Agricultural Sci. J. 46 : 3/1 (Suppl.) : 165-167 (2015) ว. วิทย. กษ. 46 : 3/1 (พิเศษ) : 165-167 (2558)

# ผลของระยะอายุการเก็บเกี่ยวต่อกิจกรรมเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนสและสารต้านอนุมูลอิสระของผลมะหลอด

# Effect of Harvesting Stages on Polygalacturonase Activity and Antioxidant Capacity of Wild Olive *(Elaeagnus latifolia)*

**ภัทรวรรณ เกตุเทียน**[1] **และ อดิศักดิ์ จูมวงษ์**[1, 2]
Pattrarawan Kedtien[1] and Adisak Joomwong[1, 2]

Abstract

The effect of harvesting stages on the polygalacturonase activity and antioxidant capacity of *Elaeagnus latifolia* was studied. Fruit at mature (60 days after full bloom: DAFB), moderately ripe (70 DAFB) and over ripe (80 DAFB), were used to determine polygalacturonase activity and antioxidant capacity by 1,-1 diphenyl-1-picylhydrazyl DPPH radical scavenging assay. The results showed that polygalacturonase activity and antioxidant capacity increased significantly with fruit maturity. The polygalacturonase activities of mature, moderately ripe and over ripe were 3.77, 41.81 and 65.97 Unit/min/mg protein, respectively. The antioxidant capacity of mature, moderately ripe and over ripe were 49.88, 58.23 and 61.95 g/ml respectively

**Keywords**: *Elaeagnus latifolia*, polygalacturonase, antioxidant, harvesting stage

**บทคัดย่อ**

การศึกษาผลของระยะการเก็บเกี่ยวต่อกิจกรรมของเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโลเนสและสารต้านอนุมูลอิสระ ของผลมะหลอด โดยนำผลมะหลอดที่เก็บเกี่ยวหลังดอกบาน คือ ผลแก่ (60 วัน) ผลแก่ปานกลาง (70 วัน) และผลแก่จัด (80 วัน) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโลเนสและสารต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจวัดด้วยวิธี 1,-1 diphenyl-1-picylhydrazyl DPPH radical scavenging ของผลมะหลอดมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุผลอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยกิจกรรมของเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโลเนสของผลมะหลอด 3 ระยะ คือผลแก่ ผลแก่ปานกลาง และผลแก่จัดมีค่า 3.77 41. 80 และ 65.97 Unit/min/mg protein และสารต้านอนุมูลอิสระของผลมะหลอด 3 ระยะ มีค่า 49.88 58.23 61.95 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

**คำสำคัญ** : มะหลอด พอลิกาแล็กทูโรเนส สารต้านอนุมูลอิสระ ระยะการเก็บเกี่ยว

## คำนำ

มะหลอด (*Elaeagnus latifolia*) เป็นผลไม้พื้นเมืองของไทยพบมากทางภาคเหนือ มีผลทรงรี ผลอ่อนมีสีเขียวผิวมีเกล็ดสีเงิน ระยะสุกผลจะมีสีส้มอมแดง มะหลอดมีคุณค่าทางโภชนามากมายโดยค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ กรดไขมัน กรดแอสคอร์บิกและวิตามิน (Patel *et al*., 2008) และ Sakamura and Suga (1987) ทำการศึกษาผลมะหลอดพบว่าในผลมีน้ำตาลฟรุกโตส กรดแอสคอร์บิกและแคโรทีนอยด์ และ Zhang *et al*. (2006) พบว่าในผักและผลไม้ที่มี เช่น ดำ แดงหรือม่วงจะมีสารต้านอนุมูลอิสระปริมาณสูง ปัจจุบันมะหลอดไม่เป็นที่นิยม จึงทำให้มีปริมาณมะหลอดลดน้อยลง งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาคุณภาพทางเคมีของมะหลอดแต่ละระยะอายุการเก็บเกี่ยวในด้านผลของเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนสที่ส่งผลต่อการเน่าเสียของผลมะหลอดและสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเป็นข้อมูลในการเก็บรักษา การเลือกรับประทานผลมะหลอด และส่งเสริมเกษตรกรในการเพาะปลูกต่อไป

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[1] Division of Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai 50290
[2] สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290
[2] Program of Agricultural Interdisciplinary, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai 50290

## อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการเก็บเกี่ยวผลมะหลอดที่มีอายุ 60, 70 และ 80 วันหลังดอกบาน นำมาศึกษาคุณภาพได้แก่ ความแน่นเนื้อวัดโดยเครื่อง Fruits hardness tester FHR-1 ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ (Total soluble solids: TSS) วัดโดยเครื่อง Pocket refractometer PAL-1 วิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิก วัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,-1 diphenyl-1-picylhydrazyl DPPH radical scavenging (Hou *et al*., 2001) และวัดกิจกรรมเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนส โดยนำเนื้อมะหลอดไปสกัด เติม Sodium phosphate buffer, pH 6.4 และ EDTA นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหนีศูนย์กลางแบบควบคุมอุณหภูมิ Refrigerted bench top centrifuge รุ่น Universal 320, 320R จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ (crude enzyme) ไปวัดกิจกรรมเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนส โดยดัดแปลงวิธีของ Pathak and Sanwal (1998) ค่าที่ได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ (unit) คือปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้เกิด 1 µmol ของ reducing sugar ต่อนาที ที่สภาวะ 37 องศาเซลเซียส

## ผลและวิจารณ์

การศึกษาผลมะหลอดทั้ง 3 ระยะอายุการเก็บเกี่ยว คือ 60, 70 และ 80 วันหลังดอกบาน พบว่าความแน่นเนื้อของผลมะหลอดลดลงตามระยะอายุการเก็บเกี่ยวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.6, 2.9 และ 1.9 N ตามลำดับ สอดคล้องกับ Christelle *et al*. (2008) ศึกษาผิวขององุ่นพบความแน่นเนื้อเกี่ยวข้องกับผนังเซลล์ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุกคือเพกทินและเฮมิเซลลูโลสซึ่งถูกสลายโดย endo และ exo พอลิกาแล็กทูโรเนส ส่งผลให้เนื้อเยื่ออ่อนตัวลงระหว่างการสุกจนกระทั่งสิ้นสุดการสุก ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้เพิ่มขึ้นตามระยะอายุการเก็บเกี่ยวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 9.3, 12.1 และ15.8 %Brix ตามลำดับ ปริมาณกรดแอสคอร์บิกมีการลดลงตามระยะอายุการเก็บเกี่ยวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 19.83, 10.63 และ 6.49 กรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ Anand and Somaradhya (2005) รายงานว่ากรดแอสคอร์บิกสูญเสียไประหว่างที่มีการพัฒนาของผล จากการวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าเพิ่มขึ้นตามระยะอายุการเก็บเกี่ยวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 49.88, 58.23 และ 61.95 กรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจะมีการเพิ่มขึ้นในช่วงที่ผลมีการเจริญเติบโตสมบูรณ์และเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆจนกระทั่งผลเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ (Anand and Somaradhya, 2005 ) และการศึกษากิจกรรมเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนสพบว่ามีการเพิ่มขึ้นตามระยะอายุการเก็บเกี่ยวมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.77, 41.81 และ 65.97 Unit/min/mg protein ซึ่งการเปลี่ยนแปลงผนังเซลล์ในระหว่างการสุกพบว่าเพกทินและเฮมิเซลลูโลสมีบทบาทมาก โดยเพกทินเป็นส่วนประกอบสำคัญของ primary cell wall และมิดเดิลลาเมลลา ถูกสลายโดยเอนไซม์ endo และ exo พอลิกาแล็กทูโรเนส ซึ่งสัมพันธุ์กับการอ่อนตัวลงของในระหว่างการสุก (Natalia *et al*., 2009)

**Table 1** Changes of chemical properties of wild olive at different maturity stages

| Maturity stage | Firmness (N) | TSS (%Brix) | Ascorbic acid (g/100g) | Antioxidant (g/ml) | Polygalacturonase activity (unit/min/mg protein) |
|---|---|---|---|---|---|
| 60 DAFB | 3.6[a] | 9.3[c] | 19.83[a] | 49.88[c] | 3.77[c] |
| 70 DAFB | 2.9[b] | 12.1[b] | 10.63[b] | 58.23[b] | 41.81[b] |
| 80 DAFB | 1.9[c] | 15.8[a] | 6.49[c] | 61.95[a] | 65.97[a] |

## สรุปผลการทดลอง

การศึกษาคุณภาพของมะหลอดพบว่า ความแน่นเนื้อและกรดแอสคอร์บิค มีค่าลดลงตามระยะอายุการเก็บเกี่ยว และปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ สารต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมเอนไซม์พอลิกาแล็กทูโรเนส มีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะอายุการเก็บเกี่ยว

## เอกสารอ้างอิง

Anand, P.K. and M.A. Somaradhya. 2005. Chemical change and antioxidants activity in pomegranate arils during fruit development. Food Chemical 93 : 319-324.

Christelle, D.B., V. Amelie, D. Bernard and G. Laurence. 2008. Pectin methylesterase and polygalacturonase in the developing grape skin. Plant Physiology and Biochemistry 46 : 638-646.

Hou, W. C., M. H. Lee, H. J. Chen, W. L. Liang, C. H. Han, Y. W. Liu andY. H. Lin. 2001.Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. Journal of Agricultural and Food Chemistry 49 : 4956-4960.

Natalia, M.V., A.M. Gustavo and M.C. Pedro. 2009. Influence of plant growth regulatiors on polygalacturonase expression in strawberry fruit. Plant Science 176 : 749-757.

Patel, R. K., A. Singh and B.C. Deka. 2008. Soh-Shang (*Elaeagnus Latifolia*): An under-utilized fruit of north east region needs domestication. Division of Horticulture, ICAR Research Complex for NEH Region, Umiam. pp. 793-803.

Pathak, N. and G.G. Sanwal. 1998. Multiple forms of polygalacturonase from banana fruits. Phytochemistry 48(2) : 249-255.

Sakamura, F. and T. Suga. 1987. Changes in chemical components of ripening oleaster fruits. Phytochemistry 26 : 2481-2484.

Zhang, G. W., X. Q.Ma, Y.Y. Su and K. Zhang. 2006. Two new bioactive sesquiterpenes from the soft coral *Sinularia sp*. Journal of Natural Products 20: 659-664.