Agricultural Sci. J. 46 : 3/1 (Suppl.) : 64-67 (2015) ว. วิทย. กษ. 46 : 3/1 (พิเศษ) : 64-67 (2558)

การลดความเสียหายของเมมเบรนระหว่างการเก็บรักษาของผลฝรั่งตัดแต่งพร้อมบริโภค พันธุ์กิมจูโดยโซเดียมคลอไรต์

Reduction of Membrane Damage During Storage of 'Kimju' Fresh-Cut Guava Fruit by Sodium Chlorite

สิรวิชญ์ โชติกะคาม[1], อธิวัฒน์ ชุ่มแย้ม[1], จารุณี จูงกลาง[1] และ กอบเกียรติ แสงนิล[1,2]

Sirawich Chotikakham[1], Athiwat Chumyam[1], Jarunee Jungklang[1] and Kobkiat Saengnil[1,2]

Abstract

The purpose of the study was to investigate the effect of sodium chlorite ($NaClO_2$) on oxidative membrane damage and browning of fresh-cut 'Kimju' guava fruit during storage at 25±1 °C. Sliced guava fruit were dipped in 0 (control), 0.05 and 0.1 % (w/v) $NaClO_2$ for 10 minutes, then packed in PVC film wrapped foam trays and stored at 25±1°C for 48 hours. Changes in malondialdehyde (MDA) and conjugated diene (CD) contents, lipoxygenase (LOX) activity, protein carbonyl (PC) content, electrolyte leakage (EL) and browning index (BI) were studied at 0, 6, 12, 24 and 48 hours of storage. The results showed that increases in membrane lipid peroxidation (MDA and CD content, LOX activity and EL) and protein oxidation (PC content) were observed together with an increase of BI during storage of sliced guava. The $NaClO_2$ treatment caused the decreased membrane lipid peroxidation but had no significant effect on protein oxidation when compared to the control. Results suggested that $NaClO_2$ increased membrane stability by causing a decrease in oxidative membrane damage, resulting in reduction of browning in the product during storage at 25±1°C.

Keywords: Oxidative damage, Browning, Guava fruit

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันของผลฝรั่งตัดแต่งพร้อมบริโภคพันธุ์กิมจูในระหว่างการเก็บรักษาที่ 25±1 °ซ โดยการจุ่มเนื้อผลฝรั่งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 3 ระดับความเข้มข้นคือ 0 (ชุดควบคุม), 0.05 และ 0.1 % (w/v) เป็นเวลา 10 นาที บรรจุในถาดโฟมที่หุ้มปิดด้วยฟิล์มพอลิไวนิลคลอไรด์ และเก็บรักษาที่ 25±1 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงในเรื่องปริมาณมาลอนไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) คอนจูเกตไดอีน (conjugated diene, CD) กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase, LOX) โปรตีนคาร์บอนิล (protein carbonyl, PC) การรั่วไหลของประจุ (electrolyte leakage, EL) และดัชนีการเกิดสีน้ำตาล ในชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 24 และ 48 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองพบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (ปริมาณ MDA และ CD กิจกรรมของ LOX และ EL) และออกซิเดชันของโปรตีน (ปริมาณ PC) ของเมมเบรนเพิ่มขึ้นพร้อมๆ กับดัชนีการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นของเนื้อผลฝรั่งระหว่างเก็บรักษา การจุ่มเนื้อฝรั่งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีผลช่วยลดออกซิเดชันของลิพิด แต่ไม่มีผลต่อออกซิเดชันของโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีผลเพิ่มความเสถียรของเมมเบรนโดยการลดความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดจากความเครียดออกซิเดชันซึ่งมีผลลดการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อผลฝรั่งระหว่างการเก็บรักษาที่ 25±1 °ซ

คำสำคัญ: ความเสียหายออกซิเดชัน, การเกิดสีน้ำตาล, ผลฝรั่ง

คำนำ

โดยทั่วไปความเสียหายของเมมเบรนและเซลล์จะเกิดขึ้นในระหว่างที่พืชมีการเสื่อมสภาพตามอายุ โดยเกิดจากความไม่สมดุลของระบบป้องกันออกซิเดชันที่ไม่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระที่มีมากเกินไปได้และก่อให้เกิดความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ขึ้นโดยลิพิดและโปรตีนในโครงสร้างของเมมเบรนของเซลล์เป็นสารชีวโมเลกุลเป้าหมายสำคัญที่ถูกอนุมูลอิสระในกลุ่ม reactive oxygen species (ROS) เข้าทำลาย โดยชักนำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation, LP)

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[2] สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[2] Postharvest Technology Research Institute, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

และ โปรตีนออกซิเดชัน (protein oxidation, PO) มีผลทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของเมมเบรนให้เสียหาย ในการเกิด LP มีเอนไซม์สำคัญเร่งปฏิกิริยาคือไลพอกซีจีเนส (lipoxygenase, LOX) และสารตัวกลางสำคัญของ LP ได้แก่ คอนจูเกตไดอีน (conjugate diene, CD) อนุมูลอิสระเพอรอกซิล (peroxyl radicals) และไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) รวมทั้งมีผลิตภัณฑ์สุดท้าย ได้แก่ มาลอนไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) อะโครทีน (acrotein) และไฮดรอกซีแอลคีนาล (4-hydroxyalkenals) เป็นต้น (Devasagayam *et al*., 2003; Bhattacharjee, 2012) ส่วนการเกิด PO มีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนจากการจับกันระหว่างโปรตีนและหมู่คาร์บอนิลได้ผลิตภัณฑ์สำคัญ คือ โปรตีนคาร์บอนิล (protein carbonyl, PC) หรือมีผลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโปรตีนแอลบูมินได้เป็น ischemia modified albumin (Kaul *et al*., 1993) โดยดัชนีที่นิยมใช้ชี้วัดความเสียหายของเมมเบรน ได้แก่ การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ปริมาณของ CD MDA และ PC รวมทั้งการรั่วไหลของอิเล็กโทรไลต์ (electrolyte leakage, EL) (Gill and Tuteja, 2010)

การเกิดความเสียหายของเมมเบรนในพืชบางชนิดมีรายงานใน ผลฝรั่งพันธุ์ Hisar Safeda และ L-49 (Mondal *et al*., 2009) โลควอตพันธุ์ Luoyangqing (Cai *et al*., 2006) ลำไยพันธุ์ Shixia (Duan *et al*., 2007) และพันธุ์ดอ (Chomkitichai *et al*., 2014) ลิ้นจี่พันธุ์ Huaizhi (Yang *et al*., 2009) ในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้ยังพบว่ามีสารเคมีบางชนิด ได้แก่ คลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide, ClO_2) 1-เมทิลไซโคลโพรพีน (1-methylcyclopropene, 1-MCP) และไคโตซานร่วมกับกรดแอสคอร์บิกสามารถลดความเสียหายของเมมเบรน ลดการเกิดสีน้ำตาล และรักษาคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาผลลำไย (Chomkitichai *et al*., 2014) โลควอต (Cai *et al*., 2006) และลิ้นจี่ (Sun *et al*., 2010) ได้ ส่วนผลฝรั่งตัดแต่งพร้อมบริโภคของไทยซึ่งมีอายุการวางจำหน่ายสั้นและเสื่อมตามอายุเร็ว พบว่าการจุ่มในสารละลาย $NaClO_2$ สามารถชะลอการสูญเสียคุณภาพของผลฝรั่งได้ดี แต่การศึกษาผลของ $NaClO_2$ ต่อความเสียหายของเมมเบรนยังมีน้อยมาก และไม่มีรายงานในผลฝรั่งตัดแต่งพร้อมบริโภคพันธุ์กิมจู ดังนั้นรายงานวิจัยครั้งนี้จึงต้องการศึกษาเพื่อเป็นข้อมูลนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาคุณภาพและลดการเกิดสีน้ำตาลของผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกผลฝรั่งพันธุ์กิมจูในระยะแก่เต็มที่ทางการค้า (อายุ 120 วันหลังดอกบาน) ขนาดผลใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงจากสวนของเกษตรกรในจังหวัดเชียงใหม่ นำผลฝรั่งมาล้างด้วยน้ำสะอาด แล้วตัดครึ่งผลตามยาวและคว้านเมล็ดออก ตัดแบ่งเนื้อผลแต่ละครึ่งออกเป็น 8 ชิ้น (หนาชิ้นละประมาณ 1.5 เซนติเมตร) นำมาจุ่มในสารละลาย $NaClO_2$ ความเข้มข้น 3 ระดับ ดังนี้ 0 (ชุดควบคุม), 0.05 และ 0.1% (w/v) เป็นเวลา 10 นาที บรรจุชิ้นฝรั่งในถาดโฟมถาดละ 6 ชิ้นหุ้มปิดด้วยพีวีซีฟิล์มเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85 % เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ชิ้นรวมเนื้อผลทั้งหมด 270 ชิ้น สุ่มตัวอย่างผลฝรั่งหั่นชิ้นในแต่ละชุดความเข้มข้นในชั่วโมงที่ 0, 6, 12, 24 และ 48 ของการเก็บรักษามาวัดการเกิดการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภค จากดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (BI) (Jiang and Li, 2001) และ ความเสียหายของเมมเบรน จากกระบวนการเกิด LP (โดยวัดจากปริมาณ MDA และ CD อัตรา EL และกิจกรรมของเอนไซม์ LOX) และการเกิด PO (วัดจากปริมาณ PC) (Mondal *et al*., 2009) วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 15 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทำการทดลองในช่วงเดือนมีนาคมถึงเดือนพฤษภาคม 2558 ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผล

ระหว่างการเก็บรักษาผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคมีการเกิด LP และ PO เพิ่มสูงขึ้นทุกชุดการทดลอง (Figure 1) โดยกิจกรรมของเอนไซม์ LOX เพิ่มขึ้นสูงสุดชั่วโมงที่ 24 แล้วลดลง ขณะที่ปริมาณของ CD, MDA และ PC รวมทั้งอัตรา EL เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นสูงสุดในชั่วโมงที่ 48 การจุ่มในสารละลาย $NaClO_2$ ความเข้มข้น 0.05% และ 0.1% (W/V) ลดการเกิด LP ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 จนถึงชั่งโมงที่ 24 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยทั้งสองชุดความเข้มข้นให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Figure 1A-1C) ในขณะที่ปริมาณ PC ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1D) เมื่อพิจารณา BI ของผลฝรั่งพบว่ามีค่าต่ำใน 12 ชั่วโมงแรก และเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 24-48 การจุ่มในสารละลาย $NaClO_2$ มีผลลด BI ได้โดยที่ความเข้มข้น 0.1% (w/v) ลด BI ของเนื้อผลฝรั่งได้ดีกว่าความเข้มข้น 0.05% (w/v) (Figure 1F)

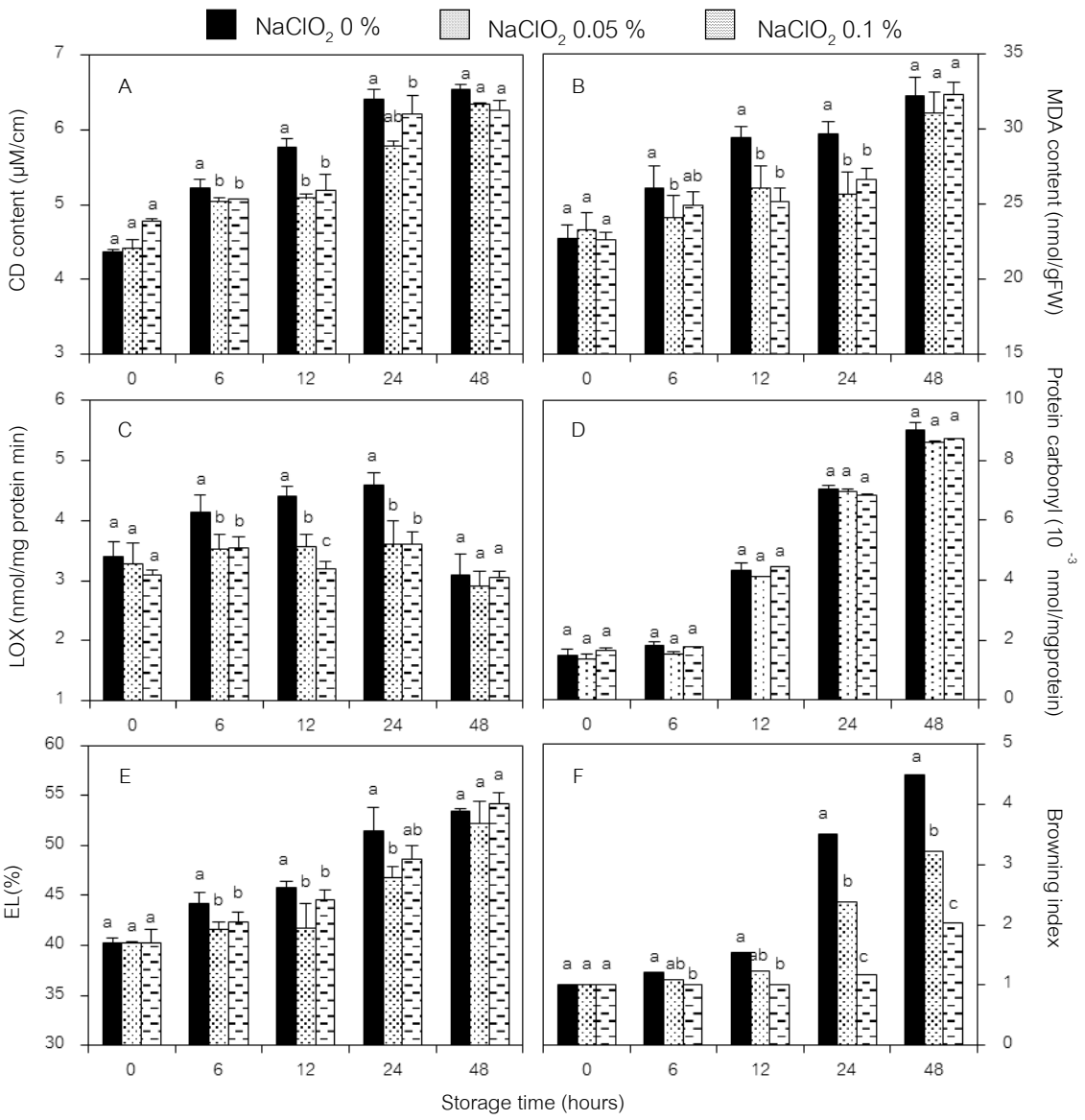

Figure 1 Changes in conjugated diene (A) and malondialdehyde (B) contents, LOX activity (C), protein carbonyl content (D), electrolyte leakage (E) and browning index (F) of 'Kimju' guava fruit during storage at 25±1°C for 48 hours. Bars (standard deviation) with the same letter in each sampling time are not significantly different. (n=3).

วิจารณ์ผล

ในระหว่างการเก็บรักษาผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคมีความเครียดออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากการหั่นชิ้นผลแล้วเกิดบาดแผล การขาดน้ำ-อาหาร และอยู่ในสภาพที่แตกต่างจากบนต้นซึ่งมีผลกระตุ้นให้ผลมีการสร้างเอทิลีน และอัตราการหายใจเพิ่มขึ้น (จริงแท้, 2549) รวมทั้งกระตุ้นการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากการถ่ายทอดอิเล็กตรอนของการหายใจระดับเซลล์ และจากกระบวนการเมแทบอลิซึมอื่นๆ (Gill and Tuteja, 2010) ในการทดลองนี้พบว่าเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นเกิด LP และ PO เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ เมื่อมีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แสดงถึงความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสันนิษฐานว่าเกิดจากการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระดังกล่าวข้างต้นที่เพิ่มสูงมากเกินการควบคุมจากสารกำจัดอนุมูลอิสระนั่นเอง สอดคล้องกับผลการศึกษาในผลโลควอต ลำไย ฝรั่ง และลิ้นจี่ ที่มีปริมาณ ROS เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับความเสียหายเมมเบรนที่เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Cai *et al*., 2006; Duan *et al*., 2007; Chomkitichai *et al*., 2014; Sun *et al*., 2010; Mondal *et al*., 2009) นอกจากนี้ระดับของ LP และ PO ยังสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้น โดยความ

เสียหายของเมมเบรนที่เกิดขึ้นนี้ทำให้เอนไซม์ PPO และ POD ในพลาสติดสัมผัสกับสารประกอบฟีนอลในแวคิวโอล แล้วเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ผลิตภัณฑ์สารสีน้ำตาล (Duan *et al*., 2007)

การจุ่มเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคพันธุ์กิมจูลงในสารละลาย $NaClO_2$ สามารถลดความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดจาก LP และลดการเกิดสีน้ำตาลระหว่างการเก็บรักษา โดยสารละลายความเข้มข้น 0.05% (w/v) ลดการเกิด LP ได้ดีที่สุด ทั้งนี้สันนิษฐานว่า $NaClO_2$ ลดการสังเคราะห์และสะสมอนุมูลอิสระ และเพิ่มประสิทธิภาพของระบบป้องกันออกซิเดชัน ดังในรายงานการศึกษาในผลลำไยพบว่า ClO_2 ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของ $NaClO_2$ สามารถการลดการสร้าง ROS และเพิ่มประสิทธิภาพของระบบป้องกันออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา (Chomkitichai *et al*., 2014) อย่างไรก็ตาม $NaClO_2$ ไม่มีผลช่วยลด PO ของเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะโปรตีนมีโครงสร้างที่แข็งแรงกว่าและมีความว่องไวในการเกิดออกซิเดชันน้อยกว่าลิพิด รวมทั้งความเสียหายจาก PO ยังขึ้นอยู่กับชนิดของสารละลายที่ใช้จุ่มและระดับของความเครียดออกซิเดชันที่ได้รับจากภายนอก (Stadtman and Levine, 2003)

สรุป

ความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดจาก LP และ PO ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคพันธุ์กิมจูเพิ่มสูงขึ้นสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น การจุ่มเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นในสารละลาย $NaClO_2$ สามารถลดความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดจาก LP ได้ แต่ไม่มีผลช่วยลดการเกิด PO โดยสารละลาย $NaClO_2$ ความเข้มข้น 0.05% (w/v) สามารถลดความเสียหายของเมมเบรน และชะลอการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลฝรั่งหั่นชิ้นพร้อมบริโภคพันธุ์กิมจูได้ดีที่สุด

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และโครงการพัฒนากำลังคนด้านวิทยาศาสตร์ (ทุนเรียนดีวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย) ที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

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

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

Cai, C., K. Chen, W. Xu, X. Li and I. Ferguson. 2006. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit. Postharvest Biology and Technology 40: 155-162.

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 40: 300-308.

Duan, X., X. Su, Y. You, H. Qu, Y. Li and Y. Jiang. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. Food Chemistry 104: 571-576.

Chomkitichai, W., A. Chumyam, P. Rachtanapan, J. Uthaibutra and K. Saengnil. 2014. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide. Scientia Horticulturae 170: 143-149.

Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plant. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.

Jiang, Y. and Y. Li. 2001. Effect of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. Food Chemistry 73: 139-143.

Mondal. K., S.P. Malhotra, V. Jain and R. Singh. 2009. Oxidative stress and antioxidant system in guava (*Pisdium guajava* L.) fruit during ripening. Physiology and Molecular Biology of Plants 4: 327-334.

Kaul, N., N. Siveski-iliskovic, M. Hill, J. Slezak and P.K. Singal. 1993. Free radical and the heart. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods 30: 55-67.

Stadtman, E.R. and R.L. Levine. 2003. Free radical-mediated oxidation of free amino acid and amino oxidation of free amino acid and amino acid residues in protein. Amino Acid 25: 207-218.

Sun, D., G. Liang, J. Xie, X. Lei and Y. Mo. 2010. Improved preservation effect of lychee fruit by combining chitosan coating with ascorbic acid treatment during postharvest storage. African Journal of Biotechnology 9: 3272-3279.

Yang, E., W. Lu, H. Qu, H. Lin, F. Wu, S. Jiang, Y. Cheng and Y. Jiang. 2009. Altered energy status in pericarp browning of lychee fruit during storage. Pakistan Journal of Botany 41: 2271-2279.