Agricultural Sci. J. 44 : 3 (Suppl.) : 93-96 (2013) ว. วิทย. กษ. 44 : 3 (พิเศษ) : 93-96 (2556)

กิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase และการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ระหว่างเกิดอาการสะท้านหนาวของผลลองกอง

Lipoxygenase Activity and Membrane Damage During Chilling Injury of Longkong Fruit

สรยา รักษ์วงศ์[1,2] และอดิเรก รักคง[1]
Sorraya Rakwong[1,2] and Adirek Rugkong[1]

Abstract

Lipoxygenase activity and membrane damage during chilling injury of longkong fruit were investigated. Longkong bunches were packed in cardboard boxes, stored at 12°C (76.1% RH) and 18°C (91.8 %RH) for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days and then transferred to room temperature (26 ± 0.8°C, 92% RH) for 2 days. During storage at 12°C, chilling injury symptoms were observed after 6 days of storage and exhibited as small sunken brown spots on the peel, the brown spots increased in number and size with the increase of storage time. After transfer to room temperature, the browning area expanded and became browning patches. Fruits stored at 18°C showed no symptom of chilling injury, but the fruits decayed at the end of storage. Electrolyte leakage in the peel were higher in fruits stored at 12°C than those stored at 18°C and increased with increasing storage time. While, the increasing of lipoxygenase activity in the peel was observed after storage at 12°C for 9 days and higher than those stored at 18°C. Lipoxygenase activity decreased after transferring to room temperature. On the 6 days of storage at low temperature, the contents of malondialdehyde (MDA) in fruits stored at both temperatures were significantly different. MDA content in the fruits stored at 12°C increased during the first 9 days, and then decreased through the end of storage. This study showed that chilling injury symptom in longkong fruit was related with the increase in lipoxygenase activity and electrolyte leakage in longkong peel.

Keywords: chilling injury, lipoxygenase, electrolyte leakage

บทคัดย่อ

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase และการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ระหว่างเกิดอาการสะท้านหนาว โดยนำช่อลองกองใส่กล่องกระดาษลูกฟูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C ความชื้นสัมพัทธ์ 76.1% และ 18°C ความชื้นสัมพัทธ์ 91.8% เป็นเวลา 0 3 6 9 12 และ 15 วัน แล้วย้ายมาวางที่อุณหภูมิห้อง (26 ± 0.8°C ความชื้นสัมพัทธ์ 92%) 2 วัน พบว่าลองกองเกิดอาการสะท้านหนาวบนเปลือกระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C โดยเริ่มพบอาการหลังเก็บรักษา 6 วัน ลักษณะเปลือกยุบตัวเป็นจุดสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็ก จุดสีน้ำตาลเข้มมีจำนวนและขยายขนาดเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น หลังจากย้ายลองกองมาวางที่อุณหภูมิห้อง พบว่า เกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นขยายรวมกับบาดแผลเดิม ขณะที่ในระหว่างเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 18°C ไม่เกิดอาการสะท้านหนาวแต่พบอาการเน่าของผล การรั่วไหลของประจุในลองกองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C มีค่าสูงกว่าลองกองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18°C และมีค่าการรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นตามเวลาเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นด้วย ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase เพิ่มขึ้นในวันที่ 9 และมีค่าสูงกว่าระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 18°C กิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase มีค่าลดลงเมื่อย้ายลองกองออกมาวางที่อุณหภูมิห้อง สำหรับปริมาณ malondialdehyde ของทั้งสองอุณหภูมิแตกต่างกันเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วันที่อุณหภูมิต่ำ โดยลองกองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C มีค่าเพิ่มขึ้นในช่วง 9 วันแรก หลังจากนั้นมีแนวโน้มลดลง การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบว่าการเกิดอาการสะท้านหนาวของลองกองเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase และการรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นระหว่างเกิดอาการสะท้านหนาว

คำสำคัญ: อาการสะท้านหนาว, เอนไซม์ lipoxygenase, การรั่วไหลของประจุ

[1]ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[1]Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112
[2]สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112
[2]Center of Excellence in Agricultural and Natural Resources Biotechnology, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112

คำนำ

ลองกองเป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เนื่องจากรสชาติดี รสหวาน กลิ่นหอม ทำให้เป็นที่นิยมในการบริโภค (นิพนธ์, 2554) แต่ลองกองมีอายุการเก็บรักษาสั้น ดังนั้นในการยืดอายุการเก็บรักษาลองกองจะใช้วิธีการเก็บรักษาลองกองในอุณหภูมิต่ำแต่การเก็บรักษาผลิตผลที่อุณหภูมิต่ำกว่า 18°C ทำให้ลองกองเกิดอาการสะท้านหนาว เนื่องจากลองกองเป็นไม้ผลเขตร้อน (เย็นจิตต์ และคณะ, 2540) จริงแท้ (2544) รายงานว่า อุณหภูมิต่ำมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสถานะทางกายภาพของเยื่อหุ้มเซลล์จากลักษณะที่อ่อนตัวมาเป็นลักษณะแข็งทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์เสื่อมลง นอกจากนี้การเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ยังเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่ย่อยสลายเยื่อหุ้ม (Mao *et al*., 2007) การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นส่งผลให้เซลล์เสียสภาพจึงแสดงอาการผิดปกติออกมา อาการผิดปกติที่เกิดขึ้นทำให้ผลิตผลไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคจึงจัดเป็นปัญหาสำคัญในระหว่างการเก็บรักษา ปัจจุบันไม่มีข้อมูลแน่ชัดถึงสาเหตุที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างเกิดอาการสะท้านหนาวของลองกอง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาเพื่อนำข้อมูลมาใช้เป็นความรู้พื้นฐานสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการหาแนวทางควบคุมของการเกิดอาการสะท้านหนาวของผลลองกองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บเกี่ยวช่อลองกองจากสวนของเกษตรกร อ.บางกล่ำ จ.สงขลา คัดเลือกช่อลองกองที่ขนาดใกล้เคียงกันไม่มีการเข้าทำลายของเชื้อโรคและแมลง นำช่อลองกองใส่ในถุงตาข่ายช่อละ 1 ถุง แล้วบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูกกล่องละ 10-15 ช่อ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 12°C และ 18°C เป็นเวลา 0 3 6 9 12 และ 15 วัน แล้วย้ายมาวางที่อุณหภูมิห้อง (26 ± 0.8°C) 2 วัน เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษาให้สุ่มช่อลองกองออกมาประเมินความรุนแรงของการเกิดอาการสะท้านหนาว (CI) บนเปลือกหลังจากออกจากอุณหภูมิต่ำ (1 = ไม่เกิด CI 2 = เริ่มเกิดรอยบุ๋มสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็ก 3 = เกิด CI < 25% ของพื้นที่ผิว 4 = เกิด CI 25-50% ของพื้นที่ผิว 5 = เกิด CI > 50% ของพื้นที่ผิว) ความรุนแรงของการเกิดสีน้ำตาลเมื่อวางที่อุณหภูมิห้อง 2 วัน (1 = ไม่เกิดสีน้ำตาล 2 = เกิดจุดสีน้ำตาลเล็กน้อยเป็นจุด ๆ 3 = เกิดสีน้ำตาล < 25% ของพื้นที่ผิว 4 = เกิดสีน้ำตาล 25-50% ของพื้นที่ผิว 5 = เกิดสีน้ำตาล > 50% ของพื้นที่ผิว) โดยสังเกตจากลักษณะภายนอก (ใช้ลองกอง 5 ผล/1 ซ้ำ) วัดค่าการรั่วไหลของประจุ ดัดแปลงจากวิธีการของ McCollum and McDonald (1991) วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase (LOX) และปริมาณ malondialdehyde (MDA) ดัดแปลงจากวิธีการของ Pongprasert *et al*. (2011) วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) และวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยโดย T-test แต่ละการทดลองมี 4 ซ้ำ ๆ ละ 1 ช่อ

ผล

อาการสะท้านหนาวของลองกองแสดงอาการบนเปลือกหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 6 วัน ลักษณะเปลือกยุบตัวลงเกิดเป็นรอยบุ๋มสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็ก เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C เป็นเวลานานขึ้นจุดสีน้ำตาลเข้มมีจำนวนเพิ่มขึ้นและขยายขนาดใหญ่ การเก็บรักษาลองกองไว้ในอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 6 วันขึ้นไปเมื่อย้ายมาวางที่อุณหภูมิห้องพบว่า เกิดแผลสีน้ำตาล 25-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ผิวเปลือก โดยแผลสีน้ำตาลขยายขนาดรวมกับบาดแผลเดิมมีลักษณะเป็นแผ่นสีน้ำตาลซึ่งเปลือกบริเวณนี้ยุบตัวลง บางบริเวณลักษณะแผลสีน้ำตาลขนาดเล็กที่เกิดขึ้นใหม่เปลือกยังไม่ยุบตัว ขณะที่ตลอดระยะเวลาเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 18°C ผลลองกองไม่เกิดอาการสะท้านหนาวแต่พบอาการผลเน่าบางผล อย่างไรก็ตามการย้ายลองกองมาวางที่อุณหภูมิห้องทำให้เกิดแผลสีน้ำตาลบนเปลือกซึ่งลักษณะการเกิดแผลสีน้ำตาลบนเปลือกในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องของลองกองที่ได้รับอุณหภูมิทั้งสองนั้นมีลักษณะไม่แตกต่างกัน (Figure 1) เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุจากเปลือกลองกองระหว่างเก็บรักษาในอุณหภูมิต่ำทั้งสองอุณหภูมิ พบว่า เปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษาโดยการเก็บรักษาลองกองในอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 6 วันเป็นต้นไป มีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุสูงกว่าการเก็บรักษาลองกองในอุณหภูมิ 18°C และเมื่อย้ายมาวางที่อุณหภูมิห้องลองกองที่ได้รับอุณหภูมิต่ำทั้งสองอุณหภูมิมีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยลองกองที่ได้รับอุณหภูมิ 12°C มาก่อนมีเปอร์เซ็นต์การรั่วไหลของประจุสูงกว่า (Figure 2) การเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 12°C ส่งผลให้เอนไซม์ LOX มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 9 วัน และหลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ขณะที่ในระหว่างเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 18°C กิจกรรมของเอนไซม์ LOX มีแนวโน้มลดลง การย้ายลองกองออกมาวางที่อุณหภูมิห้องทำให้เอนไซม์ LOX มีกิจกรรมลดลง แต่ลองกองที่ได้รับอุณหภูมิ 12°C มาก่อน เมื่อย้ายออกมาวางที่อุณหภูมิห้องมีกิจกรรมของเอนไซม์ในแต่ละวันสูงกว่าลองกองที่ได้รับอุณหภูมิ 18°C มาก่อน (Figure 3) ปริมาณของ MDA พบว่า มีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 3 6 และ 9 วัน แต่หลังจากนั้นปริมาณ MDA มีแนวโน้มลดลง ขณะที่การเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 18°C มีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 9 วัน เมื่อย้ายลองกองมาวางที่อุณหภูมิห้องลองกองที่ได้รับอุณหภูมิต่ำทั้งสองอุณหภูมิมาก่อนมีปริมาณ MDA ในแต่ละวันไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 4)

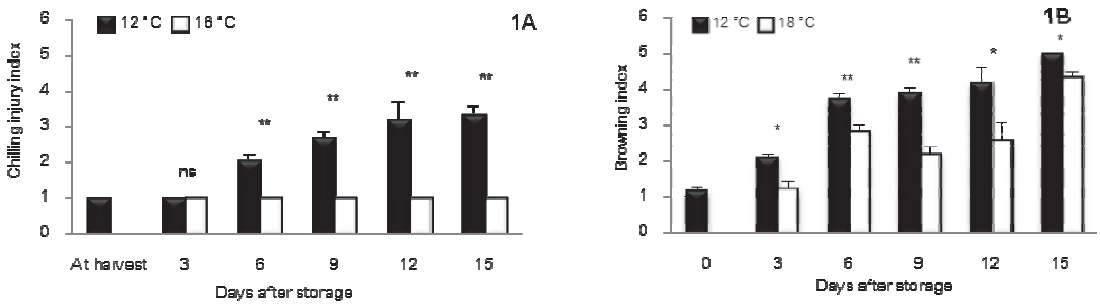

Figure 1 Chilling injury index on the peel of longkong fruit after storage at 12°C and 18°C for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days (1A) and browning index on the peel of longkong after transferring to the room temperature for 2 days (1B). Vertical bars indicate SE. ns : not significantly difference ; * : significantly different at P < 0.05 ; ** : significantly different at P < 0.01.

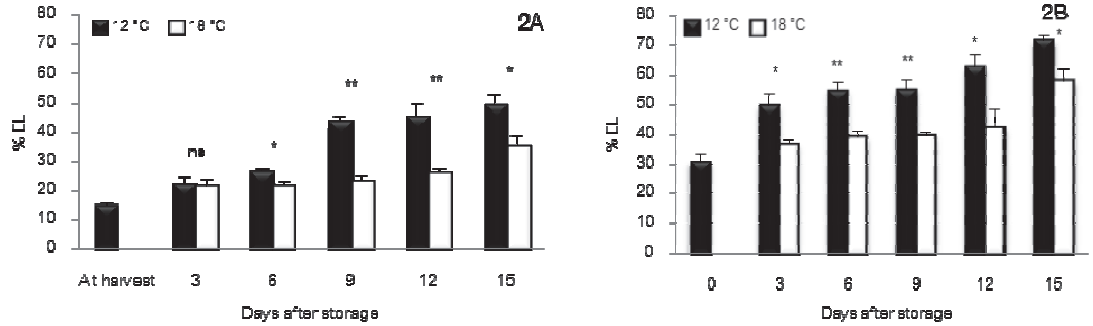

Figure 2 Changes of electrolyte leakage (%) of longkong fruit after storage at 12°C and 18°C for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days (2A) and after transferring to the room temperature for 2 days (2B). Vertical bars indicate SE. ns : not significantly difference ; * : significantly different at P < 0.05 ; ** : significantly different at P < 0.01.

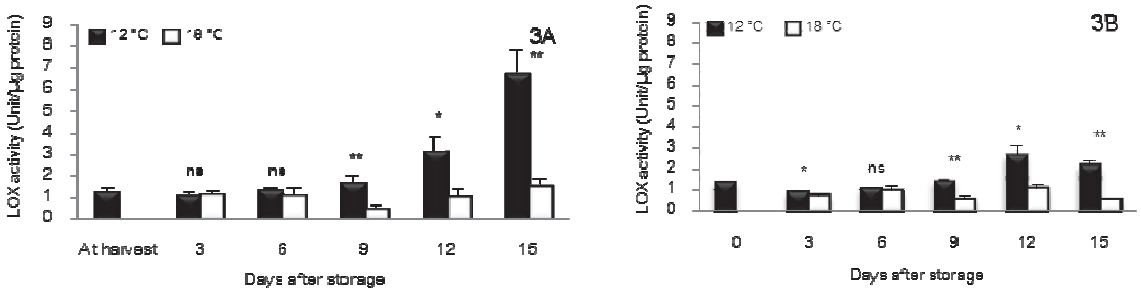

Figure 3 Changes of lipoxygenase activity of longkong fruit after storage at 12°C and 18°C for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days (3A) and after transferring to the room temperature for 2 days (3B). Vertical bars indicate SE. ns : not significantly difference ; * : significantly different at P < 0.05 ; ** : significantly different at P < 0.01.

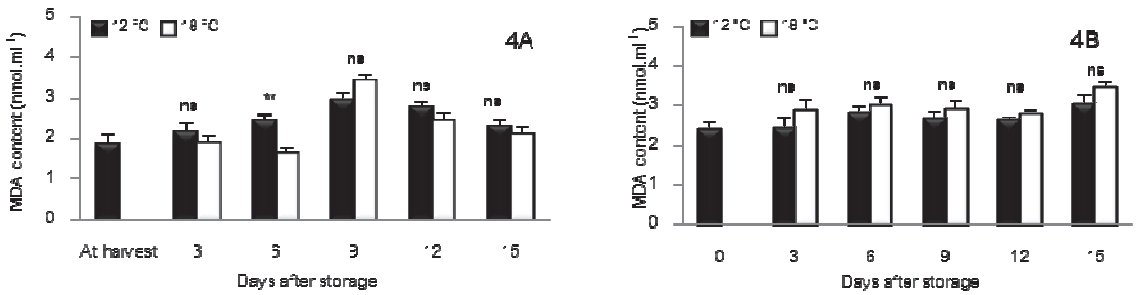

Figure 4 Changes of MDA content of longkong fruit after storage at 12°C and 18°C for 0, 3, 6, 9, 12, and 15 days (4A) and after transferring to room temperature for 2 days (4B). Vertical bars indicate SE. ns : not significantly difference ; ** : significantly different at P < 0.01.

วิจารณ์ผล

ลองกองแสดงอาการสะท้านหนาวบนเปลือกหลังจากเก็บรักษาในอุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 6 วัน ลักษณะเป็นรอยบุ๋มสีน้ำตาลเข้มขนาดเล็กและมีจำนวนเพิ่มขึ้นรวมถึงขยายขนาดเป็นบริเวณกว้างเมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำที่ก่อให้เกิดอาการเป็นเวลานานซึ่งสัมพันธ์กับคะแนนการเกิดอาการสะท้านหนาว และเมื่อย้ายลองกองออกมาวางอุณหภูมิห้องทำให้แสดงอาการผิดปกติชัดเจน จริงแท้ (2549) รายงานว่า อาการสะท้านหนาวเกิดขึ้นมากหรือน้อยสัมพันธ์กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำซึ่งถ้าพืชได้รับอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิวิกฤตเป็นเวลานานทำให้เมแทบอลิซึมต่าง ๆ ผิดปกติไป และเมื่อพืชได้รับอุณหภูมิสูงขึ้นทำให้เซลล์เกิดความเสียหายและแสดงอาการสะท้านหนาวออกมา การทดลองนี้ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ LOX และค่าการรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นในระหว่างเก็บรักษาลองกองที่อุณหภูมิ 12°C ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดอาการสะท้านหนาว อุณหภูมิต่ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้คุณสมบัติการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์เสื่อมลง (Sevillano *et al*., 2009) ส่งผลให้มีกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะถูกออกซิไดส์ด้วยเอนไซม์ LOX ทำให้เกิดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น นอกจากนี้แล้วอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นไฮโดรคาร์บอนและแอลดีไฮด์ชนิดต่าง ๆ ส่งผลให้เยื่อหุ้มมีสถานะเป็นเจลมากขึ้นและเกิดการรั่วไหลของประจุออกจากเซลล์ (จริงแท้, 2549) จากการวิเคราะห์ปริมาณของ MDA พบว่า การเก็บรักษาลองกองในอุณหภูมิต่ำทั้งสองอุณหภูมิมีปริมาณ MDA ในแต่ละวันใกล้เคียงกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะอุณหภูมิต่ำกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสภาพการเป็นของไหลและการทำงานของโปรตีนบนเยื่อหุ้มเสียหายได้ทันที

สรุป

อาการสะท้านหนาวของลองกองเกิดขึ้นบนเปลือกหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12°C เป็นเวลา 6 วัน โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX และค่าการรั่วไหลของประจุเพิ่มขึ้นตามการเพิ่มขึ้นของอาการสะท้านหนาว

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ บัณฑิตวิทยาลัย และสถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2544. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร วิทยาเขตบางเขน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 396 หน้า.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร วิทยาเขตกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม. 452 หน้า.

นิพนธ์ ภิรมย์รักษ์. 2554. การปลูกลองกอง. ธนธัชการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 160 หน้า.

เย็นจิตต์ ปิยะแสงทอง, สุจริต ส่วนไพโรจน์, ปิยะ ผกามาศ และชุติมา รื่นสำราญ. 2540. อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาลองกอง. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาพืช ส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร อุตสาหกรรมเกษตร ครั้งที่ 35. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ. 26-33.

Mao, L., G. Wang, C. Zhu and H. Pang. 2007. Involvement of phospholipase D and lipoxygenase in response to chilling stress in postharvest cucumber fruits. Plant Science 172 : 400-405.

McCollum, T. G., and R. E. McDonald. 1991. Electrolyte leakage respiration and ethylene production as indices of chilling injury in grapefruit. Hortscience 26 : 1191-1192.

Pongprasert, N., Y. Sekozawa, S. Sugaya and H. Gemma. 2011. A novel postharvest UV-C treatment to reduce chilling injury (membrane damage browning and chlorophyll degradation) in banana peel. Sci Hort 130 : 73-77.

Sevillano, L., M. T. Sanchez-Ballesta, F. Romojaro and F. B. Flores. 2009. Physiological hormonal and molecular mechanisms regulating chilling injury in horticultural species. postharvest technologies applied to reduce its impact. J. Sci. Food. Agric. 89 : 555-573.