



ارزیابی ویژگی‌های شیمیایی و ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*)
بر قارچ‌های عامل پوسیدگی و کپک‌زدگی پس از برداشت میوه توت فرنگی

مصطفی رحمتی جنیدآباد^{۱*}، بهروز علیزاده بهبهانی^۲، محمد نوشاد^۳

- ۱- استادیار، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.
۲- استادیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.
۳- دانشیار، گروه علوم و مهندسی صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاتانی، ایران.

اطلاعات مقاله	چکیده
تاریخ های مقاله :	این مطالعه با هدف بررسی ویژگی‌های شیمیایی و ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی علیه قارچ‌های عامل پوسیدگی و کپک‌زدگی (بوتریتیس سینه‌را، اسپرژیلوس نایجر و رازیوپوس استولونیفیر) پس از برداشت میوه توت فرنگی انجام گرفت. عصاره کنگر فرنگی با کمک حلال آب/اتانول استخراج گردید و محتوای فنول کل، فلاونوئید کل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر حسب مهار رادیکال آزاد DPPH و ABTS) و اثر ضد قارچی آن بر اساس آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار، چاهک آگار، حداقل غلظت مهارکنندگی و حداقل غلظت کشندگی بررسی گردید. عصاره حاوی $47/30 \text{ mg GAE/g}$ فنول کل، $35/19 \text{ mg QE/g}$ فلاونوئید کل بود و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن بر حسب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با $58/45$ و $54/37$ درصد بدست آمد. نتایج آزمون‌های دیسک دیفیوژن آگار و چاهک آگار نشان داد که اسپرژیلوس نایجر و رازیوپوس استولونیفیر به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی نسبت به عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی می‌باشند. علاوه بر این، حداقل غلظت کشندگی عصاره برای قارچ اسپرژیلوس نایجر (حساس‌ترین سویه) معادل 012 میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی قابلیت استفاده بعنوان ترکیب ضد قارچ طبیعی جهت کنترل پوسیدگی میوه توت فرنگی طی دوره انبارمانی را دارا می‌باشد.
تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۱/۲۳	
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۳/۳۰	
کلمات کلیدی:	
توت فرنگی، کنگر فرنگی، ضد قارچ طبیعی، عمر انبارمانی، عصاره زیست فعال.	
DOI: 10.22034/FSCT.19.125.369	
DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.21.0	
* مسئول مکاتبات:	
Rahmati@asnruckh.ac.ir	

۱- مقدمه

گسترش کشت توت‌فرنگی در جهان به دلیل ارزش ناخالص قابل توجه تولید و ارزش غذایی آن، توجه اکثر تولیدکنندگان را به خود جلب کرده است. در حال حاضر ایالات متحده آمریکا، اسپانیا، ترکیه، روسیه و کره کشورهای اصلی تولیدکننده توت‌فرنگی هستند. توت‌فرنگی در ایران بیشتر در زمین‌های باز در استان کردستان در غرب ایران کشت می‌شود، اما گلخانه‌داران اخیراً اقدام به کاشت توت‌فرنگی کرده‌اند [۱].

توت‌فرنگی یک محصول میوه زودبار مهم با چرخه رشد کوتاه و مزایای اقتصادی بالا برای تولیدکنندگان است. با این حال، بیماری‌های پوسیدگی طوقه توت‌فرنگی ناشی از پاتوژن‌های قارچی تهدیدی برای کشت توت‌فرنگی است که منجر به کاهش عملکرد و کیفیت میوه می‌شود [۲].

بیماری پوسیدگی میوه توت‌فرنگی مشکل جدی برای تولیدکنندگان توت‌فرنگی در بسیاری از مناطق جهان است. بیماری‌های آنتراکنوز ناشی از گونه‌های کولتوتریکوم^۱ می‌تواند به ویژه ویرانگر باشد، زیرا سایر قسمت‌های گیاه علاوه بر میوه ممکن است آلوده شوند. سایر بیماری‌های مهم میوه عبارتند از پوسیدگی میوه توسط سویه‌های بوتریتیس^۲ (بوژه بوتریتیس سینه‌را^۳)، پوسیدگی چرم مانند و پوسیدگی انتهای ساقه [۳]. علیرغم تلاش‌های روزافزون برای توسعه روش‌های زراعی و کشت برای مدیریت و کنترل قارچ‌های آلوده‌کننده گیاه از جمله تناوب زراعی، بهبود مدیریت مناسب بقایای گیاهی و استفاده مناسب از رقم مقاوم در صورت وجود، استفاده از قارچ‌کش‌های مصنوعی راهبرد اولیه اتخاذ شده توسط کشاورزان است و هنوز هم به‌طور گسترده استفاده می‌شود [۴]. با اینحال، کنترل شیمیایی این بیماری‌ها دشوارتر شده است زیرا برخی از عوامل بیماری‌زا در برابر قارچ‌کش‌های رایج مقاومت نشان می‌دهند. به عنوان مثال، بنومیل پس از معرفی به بازار، به شدت توسط پرورش‌دهندگان توت‌فرنگی برای کنترل آنتراکنوز و سایر بیماری‌ها مورد استفاده قرار گرفت، اما پس از چند سال، بنومیل دیگر مؤثر نبود. کاپتان، ترکیبات مولد متیل بنزیمیدازول کاربامات (بنومیل، کاربندازیم و تیوفانات-متیل)، و دی کربوکسیمیدها (وینکلوزولین و ایپرودیون) قارچ‌کش‌های اصلی بودند که برای کنترل بوتریتیس سینه‌را در آمریکای

شمالی برای سال‌ها استفاده می‌شدند. با این حال، بوتریتیس سینه‌را مقاومت در برابر این گروه از قارچ‌کش‌ها ایجاد کرد [۳].

با این حال، نگرانی‌ها در مورد آلودگی محیط زیست و خطرات سلامتی انسان، محدودیت‌ها یا لغو مجوز توسط برخی کشورها، پژوهش‌ها را برای ایجاد جایگزین‌های ایمن و کارآمد برای قارچ‌کش‌های سنتزی سوق داده است. بر اساس ماهیت آن‌ها، جایگزین‌های روش‌های کنترل برای قارچ‌کش‌های معمولی را می‌توان به دو دسته شیمیایی یا بیولوژیکی طبقه‌بندی کرد. راه‌حل‌های بیولوژیکی شامل استفاده از باکتری‌های محرک رشد گیاه، قارچ‌های میکوریز برای تقویت گیاه و یا تقویت سیستم دفاعی گیاه، و استفاده از میکروارگانیسم‌های آنتاگونیستی است که قادر به مقابله با گسترش پاتوژن قارچی هستند. محلول‌های شیمیایی از ظرفیت مولکول‌های منشأ طبیعی برای جلوگیری یا کاهش رشد قارچ استفاده می‌کنند [۴].

در سال‌های اخیر، استفاده از عصاره‌ها و اسانس‌های گیاهی به‌عنوان یک جایگزین طبیعی برای استفاده از مواد شیمیایی مصنوعی تجاری در کنترل بیماری‌های اصلی پس از برداشت میوه‌ها و سبزی‌ها مورد توجه فزاینده‌ای قرار گرفته است. این ترکیبات به همراه بسیاری از اجزای اصلی آن‌ها دارای فعالیت ضد میکروبی، حشره‌کش، آنتی‌اکسیدانی و علف‌کشی می‌باشند [۵-۸].

کنگر فرنگی (*Cynara scolymus*) به دلیل خواص غذایی و دارویی آن بسیار مورد توجه است. گل‌آذین‌های بزرگ نابالغ با برگ‌های گوشتی قسمت‌های خوراکی گیاه را تشکیل می‌دهد که به عنوان سبزی‌ها تازه یا کنسرو شده مصرف می‌شود و گزارش شده که حاوی مواد معدنی، ویتامین‌ها، پلی‌فنول‌ها و همچنین فیبرها و اینولین است. از سوی دیگر، از قدیم‌الایام از برگ‌های کنگر به صورت تجربی برای درمان یرقان و سایر اختلالات مجاری صفراوی، بیماری‌های گوارشی و همچنین اسکوربوت، کم‌خونی و تصلب شرایین استفاده می‌شود. امروزه، آن‌ها به‌طور گسترده به عنوان فرآورده‌های غذایی/دارویی، مانند چای، آب‌میوه و کپسول یا قرص تجاری شده‌اند [۹]. علاوه بر این، عصاره برگ کنگر فرنگی دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی قوی، محافظت‌کننده کبد، کاهش چربی خون، ضد التهاب و محافظت از قلب و عروق است. این

1. *Colletotrichum*
2. *Botrytis*
3. *Botrytis cinerea*

در این آزمایش، ۲۰ میکرولیتر از عصاره کنگر فرنگی با غلظت ۱۰ گرم در لیتر با ۲ میلی لیتر آب مقطر و ۱۰۰ میکرولیتر از معرف فولین سیوکالتو مخلوط شد. ۳۰۰ میکرولیتر از محلول Na_2CO_3 پس از ۳ دقیقه به آن‌ها اضافه شد و محلول‌ها به مدت ۲ ساعت تکان داده شدند و در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر میزان جذب محلول‌ها در طول موج ۷۶۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. پس از رسم منحنی کالیبراسیون اسید گالیک، غلظت معادل اسید گالیک نمونه‌ها با عصاره محاسبه شد. نتیجه نهایی به صورت میلی گرم اسید گالیک در گرم عصاره خشک شده (mg GAE/g) گزارش شد [۱۱].

۲-۳- فلاونوئید کل

محتوای فلاونوئید کل به روش اسپکتروفتومتری با استفاده از روش مبتنی بر تشکیل کمپلکس فلاونوئید-آلومینیوم تعیین شد. از کوئرستین برای ایجاد منحنی کالیبراسیون استفاده شد. ابتدا ۱۰ میلی گرم کوئرستین در اتانول ۸۰ درصد حل شد و سپس به ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر رقیق شد. سپس محلول‌های استاندارد رقیق شده (۰/۵ میلی لیتر) که با حل کردن کوئرستین در اتانول ۸۰ درصد و رقیق‌سازی به ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی گرم در لیتر ثابت شده بودند، با ۱/۵ میلی لیتر اتانول ۹۵ درصد و ۰/۱ میلی لیتر کلرید آلومینیوم ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی لیتر استات پتاسیم ۱ مولار و ۲/۸ میلی لیتر آب مقطر مخلوط شدند. سپس فرآیند گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و میزان جذب مخلوط نهایی در طول موج ۵۱۰ نانومتر تعیین شد [۱۲].

۲-۴- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

۲-۴-۱- مهار رادیکال آزاد DPPH

از روش برند-ویلیامز و همکاران (۱۹۹۵) با اندکی تغییر جهت تعیین فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره در مهار رادیکال آزاد DPPH استفاده گردید. در این آزمایش ۳/۹ میلی لیتر از DPPH استوک تهیه شده (۰/۰۰۴ گرم DPPH در ۱۰۰ میلی لیتر متانول) به لوله آزمایش منتقل شد و سپس ۰/۱ میلی لیتر از عصاره به آن اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. در نهایت میزان جذب آن در ۵۱۷ نانومتر قرائت شد و درصد مهار رادیکال DPPH با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{\text{blank}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{sample}}] \times 100$$

فعالیت‌های زیستی متنوع به بدلیل اسیدهای فنولیک، مانند مونو و دی کافئویل کوئینیک اسید، فلاونوئیدها (آپیژنین، لوتئولین، سیناروسید، اسکولیموزید)، آنتوسیانین‌ها (سیانیدین، پئونیدین و دلفینیدین)، سسکوئین ترپن لاکتون‌ها (سینارویپیکوسیدها) و پلی‌ساکاریدها (اینولین) می‌باشد [۱۰].

بنابراین، هدف از این پژوهش، استخراج عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی و بررسی محتوای فنول و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن در برابر رادیکال‌های آزاد بود. علاوه بر این، فعالیت ضد قارچی عصاره کنگر فرنگی در برابر قارچ‌های مولد فساد و پوسیدگی میوه توت‌فرنگی (بوتریتیس سینه‌را، آسپرژیلوس نایجر^۴ و رایزوپوس استولونیفر^۵) در شرایط برون‌تنی بررسی گردید.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- استخراج عصاره

عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی با استفاده از روش لوکا و همکاران (۲۰۲۲) با تغییرات مورد نیاز استخراج گردید. برای این منظور، برگ‌ها در دمای اتاق خشک، آسیاب شده و با اتانول ۵۰ درصد (۱۰ گرم مواد گیاهی در ۴۰ میلی لیتر حلال) در حمام اولتراسوند در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه استخراج شدند. پس از فیلتراسیون، باقیمانده برای دو بار دیگر در شرایط یکسان دوباره استخراج شد. عصاره‌ها با هم ادغام، تحت فشار کاهش یافته تغلیظ و سپس با کمک آن خشک شدند [۱۰].

۲-۲- فنول کل

روش فولین سیوکالتو به‌طور کلی برای اندازه‌گیری محتوای فنول کل استفاده می‌شود. به منظور تهیه محلول استوک، ۰/۴ گرم اسید گالیک در ۱۰ میلی لیتر اتانول ۹۶ درصد در یکبالن حجمی ۱۰۰ میلی لیتری حل شد و سپس با آب مقطر به حجم رسانده شد. به منظور ترسیم منحنی کالیبراسیون، ۰، ۱، ۲، ۳، ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی لیتر از محلول استوک به بالن‌های حجمی ۱۰۰ میلی لیتری منتقل و با استفاده از آب مقطر به حجم رسانده شد. محلول‌های به دست آمده دارای غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی گرم گالیک اسید در لیتر بودند.

4. Caffeoylquinic acid

5. *Aspergillus niger*

6. *Rhizopus stolonifer*

در روش ضد قارچی حداقل غلظت مهارکنندگی رشد، ۵ میلی‌لیتر از غلظت‌های مختلف عصاره (۴، ۸، ۱۶، ۳۲، ۶۴، ۱۲۸، ۲۵۶ و ۵۱۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون میکروبی در لوله‌های آزمایش اضافه شد. در ادامه، لوله‌های آزمایش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد گرمخانه گذاری شدند. رشد سویه‌های قارچی بصورت بصری بررسی گردید و غلظتی از عصاره که هیچگونه کدورتی در محیط ایجاد نکرده بود، به عنوان حداقل غلظت مهارکنندگی آن گزارش شد. سپس، ۱۰۰ میکرولیتر از محیط کشت فاقد کدورت روی سطح محیط کشت ساابروز دکستروز آگار کشت داده شد. گرمخانه گذاری مطابق شرایط بالا تکرار گردید و در نهایت حداقل غلظتی که سبب جلوگیری از رشد سویه‌های قارچی شد، به عنوان حداقل غلظت کشندگی عصاره ثبت گردید [۱۶].

۲-۶- آنالیز آماری

از نرم‌افزار SPSS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن ($p < 0.05$) بر پایه آنالیز واریانس یک‌طرفه برای آنالیز داده‌های این پژوهش استفاده گردید. تمامی آزمایش‌ها در سه نوبت تکرار شدند.

۳- نتایج و بحث

۳-۱- میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی

شکل ۱، محتوای فنول و فلاونوئید کل عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی را نشان می‌دهد. عصاره حاوی 47.30 ± 0.46 mg GAE/g و 35.19 ± 0.10 mg QE/g فنول کل و فلاونوئید کل بود.

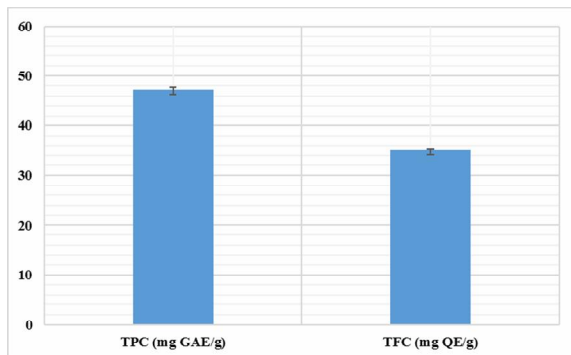


Fig 1 Total phenol (TPC) and flavonoid (TFC) contents of artichoke hydroalcoholic extract.

کهدر این رابطه، A_{blank} جذب DPPH+ اتانول و A_{sample} نشان دهنده جذب رادیکال DPPH+ نمونه است [۱۳].

۲-۴- مهار رادیکال آزاد ABTS

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره بر حسب مهار رادیکال آزاد ABTS، محلول $K_2S_2O_8$ و ABTS در ابتدا با هم مخلوط شدند تا محلول کاتیونی رادیکال ABTS تولید شود. پس از آن، عصاره (۰/۱ میلی‌لیتر) یا کنترل (۰/۱ میلی‌لیتر) با محلول رادیکال ABTS (۳/۹ میلی‌لیتر) مخلوط شد و جذب آن در ۷۳۴ نانومتر ثبت شد. سپس درصد مهار رادیکال ABTS با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد:

$$\text{Inhibition (\%)} = [(A_{blank} - A_{sample}) / A_{sample}] \times 100$$

که در این رابطه، A_{blank} جذب ABTS+ اتانول و A_{sample} نشان دهنده جذب رادیکال ABTS+ نمونه است [۱۴].

۲-۵- فعالیت ضد قارچی

۲-۵-۱- دیسک دیفیوژن آگار

برای انجام این‌آزمون، غلظت‌های ۱۰۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر عصاره در حلال مناسب تهیه شد. غلظت‌های مختلف عصاره توسط فیلترسر سرنگی ۰/۲۲ میکرونی استریل شد. سپس دیسک‌های بلانک به مدت ۲۰ دقیقه در عصاره غوطه‌ور شدند. در مرحله بعد، سوسپانسیون میکروبی معادل $10^4 \times 1/5$ (استاندارد ۰/۵ مک فارلند) تهیه شد. دیسک‌های بلانک که قبلاً در عصاره غوطه‌ور شده بودند روی محیط کشت ساابروز دکستروز آگار قرار داده شدند. پس از آن، محیط‌های کشت حاوی سویه‌های میکروبی در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت گرمخانه گذاری شدند. در نهایت قطر هاله‌عدم رشد بر حسب میلی‌متر اندازه‌گیری و به عنوان فعالیت ضد قارچی عصاره گزارش گردید [۱۵].

۲-۵-۲- چاهک آگار

در این روش، سوسپانسیون میکروبی بر روی محیط ساابروز دکستروز آگار در ظروف پتری‌دیش پخش شد. سپس چندین چاهک (قطر ۶ میلی‌متر) روی سطح محیط ایجاد و با عصاره (۶۰ میکرولیتر) پر شد. ظروف پتری‌دیش به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و قطر مناطق بازدارنده اطراف چاهک‌ها تعیین شد [۱۲].

۲-۵-۳- حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی

فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجه آن می‌گردد. با اینحال، تفاوت در میزان ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در این پژوهش و سایر مطالعات ممکن است ناشی از تغییرات آب و هوا و محل رشد گیاهان استفاده از حلال‌های مختلف برای استخراج ترکیباتیست فعال باشد [۶، ۷، ۱۵، ۲۲، ۲۳].

۳-۲- فعالیت آنتی‌اکسیدانی

عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی تحت آزمون‌های آنتی‌اکسیدانی مختلف در شرایط آزمایشگاهی قرار گرفت تا فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالقوه آن ارزیابی شود. در روش فعالیت مهار رادیکال آزاد DPPH، ترکیب آنتی‌اکسیدان با رادیکال‌های آزاد DPPH واکنش داده و آنها را به مولکول‌های غیر رادیکال DPPH-H تبدیل می‌کنند و رنگ بنفش محیط واکنش متعاقباً به بی‌رنگ تغییر پیدا می‌کند. فعالیت مهار رادیکال آزاد ABTS بر اساس احیاء $ABTS^{•+}$ به ABTS، از طریق مکانیسم انتقال اتم هیدروژن، در حضور عوامل آنتی‌اکسیدانی است [۲۴]. عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی قادر به مهار رادیکال‌های آزاد بود (شکل ۲)؛ بطوریکه فعالیت آنتی‌اکسیدانی بر حسب مهار رادیکال‌های آزاد DPPH و ABTS به ترتیب برابر با 0.39 ± 0.05 و 0.54 ± 0.37 درصد بود که عمدتاً ناشی از حضور ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی در عصاره می‌باشد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی عصاره کنگر فرنگی در مطالعات مختلف گزارش شده است. در این راستا، در مطالعه لوکا و همکاران (۲۰۲۲) مشخص گردید که عصاره کنگر فرنگی دارای خواص مهارکنندگی خوبی در برابر رادیکال‌های DPPH ($65 \text{ mg TE}^8/\text{g}$) و ABTS ($95 \text{ mg TE}^8/\text{g}$) می‌باشد [۱۰]. همچنین، ال سهمی و همکاران (۲۰۱۴)، نشان دادند که فعالیت آنتی‌اکسیدانی (بر حسب مهار رادیکال آزاد DPPH) عصاره کنگر فرنگی وابسته به غلظت می‌باشد و از ۱۷/۴۱ درصد در غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر تا ۸۰/۵۵ درصد در غلظت ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر متغیر می‌باشد [۲۵]. این نتایج نشان می‌دهد که کنگر حاوی سطح معقولی از مواد آنتی‌اکسیدانی است که می‌تواند نقش مهمی در پتانسیل آن به عنوان یک منبع تغذیه‌ای خوب داشته باشد.

اسپرونی و همکاران (۲۰۰۳) بیان داشتند که میزان فنول کل عصاره‌های تجاری کنگر فرنگی در محدوده $1843-402 \text{ mg GAE/L}$ است [۱۷]. محتوای فنول کل عصاره ساقه کنگر فرنگی برابر با $1/18 \text{ mg GAE/g}$ وزن مرطوب گیاه در مطالعه‌ی کولیا و همکاران (۲۰۱۷) گزارش شده است [۱۸]. نتایج این مطالعه با یافته‌های بن سالم و همکاران (۲۰۱۷)، که ذکر کردند عصاره اتانولی کنگر فرنگی حاوی محتوای فنول و فلاونوئید کل به ترتیب $54/5 \text{ mg GAE/g}$ و 12 mg QE/g است، مطابقت دارد [۱۹]. لوکا و همکاران (۲۰۲۲) گزارش نمودند که عصاره هیدروالکلی دو وارته کنگر فرنگی (*C. scolymus var. scolymus var. major* و *redonensis*) حاوی ترکیبات متعدد فنولی (هیدروکسی فرولیک اسید هگزوکسید، ۱-O-کافئول کوئینیک اسید، نئوکلوژنیک اسید، کلروژنیک اسید، کریپتوکلوژنیک اسید، فرولویل کوئینیک اسید I، فرولویل کوئینیک اسید II و دی کافئول کوئینیک اسید)، فلاونوئیدی (لوتولین، لوتولین-O-دئوکسی هگزوسید-هگزوسید، لوتولین-O-هگزوسید، لوتولین-O-هکسورونید، لوتولین-O-مالونیل هگزوسید و لوتولین-O-استیل هگزوسید) و لاکتونی (سیناراسکولوزید A/B) می‌باشد [۱۰]. این محققین، میزان فنول کل و فلاونوئید کل عصاره هیدرومتانولی برگ کنگر فرنگی را به ترتیب در محدوده $54/16-67/62 \text{ mg GAE/g}$ و $5 \text{ mg RE}^7/\text{g}$ و همکاران (۲۰۱۳) و زاید و همکاران (۲۰۲۰) گزارش نمودند که عصاره برگ کنگر فرنگی دارای کلروژنیک اسید، نئوکلوژنیک اسید، کریپتوکلوژنیک اسید، دی کافئول کوئینیک اسید و اسیدهای فنولی آزاد (کافئیک اسید و فرولیک اسید) در کنار ترکیبات فلاونوئیدی مانند آپیزین، لوتولین، لوتولین-O-۷-روتینوزید، لوتولین-O-۷-گلوکوزید (سیناروزید)، اسکولیموزید، آپیزین-O-۷-روتینوزید، آپیزین-O-۷-گلوکوزید و ناریروتین می‌باشد [۲۰، ۲۱]. عصاره کنگر فرنگی منبع بسیار غنی از ترکیبات بالقوه زیست فعال (اسیدهای فنولیک، فلاونوئیدها و سسکوئیترین لاکتون‌ها) است که منجر به

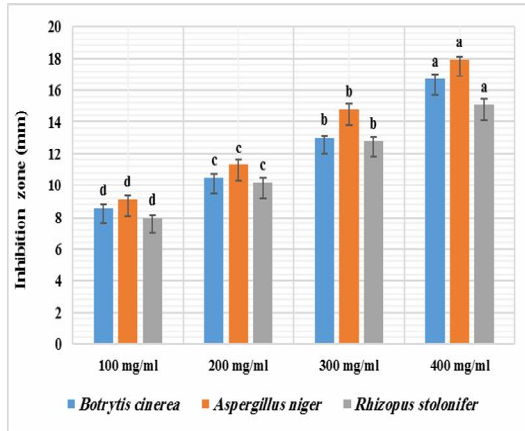


Fig 3 Antifungal activity of artichoke hydroalcoholic extract according to disk diffusion agar method.

شکل ۴، نتایج فعالیت ضد قارچی عصاره بر اساس روش ضد میکروبی چاهک آگار را بازگو می‌کند. در این روش نیز اثر ضد قارچی عصاره کنگر فرنگی وابسته به غلظت عصاره و نوع میکروارگانیسم بود. قطر هاله عدم رشد با افزایش غلظت عصاره بطور معنی‌داری افزایش یافت. در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره، اسپرژیلوس نایجر با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۸/۴ میلی‌متر و رایزوپوس استولونیفر با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۵/۵ میلی‌متر، به ترتیب حساس‌ترین و مقاوم‌ترین سویه‌های قارچی در برابر عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی بودند.

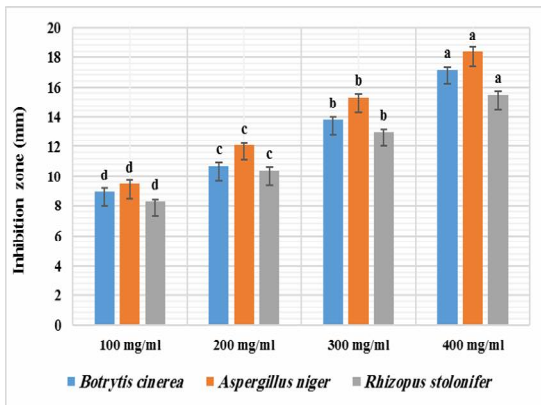


Fig 4 Antifungal activity of artichoke hydroalcoholic extract according to well diffusion agar method.

لازم به ذکر است که در غلظت ثابت، نتایج قطر هاله عدم رشد در آزمون چاهک آگار بزرگ‌تر از روش دیسک دیفیوژن آگار بودند که این حالت به دلیل اثر مستقیم عصاره بر روی قارچ‌ها در این روش است، درحالی‌که در روش دیسک دیفیوژن

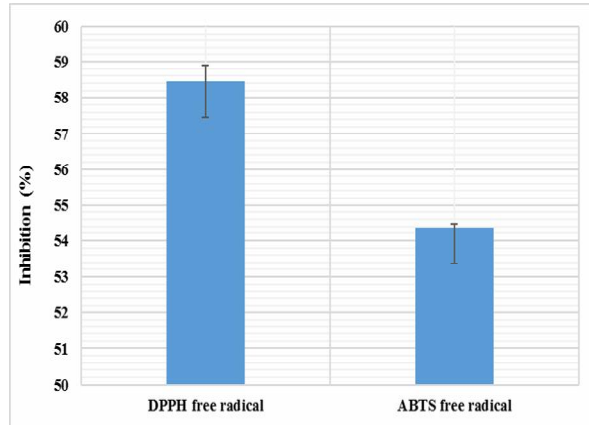


Fig 2 Antioxidant activity of artichoke hydroalcoholic extract.

وابستگی خوبی بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان فنول موجود در عصاره‌ها وجود دارد که اهمیت ترکیبات فنولی را به عنوان مهار کننده رادیکال‌های آزاد تأیید می‌کند. استرس اکسیداتیو اغلب با بسیاری از بیماری‌های انسانی، مانند التهاب مزمن، بیماری آلزایمر، دیابت نوع ۲ یا اختلالات پوستی مرتبط است [۲۶]. عصاره کنگر فرنگی فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان داد. گزارش شده است که عصاره‌های کنگر فرنگی قادر به جلوگیری از تشکیل گونه‌های اکسیژن‌فعال و بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی در مطالعات حیوانی هستند [۹، ۲۷]. علاوه بر این، بهبود جزئی در وضعیت آنتی‌اکسیدانی در انسان پس از مصرف خوراکی عصاره برگ کنگر فرنگی نشان داده شده است [۲۸، ۲۹]. بنابراین، عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی قادر به جلوگیری از واکنش‌های اکسیداسیون در مواد غذایی و استرس اکسیداتیو در انسان می‌باشد.

۳-۳-۳ فعالیت ضد قارچی

نتایج اثر ضد قارچی عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی بر پایه روش دیسک دیفیوژن آگار در شکل ۳ آورده شده است. اگرچه افزایش غلظت عصاره سبب افزایش معنی‌دار قطر هاله عدم رشد گردید، اما حساسیت میکروارگانیسم‌ها نسبت به عصاره متفاوت بود. اسپرژیلوس نایجر با قطر هاله عدم رشد معادل ۱۷/۹ میلی‌متر در حضور ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره حساس‌ترین سویه قارچی نسبت به عصاره بود. کمترین قطر هاله عدم رشد (۱۵/۱ میلی‌متر در غلظت ۴۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر عصاره) در مورد سویه قارچی رایزوپوس استولونیفر مشاهده گردید که بیانگر مقاومت بالای این سویه در برابر عصاره می‌باشد.

میلی گرم در میلی لیتر قادر به رشد بود، افزایش غلظت عصاره سبب مهار رشد سویه های قارچی گردید. نتایج حداقل غلظت کشندگی نیز نشان می دهد که سویه قارچی *آسپرژیلوس نایجر* با حداقل غلظت کشندگی معادل ۵۱۲ میلی گرم در میلی لیتر، حساس ترین ارگانیزم در برابر عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی می باشد.

عصاره پس از عبور از صفحات دیسک با قدرت کمتری به عنوان مهارکننده برای قارچ ها عمل می کند [۸، ۳۰-۳۳]. نتایج ضد میکروبی عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی بر پایه حداقل غلظت مهارکنندگی و کشندگی در برابر سویه های قارچی در جدول ۱ ارائه شده است. تمامی سویه های قارچی در حضور ۳۲ میلی گرم در میلی لیتر عصاره قادر به رشد بودند، اما به استثناء *رایزوپوس استولونیفر* که در حضور غلظت ۶۴

Table 1 Antifungal activity of artichokehydroalcoholic extract according to minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC).

Microorganism	MIC (mg/ml)								MFC (mg/ml)	
	4	8	16	32	64	128	256	512		
<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	> 512
<i>Aspergillus niger</i>	+	+	+	+	-	-	-	-	-	512
<i>Rhizopus stolonifer</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	-	> 512

گلوکوزیداستخراجی از براکت کنگر فرنگی فعالیت ضد قارچی در برابر قارچ های آزمایش شده با مقدار MIC از ۰/۰۵ تا ۰/۱ میلی گرم در میلی لیتر نشان می دهند [۳۵].

رحتمی جنیدآباد و عزیزاده بهبهانی (۱۴۰۰) گزارش نمودند که فعالیت ضد قارچی آویشن دناپی احتمالاً ممکن است بدلیل ماهیت آبرگیز ترکیبات زیست فعال عصاره باشد که قادر به نفوذ در میسلیم قارچ و جلوگیری از رشد آن می باشند. علاوه بر این، این ترکیبات زیست فعال می توانند منجر به افزایش نفوذپذیری و تخریب غشاء و در نتیجه کاهش اندازه قارچ و اصلاح مورفولوژی سلولی آن گردند [۱۶].

۴- نتیجه گیری نهایی

نتایج این مطالعه نشان می دهد که بدلیل ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی، عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی دارای قابلیت مهارکنندگی قابل توجهی در برابر رادیکال های آزاد DPPH و ABTS می باشد. همچنین، اثر ضد قارچی عصاره کنگر فرنگی وابسته به غلظت بود و افزایش غلظت عصاره سبب جلوگیری از رشد و از بین بردن قارچ های عامل فساد و پوسیدگی میوه توت فرنگی (بوتریتیس سنهرا، *آسپرژیلوس نایجر* و *رایزوپوس استولونیفر*) گردید. مطابق نتایج این مطالعه، عصاره هیدروالکلی کنگر فرنگی را می توان بعنوان ترکیب ضد قارچ و آنتی اکسیدان طبیعی به منظور جلوگیری از بیماری های پس از

زو و همکاران (۲۰۰۵) گزارش کردند که عصاره اتانولی برگو ساقه کنگر فرنگی (*Cynara cardunculus var. scolymus L.*) بر علیه *کاندیدا آلبیکنز*^۱، *کاندیدا لوزیتانیا*^۱، *ساکارومایسس سرویزیه*^۱، *ساکارومایسس کارلسبرجنسیس*^{۱۲}، *آسپرژیلوس نایجر*، *پنی سیلیوم اکسالیکوم*^{۱۳}، *موکور موکودو*^{۱۴} و *کلادوسپوریم کوکومریکوم*^{۱۵} با قطر هاله عدم رشد ۴-۱۳ میلی متر نشان می دهد [۳۴]. کوکیچ و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که فعالیت ضد قارچ عصاره اتانولی براکت کنگر فرنگی در برابر *آسپرژیلوس نایجر*، *آسپرژیلوس اکراسئوس*^{۱۷}، *آسپرژیلوس فلاووس*^{۱۸}، *پنی سیلیوم اکراکلورون*^{۱۹}، *پنی سیلیوم فونیکولوسوم*^{۲۰}، *تریکودرما ویریده*^{۲۱}، *فوزاریوم تریسینکتوم*^{۲۲} و *آلترناریا آلترناتا*^{۲۳} با مقادیر MIC و MIC_۱ بین ۱ و ۱/۵ میلی گرم در میلی لیتر متغیر بود. این محققین گزارش دادند که ترکیبات فنولی آپیزین، اسید کلروژنیک و آپیزین ۷-

9. *Candida albicans*
10. *C. lusitaniae*
11. *Saccharomyces cerevisiae*
12. *S. carlsbergensis*
13. *Penicillium oxalicum*
14. *Mucor mucedo*
15. *Cladosporium cucumerinum*
16. Bracts
17. *A. ochraceus*
18. *A. flavus*
19. *Penicillium ochrochloron*
20. *P. funiculosum*
21. *Trichoderma viride*
22. *Fusarium tricinctum*
23. *Alternaria alternata*

- [7] B. Alizadeh Behbahani and F. Shahidi, "Melissa officinalis essential oil: Chemical compositions, antioxidant potential, total phenolic content and antimicrobial activity," *Nutrition and Food Sciences Research*, vol. 6, no. 1, pp. 17-25, 2019.
- [8] M. Ebrahimi Hemmati Kaykha, H. Jooyandeh, B. Alizadeh behbahani, and M. Noshad, "Antimicrobial potential of Cordia myxa fruit on pathogenic bacteria: A study "in vitro" laboratory conditions," *mdrsjrns*, vol. 17, no. 101, pp. 71-80, 2020.
- [9] M. B. Salem *et al.*, "Pharmacological studies of artichoke leaf extract and their health benefits," *Plant foods for human nutrition*, vol. 70, no. 4, pp. 441-453, 2015.
- [10] S. V. Luca *et al.*, "Phytochemical and multi-biological characterization of two Cynara scolymus L. varieties: A glance into their potential large scale cultivation and valorization as bio-functional ingredients," *Industrial Crops and Products*, vol. 178, p. 114623, 2022.
- [11] B. A. Behbahani, F. Shahidi, F. T. Yazdi, S. A. Mortazavi, and M. Mohebbi, "Use of Plantago major seed mucilage as a novel edible coating incorporated with Anethum graveolens essential oil on shelf life extension of beef in refrigerated storage," *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 94, pp. 515-526, 2017.
- [12] F. Falah, K. Shirani, A. Vasiee, F. T. Yazdi, and B. A. Behbahani, "In vitro screening of phytochemicals, antioxidant, antimicrobial, and cytotoxic activity of Echinops setifer extract," *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, vol. 35, p. 102102, 2021.
- [13] W. Brand-Williams, M.-E. Cuvelier, and C. Berset, "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity," *LWT-Food science and Technology*, vol. 28, no. 1, pp. 25-30, 1995.
- [14] B. Alizadeh Behbahani, F. Falah, A. Vasiee, and F. Tabatabaee Yazdi, "Control of microbial growth and lipid oxidation in beef using a Lepidium perfoliatum seed mucilage edible coating incorporated with chicory essential oil," *Food Science & Nutrition*, vol. 9, no. 5, pp. 2458-2467, 2021.
- [15] B. A. Behbahani, F. Shahidi, F. T. Yazdi, and M. Mohebbi, "Antifungal effect of aqueous and ethanolic mangrove plant extract on pathogenic fungus" in vitro," *International Journal of Agronomy and*
- برداشت میوه توت‌فرنگی (و سایر میوه‌ها و سبزی‌ها) و بیماری‌های ناشی از استرس‌های اکسیداتیو استفاده نمود.
- ۵- تقدیر و تشکر
- مقاله حاضر مستخرج از طرح پژوهشی با کد ۱۴۰۰/۳۱ می‌باشد، لذا نویسندگان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی و فناوری دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به دلیل حمایت‌های مادی و معنوی صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.
- ۶- منابع
- [1] N. Banaeian, M. Omid, and H. Ahmadi, "Energy and economic analysis of greenhouse strawberry production in Tehran province of Iran," *Energy Conversion and Management*, vol. 52, no. 2, pp. 1020-1025, 2011.
- [2] H. Shengfan *et al.*, "Simultaneous detection of three crown rot pathogens in field-grown strawberry plants using a multiplex PCR assay," *Crop Protection*, vol. 156, p. 105957, 2022.
- [3] D. E. Wedge, B. J. Smith, J. P. Quebedeaux, and R. J. Constantin, "Fungicide management strategies for control of strawberry fruit rot diseases in Louisiana and Mississippi," *Crop Protection*, vol. 26, no. 9, pp. 1449-1458, 2007.
- [4] V. Leanne-Rialland, V. Atanasova, S. Chereau, M. Tonk-Rügen, A. Cabezas-Cruz, and F. Richard-Forget, "Use of Defensins to Develop Eco-Friendly Alternatives to Synthetic Fungicides to Control Phytopathogenic Fungi and Their Mycotoxins," *Journal of Fungi*, vol. 8, no. 3, p. 229, 2022.
- [5] A. El Khetabi *et al.*, "Role of plant extracts and essential oils in fighting against postharvest fruit pathogens and extending fruit shelf life: A review," *Trends in Food Science & Technology*, vol. 120, pp. 402-417, 2022.
- [6] B. Alizade Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Investigation of antimicrobial activity of Fennel essential oil on some pathogenic microorganisms causing infection and food poisoning and its interaction with kanamycin antibiotic," *Food Science and Technology*, vol. 16, no. 91, pp. 233-241, 2019.

- [24] M. Nooshkam, M. Varidi, and M. Bashash, "The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems," *Food chemistry*, vol. 275, pp. 644-660, 2019.
- [25] S. A. El Sohaimy, "Chemical composition, antioxidant and antimicrobial potential of artichoke," *The Open Nutraceuticals Journal*, vol. 7, no. 1, pp. 15-20, 2014.
- [26] K. Graikou, P.-M. Kourti, G. Zengin, O. Gortzi, N. Danalatos, and I. Chinou, "Chemical Characterisation-Biological Evaluation of Greek Cultivar Cardoon Seeds (*Cynara cardunculus*). A By-product with Potential High Added Value," *Planta Medica*, vol. 87, no. 12/13, pp. 1025-1031, 2021.
- [27] B. Salem *et al.*, "Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 4951937, 2017.
- [28] K. Rezaadeh, S. Aliashrafi, M. Asghari-Jafarabadi, and M. Ebrahimi-Mameghani, "Antioxidant response to artichoke leaf extract supplementation in metabolic syndrome: A double-blind placebo-controlled randomized clinical trial," *Clinical Nutrition*, vol. 37, no. 3, pp. 790-796, 2018.
- [29] K. Rezaadeh, F. Rezaadeh, and M. Ebrahimi-Mameghani, "The effect of artichoke leaf extract supplementation on lipid and CETP response in metabolic syndrome with respect to Taq 1B CETP polymorphism: A randomized placebo-controlled clinical trial," *European Journal of Integrative Medicine*, vol. 17, pp. 112-118, 2018.
- [30] H. Barzegar, B. A. Behbahani, and M. A. Mehrnia, "Quality retention and shelf life extension of fresh beef using *Lepidium sativum* seed mucilage-based edible coating containing *Heracleum lasiopetalum* essential oil: an experimental and modeling study," *Food Science and Biotechnology*, vol. 29, no. 5, pp. 717-728, 2020.
- [31] B. A. Behbahani, M. Noshad, and F. Falah, "Study Of Chemical Structure, Antimicrobial, Cytotoxic And Mechanism Of Action Of *Syzygium Aromaticum* Essential Oil On Foodborne Pathogens," *Plant Production*, vol. 4, no. 7, pp. 1652-1658, 2013.
- [16] M. Rahmati-Joneidabad and B. Alizadeh Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis* essential oil against spoilage fungi causing apple rot," (in fa), *Iranian Food Science and Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021.
- [17] E. Speroni, R. Cervellati, P. Govoni, S. Guizzardi, C. Renzulli, and M. Guerra, "Efficacy of different *Cynara scolymus* preparations on liver complaints," *Journal of ethnopharmacology*, vol. 86, no. 2-3, pp. 203-211, 2003.
- [18] E. Kollia, P. Markaki, P. Zoumpoulakis, and C. Proestos, "Antioxidant activity of *Cynara scolymus* L. and *Cynara cardunculus* L. extracts obtained by different extraction techniques," *Natural product research*, vol. 31, no. 10, pp. 1163-1167, 2017.
- [19] M. Ben Salem *et al.*, "Chemicals Compositions, Antioxidant and Anti-Inflammatory Activity of *Cynara scolymus* Leaves Extracts, and Analysis of Major Bioactive Polyphenols by HPLC," *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, vol. 2017, p. 4951937, 2017.
- [20] M. A. Farag, S. H. El-Ahmady, F. S. Elian, and L. A. Wessjohann, "Metabolomics driven analysis of artichoke leaf and its commercial products via UHPLC-q-TOF-MS and chemometrics," *Phytochemistry*, vol. 95, pp. 177-187, 2013.
- [21] A. Zayed, A. Serag, and M. A. Farag, "*Cynara cardunculus* L.: Outgoing and potential trends of phytochemical, industrial, nutritive and medicinal merits," *Journal of Functional Foods*, vol. 69, p. 103937, 2020.
- [22] B. Alizade Behbahani, F. Tabatabaei Yazdi, M. Heidari Sureshjani, A. Mortazavi, and F. Tabatabaei Yazdi, "Antimicrobial Effect of the Aqueous and Ethanolic *Satureja bachtiarica* Extracts "in vitro"," *Iranian Journal of Infectious Diseases and Tropical Medicine*, vol. 19, no. 64, pp. 13-19, 2014.
- [23] Z. Kiarsi, M. Hojjati, B. A. Behbahani, and M. Noshad, "In vitro antimicrobial effects of *Myristica fragrans* essential oil on foodborne pathogens and its influence on beef quality during refrigerated storage," *Journal of Food Safety*, vol. 40, no. 3, p. e12782, 2020.

essential oil against spoilage fungi causing apple rot," *Iranian Food Science and Technology Research*, vol. 17, no. 5, pp. 691-700, 2021.

[34] X. Zhu, R. Zhang, R. Lo, and Y. Lu, "Antimicrobial activities of *Cynara scolymus* L. leaf, head, and stem extracts," *Journal of Food Science* vol. 70, no. 2, pp. 149-152, 2005.

[35] J. Kukić *et al.*, "Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts," *Food Chemistry*, vol. 107, no. 2, pp. 861-868, 2008.

Potravinarstvo, vol. 13, no. 1, pp. 875-883, 2019.

[32] M. Hojjati and B. Alizadeh Behbahani, "Evaluation of the effect of aqueous and methanolic extraction methods on the antioxidant and antimicrobial characteristics of *Allium jesdianum* extract: in vitro study," *Iranian Food Science and Technology Research Journal*, vol. 17, no. 1, pp. 83-91, 2021.

[33] M. Rahmati-Joneidabad and B. A. Behbahani, "Identification of chemical compounds, antioxidant potential, and antifungal activity of *Thymus daenensis*



Evaluation of chemical and antimicrobial properties of hydroalcoholic extract of artichoke (*Cynara scolymus*) on fungi causing rot in strawberry fruit

Rahmati-Joneidabad, M. ^{1*}, Alizadeh Behbahani, B. ², Noshad, M. ³

1. Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
2. Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.
3. Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Animal Science and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the chemical and antimicrobial properties of hydroalcoholic extract of artichoke (*Cynara scolymus*) on fungi (*Botrytis cinerea*, *Aspergillus niger*, and *Rhizopus stolonifer*) causing rot and decay in strawberry fruit after harvesting. Artichoke extract was obtained with water/ethanol solvent and the content of total phenol, total flavonoids, antioxidant activity (in terms of DPPH and ABTS free radical scavenging) and its antifungal effect based on disk diffusion agar, well diffusion agar, minimum inhibitory concentration, and minimum fungicidal concentration were investigated. The extract contained 47.30 mg GAE/g of total phenol, 35.19 mg QE/g of total flavonoids, and its antioxidant activity was 58.45% and 54.37% in terms of inhibition of DPPH and ABTS free radicals, respectively. The results of disk diffusion agar and well diffusion agar tests showed that *Aspergillus niger* and *Rhizopus stolonifer* are the most sensitive and resistant fungal strains to hydroalcoholic extract of artichoke, respectively. In addition, the minimum fungicidal concentration of the extract for *Aspergillus niger* (the most sensitive strain) was 512 mg/mL. The results of this study show that the hydroalcoholic extract of artichoke can be used as a natural antifungal compound to control the decay of strawberry fruit during storage.

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2022/ 04/ 12
Accepted 2022/ 06/ 20

Keywords:

Strawberry,
Artichoke,
Natural antifungal,
Shelf life,
Bioactive extract.

DOI: 10.22034/FSC.T.19.125.369

DOR: 20.1001.1.20088787.1401.19.125.21.0

*Corresponding Author E-Mail:
Rahmati@asnruk.ac.ir