱ ± ۱/۲٤*	۲۰/٥۰± ۰/۲۸*	۰/۱٤۹ ±۰/۰۲۲*	۲٦/۰٥± ۰/۲٤*
	مرداد	۱۹۰/۸۹±۱/۲۷	۱٤۱/۹۲ ± ۱/٦۷*	۱٤/۲٦ ±۰/۲٤*	۰/۰۸۲ ±۰/۰۰۳*	۲۷/۱۲ ±۰/۲۲*
	مهر	۳۰٥/٦۳±۱/۳۳*	۱۷۷/۹۱ ± ۲/۰٤*	۳٤/٤۱ ±۱/۰۲*	۱/۳۸٦ ±۰/۳٦۰*	۲۲/۳۹ ± ۰/۱٦*

علامت * وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد است.



شکل ۵: تغییرات محتوای آنتی اکسیدان در زمان‌های مختلف جمع آوری در اندام‌های مختلف. مقادیر میانگین سه تکـرار ± SD است. تمام اعداد مربوط به یک اندام در سطح احتمال ۰/۰۵ معنادار می‌باشند.

جدول۳: ضرایب همبستگی میزان محتوای فنول کل، فلاونوئیدکل، فنولیک‌اسیدکل، آنتوسیانین‌کل و آنتی‌اکسـیدان در زمـان‌هـای مختلف جمع آوری در اندام های میوه، پوست، برگ و ریشه

صفات	فنول کل	فلاونوئید کل	فنولیک اسید کل	آنتوسیانین	IC_{50}
فنول کل	۱				
فلاونوئید کل	۰/۸۹*	۱			
فنولیک اسید کل	۰/۶۹*	۰/۴۲ns	۱		
آنتوسیانین	۰/۴۶ns	۰/۳۵ns	۰/۵۴*	۱	
IC_{50}	-۰/۸۲*	-۰/۷۸*	-۰/۳ns	-۰/۴ns	۱

* نشان‌دهنده معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد و **ns** نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار

بحث

تحقیقات بر روی گونه‌های مختلف گیاهان نشـان می‌دهد که زمان جمع‌آوری گیـاه بـر مقـدار ترکیبـات ثانویـه آن تـاثیر دارد و غلظـت ترکیبـات فنـولی در اندام‌های گیاهان به نوع گونه، نوع اندام و مرحله رشد گیـاه بسـتگی دارد (Bystrická etal; 2010; Zeinali etal; 2014). اندام‌های مختلف تنگرس دارای خواص فیتوشیمیایی و ترکیبات شیمیایی بسیاری مـی‌باشـند و خواص آنتی اکسیدانی و ضدباکتریایی از خـود نشـان داده‌اند (Mahmoodi et al; 2022). تـاکنون در رابطـه با گونه‌های مختلف تنگرس و تاثیر ماه‌های جمع‌آوری بر میزان مواد موثره تحقیقات بسیار محدودی صـورت گرفتـه اسـت. در یـک مطالعـه روی گونـه *R. Kurdica* تغییـرات ترکیبـات فلاونوئیـدی و آنتوسیانین در زمان قبل از گلـدهی و هنگـام گلـدهی گزارش شده است (Gholivand and piryaei, 2014). همچنین مقادیر آنتراکینون متفـاوتی بـرای گونـه‌هـای مختلف تنگرس در ماه‌های مختلف نشان داده‌است که زمان جمع‌آوری بر مقادیر فیتوشیمیایی گیاهان تاثیر به سزایی دارد که هم‌راستا با پـژوهش مـا نیـز مـی‌باشـد

(Coşkun, 1989). در پژوهش حاضر، نتایج بدست آمده از مقایسه سنجش فنول کل و زمان‌های مختلف برداشت نشان داد که بیشترین مقدار فنول کل به ترتیب در اندام میوه در ماه مهر (۱/۰۲±۵۸۳/٦٦ میکروگرم گالیک اسید/ گرم گیاه خشک)، برگ (۱/۸۲±۵۸۱/۸۰ میکروگرم/ گرم) در ماه فروردین، ریشه (۰/۹۸±۳۹۹/٤٦ میکروگرم/ گرم) در ماه فروردین و پوست (۱/۰٦±۳٦۹/۲۸ میکروگرم/ گرم) در ماه اردیبهشت می‌باشد (شکل ۱). نتایج بدست آمده از مقایسه سنجش میزان فلاونوئید کل و زمان‌های مختلف برداشت نشان داد که بیشترین مقدار فلاونوئید کل به ترتیب در اندام برگ و در ماه فروردین (۱/۷۷±۵۱٤/٤۸ میکروگرم کوئرستین / گرم گیاه خشک)، میوه در ماه مهر (۰/۷۰±٤۱۳/٤۰ میکروگرم/ گرم)، پوست در ماه اردیبهشت (۱/۵۱±۳۳۱/۷۱ میکروگرم/ گرم) و ریشه در فروردین ماه (۲/۰۷±۳۲۲/۲٦ میکروگرم/ گرم) می‌باشد (شکل ۲). بیشترین مقدار آنتوسیانین به ترتیب در اندام میوه و در ماه مهر (۱/۰۲±۵۸۳/٦٦ میلی‌گرم/لیتر)، ریشه در ماه فروردین (۰/۰۱۲±۳/۱۲۱ میلی‌گرم/لیتر)، برگ در ماه فروردین (۰/۰۱۵±۱/۵۳۲ میلی‌گرم/لیتر) و پوست در ماه اردیبهشت (۰/۰۳٤±۱/۲۳۸ میلی‌گرم/لیتر) می‌باشد (شکل ۳). بیشترین مقدار فنولیک اسید کل در ماه های مختلف به ترتیب در اندام میوه و در ماه مهر (۱/۵۲±۵۳/۸۷ میکروگرم کافئیک اسید/گرم گیاه خشک)، ریشه در ماه فروردین (۰/۲۷±۳۸/۲۵ میکروگرم/گرم)، برگ در ماه فروردین (۰/۲٦±۲۲/۳۳ میکروگرم/گرم) و پوست در ماه اردیبهشت (۰/۲۳±۱۹/۵۲ میکروگرم/گرم) می‌باشد (شکل ٤). همچنین حداکثر قدرت آنتی اکسیدانتی در اندام‌های میوه با IC_{50}، (۰/۲٤±۷/۵۲ میکروگرم/ میلی‌لیتر) در ماه مهر، برگ (۰/۲۹±۸/۱۸ میکروگرم/میلی‌لیتر) در ماه فروردین، ریشه (۰/۲۹±۱۳/۵۰ میکروگرم/میلی‌لیتر) در ماه فروردین و پوست (۰/۳۷±۱٤/۷۹ میکروگرم/میلی‌لیتر) در ماه اردیبهشت تعیین شد (شکل ۵).

نتیجه گیری نهایی

این مطالعه به تاثیر زمان‌های مختلف برداشت بر روی محتوی ترکیبات فنولیک اندام‌های مختلف گیاه تنگرس اشاره دارد و نشان می‌دهد که این تغییرات می‌تواند به دلیل نوسات دما، بارندگی و شرایط رویشگاه باشد. طبق نتایج بدست آمده بیشترین فنول کل به ترتیب متعلق به اندام میوه، برگ، پوست و ریشه، میزان فلاونوئید کل به ترتیت در برگ، میوه، پوست و ریشه، آنتوسیانین به ترتیب در میوه، ریشه، برگ و پوست، فنولیک اسید به‌ترتیب در میوه، ریشه، برگ و پوست و حداکثر فعالیت آنتی اکسیدانت در میوه، برگ، ریشه و پوست می‌باشد. همچنین زمان جمع آوری در محتوی مواد موثره تاثیر به سزایی دارد و بهترین زمان جمع آوری به منظور حداکثر میزان ترکیبات فنولی در اندام میوه مهرماه، اندام برگ و ریشه فروردین‌ماه و اندام پوست اردیبهشت ماه می‌باشد. مطالعه حاضر می‌تواند در یافتن شرایط رشد مناسب و زمان برداشت از لحاظ غنی بودن مواد موثره به‌منظور استفاده در صنایع مختلف دارویی و غذایی مفید باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از دانشگاه گنبد کاووس به خاطر مساعدت در استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی تقدیر و تشکر می‌گردد.

References

Asghari, J. and Mazaheritehrani, M. (2010). Extraction of tannin from Eucalyptus camaldulensis Dehnh. And trimyristin from Myristica fragrans Houtt. by using microwave irradiation. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research. 26(2):185-195.

Azadbakht, M., Moezi, L. and Tabaei, S. M.H. (2015). Phytochemical Analysis of Rhamnus cornifolia. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 24(122): 292-306.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 28(1): 25-30.

Bystrická, J., Vollmannová, A. Margitanová, E. and Čičová, I. (2010). Dynamics of polyphenolics formation in different plant parts and different growth phases of selected buckwheat cultivars. Acta Agriculturae Slovenica. 95: 225- 229

Camelo-Méndez, G., Ragazzo-Sánchez, J. Jimenez-Aparicio, A.R. Vanegas-Espinoza, P.E. Paredes-López, O. and Del Villar-Martinez, A.A. (2013). Comparative study of anthocyanin and volatile compounds content of four varieties of Mexican roselle (Hibiscus sabdariffa L.) by multivariable analysis, Plant foods for human nutrition. 68(3): 229-234

Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M. and Chern, J.C. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. Journal of food and drug analysis. 10(3):3.

Chen, G., Li, X. Saleri, F. and Guo, M. (2016). Analysis of flavonoids in Rhamnus davurica and its antiproliferative activities. Molecules. 21(10): 1275-1289.

Conforti, F., Statti, G.A. and Menichini, F. (2007). Chemical and biological variability of hot pepper fruits (*Capsicum annuum var. acuminatum* L.) in relation to maturity stage." Food Chemistry 102(4): 1096-1104.

Coşkun, M. (1989). The quantitative determination of anthraderivatives in Rhamnus species growing in south and east Anatolia (Turkey) II. International Journal of Crude Drug Research. 27(3): 167-170.

Coşkun, M., Tanker, N. Sakushima, A. Kitagawa, S. and Nishibe, S. (1984). An anthraquinone Glycoside from Rhamnus pallasii. Phytochemistry. 23(7): 1485-1487.

Dambolena, J.S., Zunino, M.P. Lucini, E.I. Olmedo, R. Banchio, E. Bima, P.J. and Zygadlo, J.A. (2010). Total phenolic content radic alscavenging properties and essential oil composition of Origanum species from populations. Journal of Agriculture Food Chemistry. 58:1115-1120.

Fathiazad, F., Ahmadi-Ashtiani, H. Rezazadeh, S. Jamshidi, M. Mazandarani, M. and Khaki, A. (2010). Study on phenolics and antioxidant activity of some selected plant of Mazandaran Province. Journal of Medicinal Plants, 9(34): 177-183

Hayouni, E. A., Abedrabba, M. Bouix, M. and Hamdi, M. (2007). The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. Food chemistry. 105(3): 1126-1134.

Gholivand, M.B. and Piryaei, M. (2014). Total phenols, flavonoids, anthocyanins, ascorbic acid contents and antioxidant activity of Rhamnus kurdica Boiss for flower and leaves in flowering and pre-flowering stages. African Journal of Biotechnology. 13(10).

Lakshmanashetty, R.H., Nagaraj, V.B. Hiremath, M.G. and Kumar, V. (2010). In vitro antioxidant activity of *Vitex negundo* L. leaf extracts. Chiang Mai J. Sci. 37(3): 489-497.

Mahmoodi, S., Taleghani, A. Akbari, R. and Mokaber-Esfahani, M. (2022). Rhamnus pallasii subsp. sintenisii fruit, leaf, bark and root: Phytochemical profiles and biological activities. Arabian Journal of Chemistry 15(7): 103924.

Marzouk, M.S., El-Toumy, S.A. Merfort, I. and Nawwar, M.A. (1999). Polyphenolic metabolites of Rhamnus disperma. Phytochemistry. 52(5): 943-946.

Mihailović, V., Kreft, S. Benković, E.T. Ivanović, N. and Stanković, M.S. (2016). Chemical profile, antioxidant activity and stability in stimulated gastrointestinal tract model system of three Verbascum species. Industrial Crops and Products. 89: 141-151.

Longo, L., Vasapollo, G. and Rescio, L. (2005). Identification of anthocyanins in Rhamnus alaternus L. berries. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53(5): 1723-1727.

Rezaei Kenti, S.H. and the Ghorbanli, M. (2016). Investigation of phytochemical changes and antioxidant activity of shoots of two plants Halimophyte Climacoptera turcomanica (Litw.) Botsch. And Frankenia hirsuta Desf. Under the influence of harvest season in Sufikum natural habitat of Golestan province. Plant Environmental Physiology. 10 (40): 51-61.

Ribeiro, D.A., Camilo, C.J., Nonato, C.D., F.A., Rodrigues, F.F.G. Menezes, I.R.A., Ribeiro-Filho, J. Xiao, J., de Almeida Souza, M.M. and da Costa, J.G.M. (2020). Influence of seasonal variation on phenolic content and in vitro antioxidant activity of Secondatia floribunda A. DC. (Apocynaceae). Food Chemistry. 315: 126277.

Sufian, Kh. and Dinavand, M. (2007). Flora of Iran, Sh. 55: Rhamnacea, Publications of the Forests and Rangelands Organization. 1-52.

Valizadeh, E., Zonouz, N.F., Zand, A. Shahbazi, S. and Malekian, A. (2011). Evaluation of antioxidant potentials of extracts of cotton thistle ('Onopordum leptolepis' DC.) obtained by various solvents. Australian Journal of Crop Science. 5(10):1163-1166.

Zeinali, Z., Hemmati, Kh. and Mazandarani, M. (2014). Autecology, ethno pharmacology, phytochemistry and antioxidant activity of Ferula gummosa Boiss. in different regions of Razavi Khorasan province. Eco-phytochemical Journal of Medicinal Plants. 1: 11-22. (In Persian)

Zeouk, I. and Bekhti, K. (2020). A critical overview of the traditional, phytochemical and pharmacological aspects of Rhamnus alaternus: a Mediterranean shrub. Oriental Pharmacy and Experimental Medicine. 1-11.