

## بررسی اثر تغییرات فصلی بر روی ترکیبات روغن پوست نارنگی رقم Page

بهزاد بابازاده درجزی<sup>۱\*</sup>، عبدالحسین روستائیان<sup>۲</sup>، رحیم تقی‌زاد فرید<sup>۳</sup>، بهروز گل‌عین<sup>۴</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رودهن، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی تولیدات گیاهی، رودهن

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، دانشکده شیمی، گروه شیمی آلی، تهران

۳- دانشجوی کارشناسی ارشد شیمی آلی، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی، کرج

۴- وزارت کشاورزی، موسسه تحقیقات مرکبات کشور، رامسر

\* آدرس مکاتبه: دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن، دانشکده کشاورزی، گروه مهندسی تولیدات گیاهی،

رودهن، صندوق پستی: ۱۸۹، تلفن: ۳۳۰۰۹۷۴۳ (۰۲۱)، نمابر: ۵۷۲۷۶۶۵ (۰۲۲۱)

پست الکترونیک: babazade@riau.ac.ir, babazadeh.b@gmail.com

تاریخ دریافت: ۸۸/۷/۱۴

تاریخ تصویب: ۸۹/۴/۱۴

### چکیده

مقدمه: به نظر می‌رسد که زمان برداشت بر روی میزان ترکیبات طعم‌دهنده روغن پوست میوه (آلدئیدها، الکل‌ها و استرها) تأثیر داشته باشد.

هدف: هدف کار حاضر، مطالعه ترکیبات طعم‌دهنده پوست نارنگی و مطالعه تغییرات آنها در طی یک فصل می‌باشد.

روش بررسی: ۱۰ عدد میوه بالغ در اواخر آذرماه و اواخر بهمن ماه سال ۱۳۸۷ برداشت شدند و روغن پوست آنها با فشار مکانیکی و توسط شستشو با هگزان نرمال استخراج شدند و سپس به وسیله دستگاه GC و GC/MS آنالیز شدند.

نتایج: در اواخر آذرماه مقدار آلدئیدها، الکل‌ها و استرهای روغن پوست میوه به ترتیب ۱/۳۴، ۱/۸۷، ۰/۱۷ و در اواخر بهمن ماه مقدار آنها به ترتیب ۰/۴۶، ۱/۰۶، ۰/۰۴ بود

نتیجه‌گیری: ترکیبات اکسیژن‌دار به خصوص decanal و linalool با برداشت دیرهنگام میوه، کاهش چشم‌گیری را در غلظت نسبی نشان دادند، اگرچه غلظت لیمونن افزایش متقابل نشان داد.

گل‌واژگان: ترکیبات اکسیژن‌دار، روغن پوست میوه، فشار مکانیکی



## مقدمه

طعم بسیاری از میوه‌ها در اثر عدم آگاهی از زمان برداشت به موقع، به حد متوسط یا حتی پایین‌تر تنزل یافته است و این امر باعث نگرانی صنعت تجارت میوه شده است. به نظر می‌رسد که طعم و مزه در وهله اول از طریق ژنتیک و سپس به وسیله تأثیرات محیطی و زمان برداشت کنترل می‌شود [۱].

روغن پوست نارنگی ماده خام مهمی است که کاربرد فراوانی داشته و از نظر تجاری بسیار با ارزش است. این ماده در صنعت داروسازی، دندان‌پزشکی، چشم‌پزشکی، زنان و زایمان و پوست و زیبایی به کار می‌رود. در حقیقت این ماده رسماً در فهرست کتاب‌های راهنمای دارویی بسیاری از کشورها از جمله ایران آمده است [۲]. روغن پوست نارنگی همچنین در صنایع غذایی، شیرینی‌پزی به عنوان طعم‌دهنده نوشیدنی‌ها، چای‌ها، تافی‌های شکلاتی، آبنبات‌ها، بستنی‌ها و نوشابه‌ها به کار می‌رود [۳]. فواید آروماتراپی آن عبارتند از ایجاد خوشحالی و روحیه شاد در انسان می‌باشد [۲]. لینالول و دکانال جزء ترکیبات طعم‌دهنده روغن پوست نارنگی هستند. نرال، ژرانیال، اکتانال، دودکانال نیز جزء ترکیبات طعم‌دهنده روغن پوست نارنگی به شمار می‌روند [۴]. براساس شاخص‌های بین‌المللی، کیفیت روغن پوست نارنگی را بر اساس میزان ترکیبات اکسیژنه و علی‌الخصوص دکانال و لینالول محاسبه می‌کنند [۴]. الدهیدها و الکل‌ها به ویژه دکانال و لینالول باعث جذب حشرات گرده افشان مخصوصاً زنبور عسل شده و بالاخره باعث گرده افشانی گیاهان می‌شوند [۲]. یکی از مواردی که امروزه باید در رابطه با افزایش کیفیت روغن اسانس‌دار پوست نارنگی در نظر گرفت، شناخت زمان درست برای برداشت میوه‌ها است که حداکثر مقدار ترکیبات طعم‌دهنده در آنها وجود داشته باشد. هدف از این تحقیق مطالعه تأثیر زمان برداشت بر روی میزان ترکیبات طعم‌دهنده (آلدئیدها، الکل‌ها، استرها) روغن پوست میوه می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

## موقعیت جغرافیایی محل اجرای تحقیق

این تحقیق در طی سال ۱۳۸۷ در ایستگاه مرکزی موسسه تحقیقات مرکبات کشور واقع در شهر رامسر انجام شد. خاک محل آزمایش دارای بافت لومی رسی است که pH عصاره اشباع آن ۶/۹۴ بوده و EC عصاره اشباع آن ۱/۱۷ میلی‌موس بر سانتی‌متر می‌باشد. عملیات آزمایشگاهی مربوط به استخراج و اندازه‌گیری روغن اسانس‌دار در پژوهشگاه گیاهان دارویی وابسته به جهاددانشگاهی واقع در کیلومتر ۲۰ جاده تهران-قزوین صورت گرفت.

## طرح آماری آزمایش

این تحقیق در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. آزمایش در سال ۱۳۸۷ و در ۳ تکرار انجام شد. در این تحقیق از نارنگی Page به عنوان پیوندک و از یوزو به عنوان پایه استفاده شد.

## تهیه نمونه پوست میوه

برای تهیه پوست میوه، در ۲ مرحله، یکی در اواخر آذرماه سال ۱۳۸۷ و دیگری در اواخر بهمن‌ماه سال ۱۳۸۷، ۱۰ عدد میوه بالغ را به طور تصادفی از جهات مختلف درخت برداشت نمودیم و سپس پوست آنها را برای آزمایش جدا کردیم.

## تکنیک استخراج روغن اسانس‌دار از پوست میوه

در حدود ۱۵۰ گرم پوست میوه را با ترازوی دیجیتال جهت آزمایش وزن کردیم. استخراج روغن در آزمایشگاه و با فشردن پوست میوه‌ها با دست انجام گردید. روغن روی یک شیشه ساعت جمع گردید و سپس به لوله آزمایش انتقال داده شد تا سانتریفوژ شود و سپس به وسیله دستگاه GC/MS و GC مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## روش کروماتوگرافی گازی (GC)

برای آنالیز ترکیبات موجود در اسانس پوست میوه‌ها، از



### شناسایی ترکیبات

برای شناسایی ترکیبات از کتابخانه وایلی، NIST نصب شده بر روی سیستم کامپیوتر و همچنین از روش منطبق نمودن پیک‌هایمان با رفرنس آدامز [۵] و رفرنس‌های دیگر [۶] استفاده کردیم.

### نتیجه‌گیری

آنالیز GC/MS ترکیبات روغن اسانس‌دار نارنگی Page به ما اجازه داد که ۵۹ ترکیب را در برداشت اول (اواخر آذرماه) و ۳۲ ترکیب را در برداشت دوم (اواخر بهمن‌ماه) شناسایی کنیم که این ترکیبات شامل آلدئیدها، الکل‌ها، استرها، کتون‌ها و مونوترپن‌ها و سزکویی‌ترین‌ها و اسیدها بودند که در زیره آنها اشاره شده است (جدول شماره ۱).

دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل Agilent 6890N مجهز به ستون از نوع HP-5ms به ضخامت ۰/۲۵ میکرومتر و طول ۳۰ متر و قطر داخلی ۰/۲۵ میلی‌متر استفاده شد. دتکتور دستگاه GC از نوع FID بود. دمای ستون روی ۵۰ تا ۱۸۵ درجه سانتی‌گراد برنامه‌ریزی شد. دما به مدت ۳ دقیقه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد و سپس تا ۱۸۵ درجه سانتی‌گراد با سرعت ۳ درجه سانتی‌گراد افزایش یافت و به مدت ۱ دقیقه در دمای ۱۸۵ درجه سانتی‌گراد نگه داشته شد. از گاز هلیوم با سرعت ۰/۸ میلی‌متر در دقیقه استفاده به عمل آمد.

### روش کروماتوگرافی و طیف‌سنجی جرمی (GC/MS)

برای شناسایی ترکیبات موجود در اسانس پوست میوه از دستگاه GC/MS مدل Agilent 6890N استفاده به عمل آمد. ستون از نوع HP-5ms و برنامه دمایی آن مشابه به شرایط به کار رفته در GC بود.

جدول شماره ۱- ترکیبات شناسایی شده در روغن اسانس‌دار میوه‌های برداشت شده در اواخر آذرماه و اواخر بهمن (برای ۱۵۰ گرم پوست میوه)

| Peak No | Component                      | Mega 5 Ms | برداشت مرحله اول (اواخر آذرماه) |       | برداشت مرحله دوم (اواخر بهمن‌ماه) |       |
|---------|--------------------------------|-----------|---------------------------------|-------|-----------------------------------|-------|
|         |                                |           | میانگین                         | SD    | میانگین                           | SD    |
| ۱       | $\alpha$ - Pinene              | 935       | 0.31                            | 0.01  | 0.52                              | 0.02  |
| ۲       | camphene                       | 951       | 0.01                            | 0     | 0                                 | 0     |
| ۳       | sabinene                       | 975       | 0.19                            | 0.01  | 0.26                              | 0.01  |
| ۴       | $\beta$ - Pinene               | 979       | 0.01                            | 0     | 0                                 | 0     |
| ۵       | myrcene                        | 991       | 1.93                            | 0.03  | 2.12                              | 0.01  |
| ۶       | octanal                        | 1003      | 0.12                            | 0     | 0.06                              | 0.01  |
| ۷       | $\alpha$ - phellandrene        | 1006      | 0.03                            | 0.005 | 0.00                              | 0     |
| ۸       | $\delta$ - 3 - carene          | 1012      | 0.03                            | 0.01  | 0.04                              | 0.005 |
| ۹       | limonene                       | 1036      | 87.45                           | 0.49  | 93.48                             | 0.09  |
| ۱۰      | (Z) $\beta$ - ocimene          | 1049      | 0.77                            | 0.04  | 0.63                              | 0.05  |
| ۱۱      | 1,8 - cineole                  | 1070      | 0.01                            | 0.005 | 0                                 | 0     |
| ۱۲      | terpinolene                    | 1091      | 0.02                            | 0.01  | 0.01                              | 0     |
| ۱۳      | linalool                       | 1100      | 1.24                            | 0.08  | 0.92                              | 0.01  |
| ۱۴      | cis - limonene oxide           | 1137      | 0.01                            | 0.005 | 0                                 | 0     |
| ۱۵      | trans-limonene oxide           | 1141      | 0.01                            | 0.005 | 0                                 | 0     |
| ۱۶      | citronellal                    | 1154      | 0.07                            | 0.01  | 0.02                              | 0     |
| ۱۷      | terpinen-4-ol                  | 1182      | 0.01                            | 0     | 0                                 | 0     |
| ۱۸      | $\alpha$ - terpineol           | 1195      | 0.1                             | 0.02  | 0.07                              | 0.05  |
| ۱۹      | decanal                        | 1205      | 0.58                            | 0.01  | 0.28                              | 0.01  |
| ۲۰      | 3-cyclohexene - 1 acetaldehyde | 1223      | 0.11                            | 0.005 | 0.03                              | 0     |
| ۲۱      | citronellol                    | 1229      | 0.04                            | 0.01  | 0                                 | 0     |
| ۲۲      | neral                          | 1244      | 0.03                            | 0.01  | 0                                 | 0     |
| ۲۳      | carvone                        | 1250      | 0.06                            | 0.01  | 0                                 | 0     |
| ۲۴      | linalyl acetate                | 1255      | 0.01                            | 0.005 | 0                                 | 0     |



ادامه جدول شماره ۱- ترکیبات شناسایی شده در روغن اسانس دار میوه‌های برداشت شده در اواخر آذرماه و اواخر بهمن (برای ۱۵۰ گرم پوست میوه)

| Peak No | Component                           | Mega 5 Ms | برداشت مرحله دوم (اواخر بهمن ماه) |       |         |       |
|---------|-------------------------------------|-----------|-----------------------------------|-------|---------|-------|
|         |                                     |           | میانگین                           | SD    | میانگین | SD    |
| ۲۵      | geranial                            | 1275      | 0.04                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۲۶      | 3,5,5-trimethyl cyclohex-2-en-1-one | 1278      | 0.11                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۲۷      | Peril aldehyde                      | 1282      | 0.04                              | 0.005 | 0.02    | 0     |
| ۲۸      | Peril alcohol                       | 1296      | 0.05                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۲۹      | P-Menth-1-en-9-ol                   | 1301      | 0.02                              | 0     | 0       | 0     |
| ۳۰      | Undecanal                           | 1307      | 0.03                              | 0     | 0       | 0     |
| ۳۱      | (E) 2,4-decadieneal                 | 1322      | 0.09                              | 0.02  | 0       | 0     |
| ۳۲      | $\delta$ - elemene                  | 1344      | 0.48                              | 0.05  | 0.14    | 0.01  |
| ۳۳      | 1-P-menthen-8-yl acetate            | 1353      | 0.03                              | 0.01  | 0.008   | 0.005 |
| ۳۴      | $\beta$ - patchulene                | 1377      | 0.01                              | 0.005 | 0       | 0     |
| ۳۵      | $\alpha$ - copaene                  | 1385      | 0.1                               | 0.02  | 0.04    | 0     |
| ۳۶      | 5-dodecen-1-al                      | 1392      | 0.02                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۳۷      | $\beta$ - elemene                   | 1399      | 0.27                              | 0.04  | 0.09    | 0     |
| ۳۸      | dodecanal                           | 1409      | 0.21                              | 0.02  | 0.05    | 0.005 |
| ۳۹      | limonene-10-yl acetate              | 1414      | 0.1                               | 0.01  | 0.03    | 0.005 |
| ۴۰      | P-Menth-1-en-9-yl acetate           | 1425      | 0.03                              | 0.005 | 0       | 0     |
| ۴۱      | (Z)- $\beta$ -caryophyllene         | 1431      | 0.03                              | 0.005 | 0.01    | 0.005 |
| ۴۲      | $\gamma$ - elemene                  | 1440      | 0.13                              | 0.01  | 0.03    | 0     |
| ۴۳      | $\alpha$ - guaiene                  | 1447      | 0.012                             | 0.02  | 0       | 0     |
| ۴۴      | (Z)- $\beta$ - farnesene            | 1458      | 0.17                              | 0.06  | 0.03    | 0.01  |
| ۴۵      | $\alpha$ - humulene                 | 1466      | 0.18                              | 0.01  | 0.05    | 0     |
| ۴۶      | $\alpha$ - amorphene                | 1486      | 0.03                              | 0.02  | 0       | 0     |
| ۴۷      | germacrene D                        | 1493      | 0.82                              | 0.07  | 0.18    | 0.01  |
| ۴۸      | bicyclogermacrene                   | 1499      | 0.03                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۴۹      | valencene                           | 1504      | 0                                 | 0     | 0.008   | 0.001 |
| ۵۰      | $\alpha$ - muurolene                | 1508      | 0.12                              | 0.02  | 0.008   | 0.005 |
| ۵۱      | $\delta$ - guaiene                  | 1516      | 0.08                              | 0.01  | 0.02    | 0.005 |
| ۵۲      | $\gamma$ - cadinene                 | 1527      | 0.02                              | 0.01  | 0       | 0     |
| ۵۳      | $\delta$ - cadinene                 | 1532      | 0.2                               | 0.01  | 0.06    | 0.005 |
| ۵۴      | elemol                              | 1559      | 0.28                              | 0.05  | 0.06    | 0     |
| ۵۵      | (E)- nerolidol                      | 1567      | 0.09                              | 0.04  | 0       | 0     |
| ۵۶      | germacrene B                        | 1572      | 0.03                              | 0.01  | 0.01    | 0.005 |
| ۵۷      | germacrene D-4-ol                   | 1588      | 0.03                              | 0.005 | 0.01    | 0     |
| ۵۸      | 1,2-benzendicarboxylic acide        | 1601      | 0.12                              | 0.02  | 0.00    | 0     |
| ۵۹      | 13-tetradecen-2-yn-1-ol             | 1634      | 0.009                             | 0     | 0       | 0     |
| ۶۰      | tetrahydroxy cyclopentadienone      | 1641      | 0.005                             | 0     | 0       | 0     |

#### آلدئیدها

(برداشت دیرهنگام)، مقدار آنها به شدت کاهش یافته بود (جدول شماره ۲). دکانال در بین ترکیبات آلدئیدی بیشترین میزان را در روغن پوست میوه داشت (شکل شماره ۱). نتایج نشان داد که دکانال با لینالول در سطح ۱ درصد (از لحاظ آماری) ارتباط مستقیم و با الفا پینن، میرسن، لیمونن در سطح ۱ درصد ارتباط معکوس داشت (جدول شماره ۳).

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۱۱ آلدئید و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم، ۶ آلدئید شناسایی شدند. این ترکیبات شامل decanal, citronellal, octanal, geranial, neral, 3-cyclohexen-1-acetaldehyde, perillaldehyde, dodecanal, (E)2,4-, 5-dodecen-1-al, undecanal, decadieneal بودند که در برداشت مرحله دوم



الکرها

که در برداشت مرحله دوم (برداشت دیرهنگام) مقدار آنها به شدت کاهش یافته بود. لینالول در بین ترکیبات الکلی بیشترین میزان را داشت (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱). نتایج نشان داد که لینالول با با آلفا پینن، میرسن، لیمونن در سطح ۱ درصد (از لحاظ آماری) ارتباط معکوس داشت (جدول شماره ۳).

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۱۲ الکل و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم، ۴ الکل شناسایی شدند. این ترکیبات شامل 1,8-cineol, linalool, terpinen-4-ol,  $\alpha$ -terpineol, citranelol, cis-carveol, perill alcohol, P-menth-1-en-9-ol, elemol, nerolidol (E), Germacrene D-4-ol, 13-tetradecen-2-yn-1-ol بودند.

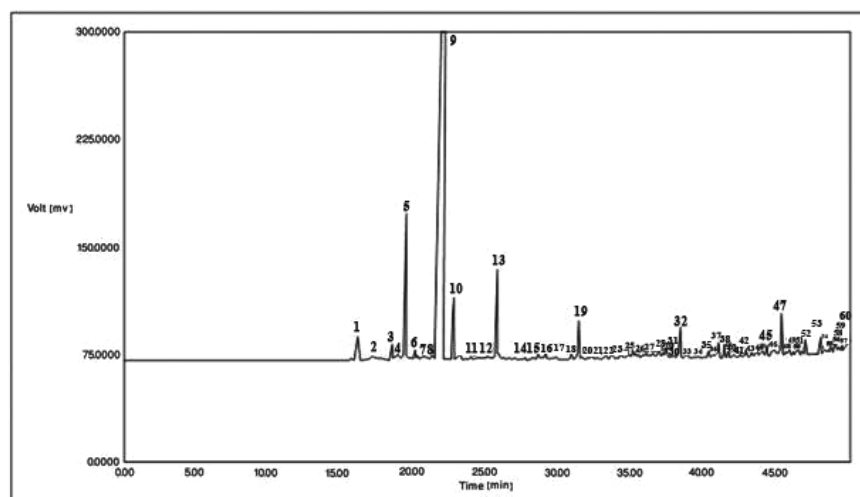
جدول شماره ۲- اثر زمان برداشت بر روی ترکیبات طعم‌دهنده روغن پوست میوه نارنگی

| Compounds                              | برداشت مرحله اول (اواخر آذرماه) |             | برداشت مرحله دوم (اواخر بهمن‌ماه) |              |
|--|---------------------------------|-------------|-----------------------------------|--------------|
|  | Mean                            | St. err     | mean                              | St. err.     |
| Oxygenated compounds                   |                                 |             |                                   |              |
| a) Aldehyds                            |                                 |             |                                   |              |
| 1) octanal                             | 0.12                            | 0.00        | 0.06                              | 0.01         |
| 2) citronellal                         | 0.07                            | 0.01        | 0.02                              | 0            |
| 3) decanal                             | 0.58                            | 0.01        | 0.28                              | 0.01         |
| 4) 3-cyclohexen-1-acetaldehyde         | 0.11                            | 0.005       | 0.03                              | 0            |
| 5) neral                               | 0.03                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 6) geranial                            | 0.04                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 7) perill aldehyde                     | 0.04                            | 0.005       | 0.02                              | 0            |
| 8) undecanal                           | 0.03                            | 0.00        | 0                                 | 0            |
| 9) (E) 2,4-decadieneal                 | 0.09                            | 0.02        | 0                                 | 0            |
| 10) 5-dodecen-1-al                     | 0.02                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 11) dodecanal                          | 0.21                            | 0.02        | 0.05                              | 0.005        |
| <b>Total</b>                           | <b>1.34</b>                     | <b>0.10</b> | <b>0.46</b>                       | <b>0.02</b>  |
| b) Alcohols                            |                                 |             |                                   |              |
| 1) 1,8 -cineol                         | 0.01                            | 0.005       | 0                                 | 0            |
| 2) linalool                            | 1.24                            | 0.08        | 0.92                              | 0.01         |
| 3) Terpinene-4-ol                      | 0.01                            | 0.00        | 0                                 | 0            |
| 4) $\alpha$ - terpineol                | 0.10                            | 0.02        | 0.07                              | 0.005        |
| 5) citronellol                         | 0.04                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 6) cis-carveol                         | 0.009                           | 0.0005      | 0                                 | 0            |
| 7) perill alcohol                      | 0.05                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 8) p-menth-1-en-9-ol                   | 0.02                            | 0.00        | 0                                 | 0            |
| 9) elemol                              | 0.28                            | 0.05        | 0.06                              | 0            |
| 10) (E) nerolidol                      | 0.09                            | 0.04        | 0                                 | 0            |
| 11) Germacrene D-4 -ol                 | 0.03                            | 0.005       | 0.01                              | 0            |
| 12-tetradecen-2-yn-1-ol                | 0.009                           | 0.00        | 0                                 | 0            |
| <b>total</b>                           | <b>1.87</b>                     | <b>0.22</b> | <b>1.06</b>                       | <b>0.01</b>  |
| c) Esters                              |                                 |             |                                   |              |
| 1) linalyl acetate                     | 0.01                            | 0.005       | 0                                 | 0            |
| 2) 1-p-menthen-8-yl acetate            | 0.03                            | 0.01        | 0.008                             | 0.0005       |
| 3) Limonene-10-yl acetate              | 0.10                            | 0.01        | 0.03                              | 0.005        |
| 4) p-menth-1-en-9-yl acetate           | 0.03                            | 0.005       | 0.009                             | 0.0005       |
| <b>total</b>                           | <b>0.17</b>                     | <b>0.03</b> | <b>0.04</b>                       | <b>0.006</b> |
| d) ketone                              |                                 |             |                                   |              |
| 1) carvone                             | 0.06                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 2) 3,5-5-trimethyl cyclohex-2-en-1-one | 0.11                            | 0.01        | 0                                 | 0            |
| 3) Tetrahydroxy cyclopentadienone      | 0.005                           | 0.00        | 0                                 | 0            |
| <b>total</b>                           | <b>0.17</b>                     | <b>0.02</b> | <b>0</b>                          | <b>0</b>     |
| Total oxygenated compounds             | 3.55                            | 0.37        | 0                                 | 0            |
| Monoterpenes                           |                                 |             |                                   |              |
| 1) $\alpha$ -pinene                    | 0.31                            | 0.01        | 0.52                              | 0.02         |
| 2) camphene                            | 0.01                            | 0.00        | 0                                 | 0            |



ادامه جدول شماره ۲- اثر زمان برداشت بر روی ترکیبات طعم‌دهنده روغن پوست میوه نارنگی

| Compounds                      | برداشت مرحله اول (اواخر آذرماه) |             | برداشت مرحله دوم (اواخر بهمن‌ماه) |             |
|--------------------------------|---------------------------------|-------------|-----------------------------------|-------------|
|                                | Mean                            | St. err     | mean                              | St. err.    |
| 3) sabinene                    | 0.19                            | 0.01        | 0.26                              | 0.01        |
| 4) $\beta$ -pinene             | 0.01                            | 0.00        | 0                                 | 0           |
| 5) myrcene                     | 1.93                            | 0.03        | 2.12                              | 0.01        |
| 6) $\alpha$ -phellandrene      | 0.03                            | 0.005       | 0                                 | 0           |
| 7) $\delta$ -3-carene          | 0.03                            | 0.01        | 0.04                              | 0.005       |
| 8) limonene                    | 87.45                           | 0.49        | 93.48                             | 0.09        |
| 9) (Z)- $\beta$ -ocimene       | 0.77                            | 0.04        | 0.63                              | 0.05        |
| 10) terpinolene                | 0.02                            | 0.01        | 0.01                              | 0           |
| 11)cis-limonene oxide          | 0.01                            | 0.005       | 0                                 | 0           |
| 12)trans limonene oxide        | 0.01                            | 0.005       | 0                                 | 0           |
| <b>total</b>                   | <b>90.78</b>                    | <b>0.61</b> | <b>97.06</b>                      | <b>0.18</b> |
| sesquiterpenes                 |                                 |             |                                   |             |
| 1) $\delta$ - elemene          | 0.48                            | 0.05        | 0.14                              | 0.01        |
| 2) $\beta$ -patchulene         | 0.01                            | 0.005       | 0                                 | 0           |
| 3) $\alpha$ -copaene           | 0.10                            | 0.02        | 0.04                              | 0           |
| 4) $\beta$ -elemene            | 0.27                            | 0.04        | 0.09                              | 0           |
| 5) (Z)- $\beta$ -caryophyllene | 0.03                            | 0.005       | 0.01                              | 0.005       |
| 6) $\gamma$ -elemene           | 0.13                            | 0.01        | 0.03                              | 0           |
| 7) $\alpha$ -guaiene           | 0.12                            | 0.02        | 0                                 | 0           |
| 8) (Z)- $\beta$ -farnesene     | 0.17                            | 0.06        | 0.03                              | 0.01        |
| 9) $\alpha$ -humulene          | 0.18                            | 0.01        | 0.05                              | 0           |
| 10) $\alpha$ -amorphen         | 0.03                            | 0.02        | 0                                 | 0           |
| 11) Germacrene D               | 0.82                            | 0.07        | 0.18                              | 0.01        |
| 12)bicyclgermacrene            | 0.03                            | 0.01        | 0                                 | 0           |
| 13) valencene                  | 0.005                           | 0.00        | 0.008                             | 0.001       |
| 14) $\alpha$ -muurolene        | 0.12                            | 0.02        | 0.02                              | 0.005       |
| 15) $\delta$ -guaiene          | 0.08                            | 0.01        | 0.01                              | 0.005       |
| 16) $\gamma$ -cadinene         | 0.02                            | 0.01        | 0                                 | 0           |
| 17) $\delta$ -cadinene         | 0.20                            | 0.01        | 0.06                              | 0.005       |
| 18) germacrene B               | 0.03                            | 0.01        | 0.01                              | 0.004       |
| <b>total</b>                   | <b>2.81</b>                     | <b>0.38</b> | <b>0.67</b>                       | <b>0.05</b> |
| Total terpens                  | 93.59                           | 0.99        | 97.73                             | 0.23        |
| Acids                          |                                 |             |                                   |             |
| 1,2-Benzendicarboxylic acide   | 0.12                            | 0.02        | 0                                 | 0           |



شکل شماره ۱- کروماتوگرام GC حاصل از تجزیه روغن اسانس‌دار پوست میوه‌های برداشت شده در آذرماه



جدول شماره ۳- بررسی همبستگی ترکیبات در پوست میوه‌های برداشت شده در اواخر آذرماه

|                     | $\alpha$ -pinene | Sabinene | Myrcene  | limonene | Z- $\beta$ -ocimene | linalool | decanal | $\beta$ -elemen | $\beta$ -elemene | Dodecanal | $\alpha$ -Humulene | Germacren D | $\delta$ -cadinene |
|---------------------|------------------|----------|----------|----------|---------------------|----------|---------|-----------------|------------------|-----------|--------------------|-------------|--------------------|
| Sabinene            | 0.005            |          |          |          |                     |          |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| Myrcene             | 0.872**          | 0.221    |          |          |                     |          |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| limonene            | 0.391            | 0.168    | 0.628**  |          |                     |          |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| Z- $\beta$ -ocimene | -0.335           | 0.152    | -0.380   | -0.662** |                     |          |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| linalool            | -0.759**         | -0.105   | -0.738** | -0.632** | 0.283               |          |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| decanal             | -0.771**         | -0.139   | -0.797** | -0.766** | 0.350               | 0.883**  |         |                 |                  |           |                    |             |                    |
| $\delta$ -elemen    | -0.466*          | 0.013    | -0.509*  | -0.820** | 0.628**             | 0.762**  | 0.751** |                 |                  |           |                    |             |                    |
| $\beta$ -elemene    | -0.641**         | -0.215   | -0.711** | -0.772** | 0.400               | 0.824**  | 0.861** | 0.837**         |                  |           |                    |             |                    |
| Dodecanal           | -0.434*          | 0.089    | -0.124   | 0.027    | 0.098               | 0.449*   | 0.236   | 0.438*          | 0.369            |           |                    |             |                    |
| $\alpha$ -Humulene  | -0.340           | 0.087    | -0.111   | -0.001   | 0.058               | 0.357    | 0.176   | 0.427*          | 0.340            | 0.927**   |                    |             |                    |
| Germacren D         | -0.438*          | -0.065   | -0.542** | -0.878** | 0.650**             | 0.744**  | 0.740** | 0.971**         | 0.845**          | 0.364     | 0.376              |             |                    |
| $\delta$ -cadinene  | -0.578**         | -0.083   | -0.765** | -0.886** | 0.452*              | 0.776**  | 0.875** | 0.804**         | 0.811**          | 0.032     | 0.070              | 0.826**     |                    |
| elemol              | -0.318           | -0.242   | -0.514*  | -0.835** | 0.493*              | 0.518**  | 0.662** | 0.813**         | 0.791**          | 0.176     | 0.234              | 0.837**     | 0.741**            |

$\alpha$   
 \*\*باین‌منی است که بین دو ترکیب، ۹۹ درصد همبستگی وجود دارد (یعنی بین دو ترکیب در سطح ۱ درصد همبستگی وجود دارد)  
 \*باین‌منی است که بین دو ترکیب، ۹۵ درصد همبستگی وجود دارد (یعنی بین دو ترکیب در سطح ۵ درصد همبستگی وجود دارد)  
 علامت منفی پشت هر عدد، باین‌منی است که بین دو ترکیب، همبستگی معکوس وجود دارد.



## استرها

سزکویی‌ترین شناسایی شدند. ترکیبات  $\delta$ -elemene Germacrene D در بین سزکویی‌ترین‌ها بیشترین میزان را در روغن پوست میوه داشتند (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱) نتایج نشان داد که این دو ترکیب در سطح ۱ درصد (از لحاظ آماری) ارتباط مستقیم با یکدیگر داشتند به طوری که افزایش در یکی باعث افزایش در دیگری می‌شود (جدول شماره ۳) ترکیباتی که در مرحله دوم برداشت (برداشت دیرهنگام) از بین رفته بودند، شامل  $\beta$ -patchulene،  $\alpha$ -guaiene،  $\alpha$ -amorphen، bicyclogermacrene،  $\gamma$ -cadinene بودند (جدول شماره ۲).

## بحث

کیفیت اسانس در مرکبات دارای مکانیسم بیوسنتزی پیچیده‌ای است که ارتباط تنگاتنگی با زمان برداشت میوه [۷] دارد. در عین حال به جایگاه تولید اسانس، آنتوژنی بافت‌های تولیدکننده اسانس [۸]، ژن‌های سنتزکننده ترکیبات اکسیژن‌دار [۹]، پایه مورد استفاده [۱۰]، آب و هوا [۷]، روش استخراج روغن اسانس‌دار و عوامل دیگر بستگی دارد.

افزایش در مقدار دکانال، هنگامی که میوه‌ها در مرحله اول برداشت شدند، نشان داد که یا سنتز دکانال در این مرحله افزایش یافته است یا اینکه طی یک کارکرد تخصصی، پیش ماده‌های تشکیل دهنده دکانال احیاء شده است.

با توجه به این موضوع که برای سنتز ترین‌ها، نیاز به مقدار زیادی استات است، ما را بر آن داشت که باور کنیم که کارکرد و وظیفه خاص و مهمی به عهده این مولکول جالب و جذاب است و اینکه این مولکول ذخیره شده در مرحله برداشت اول، بهتر می‌تواند مورد استفاده قرار گیرد.

نتایج نشان داد که ترکیبات اکسیژن‌دار به خصوص لینالول با برداشت دیرهنگام میوه، کاهش چشم‌گیری را در غلظت نسبی نشان دادند ولیکن غلظت لیمونن افزایش نشان داد که این نتایج با نتایج آتاوی<sup>۱</sup> و همکاران [۱۱] کاملاً مشابه بود. ما

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۴ استر و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم ۳ استر شناسایی شدند. این ترکیبات شامل 1-p-menthen-8-yl, linalyl acetate، acetate، limonene-10-yl، p-menth-1-en-9-yl acetate، acetate بودند که در برداشت مرحله دوم (برداشت دیرهنگام) میزان آنها به شدت کاهش یافته بود (جدول شماره ۲). limonene-10-yl acetate در بین استرها بیشترین میزان را داشت (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱).

## کتون‌ها

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۳ کتون و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم هیچ‌گونه کتون یافت نشد این ترکیبات شامل 3,5,5-trimethyl cyclohex-2-en- tetrahydroxy cyclopentadienone، carvone، 1-one 3, 5, 5-trimethyl cyclohex-2-en- بودند در بین کتون‌ها 1-one بیشترین میزان را داشت (جدول شماره ۲ و شکل شماره ۱).

## مونوترپن‌ها

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۱۲ مونوترپن و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم، ۷ مونوترپن شناسایی شدند. در بین مونوترپن‌ها myrcene، limonene بیشترین میزان را داشتند (شکل شماره ۱) و میزان آنها در برداشت مرحله دوم افزایش چشم‌گیری رابه مرحله نمایش گذاشتند (جدول شماره ۲) نتایج نشان داد که لیمونن با میرسن در سطح ۱ درصد (از لحاظ آماری) ارتباط مستقیم دارد (جدول شماره ۳) ترکیباتی که در برداشت مرحله دوم از بین رفته بودند شامل cis-limonene،  $\alpha$ -phellandrene،  $\beta$ -pinene، camphene، trans-limonene oxide، oxide بودند (جدول شماره ۲)

## سزکویی‌ترین‌ها

در میوه‌های برداشت شده در مرحله اول، ۱۸ سزکویی‌ترین و در میوه‌های برداشت شده در مرحله دوم، ۱۳

<sup>1</sup> Attaway





[۱۵،۱۶،۱۷،۱۸]. همچنین این تحقیقات نشان داده است که اسید ایندول استیک (IAA) درون‌زا باعث تحریک مسیر ترپن‌ها (موالونیک اسید) و همچنین باعث تحریک ژن‌ها و آنزیم‌های این مسیر می‌شود. به نظر می‌رسد این هورمون‌ها بر روی زمان برداشت میوه و بالاخره سنتز آلدئیدها و الکل‌ها و استرها تاثیر داشته باشد. اثر مثبت جیبرلین درون‌زا بر روی کیفیت اسانس [۱۹] شاید به دلیل فعال کردن آنزیم‌های خاص مثل آلفا امیلاز در میوه باشد از طرف دیگر جیبرلین درون‌زا می‌تواند اثر بازدارندگی اِپِسیزیک اسید را در سنتز ترپنوئیدها برطرف نماید زیرا این هورمون می‌تواند به صورت رقابتی با اِپِسیزیک اسید وارد عمل شود.

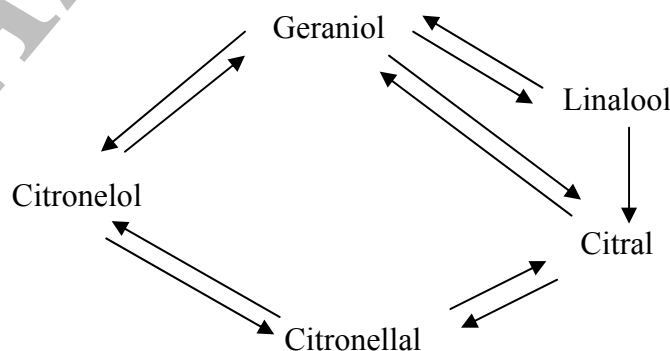
به نظر می‌رسد دمای فصلی می‌تواند باعث افزایش کیفیت اسانس شود [۲۰] شاید این موضوع به این دلیل باشد که برخی آنزیم‌های داخل گیاه در دمای خاصی شروع به فعالیت می‌کنند که آنها نیز باعث سنتز ترپنوئیدها می‌شوند. در زمان‌های برداشت مختلف دمای هوا متفاوت می‌باشد که آن قطعاً بر روی کیفیت اسانس بی‌تاثیر نیست. وجود تفاوت در درصد ترکیبات اکسیژن‌دار در دو زمان برداشت متفاوت می‌تواند ناشی از پدیده اپی ژنتیک در بروز بیان ژن خاص در گیاه باشد که عوامل محیطی مثل نور دما رطوبت می‌تواند آن ژن خاص را در گیاه تحریک کنند مثلاً علت افزایش لینالول شاید به دلیل تحریک ژن خاص برای تبدیل پیش‌سازهای لینالول (ژرانیول) به لینالول در اثر شرایط آب و هوایی متفاوت در زمان‌های مختلف باشد یا در اثر تغییر در فعالیت آنزیم‌ها و تبدیل GPP به لینالول در مسیر MEP (در پلاستید) مربوط شود.

باور نداریم که کاهش لینالول ناشی از تبدیل آن به لیمونن باشد چرا که بروز تفاوت در ساختار کربنی این دو ترکیب، چنین قابلیت تبدیلی را غیرمحمتمل می‌نماید اما باید گفت که میوه مرکبات حاوی آنزیم‌هایی برای تبدیل این ترکیبات به یکدیگر می‌باشد همچنین میوه مرکبات حاوی آنزیم‌هایی برای سنتز لینالول و تبدیل آن به آلفاتریپینول و لیمونن است [۱]. پیشرفت‌های آنزیمی به طور واضح تأیید کردند که هر یک از ترکیبات طعم‌دهنده در صورت وجود آنزیم مربوطه می‌توانند به ترکیبات ترپنی دیگر در گیاه تبدیل شوند [۱۲] (شکل شماره ۲).

نتایج نشان داد که دکانال با لینالول همبستگی مثبت دارد به طوری که وقتی دکانال افزایش می‌یابد لینالول نیز افزایش می‌یابد به نظر می‌رسد ژن‌های تولیدکننده دکانال با ژن‌های تولیدکننده لینالول همبستگی مثبت دارند به طوری که اگر بتوان از لحاظ ژنتیکی ژن‌های تولیدکننده دکانال را در گیاه شناسایی و تحریک کنیم ژن‌های تولیدکننده لینالول نیز تحریک می‌شود (جدول شماره ۳).

تحقیقات ما نشان داد که آلدئیدها و استرها در طعم و عطر میوه مرکبات نقش دارند و با رسیدن بیش از حد میوه (برداشت دیرهنگام)، میزان آنها کاهش می‌یابد که این نتیجه با نتایج آتاوی و همکاران [۱۱] کاملاً مشابه و با نتایج کسترسون و هندریکسون [۱۳]، کسترسون و همکاران [۱۴] کاملاً متفاوت بود. شاید علت این تفاوت به خاطر نوع رقم، شرایط محیطی و روش استخراج اسانس یا عوامل دیگر باشد.

تحقیقات مختلف نشان می‌دهد که هورمون‌ها مخصوصاً اکسین و جیبرلین ارتباط مثبت با کیفیت اسانس دارند

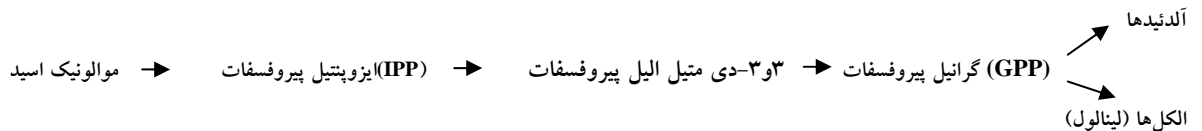


شکل شماره ۲- ترپنوئیدهای کلیدی و تبدیل آنها به یکدیگر (برگرفته شده از ۱۲)

## جمع بندی

در مسیر بیوستز ترکیبات اکسیژن دار آنزیم های خاص (ایزوپنتیل پیروفسفات ایزومراز و گرانیل پیروفسفات سینتاز) دخالت دارند این احتمال می رود که وقتی میوه ها دیر هنگام برداشت می شوند، یا میزان گرانیل پیروفسفات کاهش می یابد یا اینکه میزان فعالیت آنزیم های بیوستزی کاهش می یابد.

با نگاهی به مسیر بیوستز ترکیبات اکسیژن دار (آلدئیدها و الکل ها) در گیاهان عالی و با توجه به اینکه گرانیل پیروفسفات (GPP) به عنوان یک واسطه کلیدی بین موالونیک اسید و ترکیبات اکسیژن دار، عمل می کند و با پذیرفتن این موضوع که



در پایان پیشنهاد می شود در رابطه با اثر زمان برداشت بر روی درصد ترکیبات روغن پوست میوه تحقیقات بیشتری انجام شود.

از آنجایی که میزان ترکیبات اکسیژن دار به خصوص آلدئیدها یکی از مهم ترین شاخص های کیفیت بالای روغن در پوست مرکبات می باشد، زمان برداشت میوه می تواند در این رابطه تاثیر بسزایی بر کیفیت روغن بگذارد، پس باید در انتخاب صحیح زمان برداشت دقت بیشتری شود. همچنین باید گفت اگر یک ترکیب خاص در روغن به عنوان طعم دهنده خوراکی مطرح باشد تخمین صحیح زمان برداشت یک کار با ارزش بوده و ارزش تامل را دارد.

## تشکر و قدردانی

از زحمات خانم زهره کدخدا از پژوهشکده گیاهان دارویی وابسته به جهاددانشگاهی (ACECR) که اینجانب را در امر تزریق نمونه ها به دستگاه GC و GC/MS یاری نمودند بدین وسیله قدردانی و تشکر می شود.

## منابع

1. Kenee Michael. Fruit quality and its biological basis. 2002, Chapter 4, pp: 89 – 106.
2. Babazadeh Darjazi B. The effects of rootstock on the volatile flavour components of Page mandarin juice and peel. Ph.D of science Thesis. Islamic Azad University. Science and Research Branch. 2009.
3. Nagy S, Shaw P, Veldhuis MK. Citrus science and technology. 1977, volum 2, chapter 6, pp: 290 - 304.
4. Buettner A, Mestres M, Fischer A, Guasch J, Schieberle P. Evaluation of the most odour-active compounds in the peel oil of clementine's (citrus reticulata blanco cv. Clementine). *Eur. Food Res Technol.* 2003; 216: 11 - 14.
5. Adams RP. Identification of essential oil components by gas chromatography/ mass spectrometry. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, IL. 2001.
6. McLafferty FW, Stauffer DB. The Wiley/Nbs registry of mass spectral data. New York: Wiley. 1989.
7. Scora RW, Torrisi S. Relation of taxonomic, climatic, and tissue maturity factors to the essential oil constituents in leaves and fruits in the Aurantioideae. *Amer. Soc. Hort. Sci.* 1966; 88: 262 – 271.
8. Scora RW, Bitters WP. Studies on the ontogeny of the rind oils of *Poncirus trifoliata*. *Lloydia.* 1967; 30 (2): 182 - 188.



9. Sekiya J, Kajiwara T, Hatanaka A. Seasonal changes in activities of enzymes responsible for the formation of C6-aldehydes and C6-alcohols in tea leaves and the effects of environmental temperatures on the enzyme activities. *Plant and Cell Physiol.* 1984; 25 (2): 269 - 80.
10. Verzera A, Trozzi A, Gazea F, Ciccirello G, Cotroneo A. Effect of rootstock on the Composition of bergamot (*Citrus bergamia* Risso et Poiteau) essential oil. *J. Agricultur and Food Chem.* 2003; 51: 206 - 10.
11. Attaway JA, Pieringer AP, Barabas LJ. The origin of citrus flavor components. *Phytochem.* 1967; 6: 25 - 32.
12. Sells CS. A Fragrant introduction to terpenoid chemistry. The royal society of chemistry. Thomas Graham house, Science Park, Milton Road, Combridge, UK. 2003, pp: 410.
13. Kesterson JW, Hendrickson R. The composition of Valencia orange oil as related to fruit maturity, *Am. Perf. Cosmetics* 1962; 77 (12): 21 - 4.
14. Kesterson JW, Hendrickson R, Seiler RR, Huffman CE, Brent JA, Griffiths JT. Nootkaton content of expressed Duncan grapefruit oil as related to fruit maturity. *Am Perf Cosmetics.* 1965; 80 (12): 29 - 31.
15. Koseva - Kovacheva D, Staev D. Effect of some growth regulators and hydrogen peroxide on the content and quality of Peppermint oil. *Resteniedni dni U Nauki.* 1978; 15: 21 - 25.
16. Ansari SH, Qadry JS, Jain VK. Effect of plant hormones on the growth and chemical composition of volatile oil of cymbopogon jawarancusa (schutt). *Ind. J. Forestry* 1988; 11: 143 - 5.
17. Pazoki A, Fahimi H, Shaker H. The effect of IAA and NAA on essential oil composition in tarragon (*Artemisia dracuncululus* L.). *Pajouhesh & Sazandegi.* 2007; 74: 124 - 8.
18. El-Keltawi NE, Barham IH, El-Naggar AI, Rekaby AF. Investigations on the responses of cumin plants to certain horticultural agrochemicals. Influences of Gibberellic acid (GA<sub>3</sub>) on foliage growth, fruit yield, essential oil and chemical compositions. *Egyptian Journal of Horticulture* 2000; 27 (4): 439 - 58.
19. Coggins CW, Scora RW, Lewis LN, Knapp JCF. Gibberellin delayed senescence and essential oil changes in the navel orange rind. *Journal of Agricultural and Food Chem.* 1969; 17: 807 -9.
20. Herath HMW, Iruthayathas EE, Ormrod DP. Temperature effects on essential oil composition of citronella selections. *Economic Botany* 1979; 33 (4): 425 - 30.

