Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 213-216 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 213-216 (2554)

ผลของการใช้ความร้อนร่วมกับ 1-MCP ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีของบรอคโคลี่

Effect of Heat Treatment in Combination with 1-Methylcyclopropene on Physical and Biochemical Changes in Broccoli

ภัทษร สำเนียงดี[1], **ศิริชัย กัลยาณรัตน์**[1,2]**และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย**[1,2]
Patsorn Sumniengdee[1], Sirichai Kanl/Layanarat[1,2]and Panida Boonyaritthongchai[1,2]

Abstract

Heat treatment at 55°C for 10 min induce plant programmed cell death which was studied in several kinds of plant cells such as cucumber, tobacco, and soybean. Broccoli was treated by this typical heat to induce cell death in order to observe the programmed cell death phenomenon. The result showed that heat treatment and then kept at 10°C was delayed in color changes from green to yellow of broccoli. This heat treatment had lower levels of L a b and hue value than control. According to the result, that heat treated broccoli had higher chlorophyll content than control set and respiration rate was lower than control. But the peak of ethylene was found in heat treated broccoli at 12 h after heat treatment. Therefore, the effect of this typical heat level was not caused by cell death phenomenon in broccoli. Moreover, Heat treatment at 55°C for 10 min was able to delay senescence as well. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) is an ethylene inhibitor, which can delay the senescence in many kinds of fruit and vegetables. Broccoli was fumigated with 200 nl/L 1-MCP prior to treatment with 55°C for 10 min. However, using of 1-MCP combined with heat can delay chlorophyll degradation, respiration rate and ethylene production in Broccoli.

Keywords: heat, 1-methylcyclopropene, broccoli

บทคัดย่อ

ความร้อนที่ระดับ 55°C ระยะเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ใช้ในการกระตุ้นให้เกิดการตายแบบโปรแกรม (plant programmed cell death) ในเซลล์พืชหลายชนิด ได้แก่ แตงกวา ยาสูบ และถั่วเหลือง เป็นต้น ในงานวิจัยนี้ ได้นำบรอคโคลี่มาผ่านการให้ความร้อนที่ระดับการกระตุ้นเพื่อให้เกิดการตายแบบโปรแกรมและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในบรอคโคลี่ พบว่า การให้ความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีการชะลอการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง โดยมีค่า L, a, b และค่า hue น้อยกว่าบรอคโคลี่ที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน (ชุดควบคุม) ทั้งนี้พบว่าบรอคโคลี่ที่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าชุดควบคุม และมีอัตราการหายใจต่ำกว่าชุดควบคุม แต่มีการผลิตเอทิลีนสูงในช่วง 12 ชั่วโมงหลังการให้ความร้อน ดังนั้นผลของความร้อนที่ระดับนี้นอกจากไม่ได้กระตุ้นให้บรอค โคลี่เกิดอาการตายแบบโปรแกรมหรือเสื่อมคุณภาพแล้ว ยังสามารถชะลอการเสื่อมคุณภาพของบรอคโคลี่ได้อีกด้วย 1-methylcyclopropene (1-MCP) เป็นสารยับยั้งเอทิลีน สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในผลิตผลหลายชนิด ในการทดลองนำบรอคโคลี่มารมด้วย 1-MCP 200 nl/L ก่อนที่จะนำไปให้ความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาที พบว่า 1-MCP ร่วมกับการใช้ความร้อนสามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์ อัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีนในบรอคโคลี่ได้

คำสำคัญ: ความร้อน, วันเมทิลไซโคลโพรพีน , บรอคโคลี่

คำนำ

รูปแบบการตายของเซลล์พืชแบบโปรแกรม (programmed cell death, PCD) เป็นการตายเมื่อเซลล์นั้นๆได้รับสิ่งกระตุ้นต่างๆ ซึ่งได้แก่ สารเคมี ความร้อน เชื้อจุลินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าทำลายพืช จะส่งผลให้พืชเกิดการตายแบบโปรแกรม เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อลามไปส่วนอื่นๆของพืช (hypersensitive response, HR) (Pennell and

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

Lammb, 1997) ความร้อนจัดเป็นสิ่งเร้าอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายแบบโปรแกรมในเซลล์พืช โดยในการศึกษาวิจัยเรื่องการตายแบบโปรแกรมในเซลล์พืชหลายๆชนิด ได้ใช้อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์พืชแสดงอาการ PCD เพื่อวัตถุประสงค์ ในการศึกษากระบวนการทางชีวเคมีและกลไกการเกิด PCD ในพืช Vacca และคณะ (2004) ใช้ความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที กระตุ้นการตายแบบโปรแกรมในเซลล์ใบยาสูบ TBY-2

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยพบว่า การตายแบบโปรแกรม (PCD) มีความเกี่ยวข้องกับความเสื่อมสภาพ (senescence) ตามธรรมชาติของพืช แต่การศึกษาวิจัยเรื่องการเสื่อมสภาพของผลิตผลทางการเกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยวและการตายแบบโปรแกรม (PCD) ยังมีงานวิจัยน้อย ดังนั้น การศึกษาเรื่องการตายแบบโปรแกรมและการเสื่อมสภาพของผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว จะช่วยให้ทราบถึงกระบวนการและกลไกการเสื่อมสภาพของผลผลิตภายหลังการเก็บเกี่ยว ลักษณะของการเสื่อมสภาพของผักสีเขียว เช่น บรอคโคลี ได้แก่ การสูญเสียคลอโรฟิลล์ และการเกิดสีเหลืองของดอกบรอคโคลี่ ซึ่งอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนที่สูงขึ้น ในการเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ (King และ Morris, 1994) ในปัจจุบัน 1-MCP เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอทีลีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งได้มีการใช้กันในผักและผลไม้หลายชนิด (Watkins, 2006) ในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา การใช้ความร้อน 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นความร้อนในระดับที่กระตุ้นให้เกิดการตายแบบโปรแกรมต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีของบรอคโคลี นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงอิทธิพลของ 1-MCP ร่วมกับความร้อนในระดับข้างต้นต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีในบรอคโคลี

อุปกรณ์และวิธีการ

นำบรอคโคลีพันธุ์ท้อปกรีนจากจังหวัดนครปฐม ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี โดยรถตู้ควบคุมอุณหภูมิ นำมาแบ่งเป็นชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C ชุดการทดลองที่ 2 เก็บที่ 10 °C ชุดการทดลองที่ 3 นำมาให้ความร้อนด้วยไอน้ำร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 4 นำมาให้ความร้อนด้วยไอน้ำร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่ 10 °C

สำหรับการศึกษาผลของ 1-MCP ร่วมกับความร้อนด้วยไอน้ำร้อนที่ 55 °C 10 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงของบรอคโคลี โดยนำบรอคโคลี่มารมด้วย 1-MCP 200 nl/L แล้วนำมาแบ่งชุดการทดลองดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 นำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 2 เก็บรักษาที่ 10 °C ชุดการทดลองที่ 3 นำมาให้ความร้อนด้วยไอน้ำร้อนที่ 55 °C 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 4 ให้ ความร้อนด้วยไอน้ำร้อนที่ 55 °C 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่ 10 °C ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์ การผลิตเอทิลีน และอัตราการหายใจ ทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึง 48 ชั่วโมง

ผลการทดลอง

ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอคโคลี่ทุกชุดการทดลองลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 2A) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอคโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C ลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนบรอคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดอย่างช้าๆ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์มีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีเหลืองของบรอคโคลี

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ (Total chlorophyll) ของบรอคโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L ก่อนที่จะนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C และ 20°C (Figure 2B) ซึ่งพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอคโคลี่ที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมากกว่าบรอคโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C โดยทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องโดยที่บรอคโคลีที่ไม่ได้ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุด

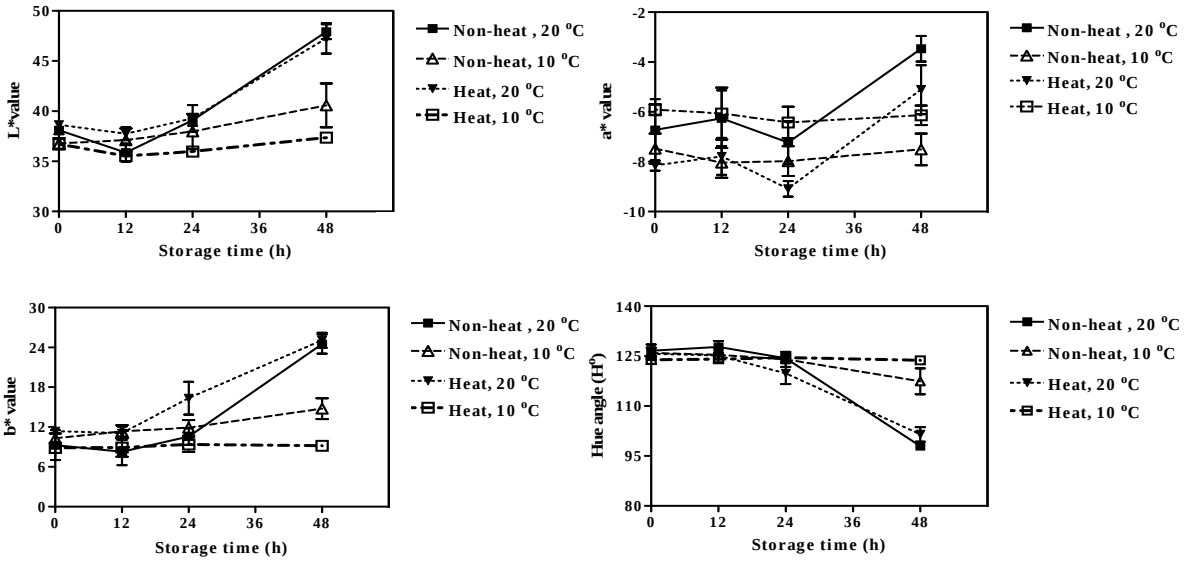

Figure 1 Colour changes (L*, a*, b*, H°) of broccoli treated and non-treated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr.

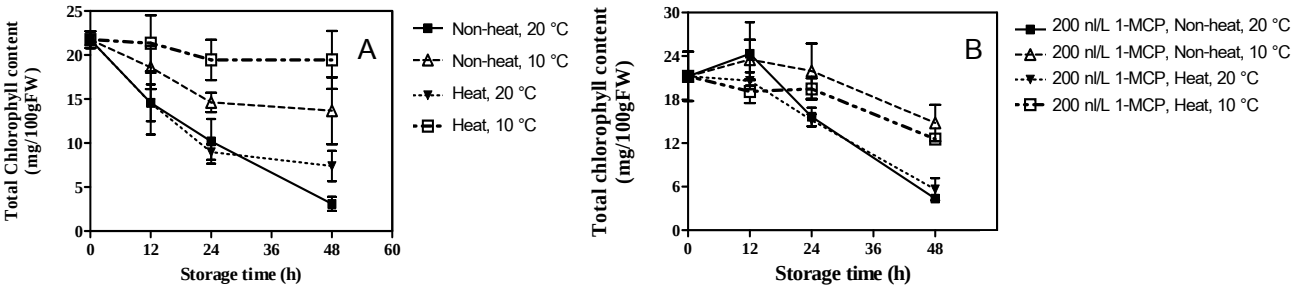

Figure 2 Total chlorophyll content (A) of broccoli treated and non-treated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr. and total chlorophyll content (B) of broccoli treated with 200 nl/L 1- methylcyclopropene (1-MCP) combined with treated and non-treated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr.

อัตราการหายใจของบรอคโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีผลช่วยชะลออัตราการหายใจ (Figure 3A) โดยมีอัตราการหายใจต่ำกว่าบรอคโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C การผลิตเอทิลีนของบรอคโคลี พบว่า บรอคโคลีที่ผ่านความร้อนที่55 °C เป็นเวลา 10 นาที ทั้งที่นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C และ 20 °C มีการผลิตเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 12 และจึงค่อยลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 3B) ในขณะที่บรอคโคลีที่ไม่ได้ผ่านการให้ความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C มีการผลิตเอทิลีนลดลงในชั่วโมงที่ 12 และมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นในชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นค่อยๆลดต่ำลง แต่ยังมากกว่าบรอคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อน จนสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังนั้นการผ่านความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C สามารถชะลอการผลิตเอทิลีนของบรอคโคลีได้ดีที่สุด

การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจของบรอคโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีอัตราการหายใจลดต่ำลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 จนสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 3C) ในขณะที่บรอคโคลีผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 และมีอัตราการหายใจสูงกว่าบรอคโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C สำหรับอัตราการผลิตเอทิลีนของบรอคโคลีหลังจากการรมด้วย 1-MCP 200 nl/L ก่อนที่จะนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C และ 10 °C (Figure 3D) พบว่า บรอคโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L แล้วนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ

20°C มีอัตราการผลิตเอทิลีนสูงกว่าบรอคโคลี่ที่รมด้วย 1-MCP 200 nl/L ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีแล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

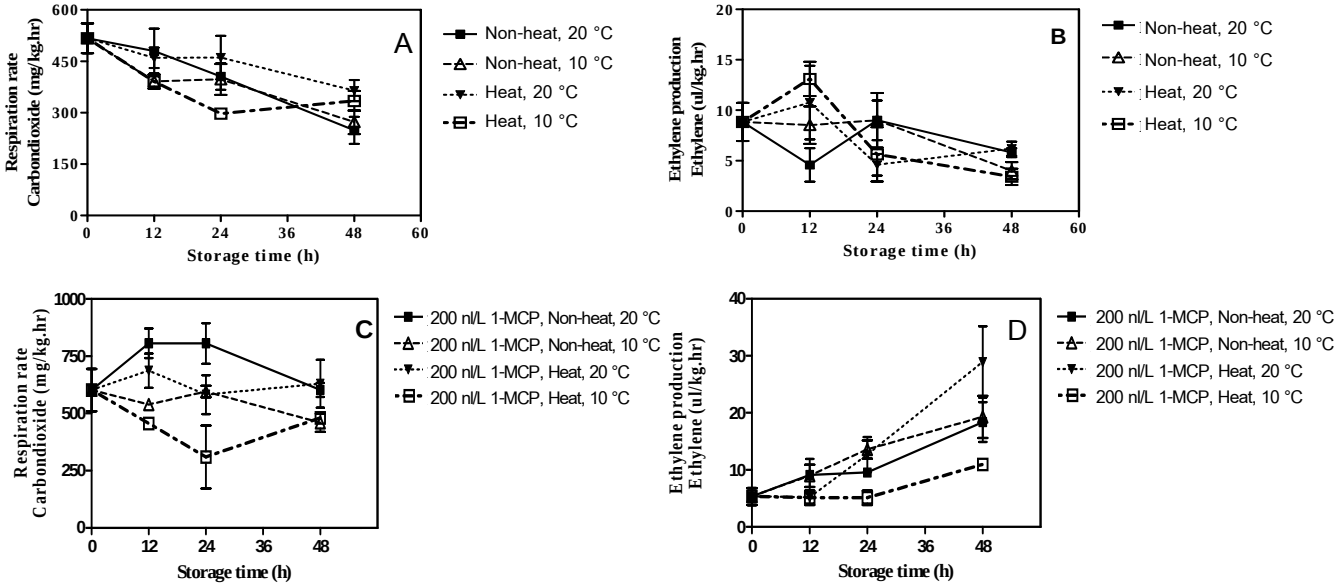

Figure 3 Respiration rate (A) and ethylene production (B) of broccoli treated and non-treated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr. Respiration rate (C) and ethylene production (D) of broccoli treated with 200 nl/L 1- methylcyclopropene (1-MCP) combined with treated and non-treated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr.

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

คลอโรฟิลล์ในบรอคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อน 55°C ระยะเวลา 10 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีปริมาณสูงสุด ในขณะที่รองลงมา ได้แก่ บรอคโคลี่ที่ไม่ได้ให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ในขณะที่บรอคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงเท่ากับบรอคโคลีที่ไม่ได้ให้ความร้อน ซึ่งการให้ความร้อนสามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์และได้ผลดียิ่งขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ โดย Lindquist (1986) รายงานว่า พืชชั้นสูงสามารถทนต่อความร้อน (themotolerance) ในอุณหภูมิสูงได้ การทำ ให้พืชได้รับความเครียด อย่างหนึ่งมีผลไปป้องกันความเครียดอีกอย่างหนึ่งได้ โดยพืชที่ได้รับอุณหภูมิสูงจะมีการชักนำ การแสดงออกโดยการลดการสังเคราะห์โปรตีนทั่วไป แต่ในขณะเดียวกันก็มีการสังเคราะห์กลุ่มโปรตีนพิเศษชื่อ heat shock protein (Hsp) (Lurie และ Klein, 1991) อาจจะเป็นไปได้ว่า Hsp นี้มีผลต่อการช่วยชะลอการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ลง นอกจากนี้ยัง พบว่า การที่ บรอคโคลีมีอัตราการหายใจต่ำ เมื่อได้รับความร้อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความร้อนทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ จากผลการทดลอง 1-MCP ที่ความเข้มข้น 200 nl/L ก่อนที่จะให้ความร้อนและเก็บรักษาดังการทดลองข้างต้น ให้ผลการทดลองไม่ต่างกัน ทั้งนี้ พบว่า การรมด้วย 1-MCP ที่ความเข้มข้น 200 nl/L สามารถลดอัตราการหายใจและอัตราการผลิตเอทิลีนมากกว่าที่ไม่ได้ผ่านการรม

เอกสารอ้างอิง

King, G.A. and S.C. Morris. 1994. Physiological changes of broccoli during early postharvest senescence and through the preharvest-postharvest continuum. *Journal of Amer. Soc. Hort. Sci.* 119: 270-275.

Lindquist, S.1986.The heat shock response. *Annual Review of Biochemistry* 55:115-119.

Lurie, S. and J.D. Klein. 1991. Acquisition of low temperature tolerance in tomatoes by exposure to high temperature stress. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116:1007-1012.

Pennell, R.I. and C. Lamb. 1997. Programmed cell death in plants. *Plant Cell* 9: 1157-1168

Watkins, C.B. 2006. The use of 1-Methylcyclopropene on fruits and Vegetable. *Biotechnology Advance* 24: 389-409

Vacca, R.A., M.C. de Pinto, D. Valenti, S. Passerella, E. Marra and L. De Gara. 2004. Production of reactive oxygen species, alteration of cytosolic ascorbate peroxidase, and impairment of mitochondrial metabolism are early events in heat shock-induced programmed cell death in tobacco Bright-Yellow 2 cells. *Plant Physiol.* 134: 1100–1112.