Agricultural Sci. J. 45 : 3/1 (Suppl.) : 113-116 (2014) ว. วิทย. กษ. 45 : 3/1 (พิเศษ) : 113-116 (2557)

การเปลี่ยนแปลงการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชันของเมมเบรนระหว่างการสุกของผลกล้วยน้ำว้า

Changes in Membrane Lipid Peroxidation During Fruit Ripening of 'Namwa' Banana

สิรวิชญ์ โชติกะคาม[1], **อธิวัฒน์ ชุ่มแย้ม**[1] **และ กอบเกียรติ แสงนิล**[1]
Sirawich Chotikakham[1], Athiwat Chumyam[1] and Kobkiat Saengnil[1]

Abstract

Fruit ripening has been described as an oxidative process that is accompanied by increased peroxidation damage and loss of membrane integrity. There is little information about oxidative stress during this phase in cultivated Thai bananas. The aim of this study was to examine selected oxidative processes by evaluating membrane lipid peroxidation (MLPO) during 'Namwa' banana ripening. Mature 'Namwa' banana fruits were harvested at the mature – green stage and were kept at room temperature (29±1°C) with 85% RH for 6 days. The fruits were noted for color (hue angle, h°), firmness, malondialdehyde (MDA) and conjugated diene (CD) contents, electrolyte leakage (EL), and lipoxygenase (LOX) activity at 0, 0.25 (6 hours), 0.5 (12 hours), 1, 2, 3, 4, 5, and 6 days of storage. It was found that fruit firmness and h° significantly ($p \leq 0.05$) decreased during storage, showing fruit senescence or ripening. Throughout the storage period, decreases in firmness and green color were observed together with an increase of the MLPO (MDA and CD contents, EL, and LOX activity). Both in peel and pulp, a significant ($p \leq 0.05$) increase of MLPO was firstly observed during the first and second days of storage. MLPO activity was higher in the pulp compared with the peel during the ripening process. This indicated that the oxidative damage occurred at a higher level in the pulp than the peel. These results elucidated this oxidative damage involved in the ripening process of 'Namwa' banana.

Keywords: Oxidative damage, Ripening, 'Namwa' banana

บทคัดย่อ

การสุกของผลไม้เป็นกระบวนการออกซิเดชันซึ่งเกิดขึ้นพร้อมๆ กับความเสียหายออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้นและการสูญเสียความสมบูรณ์ของเมมเบรน อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับความเครียดออกซิเดชันของผลกล้วยไทยระหว่างการสุกยังมีรายงานการศึกษาน้อย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้คือเพื่อศึกษาความเครียดออกซิเดชันที่ประเมินจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดของเมมเบรนในระหว่างการสุกของผลกล้วยน้ำว้า โดยเก็บเกี่ยวผลกล้วยน้ำว้าในระยะแก่เต็มที่ (mature – green stage) มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (29±1°ซ) ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เป็นเวลา 6 วัน บันทึกผลในเรื่อง สี ความแน่นเนื้อ ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) และคอนจูเกตไดอีน (conjugated diene, CD) อัตราการรั่วไหลของประจุ (electrolyte leakage, EL) และกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase, LOX) ในวันที่ 0, 0.25 (6 ชั่วโมง), 0.5 (12 ชั่วโมง), 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ของการเก็บรักษา พบว่าความแน่นเนื้อและค่า h° ของผลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษาแสดงให้เห็นถึงการเสื่อมสภาพหรือการสุกของผลกล้วย โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลกล้วยมีความแน่นเนื้อและสีเขียวลดลงพร้อมๆ กับการเพิ่มขึ้นของการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชันของเมมเบรน (ปริมาณ MDA และ CD, EL และกิจกรรมของเอนไซม์ LOX) โดยความเสียหายออกซิเดชันของทั้งเปลือกผลและเนื้อผลเพิ่มขึ้นเห็นได้ชัด ($p \leq 0.05$) ตั้งแต่ในวันที่ 1 ถึง 2 ของการเก็บรักษา โดยมีการเพิ่มขึ้นในเนื้อสูงกว่าเปลือกผล ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเสียหายออกซิเดชันเกิดขึ้นในเนื้อมากกว่าเปลือกผล การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าความเสียหายออกซิเดชันของเมมเบรนเกี่ยวข้องในกระบวนการสุกของผลกล้วยน้ำว้า

คำสำคัญ: ความเสียหายออกซิเดชัน, การสุก, กล้วยน้ำว้า

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[1] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

คำนำ

การสุกของผลเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการเสื่อมสภาพที่ปรากฏความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) อันเกิดจากการที่ระบบป้องกันออกซิเดชันสูญเสียความสมดุล โดยสารต้านออกซิเดชันภายในเซลล์ไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่มีปริมาณมากเกินได้ ทั้งนี้ลิพิดนับเป็นสารชีวโมเลกุลเป้าหมายสำคัญที่อนุมูลอิสระในกลุ่ม reactive oxygen species (ROS) เข้าออกซิไดซ์ได้ง่ายทำให้เกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation, LP) กระบวนการนี้มีเอนไซม์สำคัญเร่งปฏิกิริยาคือไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase, LOX) และมีผลเพิ่มการสะสมปริมาณอนุมูลอิสระ รวมทั้งทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของเมมเบรนและออร์กาเนลล์ต่างๆ ก่อให้เกิดการรั่วไหลของประจุ (electrolyte leakage, EL) นั่นคือเซลล์เกิดความเสียหายออกซิเดชัน (oxidative damage) โดยสารตัวกลางสำคัญของ LP ได้แก่ คอนจูเกตไดอีน (conjugated diene, CD) อนุมูลอิสระเพอรอกซิล (peroxyl radicals) และไฮโดรเพอรอกไซด์ (hydroperoxides) และมีผลิตภัณฑ์สุดท้ายสำคัญ ได้แก่ มาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) อะโครทีน (acrotein) และไฮดรอกซีอัลคีนาล (4-hydroxyalkenals) เป็นต้น โดยดัชนีชี้วัดระดับ LP ได้แก่ กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ปริมาณ CD และ MDA และอัตรา EL ของเซลล์ที่ได้รับความเสียหาย (Devasagayam *et al*., 2003; Bhattacharjee, 2012)

ในปัจจุบันมีรายงานการศึกษา oxidative damage และ LP ในผลกล้วยไทยและต่างประเทศน้อยมาก โดยพบว่ามีการเกิด LP เพิ่มสูงขึ้นในระหว่างที่ผลกล้วยสุก ซึ่งปริมาณ MDA ของเนื้อผลกล้วยพันธุ์ Williams เพิ่มสูงขึ้น 11 เท่าขณะที่ผลสุกที่ 22 °ซ (Yang *et al*., 2008) รวมทั้งปริมาณ MDA และ EL ของเปลือกผลกล้วยไข่ก็เพิ่มสูงขึ้น 1.5 และ 3.2 เท่าตามลำดับขณะที่ผลสุกที่ 25 °ซ ทั้งนี้การจุ่มผลในน้ำร้อน 42 °ซ นาน 18 ชั่วโมง มีผลชะลอการสุกและ LP (Kamdee *et al*., 2009) ดังนั้นรายงานวิจัยครั้งนี้จึงนับว่ามีประโยชน์เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานประยุกต์ใช้ในการควบคุมการสุกและรักษาคุณภาพของผลกล้วยไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บเกี่ยวและคัดเลือกผลกล้วยน้ำว้า (*Musa* sp. cv. Namwa, sub-group ABB) ในระยะแก่เต็มที่ (mature – green stage) ขนาดผลใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงจากสวนเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ มาตัดแบ่งออกเป็นหวีๆ แล้วนำหวีกล้วยเหล่านี้มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (29±1°ซ) ความชื้นสัมพัทธ์ 85% เป็นเวลา 6 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างผลกล้วย 1 ผลจากแต่ละหวี ในวันที่ 0, 0.25 (6 ชั่วโมง), 0.5 (12 ชั่วโมง), 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 ของการเก็บรักษา มาวิเคราะห์ผลทั้งในส่วนเปลือกผลและเนื้อผลในเรื่อง การเปลี่ยนแปลงสีผลโดยใช้เครื่อง colorimeter (Minolta CR-200) แสดงในรูปของค่า hue angle (h°) ความแน่นเนื้อผลโดยใช้เครื่อง firmness tester (Ametek Hunter Spring) การเกิด LP ประเมินจากปริมาณ MDA และ CD, EL และกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ทั้งนี้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 6 หวี และวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 15 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการทดลองในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนมิถุนายน 2557 ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผล

ในระหว่างการเก็บรักษาผลกล้วยมีความแน่นเนื้อลดลงสัมพันธ์กับการอ่อนนุ่มของผลที่เพิ่มขึ้น และค่า h° ลดลงสัมพันธ์กับการเปลี่ยนสีเปลือกผลจากเขียวเป็นเหลือง ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีสำคัญหนึ่งในระหว่างกระบวนการสุกของผล (Figure 1) ทั้งนี้เนื้อผลมีความแน่นเนื้อลดลงรวดเร็วกว่าเปลือกผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่วันที่ 1 โดยเริ่มลดต่ำลงตั้งแต่วันที่ 2 ของการเก็บรักษาซึ่งเป็นวันที่ผลเริ่มอ่อนนุ่ม ในขณะที่ความแน่นเนื้อของเปลือกผลเริ่มลดต่ำลงตั้งแต่วันที่ 3 ส่วนค่า h° ของเปลือกผลลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่วันที่ 1 จนสิ้นสุดการเก็บรักษา ในขณะที่ค่า h° ของเนื้อผลค่อนข้างคงที่โดยมีการเปลี่ยนแปลงสีเหลืองเล็กน้อยตลอดการเก็บรักษา

ผลกล้วยมีการเกิด LP ของเมมเบรนตั้งแต่ 2 วันแรกของการเก็บรักษา (Figure 2) โดยเนื้อผลมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ปริมาณ CD และ MDA และอัตรา EL สูงกว่าเปลือกผลซึ่งชี้ให้เห็นว่า LP ของเมมเบรนเกิดขึ้นในเนื้อมากกว่าเปลือกผลนั่นเอง ทั้งนี้กิจกรรมของเอนไซม์ LOX และปริมาณ CD ของทั้งเนื้อและเปลือกผลมีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 อย่างต่อเนื่องและเพิ่มสูงขึ้นในช่วงท้ายของการเก็บรักษา ส่วนปริมาณ MDA และอัตรา EL ของเนื้อและเปลือกผลเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่ช้ากว่า โดยเนื้อและเปลือกผลมีอัตรา EL เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วหลังชั่วโมงที่ 6 และ 12 ของการเก็บรักษาตามลำดับ และเนื้อและเปลือกผลมีปริมาณ MDA เพิ่มสูงขึ้นรวดเร็วหลังชั่วโมงที่ 12 และวันที่ 1 ของการเก็บรักษาตามลำดับ

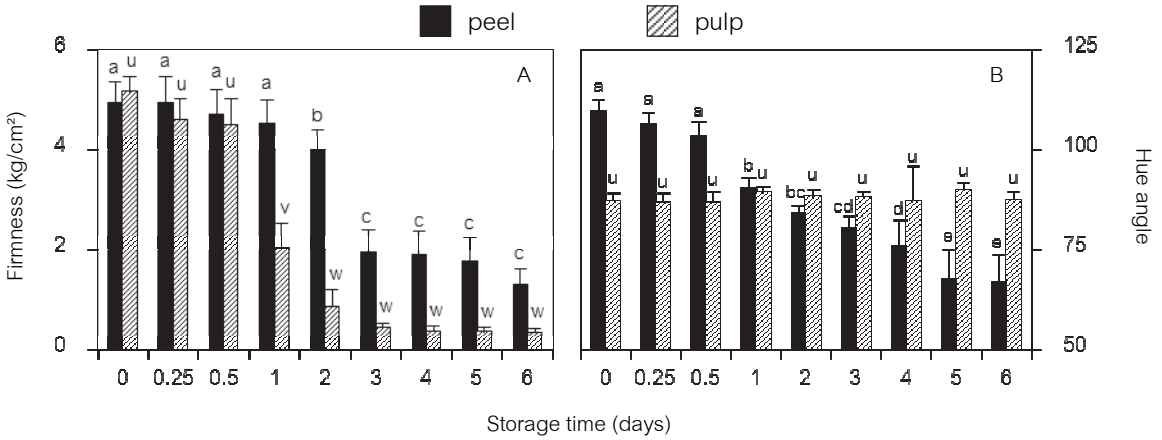

Figure 1 Changes of firmness (A) and peel color (B) of 'Namwa' banana fruit during storage at 29±1°C for 6 days. Bars (standard deviation) with the same letter in peel (a-f) or pulp (u-z) are not significant difference. (n=18).

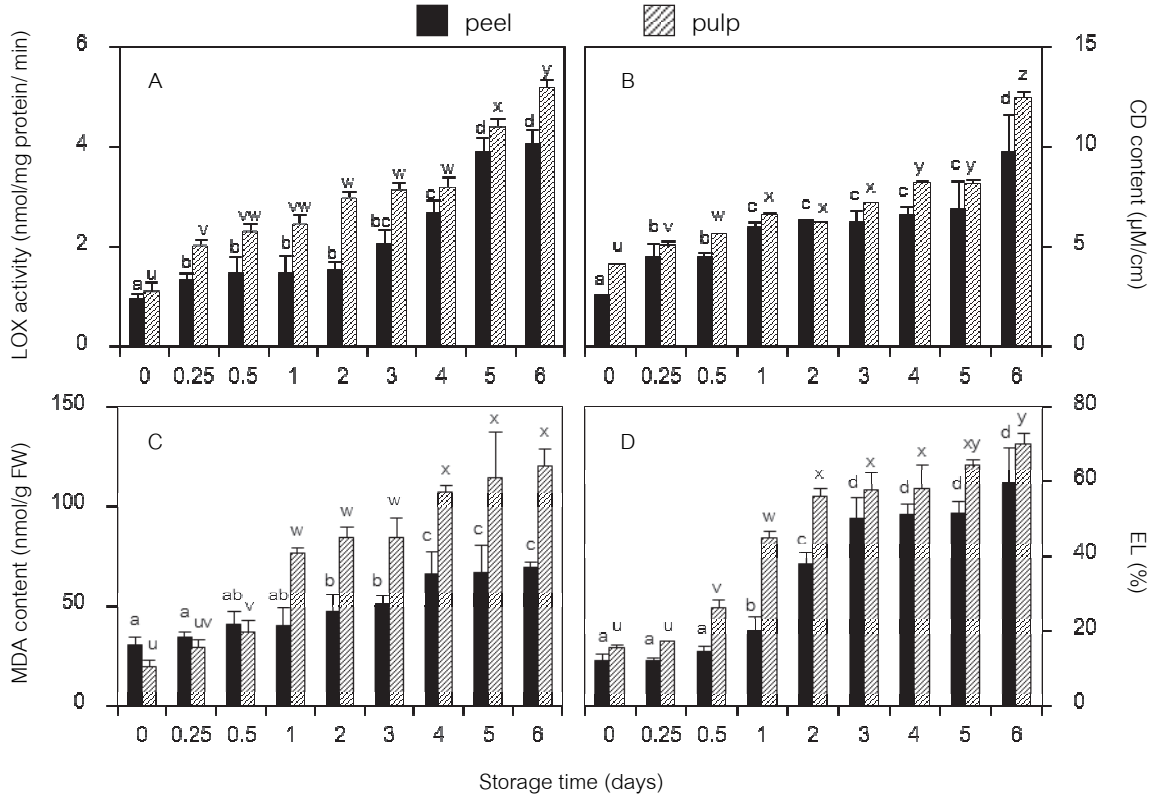

Figure 2 Changes of LOX activity (A), conjugated diene (B) and malondialdehyde (C) contents, and electrolyte leakage (D) of 'Namwa' banana fruit during storage at 29±1°C for 6 days. Bars (standard deviation) with the same letter in peel (a-f) or pulp (u-z) are not significant difference. (n=18).

วิจารณ์ผล

ผลกล้วยน้ำว้าที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเกิดกระบวนการสุกได้อย่างปกติ โดยเปลือกผลเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นเหลือง และเนื้อผลอ่อนนุ่มมากขึ้นระหว่างการเก็บรักษา (Figure 1) รวมทั้งมีกลิ่นหอมและรสหวานขึ้น (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) เนื่องจากในช่วงนี้ผลมีการสร้างก๊าซเอทิลีนเพิ่มขึ้นซึ่งมีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลส (chlorophyllase) ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายคลอโรฟิลล์ทำให้สีเขียวของเปลือกผลจางหายไป รวมทั้งกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายแป้งเป็นน้ำตาล และกระตุ้นการสร้างสารหอมระเหย (จริงแท้, 2549) รวมทั้งเอทิลีนยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์โพลีกาแลกตูโรเนส (polygalacturonase, PG) และ เพคตินเมทิลเอสเทอเรส (pectinmethylesterase, PME) ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายเพคตินในผนังเซลล์ ทำให้เซลล์เกาะกันอย่างหลวมๆ ส่งผลให้ผลอ่อนนุ่มในระหว่างการสุก (จริง

แท้, 2549) เอทิลีนที่สร้างเพิ่มในช่วงที่ผลมีการเสื่อมตามอายุนี้ยังกระตุ้นการหายใจให้สูงขึ้น และกระตุ้นการสร้างอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างการถ่ายทอดอิเล็กตรอนของการหายใจระดับเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การเกิดสภาวะเครียดออกซิเดชันของผลในที่สุด (Resende *et al*., 2012) ในระหว่างการสุกของผลกล้วยน้ำว้านี้พบความเครียดออกซิเดชันเช่นกันที่เกิดจาก LP ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นทั้งในส่วนเนื้อและเปลือกผล (Figure 2) โดยพบกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณ CD ที่เป็นสารตัวกลางของ LP ที่เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 ของการเก็บรักษาเช่นกัน ปฏิกิริยาออกซิเดชันนี้ดำเนินต่อไปจนได้สารผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ MDA ซึ่งมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นสอดคล้องกับปริมาณ CD และกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ด้วย ทั้งนี้แนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่าทั้งสามก็สัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการสุกของผลกล้วย นั่นคือเกิด LP อย่างรวดเร็วและเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการสุก ดังรายงานในผลกล้วยพันธุ์ Williams และผลมะม่วงพันธุ์ Zibdia ที่มีปริมาณ MDA CD และกิจกรรมของเอนไซม์ LOX เพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการสุกของผล (Yang *et al*., 2008; Arafat, 2005)

LOX เป็นเอนไซม์สำคัญที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันใน LP ส่งผลให้ลิพิดของเมมเบรนเกิดความเสียหายทั้งโครงสร้าง (CD และ MDA มีปริมาณสูง) และหน้าที่จนไม่สามารถควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ ได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารออกมาภายในและภายนอกเซลล์ (Kamdee *et al*., 2009) ซึ่งสังเกตได้จากมีอัตรา EL เพิ่มสูงขึ้นหลังจากการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ภายในไม่กี่ชั่วโมง และเพิ่มสูงขึ้นถึง 3.5 เท่าในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (Figure 2a and 2d) สอดคล้องกับรายงานในผลกล้วยไข่และผลพลัมที่มีอัตรา EL เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ LOX และปริมาณ CD และ MDA ในระหว่างการสุกของผล (Kamdee *et al*., 2009; Singh *et al*., 2012) ในการทดลองครั้งนี้ พบ LP ของเมมเบรนเกิดขึ้นในเนื้อมากกว่าเปลือกผล สันนิษฐานว่าในเนื้อผลมีชนิดและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเปลือกผล ประสิทธิภาพการกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นตัวการสำคัญในการเกิด LP จึงต่ำกว่า (Leontowicz *et al*., 2003) การศึกษาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถยับยั้ง LP ในผลกล้วยเป็นงานวิจัยที่น่าสนใจและจะศึกษาต่อไปในอนาคต

สรุป

ลิพิดเพอร์ออกซิเดชันของเมมเบรน เป็นกระบวนการหนึ่งที่เกิดขึ้นในระหว่างการสุกของผลกล้วยน้ำว้า ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในช่วง 1-2 วันแรกของการเก็บรักษา และเป็นสาเหตุสำคัญหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการสุกของผล

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 453 น.

Arafat, L. 2005. Chilling Injury in Mangoes. Ph.D. Thesis. Wageningen University.

Bhattacharjee, S. 2012. The language of reactive oxygen species signaling in plants. Journal of Botany 2012: 1-22.

Devasagayam, T.P.A., K.K. Boloor and T. Ramasarma. 2003. Model for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits. Indian Journal of Biochemistry and Biophysics 40: 300-308.

Kamdee, C., S. Ketsa and W.G. van Doorn. 2009. Effect of heat treatment on ripening and early peel spotting in cv. Sucrier banana. Postharvest Biology and Technology 52: 288-293.

Leontowicz M., S. Gorinstein, H. Leontowicz, R. Krzeminski, A. Lojek, E. Katrich, M. Cíz, O. Martin-Belloso, R. Soliva-Fortuny, R. Haruenkit and S. Trakhtenberg. 2003. Apple and pear peel and pulp and their influence on plasma lipids and antioxidant potentials in rats fed cholesterol-containing diets. Journal of Agricultural and Food Chemistry 51: 5780-5785.

Resende, E.C.O., P.F. Martins, R.A.de Azevedo, A.P. Jacomino and I.U. Bron. 2012. Oxidative processes during 'Golden' papaya fruit ripening. Brazilian Journal of Plant Physiology 24: 85-94.

Singha, S.P., Z. Singha and E.E. Swinnyb. 2012. Climacteric level during fruit ripening influences lipid peroxidation and enzymatic and non-enzymatic antioxidative systems in Japanese plums (*Prunus salicina* Lindell). Postharvest Biology and Technology 65: 22-32.

Yang, S., X. Su, K.N. Prasad, B. Yang, G. Cheng, Y. Chen, E. Yang and Y. Jiang. 2008. Oxidation and peroxidation of postharvest banana fruit during softening. Pakistan Journal of Botany 40: 2023-2029.