

การศึกษาการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในแวกคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นระหว่างการเก็บรักษา

อลิษา สุนทรวัฒน์*

บทคัดย่อ

ปัญหาสำคัญของต้นหอมญี่ปุ่นระหว่างการเก็บรักษา คืออาการเหลืองของใบโดยเฉพาะบริเวณ ปลายใบ ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ มีรายงานว่า การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ในต้นหอมญี่ปุ่นเกิดขึ้นภายในคลอโรพลาสต์ และคาดว่าสามารถเกิดภายในแวกคิวโอด้วย งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ในแวกคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นระหว่างการเก็บรักษา โดยทำการสกัดแวกคิวโอจากโปรโตพลาส ของต้นหอมญี่ปุ่น พบว่าโปรโตพลาสจำนวน 1×10^7 เซลล์ สามารถสกัดแวกคิวโอได้ 10-20 เปอร์เซ็นต์ของจำนวนโปรโตพลาสทั้งหมด เมื่อนำแวกคิวโอที่ได้มาทำการตรวจสอบกิจกรรมของ Maker enzyme ที่เป็นตัวบ่งชี้ของออร์แกนเนลล์อื่นๆ ประกอบด้วย Catalase NADH cytochrome C reductase NADH malate dehydrogenase และ Alcohol dehydrogenase พบว่า มีกิจกรรมของ Maker enzyme ที่เป็นตัวบ่งชี้ของออร์แกนเนลล์อื่นๆ ในระดับต่ำ ซึ่งชี้ให้เห็นว่า แวกคิวโอที่สกัดได้ มีการปนเปื้อนออร์แกนเนลล์อื่นๆ ในปริมาณน้อย จากการตรวจสอบกิจกรรมของ Maker enzyme ที่บ่งชี้อยู่ในแวกคิวโอ ประกอบด้วย Acid phosphatase และ β -glucosidase พบว่า มีกิจกรรมของ Maker enzyme ที่บ่งชี้อยู่ในแวกคิวโอที่สกัดได้ ในระดับสูง แสดงว่าแวกคิวโอที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์เพียงพอที่จะนำไปใช้ทำการทดลองต่อไป

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ ได้แก่ Chlorophyllide a Pheophytin a C13²-hydroxychlorophyll a Pheophorbide a และ Pyropheophorbide a ในแวกคิวโอ และ โปรโตพลาสของต้นหอมญี่ปุ่นในสถานะ in vitro โดยนำแวกคิวโอและโปรโตพลาสมาบ่มเป็นเวลา 0 3 6 8 และ 24 ชั่วโมง พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของปริมาณอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ในโปรโตพลาส สูงกว่าในแวกคิวโอ เนื่องจากภายในโปรโตพลาสมีออร์แกนเนลล์ชนิดต่างๆบรรจุอยู่ เช่น คลอโรพลาสต์แต่ปริมาณของ pheophytin a ในแวกคิวโอมีปริมาณสูงกว่าในโปรโตพลาส จากผลการทดลองแสดงว่ามีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ทั้งภายในโปรโตพลาสและ แวกคิวโอ ดังนั้นจึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในต้นหอมญี่ปุ่นระหว่างการเก็บรักษา โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ในแวกคิวโอ ของต้นหอมญี่ปุ่นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ค่า Hue angle ลดลงในต้นหอมญี่ปุ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่การเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของค่า Hue angle เพียงเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของต้นหอมญี่ปุ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีลดลงเร็วกว่าต้นหอมญี่ปุ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และมีอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่แวกคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การสลายตัวของคลอโรฟิลล์สามารถเกิดขึ้นได้ภายในในแวกคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการเหลืองอันเนื่องมาจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์

* วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว) คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 105 หน้า.

Chlorophyll degradation in vacuoles of postharvest Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L. cv. Kujyo)

Alisa Soontornwat*

Abstract

The yellowing at a tip of Japanese bunching onion (*Allium fistulosum* L. cv. Kujyo) during storage is usually observed and this problem relates to the loss of external quality due to chlorophyll degradation. The chlorophyll catabolisms of Japanese bunching onion have been reported that it occurred in the chloroplast, however it may also occur inside the vacuole. Therefore, this experiment was subjected to study the changes of chlorophyll contents and its derivatives in Japanese bunching onion during storage. The vacuoles from Japanese bunching onion were separated for analyzing the chlorophyll catabolites. The purification of vacuoles from 1×10^5 protoplasts yielded vacuoles at 10 to 20%. The contamination of other organelles in purified vacuole was found a low activity of the marker enzyme including catalase, NADH cytochrome C reductase, NADH malate dehydrogenase and alcohol dehydrogenase. Whereas, the marker enzymes of vacuole including acid phosphatase and β -glucosidase had high activity. This indicated that the purified vacuoles were good enough for further step of analysis. *In vitro* test of vacuole and protoplasts extracted from Japanese bunching onion containing the reaction mixture was incubated for 0, 3, 6, 18, 24 hr. The formation of chlorophyllide *a*, pheophorbide *a*, pyropheophorbide *a* and C^{13^2} -hydroxychlorophyll *a* in protoplasts was higher than that in the vacuoles whereas the vacuoles shown higher formation of pheophytin *a* than that in the protoplasts. From the result of *in vitro* test found that chlorophyll catabolite were also found in vacuole of Japanese bunching onion. Therefore, *in vivo* test was initiated to study the changes of color, chlorophyll contents and chlorophyll derivative contents in Japanese bunching onion during storage at 4 °C and 25 °C. The hue angle level of Japanese bunching onion was declined during storage at 25 °C, whereas leaves storage at 4 °C shown unchanged of the hue angle level. The chlorophyll *a* and chlorophyll *b* contents of Japanese bunching onion were decreased in leaves storage at 25 °C faster than that of stored at 4 °C. Chlorophyll derivatives (chlorophyllide *a*, pheophytin *a*, C^{13^2} -hydroxychlorophyll *a*, pheophorbide *a* and pyropheophorbide *a*) in vacuoles of bunching onion stored at 25 °C increased on day 1 while the vacuole of Japanese bunching onion storage at 4 °C showed a slowly increased of chlorophyll derivatives during storage. From the results, the accumulation of chlorophyll catabolite was observed in vacuole of Japanese bunching onion during storage. This indicated that the chlorophyll degradation may also occur in the vacuole especially at high temperature, while the storage at 4 °C retarded the chlorophyll catabolism in Japanese bunching onion.

* Master of Science (Postharvest Technology), Faculty of School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi. 105 pages.