



## تغییرات محتوای کلروفیل و ویژگی‌های مربوط به رنگ پوست میوه دو وارپته اترج طی فرآیند رسیدن میوه

نحله تقوایی فرد<sup>۱\*</sup>، عسکر غنی<sup>۲</sup>، مهدی حسین فرهی<sup>۱</sup>، محمود محمودی<sup>۳</sup>

<sup>۱\*</sup> گروه علوم باغبانی، واحد یاسوج، دانشگاه آزاد اسلامی، یاسوج

<sup>۲</sup> گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه جهرم، جهرم

<sup>۳</sup> گروه مکانیک بیوسیستم، دانشکده کشاورزی دانشگاه جهرم، جهرم

\* نویسنده مسئول: n.taghvaeefard@gmail.com

### چکیده

زمان برداشت تأثیر مهمی بر ویژگی‌های کمی و کیفی گیاهان دارویی دارد و در بیشتر موارد ارتباط معنی‌داری بین ویژگی‌های ظاهری و مواد مؤثره گیاهان دارویی وجود دارد که شناخت این ارتباطات در تعیین بهتر زمان برداشت کمک زیادی می‌کند. در این تحقیق به منظور بررسی تغییرات محتوای کلروفیل و ویژگی‌های مربوط به رنگ پوست میوه دو وارپته اترج طی فرآیند رسیدن میوه، دو آزمایش مستقل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی شامل ۴ تیمار و ۴ تکرار انجام شد. تیمارها شامل مراحل بلوغ میوه در ۴ مرحله: سبز رسیده (GM)، مرحله تغییر رنگ (INT)، مرحله رسیده (MAT) مرحله خیلی رسیده (OR) در دو رقم میوه اترج بود. مهم‌ترین صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش شامل: محتوی کلروفیل (کلروفیل a، b و کل)، شاخص‌های رنگ ( $a^*$ ،  $b^*$ ،  $d^*$ ، هیو و کروما) می‌باشد. نتایج نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار مرحله رسیدن بر اکثر صفات اندازه‌گیری شده در هر دو رقم بود. طی بلوغ میوه محتوای (کلروفیل a، b و کل) در هر دو رقم کاهش معنی‌داری داشت و این روند نزولی در اترج کبیر شدیدتر بود. مهم‌ترین مؤلفه‌های رنگی ( $a^*$ ،  $b^*$ ) نیز تحت تأثیر رسیدن قرار گرفت به طوری که در هر دو رقم مؤلفه‌های  $a^*$  و  $b^*$  افزایش ولی شاخص  $I^*$  کاهش پیدا کرد. این کاهش در رابطه با وارپته اترج کبیر معنی‌دار بود در حالی که در رابطه با اترج صغیر معنی‌دار نبود. همچنین ارتباط معنی‌داری (به صورت مثبت یا منفی) بین مؤلفه‌های رنگی و محتوی کلروفیل وجود داشت.

**کلمات کلیدی:** بلوغ، *Citrus medica* L.، هیو، کروما، فلاودو

### مقدمه

گیاه بالنگ درختی است کوچک یا درختچه‌ای بزرگ با خارهای کوتاه، میوه بیضوی تا مستطیل شکل و در انتها دارای نوک برجسته، کم‌گوشت و ترش‌مزه، پوست میوه ضخیم، ناهموار، بسیار معطر و در زمان رسیدن زرد کم‌رنگ است (قهرمان، ۱۳۸۳). در کتب طب سنتی بانام اترج کبیر آمده است. نام علمی آن *Citrus medica* L. var *macrocarpa* Risso می‌باشد. نوع دیگری از بالنگ را به فارسی بادرنگ می‌نامند و در کتب طب سنتی بانام‌های بادرنج و اترج صغیر آمده است. نام علمی آن *Citrus medica* L. و مترادف آن را *Citrus medica* var *medica* Proper نیز می‌نامند (Mirheydar, 2012). مرکبات یک‌لفظ عربی است، که به‌جای کلمه سیتروس که نام جنس آن است در زبان فارسی مورد استفاده قرار می‌گیرد. مرکبات متعلق به خانواده Rutaceae و زیر خانواده Aurantoidea می‌باشند. گیاهان این خانواده دارای ۳۳ جنس و بالغ بر ۱۰۰۰ گونه می‌باشند (Reuther, 1978). هم‌زمان با بلوغ میوه مرکبات، رنگ پوست به دلیل اختلاف دمای شب و روز و به دنبال آن کاهش کلروفیل و افزایش غلظت کاروتنوئید تغییر رنگ می‌دهد. کاروتنوئیدهای متنوعی مسئول ایجاد رنگ در گونه‌های مرکبات هستند و فراهم شدن شرایط دمایی مناسب سبب افزایش بیان ژن‌های مربوط به سنتز کاروتنوئیدهای کلیدی در پوست شده است (Carmona et al., 2012). رنگ سبز زمینه سبزی‌ها و میوه‌ها به دلیل وجود رنگیزه‌هایی به نام کلروفیل است (Koca et al., 2006). مهم‌ترین کلروفیل‌ها در گیاهان کلروفیل a و کلروفیل b هستند که نسبت تقریبی ۳ به ۱ را دارند. کلروفیل a یک گروه متیل در کربن C<sub>3</sub> دارد در حالی که



در کلروفیل b یک گروه فرمیل در این جایگاه قرار دارد. این دو کلروفیل علاوه بر ساختار شیمیایی از نظر ثبات و پایداری در برابر عوامل محیطی و تنش‌های مختلف نیز با یکدیگر تفاوت دارند (Koca *et al.*, 2006). در حالت عادی در داخل کلروپلاست آنزیم کلروفیل‌لاز با غشاء درونی پیوند داشته و به سوبسترای اصلی خود که با تیلاکوئیدها پیوند شده، دسترسی ندارد، ولی در طی فرآیند بلوغ و پیری میوه یا برگ، انسجام کلروپلاست از بین رفته و این دو ترکیب در تماس مستقیم باهم قرار گرفته که در نهایت منجر به تجزیه کلروفیل می‌شود (Wang *et al.*, 2005). تجزیه کلروفیل و تبدیل شدن آن به فتوفیتین و فتوفورباید منجر به تغییر رنگ میوه‌ها و سبزی‌ها از سبز به سبز روشن و در نهایت زرد، قرمز یا بنفش می‌شود (Koca *et al.*, 2006). نتایج بررسی تغییرات کیفی و ارزش غذایی میوه پنج رقم پرتقال (تامسون ناول، سیاورز، مورو، سانگینلو و تاراگو) و یک رقم نارنگی پیچ نشان داد که شاخص روشنایی ( $L^*$ ) پوست ارقام پرتقال مورو و نارنگی پیچ در اول مهرماه به حد استاندارد برداشت رسید (Fattahi Moghadam *et al.*, 2011).

## مواد و روش‌ها:

### مواد آزمایشی و تیمارها

برای انجام این تحقیق، دو آزمایش مستقل بر پایه بلوک‌های کامل تصادفی با ۴ تیمار و ۴ تکرار اجرا شد. تیمارها شامل مراحل مختلف رسیدن میوه شامل سبز رسیده (GM)، مرحله تغییر رنگ پوست (INT)، مرحله رسیده - زرد رنگ (MAT) و رسیده بیش از حد (OR) در دو رقم اترج (اترج کبیر و اترج صغیر) می‌باشد. مهم‌ترین صفات اندازه‌گیری در این آزمایش، محتوی کلروفیل (کلروفیل a, b و کل)، شاخص رنگ ( $L^*$ ,  $b^*$ ,  $a^*$ , Hue و کروما) می‌باشد.

### مواد گیاهی

میوه‌های هر دو واریته اترج (اترج کبیر و صغیر) در مراحل مختلف فنولوژیکی از باغ‌های واقع در شهرستان جهرم (جنوب فارس، ایران) برداشت شدند. باغ اول مربوط به درختان اترج کبیر در منطقه قطب‌آباد (ارتفاع از سطح دریا ۱۰۴۶٫۶ متر) عمر درختان ۶ ساله، آبیاری در ماه‌های شهریور و مهرماه هر روز یک‌بار به مدت ۳ ساعت و از آبان تا اسفند به مدت ۲ ساعت در هر روز انجام شد. زمان برداشت در رابطه با مراحل مختلف مصادف با اول مهر (مرحله سبز رسیده)، ۴ آذر (مرحله تغییر رنگ)، ۷ دی (میوه رسیده) و ۳ اسفند (رسیده بیش از حد) بود. درختان اترج صغیر در منطقه حسین‌آباد قبله (ارتفاع از سطح دریا ۱۱۷۲٫۹ متر) قرار داشتند. با عمر ۵ ساله، دوره آبیاری در ماه‌های شهریور و مهرماه یک روز در میان به مدت ۲ ساعت و از آبان تا اسفند به مدت ۱/۵ ساعت یک روز در میان انجام شد. زمان‌های برداشت در مراحل مختلف رسیدن به ترتیب در زمان‌های ۷ مهر، ۲۸ آبان، ۱ دی و ۲۹ بهمن انجام شد.

### برداشت میوه‌ها و خشک کردن

برداشت میوه در زمان‌های مختلف در چهار جهت درخت (شمال، جنوب، شرق و غرب) در سه ارتفاع مختلف (۰-۷۰، ۷۰-۱۴۰ و ۱۴۰-۲۱۰ سانتی‌متر) انجام شد و نمونه‌ها کاملاً باهم مخلوط شدند. بعد از انتقال به آزمایشگاه، میوه‌ها به صورت کامل با آب شسته شده و پوست نازک رویی (فلاودو) دو واریته اترج جداگانه به روش دستی جدا شد. پوست به قطعات کوچک (۲-۳ سانتی‌متر) تقسیم شد و به مدت ۷ روز در سایه، در دمای اتاق ( $23 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد) خشک شدند. پس از خشک کردن پوست بیرونی هر کدام جداگانه بسته‌بندی و جهت پیشگیری از تغییرات تحت تأثیر محیط، در یخچال (دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) نگهداری شدند.

### اندازه‌گیری محتوی کلروفیل (a, b و کل) (Dere *et al.*, 1998)

Ch a = 15.65A666 - 7.34 A 653	Ch b = 27.05 A 653 - 11.21 A 666	Ch total = Ch a + Ch b
-------------------------------	----------------------------------	------------------------



## اندازه‌گیری شاخص رنگ

ابتدا نمونه‌ها پودر شده سپس توسط دوربین مخصوص عکس گرفته شد سپس با استفاده از نرم‌افزار MATLAB آنالیز شد و شاخص‌های مربوط به رنگ شامل  $L^*$ ،  $a^*$ ،  $b^*$  و Hue و کروما محاسبه شد (Mahmoodi-Eshkaftaki *et al.*, 2011). آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار جامپ (JMP version 8.1) انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی صورت گرفت.

## نتایج و بحث

### تأثیر مرحله رسیدن بر محتوی کلروفیل دو وارسته اترج:

مطابق نتایج مندرج در شکل شماره ۱ و ۲ طی بلوغ میوه محتوی (کلروفیل  $a$ ،  $b$  و کل) در هر دو رقم کاهش معنی‌داری داشت. در وارسته اترج کبیر بیشترین میزان کلروفیل  $a$  مربوط به مرحله سبز رسیده (۵/۰۶ میلی‌گرم در گرم نمونه خشک) بود و طی بلوغ کاهش شدیدی یافت به‌طوری‌که در مرحله خیلی رسیده میزان آن به ۰/۰۲۷ میلی‌گرم در گرم نمونه خشک رسید و این روند نزولی در اترج کبیر شدیدتر بود. در وارسته اترج صغیر بالاترین میزان در مرحله ابتدای بلوغ اندازه‌گیری شد و کمترین میزان در مرحله خیلی رسیده. بین مراحل رسیده و خیلی رسیده اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. کلروفیل  $b$  و کلروفیل کل نیز روند نزولی یکسانی را در هر دو رقم طی نمودند. از نظر کلروفیل کل در وارسته اترج کبیر اختلاف معنی‌داری بین همه مراحل بلوغ وجود داشت ولی در اترج صغیر اختلاف معنی‌داری بین مرحله سوم و چهارم بلوغ وجود نداشت. به‌طور کلی میزان کلروفیل در وارسته اترج کبیر بالاتر از اترج صغیر بود (شکل ۱ و ۲).

### تغییر در مؤلفه‌های رنگی پوست دو وارسته اترج در مراحل مختلف رسیدن میوه:

میزان فاکتور  $L^*$  (شاخص درخشندگی) در وارسته اترج کبیر تحت تأثیر مرحله رسیدن قرار گرفت به‌طوری‌که بیشترین میزان این صفت مربوط به مراحل دوم و اول رسیدن می‌باشد و طی بلوغ کاهش یافته است (جدول ۱) در حالی‌که در وارسته اترج صغیر بین تیمارها اختلاف معنی‌داری از این نظر وجود نداشت. مؤلفه‌های  $a^*$  ( $\pm$ )،  $b^*$  ( $\pm$ ) و کروما در هر دو وارسته طی بلوغ افزایش یافت. افزایش شاخص  $a^*$  که نشان‌دهنده تغییر رنگ از سبز تا قرمز می‌باشد به دلیل کاهش سبزیگی گیاه و تغییر رنگ به رنگ زرد در پوست میوه این دو وارسته می‌باشد. افزایش شاخص  $b^*$  (که تغییرات رنگ آبی تا زرد را نشان می‌دهد) طبیعتاً با افزایش بلوغ و تغییر رنگ بخش فلاود میوه به سمت رنگ زرد همخوانی دارد. شاخص هیو با سایر مؤلفه‌های رنگی ارتباط منفی دارد و در هر دو وارسته طی بلوغ کاهش معنی‌داری یافته است. البته در هر دو تیمار اختلاف معنی‌داری بین مراحل سوم و چهارم بلوغ از این نظر وجود ندارد (جدول ۱).

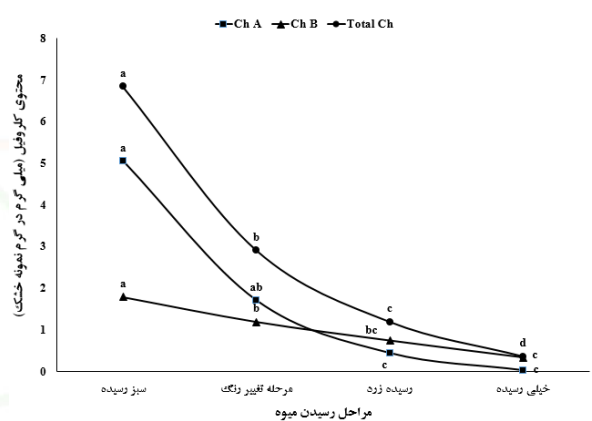
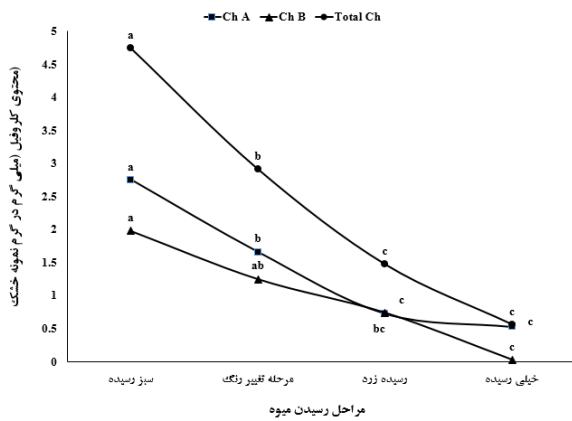
### بررسی روابط همبستگی بین مؤلفه‌های رنگی و محتوی کلروفیل:

نتایج مندرج در جدول ۲ نشان‌دهنده روابط همبستگی (مثبت یا منفی) بین مؤلفه‌های رنگی و محتوی کلروفیل می‌باشد که در رابطه با برخی موارد این روابط معنی‌دار می‌باشد. محتوی کلروفیل  $a$  ارتباط مثبت و معنی‌داری با کلروفیل  $b$ ، کلروفیل کل و شاخص هیو دارد در حالی‌که این ارتباط با شاخص  $a^*$ ،  $b^*$  و کروما منفی و معنی‌دار بود و با شاخص  $L^*$  ارتباط معنی‌داری نداشت. کلروفیل  $b$  نیز با کلروفیل کل و شاخص هیو ارتباط مثبت و معنی‌داری داشت در حالی‌که با شاخص‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و کروما این ارتباط منفی و معنی‌دار بود. کلروفیل کل نیز با شاخص هیو ارتباط مثبت و معنی‌داری و با مؤلفه‌های  $a^*$ ،  $b^*$  و کروما ارتباط منفی و معنی‌داری داشت. شاخص  $L^*$  با هیچ‌کدام از محتوی کلروفیل ارتباط معنی‌داری نداشت و تنها با شاخص کروما اختلاف منفی و معنی‌داری داشت. سایر ارتباطات و همبستگی‌های بین مؤلفه‌های رنگی در جدول شماره ۲ آورده شده است.



## نتیجه گیری کلی:

شناخت روابط بین مؤلفه های رنگی و محتوی کلروفیل می تواند کمک شایان توجهی در تعیین زمان برداشت جهت رسیدن به حداکثر مواد مؤثره داشته باشد. برای مثال در صورتی که تشخیص داده شود مثلاً در زمان حداکثر میزان کلروفیل مصادف با حداکثر میزان اسانس و یا میزان لیمونن در میوه اترج می باشد می توان با انجام یک آزمون غیر تخریبی در رابطه با اندازه گیری شاخص هیو و یا شاخص  $a^*$  و یا  $b^*$  اقدام به مرحله برداشت مورد نظر کنیم.



شکل «۱» تغییر در محتوی کلروفیل میوه اترج کبیر در مراحل مختلف رسیدن میوه شکل ۲- تأثیر مرحله رسیدن میوه بر محتوی کلروفیل میوه اترج صغیر

جدول «۱» تأثیر مراحل رسیدن میوه بر شاخص های رنگی پوست میوه دو رقم اترج

مراحل رسیدن میوه	شاخص $I^*$		شاخص $a^*$		شاخص $b^*$		هیو Hue		کروما
	اترج کبیر	اترج صغیر	اترج کبیر	اترج صغیر	اترج کبیر	اترج صغیر	اترج کبیر	اترج صغیر	
رسیده سبز	83.7 <sup>ab</sup>	83.0 <sup>a</sup>	-2.28 <sup>c</sup>	-2.08 <sup>c</sup>	6.33 <sup>c</sup>	7.39 <sup>b</sup>	0.177 <sup>a</sup>	0.166 <sup>a</sup>	6.73 <sup>c</sup>
مرحله تغییر رنگ	84.2 <sup>a</sup>	84.0 <sup>a</sup>	-0.27 <sup>b</sup>	-0.81 <sup>b</sup>	7.86 <sup>c</sup>	8.13 <sup>b</sup>	0.132 <sup>b</sup>	0.134 <sup>b</sup>	7.86 <sup>c</sup>
رسیده زرد	83.2 <sup>b</sup>	84.0 <sup>a</sup>	0.65 <sup>ab</sup>	1.13 <sup>a</sup>	16.8 <sup>b</sup>	12.5 <sup>a</sup>	0.109 <sup>c</sup>	0.105 <sup>c</sup>	16.8 <sup>b</sup>
خیلی رسیده	81.7 <sup>c</sup>	83.5 <sup>a</sup>	1.57 <sup>a</sup>	1.04 <sup>a</sup>	19.9 <sup>a</sup>	12.5 <sup>a</sup>	0.103 <sup>c</sup>	0.104 <sup>c</sup>	20.0 <sup>a</sup>

وجود حروف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمارها می باشد.

جدول «۲» بررسی روابط همبستگی بین شاخص های رنگ و محتوی کلروفیل در دو رقم اترج تحت تأثیر مرحله رسیدن میوه

Chroma	Hue	$b^*$	$a^*$	$I^*$	کلروفیل کل	کلروفیل b	
-۰/۷۷۰°	-۰/۹۵۱°**	-۰/۷۸۵°	-۰/۹۱۶°**	-۰/۳۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۹۸۶°**	۰/۸۳۴°**	کلروفیل a
-۰/۷۵۷°	-۰/۹۳۲°**	-۰/۷۶۸°	-۰/۹۴۱°**	-۰/۲۸۴ <sup>ns</sup>	۰/۹۱۵°**	۱	کلروفیل b
-۰/۷۹۴°	-۰/۹۸۰°**	-۰/۸۰۹°	-۰/۹۵۸°**	-۰/۳۸۱ <sup>ns</sup>	۱	۱	کلروفیل کل
-۰/۷۱۶°	-۰/۲۲۰ <sup>ns</sup>	-۰/۷۰۳ <sup>ns</sup>	-۰/۳۰۶ <sup>ns</sup>	۱	۱	۱	$I^*$
۰/۸۲۸°	-۰/۹۸۴°**	۰/۸۴۰°**	۱	۱	۱	۱	$a^*$
۱°**	-۰/۷۹۷°	۱	۱	۱	۱	۱	$b^*$
-۰/۷۸۳°	۱	۱	۱	۱	۱	۱	Hue

\*: معنی داری در سطح ۵ درصد، \*\*: معنی داری در سطح ۱ درصد، ns: عدم وجود اختلاف معنی دار



## منابع

- قهرمان، ا. ۱۳۸۳. فلور رنگی ایران، انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، جلد ۱۹، ش ۲۲۹۳.
- Carmona, L., Zacarias, L. and Rodrigo, M.J. 2012. Stimulation of coloration and carotenoid biosynthesis during postharvest storage of Navelina orange fruit at 12°C. *Postharvest Biology and Technol.* 74: 108-117.
- Dere, S., Gunes, T. and Sivaci, R. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. *Journal of botany*, 22: 13- 17.
- Fatahi Moghadam, J. and Kia Eshkevarian, M. 2011. Dgreening of citrus. Mazandaran: Agricultural Extension Services of Jihad – Agricultural Organization of Mazandaran Press.
- Mahmoodi-Eshkaftaki, M., J. Khazaei and K. Vahdati, 2013. Chlorophyll Content Estimation Using Image Processing Technique. *World Applied Sciences Journal*, pp. 5-7.
- Mirheydar, H. 2012. Fruits. Herbal education 2, Ninth ed, Islamic culture publishing office, Tehran, Iran, pp. 535.
- Koca N, Karadeniz F. and Burdulu HS. 2006. Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss blanched green peas. *Journal of Food Chemistry*. 100: 609 – 615.
- Reuther, W. 1978. The citrus industry. Berweley university of California davise Agriculture Science, Vol. 2-3. pp. 45, 200-287.
- Wang HC, Huang XM, Hu GB, Yang ZY. and Huang HB. 2005. A comparative study of chlorophyll loss and its related mechanism during fruit maturation in the pericarp of fast and slow-degreening Litchi pericarp. *Scientia Horticulture*. 106: 247- 257.

## Chlorophyll content changes and flavedo color properties of two varieties of Citron during the process of fruit ripening

Nehleh Taghvaeefard<sup>1\*</sup>, Askar Ghani<sup>2</sup>, Mehdi Hosseini Farahi<sup>3</sup>, Mahmood Mahmoodi<sup>4</sup>

<sup>1\*</sup> Department of Horticultural Science, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

<sup>2</sup> Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

<sup>3</sup> Department of Horticultural Science, Yasooj Branch, Islamic Azad University, Yasooj, Iran

<sup>4</sup>Department of Mechanical Engineering of Biosystems, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran

\*Corresponding Author: [n.taghvaeefard@gmail.com](mailto:n.taghvaeefard@gmail.com)

### Abstract

The harvest time can significantly affect the qualitative and quantitative features of medicinal plants and mostly, a significant relationship exists between the visual qualities and the active substance in medicinal plants. Such relationships facilitate the identification of these relationships for a better timing of harvest. In this study, two separate experiments were carried out based on randomized complete block design with four treatments and four replications. The objective was to evaluate the changes in chlorophyll content and flavedo color properties of two citron varieties. The evaluations were made through the stages of fruit maturity. The treatments include four fruit maturity stages i.e. green mature (GM), intermediate color change (INT), maturity stage (MAT) and over-ripe stage (OR). This factors measured consist of chlorophyll content (i.e. a, b and total), color indices (i.e. b\*, a\*, l\*, hue and Chroma). The tratments showed significant effects on most traits in both cultivars. During the process of maturity, the chlorophyll content of fruits (i.e. chlorophyll a, b and total) decreased significantly in both cultivars. This decrease appeared to be more drastic in *Citrus medica* L. var. *macrocarpa* Risso. In being mostly important among other color factors, the color components l\*, a\* and b\* were also affected. In both varieties, the a\* and b\* factors increased in their values, whereas the l\* index decreased. *Citrus medica* L. var. *macrocarpa* Risso. underwent a sharper decrease in this regard, while the differences that occurred in *Citrus medica* var. *medica* Proper. were not statistically different. There was also a significant correlation (negative or positive) between chlorophyll contents and color components.

**Keywords:** Maturation, *Citrus medica* L., Hue, Chroma, Flavedo