Agricultural Sci. J. 48 : 3 (Suppl.) : 221–224 (2017) ว. วิทย. กษ. 48 : 3 (พิเศษ) : 221-224 (2560)

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนและการเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

Correlation between Reactive Oxygen Species (ROS) Contents and Pericarp Browning of Longkong Fruits During Ambient Temperature Storage

วารุณี จอมกิติชัย[1] ศศิธร เชียงภูกอ กมลวรรณ แก้วมา[1] และ วีรศักดิ์ จอมกิติชัย[2]

Warunee Chomkitichai[1], Sasithorn Chiangphookor[1], Kamonwan Kaewma[1] and Weerasak Chomkitichai[2]

Abstract

The accumulation of reactive oxygen species (ROS), such as superoxide radical ($O_2^{\bullet-}$) and hydrogen peroxide (H_2O_2) during fruit storage is a major cause of browning. The objective of this research was to study the correlation between ROS contents and pericarp browning of longkong fruits during ambient condition storage. Sample of longkong fruits were packed in basket and wrapped with PVC film, then stored at room temperature for 5 days. The fruits were randomly sampled to analyze their ROS contents ($O_2^{\bullet-}$ and H_2O_2) and pericarp browning (i.e. %browning, polyphenol oxidase (PPO) and peroxidase (POD) activity, and total phenol content). Correlation analysis between ROS contents and pericarp browning were determined by using Pearson correlation coefficients. The results showed that the ROS contents ($O_2^{\bullet-}$ and H_2O_2) were positively correlated with %browning ($p < 0.01$) but negatively correlated with total phenol content ($p < 0.01$) during the storage. However, there was no correlation between the ROS contents and PPO and POD activity.

Keywords: Reactive oxygen species (ROS), Browning, Longkong

บทคัดย่อ

การสะสมอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน (reactive oxygen species: ROS) เช่น อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ ($O_2^{\bullet-}$) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้หลายชนิด งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน และการเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง โดยนำผลลองกองบรรจุในตะกร้าที่หุ้มปิดด้วยด้วยพีวีซีฟิล์ม จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน สุ่มตัวอย่างผลลองกองมาวิเคราะห์ทุกวัน โดยวิเคราะห์ปริมาณอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนจากปริมาณ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 และวิเคราะห์การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลจากเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase: PPO) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase: POD) รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compound) ของเปลือกผล นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระและการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล โดยใช้ Pearson coefficient ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณ ROS ($O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2) มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับเปอร์เซ็นต์การเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกอง และมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกผลลองกองระหว่างการเก็บรักษา แต่ไม่มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD

คำสำคัญ: อนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน การเกิดสีน้ำตาล ผลลองกอง

คำนำ

ลองกอง (*Lansium domesticum*) เป็นไม้ผลที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของจังหวัดอุตรดิตถ์ มีรสชาติหวาน กลิ่นหอม ผลมีเปลือกบาง และเปลือกมียางน้อย ทำให้เป็นที่นิยมรับประทานของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามภายหลังการเก็บเกี่ยวผลลองกองมักประสบปัญหาสำคัญคือการเกิดสีน้ำตาลที่เปลือกผลภายใน 2-3 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลง ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของการวางจำหน่าย

[1] หลักสูตรชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ 53000

[1] Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Ratjabhat University, Uttaradit 53000

[2] หลักสูตรเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ จังหวัดอุตรดิตถ์ 53000

[2] Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Uttaradit Ratjabhat University, Uttaradit 53000

สันนิษฐานว่าการเกิดเปลือกสีน้ำตาลนี้มีสาเหตุสำคัญเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radicals) โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลอิสระกลุ่มที่ประกอบด้วยออกซิเจน (oxygen species; ROS) ที่เกิดขึ้นจากเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ เช่น อนุมูลอิสระซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide radical ; $O_2^{\bullet-}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2) และอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical ; $OH^{\bullet}$) เป็นต้น โดย ROS ที่เพิ่มสูงขึ้นจะก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำลายเมมเบรน (membrane) ของเซลล์ และออร์แกแนลล์ต่างๆ ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารภายในเซลล์ (Gill and Tuteja, 2010) มีผลเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในแวคิวโอล (vacuole) และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase, POD) ที่อยู่ในไซโตซอล (cytosol) และพลาสติด (plastid) เกิดเป็นสารประกอบสีน้ำตาล ดังมีรายงานการศึกษาพบว่าการสะสมปริมาณ ROS มีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้บางชนิด เช่น ในผลผลลิ้นจี่ (Sun *et al*., 2010, 2011) ลำไย (Chomkitichai *et al*., 2014a) เงาะ (Shao *et al*., 2012) โลควอท (Abbasi *et al*., 2013) และเกาลัด (You *et al*., 2012)

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนและการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกองในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาในผลลองกองมาก่อน ข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นแนวคิดนำไปประยุกต์ใช้เพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลของผลลองกองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลลองกองในระยะเก็บเกี่ยวจากสวนของเกษตรกรในอำเภอลับแล จังหวัดอุตรดิตถ์ บรรจุในกล่องกระดาษแล้วขนส่งทางรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ ภายในเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำผลมาตัดก้านผลให้เหลือประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วคัดเลือกผลที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงเพื่อใช้ในการทดลอง

นำผลลองกองที่เตรียมไว้จำนวน 360 ผล แบ่งเป็น 3 ซ้ำๆ ละ 120 ผล บรรจุผลแต่ละซ้ำลงในตะกร้าจำนวน 6 ใบๆ ละ 20 ผล ปิดตะกร้าด้วยฟิล์มพีวีซี และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างผลลองกองในแต่ละซ้ำมาวิเคราะห์ทุกวัน ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 5 ของการเก็บรักษา โดยวิเคราะห์ปริมาณ ROS จากปริมาณ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 และวิเคราะห์การเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกองจากเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกผล จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจนและการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล โดยใช้ Pearson coefficient

ผล

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ ROS และการเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่า ปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับเปอร์เซ็นต์การเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลองกอง โดยมีค่าความสัมพันธ์ 0.9363 และ 0.9382 ตามลำดับ (Figture 1A และ 1B) และมีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของเปลือกผล โดยมีค่าความสัมพันธ์ 0.8268 และ 0.8566 ตามลำดับ (Figture 1C และ 1D) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณอนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิดกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD พบว่าปริมาณ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 มีความสัมพันธ์ระดับต่ำถึงต่ำมากกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีค่าความสัมพันธ์ 0.4146 และ 0.2861 ตามลำดับ (Figture 1E และ 1F) และไม่พบความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ POD โดยมีค่าความสัมพันธ์ในระดับต่ำมาก คือ 0.1129 และ 0.0554 ตามลำดับ (Figture 1G และ 1H)

วิจารณ์ผล

การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกองมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ ROS ทั้งปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 (Figture 1A และ 1B) แสดงให้เห็นว่าการเกิดเปลือกสีน้ำตาลจะเกิดเพิ่มมากขึ้นตามระดับการสะสม $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 สอดคล้องกับการศึกษาของ Sun *et al*. (2010, 2011); Chomkitichai *et al*. (2014a); Shao *et al*. (2012); Abbasi *et al*. (2013); You *et al*. (2012) ซึ่งพบว่าการเกิดสีน้ำตาลเกี่ยวข้องกับความเสียหายของเมมเบรนที่มีสาเหตุมาจากการสะสมอนุมูลอิสระ

การสะสม ROS ในเปลือกผลลองกองระหว่างการเก็บรักษาอาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหายออกซิเดชันของเมมเบรน และอาจส่งผลให้เกิดการรั่วไหลของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจากแวคิวโอล และการรั่วไหลของเอนไซม์ PPO และ POD จากพลาสติด เกิดปฏิกิริยาสร้างสารประกอบสีน้ำตาลขึ้น ดังจะเห็นว่าสอดคล้องกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่เป็นสารตั้งต้นของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลกับปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 ที่มีความสัมพันธ์เชิงลบอย่างมีนัยสำคัญ (Figture 1C และ 1D) แสดงว่าเมื่อมีปริมาณ ROS ทั้งสองเพิ่มมากขึ้น สารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่เป็นสารตั้งต้นของการเกิดสีน้ำตาลจะมีปริมาณลดลง ดังเช่นพบในระหว่างการเกิดเปลือกสีน้ำตาลของผลลำไยพันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 เพิ่มสูงขึ้น (Chomkitichai *et al*., 2014a) และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลลดต่ำลงในระหว่างการเก็บรักษา (Chomkitichai *et al*., 2014b) เช่นเดียวกัน

อย่างไรก็ตาม ปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO น้อยมาก (Figture 1E และ 1F) และไม่พบความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ POD (Figture 1G และ 1H) แสดงว่าการเพิ่มขึ้นของ ROS ในระหว่างการเก็บรักษาไม่สอดคล้องกับการเพิ่มของกิจกรรมของเอนไซม์ โดยผลการศึกษาพบว่าปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 เพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ไม่ได้แสดงข้อมูล) ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ซึ่งเร่งการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา หลังจากนั้นจึงลดลง (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

สรุป

ปริมาณอนุมูลอิสระ $O_2^{\bullet-}$ และ H_2O_2 มีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) กับเปอร์เซ็นต์การเกิดเปลือกสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สำหรับงบประมาณสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุตรดิตถ์ สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Abbasi, N.A., A. Akhtar, A. Hussain and L. Ali. 2013. Effect of anti-browning agents on quality changes of loquat [*Eriobotraya japonica* (Thunb.) Lindley] fruit after harvest. Pakistan Journal of Botany 45: 1391-1396.

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

Chomkitichai, W., B. Faiyue, P. Rachtanapun, J. Uthaibutra and K. Saengnil. 2014b. Enhancement of the antioxidant defense system of post-harvested 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide fumigation. Scientia Horticulturae 178: 138-144.

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

Shao, Y., J. Xie, P. Chen and W. Li. 2012. Changes in some chemical components and in the physiology of rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* L.) as affected by storage temperature and packing material. Fruits 68: 15-24.

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

Sun, J., X. You, L. Li, H. Peng, W. Su, C. Li, Q. He and F. Liao. 2011. Effects of a phospholipase D inhibitor on postharvest enzymatic browning and oxidative stress of litchi fruit. Postharvest Biology and Technology 62: 288-294.

You, Y., Y. Jiang, J. Sun, H. Liu, L. Song and X. Duan. 2012. Effects of short-term anoxia treatment on browning of fresh-cut Chinese water chestnut in relation to antioxidant activity. Food Chemistry 118: 1191-1196.

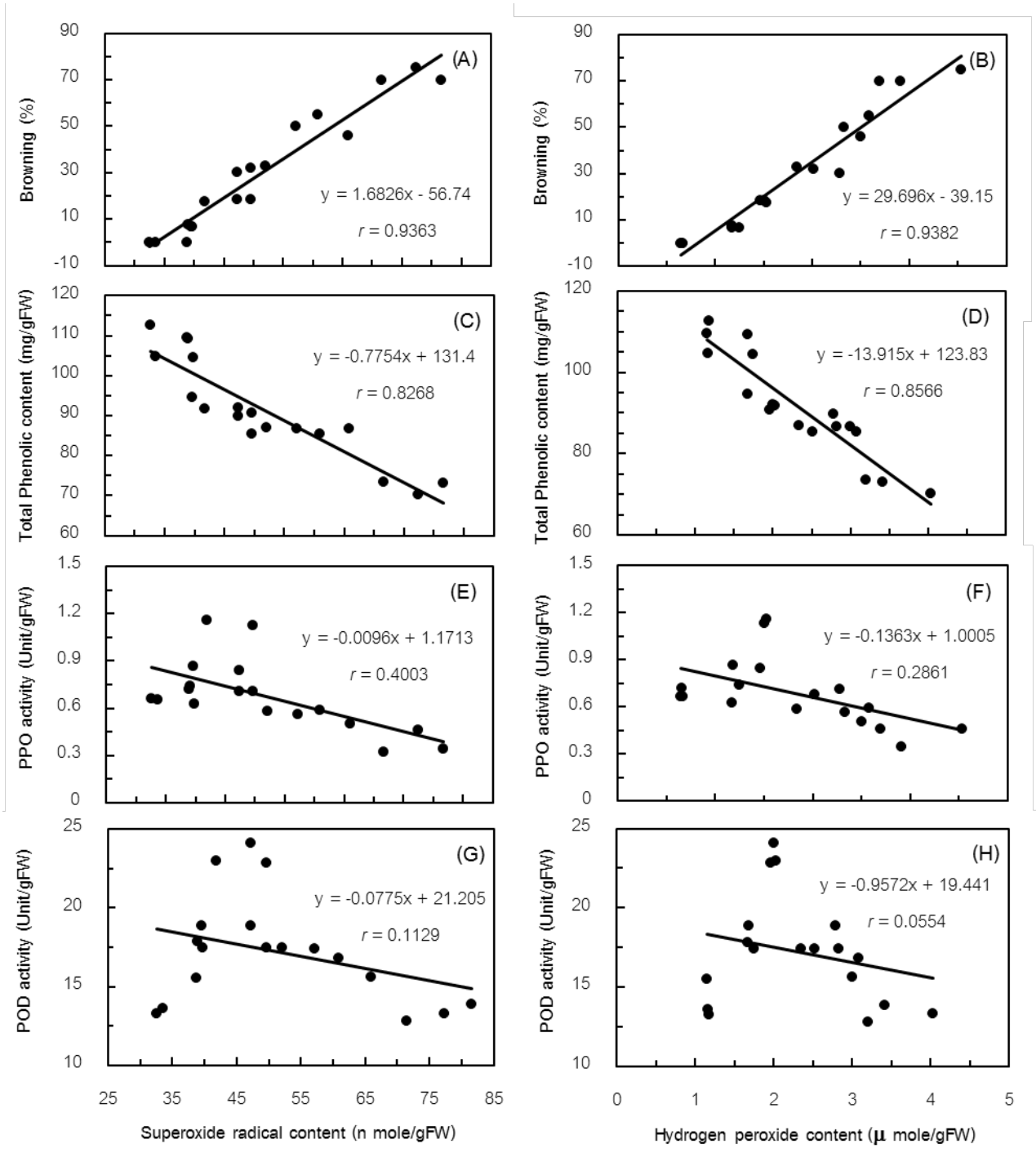

Figure 1 Correlation between ROS content ($O_2^{\bullet-}$ and H_2O_2) and pericarp browning (% browning, total phenolic content, PPO activity and POD activity) of longkong fruits during storage at ambient temperature.