Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 107-110 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 107-110 (2554)

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์ของผลมะละกอพันธุ์แขกดำและเรดมาราดอล ที่ระยะความแก่ต่าง ๆ

Characterization of Cell Wall Modification of "Kaek Dum" and "Red Maradol" Papaya Fruit at Different Stages of Fruit Maturity

วิชชยา ครองยุติ[1,2], **วาริช ศรีละออง**[1,2] **และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์**[1, 2]
Witchaya Krongyut[1,2], Varit Srilaong[1,2] and Sirichai Kanlayanarat[1,2]

Abstract

A comparative investigation on the cell wall change in the pulp of "Kaek Dum" and "Red Maradol" cultivars of papaya (*Carica papaya*) was made at different stages of maturity (green, half-ripe, and ripe). "Kaek Dum" had higher ethylene production and respiration rate at the half-ripe and ripe stages. Firmness decreased as both cultivars matured, but "Kaek Dum" had softer pulp than "Red Maradol". Further, pulp softening developed earlier in "Kaek Dum". Cell wall degradation as indicated by the increase in water soluble pectin (WSP) during ripening correlated well with the decrease in firmness. At the half-ripe and ripe stages, WSP was higher in "Kaek Dum", but galacturonic acid content obtained by EDTA and Na_2CO_3 were higher in "Red Maradol". The results indicated that innate differences in modification of pectin fractions may have caused the variation in softening between the two cultivars. Characterization of the activities of cell wall degradative enzymes will prove to be of merit.

Keywords: papaya, firmness, galacturonic acid, WSP

บทคัดย่อ

การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์ในเนื้อของมะละกอพันธุ์แขกดำและพันธุ์เรดมาราดอล ที่ระยะดิบ ห่าม และสุก พบว่าการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจในพันธุ์แขกดำที่ระยะห่ามและสุก มีค่าสูงกว่าพันธุ์เรดมาราดอล ส่วนความแน่นเนื้อของพันธุ์แขกดำและพันธุ์เรดมาราดอลมีค่าลดลงเมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้น แต่พันธุ์แขกดำมีการอ่อนนุ่มมากกว่าพันธุ์เรดมาราดอล และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของผนังเซลล์ในส่วนของเพกทิน โดยพิจารณาจากปริมาณเพกทินที่ละลายในน้ำ (water soluble pectin) พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นและสัมพันธ์กับความแน่นเนื้อที่ลดลงในมะละกอทั้งสองพันธุ์ โดยในพันธุ์แขกดำมีปริมาณ WSP มากกว่าพันธุ์เรดมาราดอลที่ระยะห่ามและสุก แต่เพกตินที่ละลายใน EDTA และ Na_2CO_3 มีค่าสูงในพันธุ์เรดมาราดอล จากผลที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่แตกต่างกันนี้ เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้มะละกอทั้งสองพันธุ์มีรูปแบบการอ่อนนุ่มแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามจะต้องการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ต่อไป

คำสำคัญ: มะละกอ, ความแน่นเนื้อ, กาแลกทูโรนิกแอสิด, เพกทินที่ละลายในน้ำ

คำนำ

การนิ่มของมะละกอเป็นปัญหาอย่างหนึ่งที่เกิดขึ้นหลังการเก็บเกี่ยว โดยทำให้ผลมะละกอมีอายุการวางจำหน่ายและอายุหลังการเก็บเกี่ยวสั้น ซึ่งการนิ่มเป็นกระบวนการย่อยๆ ของกระบวนการสุกของผลไม้ ซึ่งเกิดจากจากการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและองค์ประกอบต่างๆ ภายในผนังเซลล์ เช่น เพกทิน เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส เป็นต้น โดยเฉพาะเพกทินถือได้ว่าเป็นโครงสร้างที่มีการเปลี่ยนแปลงมากในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว โดยการเปลี่ยนแปลงนี้เป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์หลายชนิด เช่น polygalacturonase (PG), pectinmethylesterase (PME), β-galactosidase (β-gal) เป็นต้น (Manrique and Lajolo, 2004) ดังนั้น เพื่อให้เข้าใจถึงกระบวนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ของผนังเซลล์ ซึ่งนำไปสู่การนิ่มของมะละกอ ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณเพกทินจากผนังเซลล์ของมะละกอพันธุ์แขกดำและ

[1] สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 1014
[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University Thonbury, Bangkok 10140
[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140
[2] Postharvest Technology Innovation Center, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

เรดมาราดอล ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ทราบลักษณะการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์หรือทราบรูปแบบของการสลายตัวของผนังเซลล์ในมะละกอทั้งสองพันธุ์ในระหว่างการสุก และอาจจะมีส่วนช่วยให้เข้าใจบทบาทของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ ซึ่งจะได้ทำการศึกษาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

นำผลมะละกอพันธุ์แขกดำ (ตัวแทนของพันธุ์ที่เนื้อนิ่มเร็ว) และพันธุ์เรดมาราดอล (ตัวแทนของพันธุ์ที่เนื้อนิ่มช้า) ที่มีความสุกประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ คัดเลือกผลที่มีขนาดและรูปร่างใกล้เคียงกันมาทำความสะอาดด้วยน้ำประปา จากนั้นแช่ในสารละลายอิมาซาริลนาน 5 นาที ปล่อยไว้ให้แห้ง นำไปวางในห้องที่อุณหภูมิ (25 ± 2 °C) ความชื้นสัมพันธ์ (70-73 %) แล้วปล่อยให้สุก เพื่อให้ได้ผลตามระยะความสุกต่างๆ คือ ระยะเริ่มสุก (green) ระยะห่าม (half-ripe) และสุก (ripe) แล้วทำการวิเคราะหการผลิตเอทิลีน (Shimadzu Model GC 14A) อัตราการหายใจ (Shimadzu Model GC 8A) ความแน่นเนื้อ (TA-XT2 texture analyzer โดยใช้หัวเจาะขนาด P/2 เส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 5 มิลลิเมตร โดยวัดจำนวน 3 ตำแหน่งต่อผล แล้วบันทึกค่าความแน่นเนื้อที่ได้เป็นหน่วยนิวตัน) หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ผ่านการวิเคราะห์ทางกายภาพไปสกัดเพกทินโดยแบ่งเป็นเพกทินที่ละลายในน้ำ เพกทินที่ละลายใน EDTA และ เพกทินที่ละลายใน Na_2CO_3 ตามวิธีการของ Carrington et al. (1993) และวิเคราะห์ปริมาณเพกทินในแต่ละส่วนที่สกัดได้ตามวิธีการของ Blumenkrantz and Asboe-Hansen (1973)

ผลการทดลอง

จากการวัดการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจที่ระยะต่างๆ ของมะละกอพันธุ์แขกดำและพันธุ์เรดมาราดอล พบว่าการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจของมะละกอพันธุ์แขกดำที่ระยะห่ามและระยะสุก มีค่าสูงกว่าการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจของพันธุ์เรดมาราดอลอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และเมื่อพิจารณาแนวโน้มการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจในมะละกอแต่ละพันธุ์ พบว่าพันธุ์แขกดำมีการผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อความสุกเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่การผลิตก๊าซเอทิลีนและอัตราการหายใจของพันธุ์เรดมาราดอลค่อยๆ เพิ่มขึ้นขึ้นตามระยะความสุกที่มากขึ้น (Figures 1A, B) สำหรับค่าความแน่นเนื้อของมะละกอพันธุ์แขกดำมีค่าต่ำกว่าพันธุ์เรดมาราดอลอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงค่าความแน่นเนื้อของมะละกอที่ความสุกระดับต่างๆ พบว่าค่าความแน่นเนื้อของมะละกอพันธุ์แขกดำลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อความสุกเพิ่มขึ้น ในขณะที่ค่าความแน่นเนื้อของมะละกอพันธุ์เรดมาราดอลลดลงช้ากว่า โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าความแน่นเนื้อของมะละกอในวัยสุกพบว่าพันธุ์เรดมาราดอลมีค่าสูงกว่าพันธุ์แขกดำเกินกว่า 10 นิวตัน ดังนั้นจึงทำให้เนื้อสัมผัสของมะละกอพันธุ์เรดมาราดอลแข็งกว่า (Figure 1C)

ปริมาณของเพกทินที่ละลายในน้ำ (water soluble pectin) (Figure 2A) ในมะละกอพันธุ์แขกดำมีค่ามากกว่าในมะละกอพันธุ์เรดมาราดอลอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P<0.001$) แต่มีปริมาณเพกทินที่ละลายใน EDTA และ Na_2CO_3 น้อยกว่าพันธุ์เรดมาราดอลทั้งที่ระยะห่ามและสุก (Figures 2B, C) และเมื่อพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของเพกทินที่ละลายในน้ำ EDTA และ Na_2CO_3 ในพันธุ์แขกดำพบว่าปริมาณของเพกทินที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นตามการพัฒนาของการสุก โดยมีค่าเพิ่มมากขึ้นที่ระยะสุก ส่วนเพกทินที่ละลายใน EDTA และ Na_2CO_3 มีปริมาณลดลงเมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้น สำหรับพันธุ์ เรดมาราดอลพบว่าเพกทินที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้นไม่มากเมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้น ส่วนเพกทินที่ละลายใน EDTA มีค่าสูงที่ระยะห่ามและลดลงที่ระยะสุก ในขณะที่เพกทินที่ละลายใน Na_2CO_3 มีค่าลดลงเล็กน้อยเมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้น (Figure 3)

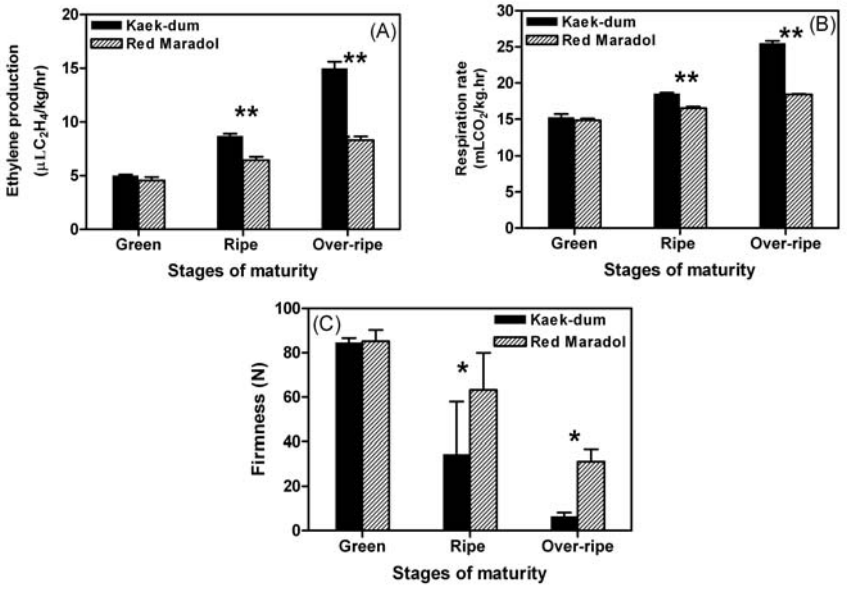

Figure 1 Changes in ethylene production rate (A), respiration rate (B), and flesh firmness (C) of 'Red Maradol' and 'Kaek Dum' papaya fruit harvested at different stages of ripening at room temperature (25 ± 2 °C).

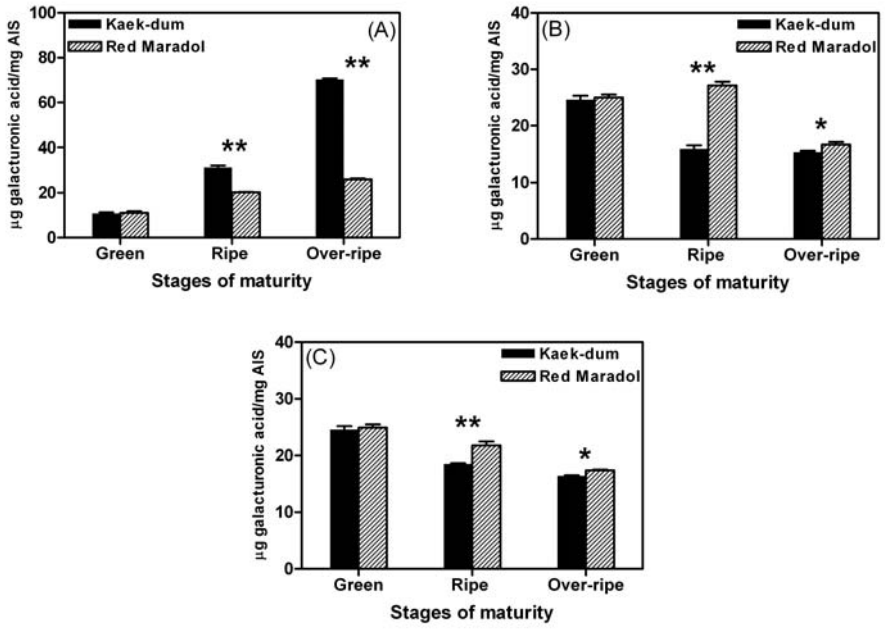

Figure 2 Changes in the levels of galacturonic acid in the three pectin extracts [water (A), EDTA (B), and Na_2CO_3 (C)) of "Red Maradol" and "Kaek Dum" papaya fruits harvested at different stages of ripening at room temperature (25 ± 2 °C).

วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองจะเห็นว่า การผลิตเอทิลีนในมะละกอพันธุ์แขกดำและเรดมาราดอลมีการเพิ่มขึ้นเมื่อความสุกเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการลดลงของความแน่นเนื้อ การเพิ่มขึ้นของเพกทินที่ละลายในน้ำและการลดลงของ EDTA และ Na_2CO_3 ผลนี้อาจแสดงให้เห็นว่า เอทีลีนมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการนิ่มหรือการละลายของเพกทิน (Murayama et al., 2009) แต่การที่อัตราการหายใจเพิ่มขึ้นด้วยนั้น ยังไม่สามารถยืนยันได้ว่ามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างเพกทินหรือไม่ ปริมาณของเพกทินที่ละลายในน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้นในมะละกอพันธุ์แขกดำและมะละกอพันธุ์เรดมาราดอล สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าองค์ประกอบของผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องในระหว่างการสุก และผลนี้สอดคล้องกับผลไม้หลายๆ ชนิด เช่น ทุเรียน (Khurnpoon et al., 2007) มะละกอพันธุ์ Golden (Shiga et al., 2009) เป็นต้น ในขณะที่ เพกทินที่ละลาย

ใน EDTA (ละลายเพกทินที่จับกันด้วยพันธะไอออนิก) และ Na_2CO_3 (ละลายเพกทินที่จับกันด้วยพันธะ โคเวเลนต์) มีค่าลดลงเมื่อความสุกเพิ่มขึ้นในพันธุ์แขกดำและเพกทินที่ละลายใน EDTA ลดลงที่ระยะสุกและ Na_2CO_3 ลดลงไม่มากนักเมื่อมีความสุกเพิ่มขึ้นในพันธุ์เรดมาราดอล สิ่งนี้ชี้ให้เห็นว่าเพกทินถูกย่อยสลายจากในรูปที่ไม่ละลายน้ำเป็นละลายน้ำหรืออาจกล่าวได้ว่าพันธะไอออนิกและพันธะโคเวเลนต์ถูกย่อยสลายหรือแตกหักไปให้อยู่ในรูปที่เกาะกันอย่างรวมๆ ซึ่งการสลายตัวของพันธะเพกทินอาจจะเป็นผลจากเอนไซม์ต่างๆ เช่น PG, PME, β-gal เป็นต้น (Sañudo-Barajas et al., 2009) ดังนั้นการศึกษาต่อไปจะต้องศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์ เพื่อที่จะยืนยันว่าการที่องค์ประกอบของผนังเซลล์ในมะละกอทั้งสองพันธุ์เปลี่ยนแปลงไปเป็นผลจากการทำงานของเอนไซม์เหล่านี้ นอกจากนี้ยังเห็นว่าเพกทินที่ละลายใน EDTA และ Na_2CO_3 ในมะละกอพันธุ์แขกดำมีการลดลงชัดเจนกว่าพันธุ์เรดมาราดอล ซึ่งสิ่งนี้อาจจะเป็นเหตุผลหนึ่งที่ทำให้พันธุ์แขกดำมีการอ่อนนิ่มมากกว่าพันธุ์เรดมาราดอล

สรุป

มะละกอพันธุ์แขกดำและพันธุ์เรดมาราดอลมีรูปแบบการอ่อนนุ่มแตกต่างกัน โดยพันธุ์แขกดำมีการอ่อนนุ่มมากกว่าพันธุ์เรดมาราดอล ทั้งนี้อาจจะเป็นผลจากการที่องค์ประกอบของเพกทินที่ละลายในน้ำ EDTA และ Na_2CO_3 ที่สกัดได้จากผนังเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากในพันธุ์แขกดำ แต่อย่างไรก็ตามจะต้องศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบภายในผนังเซลล์ต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ทุนโครงการเครือข่ายเชิงกลยุทธ์เพื่อการผลิตและพัฒนาอาจารย์ในสถาบันอุดมศึกษาของสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา (สกอ.) และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่สนับสนุนสารเคมีและอุปกรณ์ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Blumenkrantz, M. and G. Asboe-Hansen. 1973. New method for quantitative determination of uronic acids. Anal. Biochem. 54: 484–489.

Carrington, C. M. S., L. C. Greve and J. M. Labavitch. 1993. Cell wall metabolism in ripening Fruit. Plant Physiol. 103: 429-434.

Khurnpoon, L., J. Siriphanich and J.M. Labavitch. 2007. Cell wall metabolism during durian fruit dehiscence. *Postharvest Biology and Technology* 48: 391–401.

Manrique, G. D. and F. M. Lajolo. 2004. Cell-wall polysaccharide modifications during postharvest ripening of papaya fruit (*Carica papaya*). Postharvest Biol. Technol. 33: 11-26.

Murayama, H., M. Arikawa, Y. Sasaki, V. D. Cin, W. Mitsuhashi and T. Toyomasu. 2009. Effect of ethylene treatment on expression of polyuronide-modifying genes and solubilization of polyuronides during ripening in two peach cultivars having different softening characteristics. Postharvest Biol. Technol. 52: 196–201.

Sañudo-Barajas, J. A., J. Labavitch, C. Greveb, T. Osuna-Encisoa, D. Muy-Rangel and J. Siller-Cepeda. 2009. Cell wall disassembly during papaya softening: role of ethylene in changes in composition, pectin-derived oligomers (PDOs) production and wall hydrolases. Postharvest Biol. Technol. 51: 158–167.

Shiga, T. M., J. P. Fabi, J. R. O. D. Nascimento, C. L. D. O. Petkowicz, L. C. Vriesmann, F. M. Lajolo and B. R. Cordenuns. 2009. Changes in cell wall composition associated to the softening of ripening papaya: evidence of extensive solubilization of large molecular mass galactouronides. J. Agric. Food Chem. 57: 7064–7071.