

การใช้ความร้อนร่วมกับ 1-MCP ต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีของบรอกโคลี

Using Heat Treatment and 1-Methylcyclopropene on Physical and Biochemical Changes of Broccoli

ศิริชัย กัลยานรัตน์^{1,2} และ พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย^{1,2}
Sirichai Kanlayanarat^{1,2} and Panida Boonyaritthongchai^{1,2}

Abstract

A 55°C for 10 min is a typical heat to 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 programmed cell death phenomenon. The results showed that a 55°C for 10 min treated and then kept at 10°C broccoli was delayed in color changes from green to yellow. This treatment had lower levels of L a b and Hue value than non heat treatment (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, in opposite, this heat level was able to delay senescence as well. 1-Methylcyclopropene (1-MCP) is a ethylene inhibitor, which can delay the senescence in many kind of fruits and vegetables. Broccoli was fumigated with 200 nl 1-MCP prior to treated with 55°C for 10 min. However, the using 1-MCP combined with heat could maintain 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 ในงานวิจัยนี้ได้นำบรอกโคลีมาผ่านการให้ความร้อนที่ระดับการกระตุ้นเพื่อให้เกิดการตายแบบโปรแกรมและศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในบรอกโคลีพบว่า บรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีการชะลอการเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง โดยมีค่า L a b และค่า Hue น้อยกว่าบรอกโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน (ชุดควบคุม) ทั้งนี้พบว่าบรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าชุดควบคุม และมีอัตราการหายใจน้อยกว่าชุดควบคุม แต่มีการผลิตเอทิลีนสูงในช่วง 12 ชั่วโมงหลังการให้ความร้อน ดังนั้นผลของความร้อนที่ระดับนี้นอกจากไม่ได้กระตุ้นให้บรอกโคลีเกิดการตายแบบโปรแกรมหรือเสื่อมคุณภาพแล้ว ยังสามารถชะลอการเสื่อมคุณภาพของบรอกโคลีได้อีกด้วย 1-Methylcyclopropene (1-MCP) เป็นสารยับยั้งเอทิลีน สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในผลิตภัณฑ์หลายชนิด ในการทดลองนำบรอกโคลีมารวมด้วย 1-MCP 200 nl ก่อนที่จะนำไปให้ความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาที พบว่า 1-MCP ร่วมกับการใช้ความร้อนสามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์ อัตราการหายใจ และการผลิตเอทิลีนในบรอกโคลีได้

คำสำคัญ: ความร้อน, วันเมธิลไซโครโพรเพน , บรอกโคลี

คำนำ

รูปแบบการตายของเซลล์พืชแบบโปรแกรม (Programmed Cell Death, PCD) เป็นการตายเมื่อเซลล์นั้นๆโดนสิ่งกระตุ้นต่างๆ ได้แก่ สารเคมี ความร้อน เชื้อจุลินทรีย์ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่เข้าทำลายพืช จะส่งผลให้พืชเกิดการตายแบบ โปรแกรม เพื่อป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อลามไปส่วนอื่นๆของพืช (Hypersensitive Response, HR) (Pennell and Lamb, 1997)

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว 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.

ความร้อนจัดเป็นสิ่งกระตุ้นอีกชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดการตายแบบโปรแกรมในเซลล์พืช โดยในการศึกษาวิจัยเรื่องการตายแบบโปรแกรมในเซลล์พืชหลายชนิด ได้ใช้อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที เป็นตัวกระตุ้นให้เซลล์พืชแสดงอาการ PCD เพื่อวัตถุประสงค์ในการศึกษากระบวนการทางชีวเคมีและกลไกการเกิด PCD ในพืช Vacca และคณะ (2004) ใช้ความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที กระตุ้นการตายแบบโปรแกรมในเซลล์ใบยาสูบ TBY-2

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยพบว่า การตายแบบโปรแกรม (PCD) มีความเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ (Senescence) ตามธรรมชาติของพืช แต่การศึกษาวินิจฉัยเรื่องการเสื่อมสภาพของผลผลิตทางการเกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยวและการตายแบบโปรแกรม (PCD) ยังมีงานวิจัยน้อย ดังนั้น การศึกษาเรื่องการตายแบบโปรแกรมและการเสื่อมสภาพของผลผลิตทางการเกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยว จะช่วยให้ทราบถึงกระบวนการและกลไกการเสื่อมสภาพของผลผลิตทางการเกษตรภายหลังการเก็บเกี่ยว ลักษณะของการเสื่อมสภาพของผักสีเขียว เช่น บรอกโคลี ได้แก่ การสูญเสียคลอโรฟิลล์ และการเกิดสีเหลืองของดอกบรอกโคลี ซึ่งอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนที่สูงขึ้น ในการเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพ (King และ Morris, 1994) ในปัจจุบัน 1-MCP เป็นสารเคมีชนิดหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งได้มีการใช้กันในผักและผลไม้หลายชนิด (Weleins, 2006) ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา การใช้ความร้อน 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ซึ่งเป็นความร้อนในระดับที่กระตุ้นให้เกิดการตายแบบโปรแกรมต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีของบรอกโคลี นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงอิทธิพลของ 1-MCP ร่วมกับความร้อนในระดับข้างต้นต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและชีวเคมีในบรอกโคลี

อุปกรณ์และวิธีการ

นำบรอกโคลีพันธุ์ท็อปกรีนจากจังหวัดนครปฐม ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ สาขาวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี โดยรถตู้ควบคุมอุณหภูมิ นำมาแบ่งเป็นชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C ชุดการทดลองที่ 2 เก็บที่ 10 °C ชุดการทดลองที่ 3 นำมาให้ความร้อน 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 4 นำมาให้ความร้อน แล้วเก็บรักษาที่ 10 °C

สำหรับการศึกษาผลของ 1-MCP ร่วมกับความร้อนที่ 55 °C 10 นาที ต่อการเปลี่ยนแปลงของบรอกโคลีทำโดยนำบรอกโคลีมารวมด้วย 1-MCP 200 nl แล้วนำมาแบ่งชุดการทดลองดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 นำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 2 เก็บรักษาที่ 10 °C ชุดการทดลองที่ 3 นำมาให้ความร้อนที่ 55 °C 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่ 20 °C ชุดการทดลองที่ 4 ให้ความร้อนที่ 55 °C 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่ 10 °C ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่าสี ปริมาณคลอโรฟิลล์ การผลิตเอทิลีน และอัตราการหายใจ ทุกๆ 12 ชั่วโมง จนถึง 48 ชั่วโมง

ผลการทดลอง

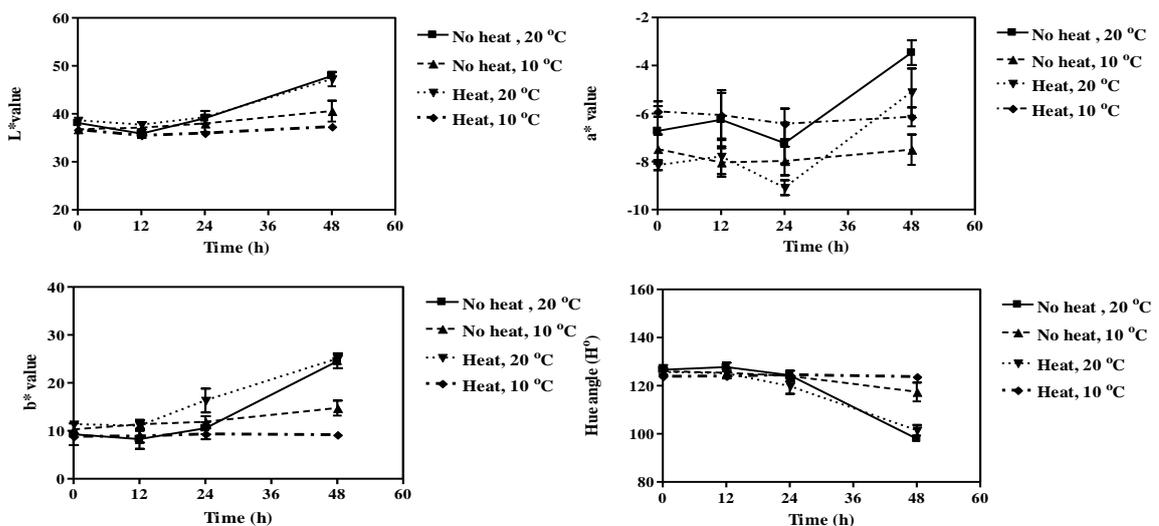


Figure 1. Colour changes (L*, a*, b*, H°) of broccoli treated and untreated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr.

ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอกโคลีที่ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 2A) ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอกโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55 °C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C จะลดลงอย่างรวดเร็วตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ส่วนบรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 °C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C สามารถชะลอการลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์มีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงสีเหลืองของบรอกโคลี

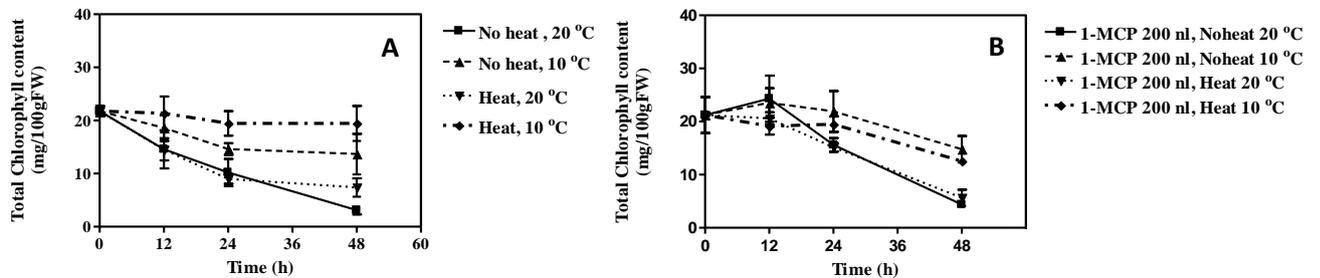


Figure 2 Total chlorophyll content (A) of broccoli treated and untreated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr. and total chlorophyll content (B) of broccoli treated with 200 nl 1- methylcyclopropene (1-MCP) combined with treated and untreated with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

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ (Total chlorophyll) ของบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl ก่อนที่จะนำไปผ่านความร้อนที่ 55 °C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C และ 20 °C (Figure 2B) ซึ่งพบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55 °C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดสูงกว่าบรอกโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55 °C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C โดยทุกชุดทดลองมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องโดยที่บรอกโคลีที่ไม่ได้ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุด

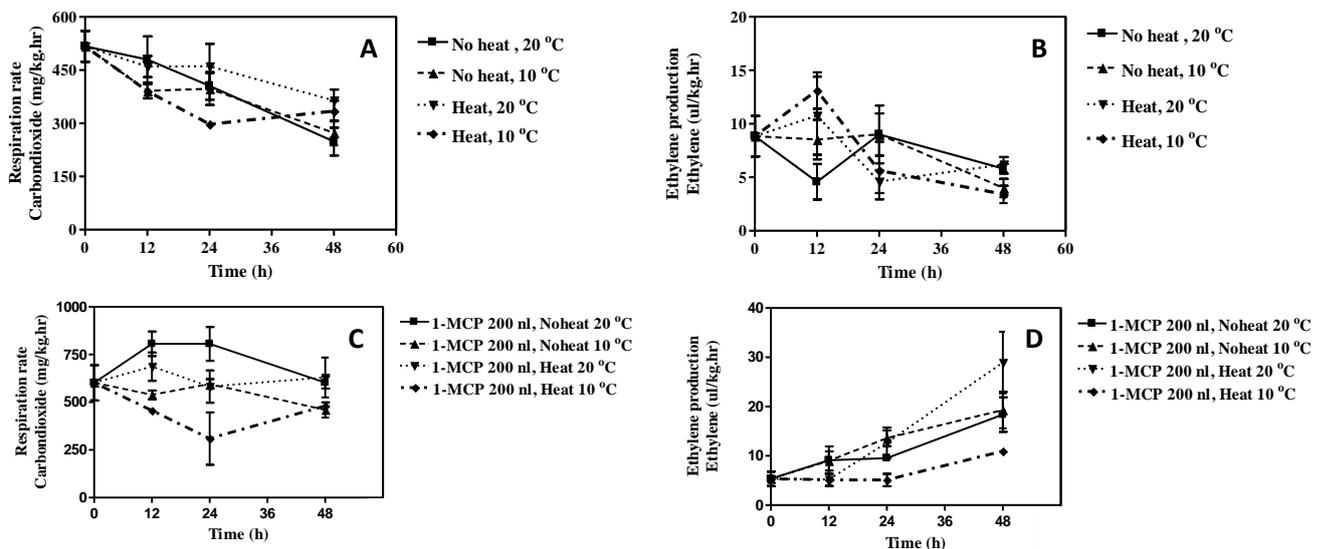


Figure 3 Respiration rate (A) and ethylene production (B) of broccoli treated and untreated with heat treatment at 55 °C for 10 min then stored at 20 °C or 10 °C for 0, 12, 24, 48 hr. Respiration rate (C) and ethylene production (D) of broccoli treated with 200 nl 1- methylcyclopropene (1-MCP) combined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

อัตราการหายใจของบรอกโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C มีผลช่วยชะลออัตราการหายใจ (Figure 3A) โดยมีอัตราการหายใจต่ำกว่าบรอกโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55°C นาน 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C การผลิตเอทิลีนของบรอกโคลี พบว่า บรอกโคลีที่ผ่านความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที ทั้งที่นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C และ 20 °C มีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาที่ 12 และจึงค่อยลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 3B) ในขณะที่บรอกโคลีที่ไม่ได้ผ่านการให้ความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C มีการผลิตเอทิลีนลดลงในช่วงเวลาที่ 12 และมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาที่ 24 หลังจากนั้นค่อยๆลดต่ำลง แต่ยังคงมากกว่าบรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อน จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา ดังนั้นการผ่านความร้อนที่ 55 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °C สามารถชะลอการผลิตเอทิลีนของบรอกโคลีได้ดีที่สุด

การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจของบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีอัตราการหายใจลดลงตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 12 จนถึงสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา (Figure 3C) ในขณะที่บรอกโคลีผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ช่วงเวลาที่ 12 และมีอัตราการหายใจสูงกว่าบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C สำหรับอัตราการผลิตเอทิลีนของบรอกโคลีหลังจากการรมด้วย 1-MCP 200 nl ก่อนที่จะนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านความร้อน หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C และ 10 °C (Figure 3D) พบว่าบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl แล้วนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาที แล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีอัตราการผลิตเอทิลีนสูงกว่าบรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP 200 nl ร่วมกับนำไปผ่านความร้อนที่ 55°C ระยะเวลา 10 นาทีแล้วนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในบรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อน 55°C ระยะเวลา 10 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด ในขณะที่รองลงมา ได้แก่ บรอกโคลีที่ไม่ได้ให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°C ในขณะที่บรอกโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C มีปริมาณคลอโรฟิลล์สูงเท่ากับบรอกโคลีที่ไม่ได้ให้ความร้อน ซึ่งการให้ความร้อนสามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์และจะได้ผลดียิ่งขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ โดย Lindquist (1986) รายงานว่า พืชชั้นสูงสามารถทนต่อความร้อน (thermotolerance) ในอุณหภูมิสูงได้ การทำให้พืชได้รับ stress อย่างหนึ่งมีผลไปป้องกัน stress อีกอย่างหนึ่งได้ โดยพืชที่ได้รับอุณหภูมิสูงจะมีการชักนำ การแสดงออกโดยการลดการสังเคราะห์โปรตีนทั่วไป แต่ในขณะเดียวกันก็มีการสังเคราะห์กลุ่มโปรตีนพิเศษชื่อ Heat shock protein (Hsp) (Lurie และ Klein, 1991) อาจจะเป็นไปได้ว่า Hsp นี้มีผลต่อการชะลอการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ลง นอกจากนี้ยัง พบว่า การที่บรอกโคลีมีอัตราการหายใจต่ำ เมื่อได้รับความร้อน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความร้อนทำให้เกิดการเสื่อมสภาพของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหายใจ จากผลการทดลอง 1-MCP ที่ความเข้มข้น 200 nl ก่อนที่จะให้ความร้อนและเก็บรักษาด้วยการทดลองข้างต้น ให้ผลการทดลองไม่ต่างกัน ทั้งนี้ พบว่า บรอกโคลีที่รมด้วย 1-MCP ที่ความเข้มข้น 200 nl สามารถลดอัตราการหายใจและอัตราการผลิตเอทิลีนมากกว่าบรอกโคลีที่ไม่ได้ผ่านการรม

เอกสารอ้างอิง

- Lindquist, S., 1986, "The heat shock response", *Annual Review of Biochemistry*, Vol.55, pp.115-119
- Lurie, S. and Klein, J.D. , 1991 , "Acquisition of low temperature tolerance in tomatoes by exposure to high temperature stress" , *Journal of the American Society for Horticultural Science* , Vol.116, pp. 1007-1012
- 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, 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 (2004), pp. 1100–1112.