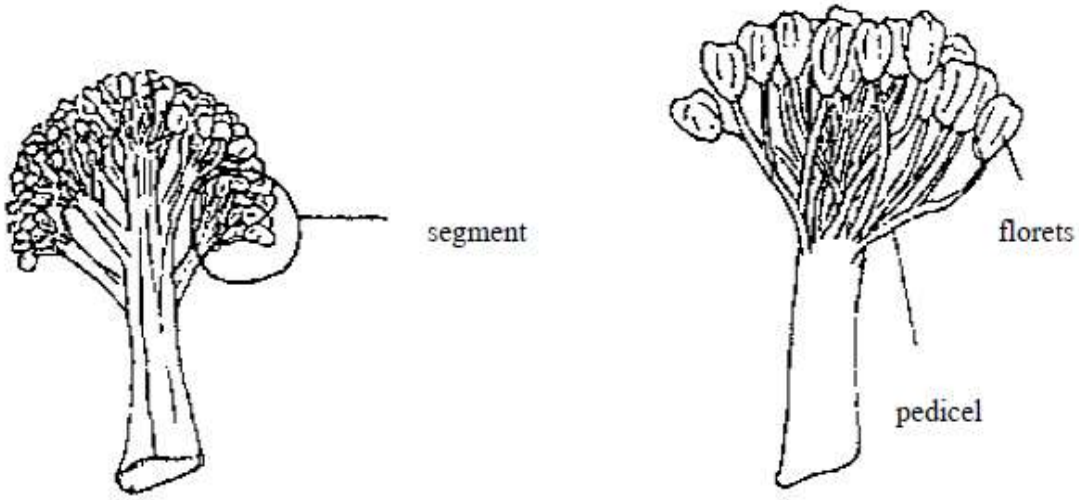
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร

2.1 บร็อคโคลี

บร็อคโคลี หรือกะหล่ำดอกอิตาเลี่ยน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Brassica oleraceae* L. var. Italica (Henzi และคณะ, 1999) อยู่ในตระกูล Cruciferae เป็นพืชผักเมืองหนาวมีถิ่นเดิมอยู่ทางตอนใต้ของยุโรป หรือแถว ๆ ประเทศอิตาลี (สุนทร เรืองเกษม, 2539)

2.1.1 ลักษณะทั่วไปของบร็อคโคลี

บร็อคโคลี เป็นผักที่มีใบกว้างสีเขียวอมเทา ริมขอบใบหยัก ลำต้นใหญ่และอวบ ทรงพุ่มใหญ่เก้งก้าง ดอกอยู่รวมกันเป็นกลุ่มช่อหนาแน่น สีเขียวเข้ม แต่เกาะตัวกันหลวมกว่าดอกกะหล่ำ ดอกมีขนาดใหญ่ เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 16 เซนติเมตร (สุนทร เรืองเกษม, 2539) ดอกบร็อคโคลีประกอบด้วย กลุ่มดอก (segment) ที่มีอายุและการพัฒนาแตกต่างกัน จับกันเป็นกลุ่มรอบแกนกลาง (central stalk) แต่ละกลุ่มประกอบด้วยดอกย่อย (florets) ซึ่งเป็นดอกอ่อน (immature floret) จับกันเป็นกลุ่มรอบก้าน (รูปที่ 1) (Clark และคณะ, 1994)



รูปที่ 1 ลักษณะของบร็อคโคลี
ที่มา : Clark และคณะ (1994)

2.1.2 พันธุ์ของบร็อคโคลี

พันธุ์บร็อคโคลีที่ดี ดอกอ่อนควรมีสีเขียวเข้ม ดอกอยู่รวมกลุ่มกันแน่น อายุการเก็บเกี่ยวสั้น ขนาดดอกเหมาะสมและต้องมีการเจริญเติบโตที่เหมาะสม (อุดม โกสัยสุข, 2535) อายุการเก็บเกี่ยวของบร็อคโคลีขึ้นอยู่กับพันธุ์ บร็อคโคลีมีทั้งพันธุ์หนักและพันธุ์เบา (สุนทร เรืองเกษม, 2539) พันธุ์หนักมีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 86 – 150 วัน ส□วนพันธุ□เบามีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 64 – 85 วัน พันธุ□บร็อคโคลีที่นิยมปลูกในประเทศไทยมักเป□นพันธุ□เบา เช□น

- พันธุ□ท็อปกรีน (Top greens)
- พันธุ□กรีนโคเมทไฮบริด (Green comet hybrid, Takkii)
- พันธุ□กรีนดุก เบอร□ 4 ไฮบริด (Green duke No. 4, hybrid)
- พันธุ□กรีนเบลเล□ไฮบริด (Green bella hybrid, Kyowa)
- พันธุ□เออลี่แวลู ไฮบริด (Early value hybrid, Known you)

พันธุ□บร็อคโคลีที่ดีต□อการเพาะปลูกในประเทศไทยควรมีมาตรฐานดังนี้ (ไฉน ยอดเพชร, 2536)

1. เป□นพันธุ□เบา และมีช□วงการเก็บเกี่ยวสั้น
2. ดอกอ□อนสีเขียวเข□ม และรวมตัวกันแน□น
3. ขนาดดอกสม่ำเสมอ
4. ขนาดดอกประธานใหญ□ประมาณ 10 – 15 เซนติเมตร
5. มีการเจริญเติบโตเร็ว ผลผลิตต□อไร□สูง
6. ไม□แตกแขนงก□อนเก็บเกี่ยวดอกประธาน เพราะจะทำให□ดอกประธานมีขนาดเล็กและช่วงการเก็บเกี่ยวนาน
7. ทนทานต□อโรค

2.1.3 คุณค่□าทางอาหาร

บร็อคโคลี เป□นพืชผักที่มีคุณค□าทางอาหารสูง ในปริมาณ 100 กรัมของส□วนที่บริโภคได□ ประกอบด้วยสารอาหาร แร□ธาตุ และวิตามินอื่น ๆ หลายชนิด ดังตาราง ที่ 1

2.2 การเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บเกี่ยว

การชราภาพของบร็อคโคลีหลังการเก็บเกี่ยว สามารถตรวจสอบได□จากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและโมเลกุล (biochemistry และ molecule) ในดอกของบร็อคโคลี จากการศึกษาการเสื่อมสภาพหลังการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษาบร็อคโคลีที่อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเสื่อมสภาพของบร็อคโคลีได□ โดยมีผลไปชะลอการเปลี่ยนแปลงทางด□านชีวเคมี เช□น ไขมัน โปรตีน และคลอโรฟ□ลล□ (Page และคณะ, 2001) และการแสดงออกของยีนจะปรากฏขึ้นในเนื้อเยื่อพืชก□อนระยะที่จะมีการสังเกตุเห็นความ

เปลี่ยนแปลงภายนอก การเปลี่ยนแปลงในใบส□วนใหญ□คือการสูญเสียกรดไขมันที่เป□นองค□

ตารางที่ 1 องค์ประกอบและคุณค่าทางอาหารในบร็อคโคลี (Calabrese)

ส่วนประกอบ (น้ำหนักสด 100 กรัม)	กรีนบร็อคโคลี่ (Calabrese)
Water (g)	88.2
Total nitrogen (g)	0.71
Protein (g)	4.4
Fat (g)	0.9
Carbohydrate (g)	1.8
Energy value (kJ)	138
Starch (g)	0.1
Total sugars (g)	1.5
Dietary fiber (g)	2.6
Sodium (mg)	8
Potassium (mg)	370
Calcium (mg)	56
Magnesium (mg)	22
Phosphorus (mg)	87
Iron (mg)	1.7
Copper (mg)	0.02
Zing (mg)	0.6
Sulfur (mg)	130
Chloride (mg)	100
Manganese (mg)	0.2
Selenium (μg)	-
Iodine (μg)	2
Carotene (μg)	575
Vitamin D (μg)	0
Vitamin E (mg)	(1.3)[b]
Thiamin (mg)	0.10
Riboflavin (mg)	0.06
Vitamin B6 (mg)	0.14
Vitamin B12 (mg)	0
Folate (μg)	90
Pantothenate (mg)	N
Biotin (μg)	N
Vitamin C (mg)	87

b ประมาณการจากข้อมูลอื่นๆที่เกี่ยวข้อง, N = ยังไม่ได้ทำการวิเคราะห์, - = ไม่มีข้อมูล
ที่มา: Fordham (1993)

ประกอบของเยื่อหุ้มต่างๆ (membrane fatty acid) โดยการเปลี่ยนแปลงที่กล่าวมาข้างต้นนั้นไม่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา lipid peroxidation และรวมถึงการแสดงออกของยีนที่ทำหน้าที่ในการป้องกันการเกิด antioxidant ที่เพิ่มขึ้น เป็นการบ่งชี้ให้เห็นว่า ในระยะเริ่มต้นของการเสื่อมสภาพหลังการเก็บเกี่ยว มีการนำเอาไขมันไปใช้เป็นแหล่งพลังงาน ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า การเสื่อมสภาพของบร็อคโคลีเป็นผลมาจากการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์หลายๆ อย่างรวมกัน คือ กาลดลงของการสังเคราะห์แสง การย่อยสลายของเยื่อหุ้มเซลล์ และสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิกและไขมัน การสูญเสียคลอโรฟิลล์ และเมทาบอลิซึมของธาตุอาหารในส่วนของพืชที่มีการพัฒนาตัวเอง (Smart, 1994; Buchanan-Wollaston, 1997)

พืชผักที่มีการเก็บเกี่ยวในขณะที่ยังไม่แก่จัด หรือยังไม่หยุดการเจริญเติบโต มักเกิดความเครียดขึ้นเนื่องจากการขาดพลังงานอย่างกระทันหัน ขาดธาตุอาหาร ขาดฮอร์โมนที่เคยได้รับจากต้นแม่ (Huber, 1987; King และคณะ, 1990) เช่น หน่อไม้ฝรั่งและบร็อคโคลี มีการเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็วและมีอายุการวางจำหน่ายสั้นมาก โดยจะเห็นได้จากความผิดปกติทางสรีรวิทยา ชีวเคมี และโมเลกุล เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว

ในบร็อคโคลี 1 หัว จะประกอบด้วยดอกเล็กๆ หลายร้อยดอก ที่อัดตัวกันอยู่ ดอกย่อยเล็กๆ แต่ละดอกมีความอ่อนแก่ไม่เท่ากัน ในกลีบดอกที่ยังอ่อนพบว่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์สูง และเมื่อมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในกลีบดอกจะทำให้กลีบดอกเกิดการเหลือง (yellowing) อย่างรวดเร็ว ในระหว่างการเก็บรักษา (Tain และคณะ, 1994; Pogson และคณะ, 1995) งานวิจัยหลายชิ้นหาวิธีในการยืดอายุการวางจำหน่ายและชะลอการเสื่อมสภาพของบร็อคโคลี แต่ละวิธีการก็มีความแตกต่างกันออกไป เช่น การเก็บรักษาในสภาพบรรยากาศดัดแปลง (modified atmosphere, MA) (Makhlouf และคณะ, 1989; Zhuang และคณะ, 1994) ชนิดของภาชนะบรรจุที่แตกต่างกัน (Zhuang และคณะ, 1994; Toivonen, 1997) การใช้สารเคมีและไซโตไคนิน (Wang, 1977b; Rushing, 1990; Downs และคณะ, 1997) และการใช้ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Gillies และ Toivonen, 1995) ซึ่งต่างก็ประสบผลสำเร็จระดับหนึ่ง

King และ Morris (1994) ศึกษาเกี่ยวกับการเสื่อมสภาพ ของบร็อคโคลีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หลังจากการเก็บเกี่ยว พบว□าการผลิตคาร□บอนไดออกไซด์ในส□วนของหัว ดอก ก้านย่อยของบร็อคโคลี 3 สายพันธุ์□คือ Green Beauty, Dominator และ Shogun ลดลงอย่□างชัดเจนในช่□วง 12 ชั่วโมงแรก ก่□อนที่จะคงที่ และมีอายุการวางจำหน่□ายได้□ยาวนานถึง 72 ชั่วโมง จากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Tian และคณะ (1994) รายงานว□าโครงสร้□างสืบพันธุ์□ของบร็อคโคลีในส่วนของเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย มีอิทธิพลต่ออัตราการสูญเสียสีเขียวของกลีบดอก ถ้□าตัดเกสรตัวผู้□และเกสรตัวเมียออกจากดอกสามารถช่วยลดการเหลืองของดอกได้ และผลจากการให้□สาร Propylene จะกระตุ้นกระบวนการหายใจและการผลิตเอทิลีนมีผลทำให้□ดอกบร็อคโคลีเปลี่ยนเป็□นสีเหลือง

Page และคณะ (2001) ทำการเก็บรักษาบร็อคโคลีในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการสกัดสารชีวโมเลกุลชนิดต่□างๆ มาทำการวิเคราะห์□การเปลี่ยนแปลงของไขมัน, คลอโรฟิ□ลล์□ แลโปรตีน พบว่าบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ยังคงสังเกตเห็นสีเขียวได้□ถึงวันที่ 3 หลังจากนั้นเกิดอาการเหลืองอย่□างรวดเร็วระหว่างวันที่ 4 ถึง 5 โดยในวันที่ 5 ดอก บร็อคโคลีเกิดอาการเหลืองทั้งหมด และหลังจากเก็บรักษาไว้□ได้□ 6 วัน ปริมาณคลอโรฟิลล์□และโปรตีนจะมีการเปลี่ยนแปลงอย□างรวดเร็ว ซึ่งมีความสอดคล้□องกับการรายงานของ Zhuang และคณะ (1997)

กระบวนการชราภาพของบร็อคโคลีภายหลังการเก็บเกี่ยว มีความคล□ายคลึงกับการชราภาพของพืชทั่วไป การสลายตัวของคลอโรฟิลล์□เป็□นการเปลี่ยนแปลงที่สามารถสังเกตเห็นได้ชัดเจนที่สุด และมักเกิดขึ้นพร้□อมๆ กันกับการสูญเสียไขมันและโปรตีนที่เป็□นองค์□ประกอบของเยื่อหุ้□มต่□างๆ และท้□ายที่สุดส่□งผลทำให□เซลล์□พืชตาย กระบวนการหลักที่มีบทบาทสำคัญต่□อการชราภาพของใบในระหว่างที่มีการพัฒนาคือ มีการเคลื่อนย้□ายธาตุอาหารจากใบไปสู่□ส่□วนต่างๆ ของพืช อย่□างไรก็ตามใน บร็อคโคลีหลังการเก็บเกี่ยวการเสื่อมสภาพอาจเกิดขึ้นจากความเครียดที่ถูกตัดจากต้น มีผลทำให้□บร็อคโคลีขาดธาตุอาหารและฮอร์□โมนพืชที่เคยได้□รับจากต้□นอย□างกระทันหัน ดังนั้นรูปแบบการแสดงออกของยีนที่เกิดขึ้นจึงอาจมีความแตกต่างจากที่พบในกระบวนการชราภาพและพัฒนาที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ และความเครียดที่เกิดขึ้นจากการเก็บเกี่ยวบร็อคโคลีที่ยังไม่□แก่□จัดพบว่□ามีความสอดคล□องกับอาการที่เกิดขึ้นกับใบที่มีการเด็ดมาจากต้□น งาทดลองก่อนหน้□านี้ได้□มีการศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนในใบพืชที่มีการเด็ดออกจากต้น พบว□ารูปแบบกาแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข□องกับการชราภาพของใบมีความแตกต่□างกันมากกับใบที่ไม่□ได้□เด็ดจากต้□น (Becker และ Apel, 1993; Weaver และคณะ, 1998)

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณวิตามินซี

วิตามินซี (ascorbic acid) โดยธรรมชาติของวิตามินซีเป็น L – ascorbic acid และมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 176 (สมทรง เลขะกุล, 2543) วิตามินซีเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่งที่สามารถบ่งชี้คุณภาพของผักและผลไม้สดได้โดยผักและผลไม้สดที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ๆ ที่มีการจัดการที่ดีมีปริมาณวิตามินซีสูง ส่วนผักและผลไม้ที่เก็บเกี่ยวมาเป็นเวลานานหรือการจัดการที่ไม่ดีมีปริมาณวิตามินซีอยู่ (Horemans และคณะ, 2000) วิตามินซีส่วนใหญ่พบมากในพืช ในสัตว์มีน้อยมากยกเว้นที่ไต (สมทรง เลขะกุล, 2543) โดยพบในส่วนต่างๆ ของเซลล์พืช เช่น cytosol, chloroplast, vacuoles, mitochondria และ extracellular matrix

ปริมาณคลอโรฟิลล์ในพืชสีเขียวสามารถใช้เป็นตัวบ่งบอกปริมาณวิตามินซีได้ วิตามินซีเป็น antioxidant ทั้งในพืชและสัตว์มีหน้าที่ในการไปจับกับอนุมูลอิสระ (Scavenger free radical) หลายชนิด อนุมูลอิสระหรือออกซิเจนอิสระที่เกิดขึ้นเป็นตัวกลางทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุลในเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ตลอดจนในเนื้อเยื่อของสิ่งมีชีวิต ทำให้เกิดความผิดปกติต่าง ๆ รวมทั้งการชราภาพ (aging) ในสิ่งมีชีวิตที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ โดยกรดแอสคอรบิคถูก oxidize ไปเป็น dehydroascorbate และเป็น ascorbate free radical ที่เรียกว่า monodehydroascorbic acid สารตัวนี้แม้เป็น free radical แต่ไม่เป็นอันตรายต่อเซลล์เพราะจะทำหน้าที่เป็น antioxidant ที่จะไปช่วยทำลาย free radical ที่เกิดจากออกซิเจน (สมทรง เลขะกุล, 2543)

2.2.2 การเปลี่ยนแปลงคลอโรฟิลล์

โมเลกุลของคลอโรฟิลล์ถูกสร้างและสลายตัวอยู่ตลอดเวลา โดยเฉพาะในระหว่างการเสื่อมสภาพ การสลายตัวของคลอโรฟิลล์เกินมากกว่าการสร้าง ทำให้คลอโรฟิลล์หมดไป (จริงแท้ ศิริพานิช, 2544) กลไกการสลายตัวของคลอโรฟิลล์อาจเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาดังต่อไปนี้เพียงปฏิกิริยาเดียวหรือร่วมกัน (Eskin, 1979)

1. การแทนที่ของ H–atom ตรง Mg–atom เกิดโมเลกุลของ pheophytin

2. การทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลเลส (chlorophyllase) โดยการแยกส่วนหัวและส่วนหางของ chlorophyll ออกจากกัน (ดังแสดงในสมการด้านล่าง) จากนั้น H – atom จะเข้าไปแทนที่ Mg – atom เกิดเป็นโมเลกุลของ pheophorbide

$$\text{Chlorophyll} + H_2O \xrightarrow{\text{chlorophyllase}} \text{Chlorophylide} + \text{phytol}$$

3. เกิดปฏิกิริยา oxidation โมเลกุลของคลอโรฟ□ลล□ทำให□ได□สารประกอบที่ปราศจากสี

การเปลี่ยนแปลงอีกหลายประการที่สามารถใช้เป็□นดัชนีในการบ□งบอกคุณภาพของบร็อคโคลีหลังการเก็บเกี่ยวคือ การเหลืองของดอก เนื่องมาจากการสูญเสียคลอโรฟี□ลล์□โดยกระบวนการต่างๆ ภายในพืช เช่□น กระบวนการหายใจจะมีการดึงเอาพลังงานที่มีการเก็บสะสมอยู่□ไปใช้□ ทำให้อาหารสะสมภายในพืชลดลง (Potters และคณะ, 2002)

2.2.3 อัตราการหายใจ

บร็อคโคลีจัดอยู่□ในกลุ่□มพืชผักที่มีอัตราการหายใจสูงมาก คือ สู่งกว่□า 60 mgCO2/kg.hr ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส (Kader, 1985) ในสภาพบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อัตราการหายใจของ บร็อคโคลีเพิ่มสูงขึ้นระหว่□างการเสื่อมสภาพและสูงสุดในวันที่ 2 หลังจากนั้นอัตราการหายใจจึงลดลง (Makhlouf และคณะ, 1989) บร็อคโคลีทุกสายพันธุ□มีรูปแบบการหายใจและการผลิตเอทิลีนแบบ nonclimacteric โดยมีการผลิตเอทิลีนและคาร์บอนไดออกไซด์□เพิ่มสูงขึ้นพร□อมกับการเหลืองของเนื้อเยื่อ (Rushing, 1990)

2.2.4 อัตราการผลิตเอทิลีน

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่□าเอทิลีนทำงานหรือแสดงอิทธิพลต่างๆ ผ่□านตัวกลางหรือตัวรับ เอทิลีน (receptor) (จริงแท้□ ศิริพานิช, 2544; Adams และ Yang, 1997) โดยเอทิลีนจับตัวกับโมเลกุลของตัวรับซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่ง มีอะตอมของโลหะบางชนิดเป็นองค์□ประกอบ เชื่อกันว่□า คือ ทองแดง แม้□ว่□าไม่□มีหลักฐานยืนยันแน่□นอน จากนั้นโมเลกุลดังกล่□าวจึงส่□งผลให้□เกิดการเปลี่ยนแปลง ต่□างๆ ทางสรีรวิทยาของพืช (Yang, 1985) เอทิลีนมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเหลืองของดอกบร็อคโคลี (King และ Morris, 1994) สามารถเร่□งการเหลืองของดอกบร็อคโคลีโดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูงกว่□า 4.5 องศาเซลเซียส (Salunkhe, 1976) Tian และคณะ (1994) ได้□ศึกษาถึงบทบาทของเอทิลีนต่□อการเหลืองของดอกบร็อคโคลี พบว□าเอทิลีนมีผลเร่□งการเหลืองของดอกบร็อคโคลีโดยทำให้เนื้อเยื่อมีการตอบสนองต่อเอทิลีนมากกว่าการกระตุ้นให้□เนื้อเยื่อมีการผลิตเอทิลีนสูงขึ้น

2.3 อิทธิพลของเอทิลีนต□อผลิตผลหลังการเก็บเกี่ยว (จริงแท□ ศิริพานิช, 2544)

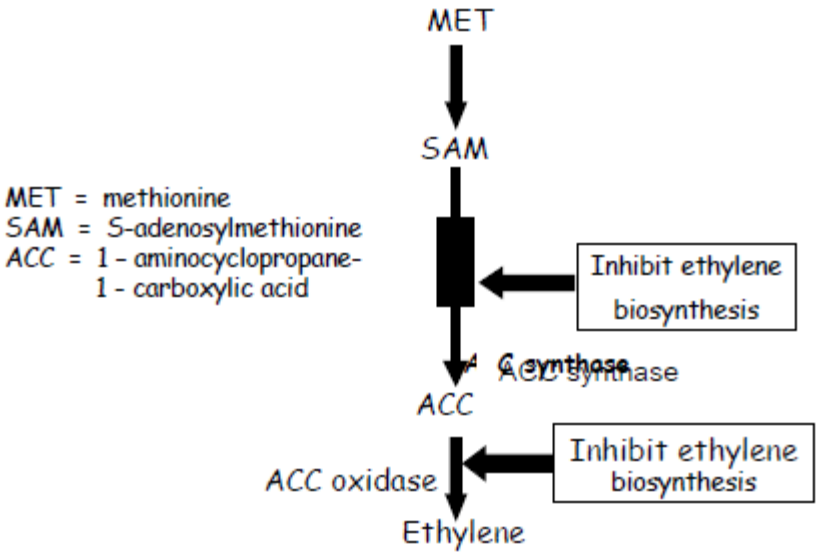
- ช่วยเร่□งให้□เกิดการสุกและการอ่□อนนิ่มของผลไม้พวก climacteric ในระหว่□างการเก็บ

รักษาและการขนส่□ง

- เร่งให้□เกิดการสลายตัวของสีเขียว (degreening) และการนิ่มของผลไม□พวก non–climacteric ในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส□ง
- เร่□งให□เกิดการชราภาพและการสูญเสียสีเขียวของผักพร□อมบริโภค (fresh cut)
- เร่งให้□เกิดการอ่□อนตัวของผักภายหลังการเก็บเกี่ยว
- ทำให้เกิดอาการ russet spotting ในผักกาดหอม
- ทำให้เกิดการหลุดร่วงของใบ
- เกิดอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาในผลไม□และพืชหัว (bulbs)
- เร่□งให้□เกิดการชราภาพในไม□ตัดดอก
- ทำให้เกิดการร่□วงของใบและกลีบดอกในไม้□กระถาง (potted plants)

2.3.1 กระบวนการสังเคราะห□เอทิลีน

พบว่□ากระบวนการสังเคราะห□ของเอทิลีนประกอบด้□วยขั้นตอนดังต่□อไปนี้



รูปที่ 2 กระบวนการสังเคราะห์ของเอทิลีน

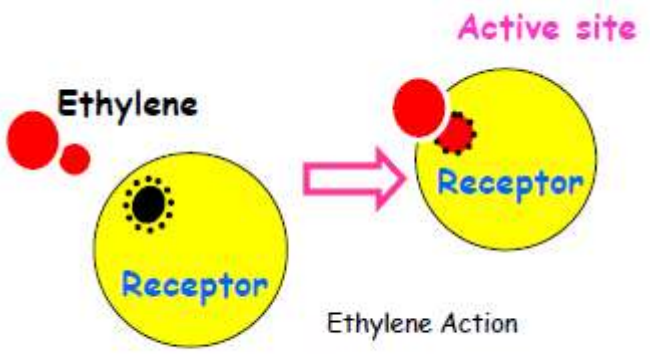
ที่มา: Yang (1985)

ขั้นตอนแรก methionine ถูกเปลี่ยนไปเป็□น S - adenosyl methionine (SAM) ทั้ง methionine และ SAM นี้อาจถูกใช□ไปในการสังเคราะห์□โปรตีนบางอย่าง แต่□ SAM ถูกใช้ในการสังเคราะห์□คลอโรฟี□ลล์□ ลิกนิน และเพกทินด้□วย ในลำดับต่อมา SAM ถูกเปลี่ยนเป็น 1-

aminocyclopropane - 1 - carboxylic acid (ACC) ด้วยกิจกรรมเอนไซม์ ACC synthase และ ACC ถูกเปลี่ยนเป็นเอทิลีนโดยเอนไซม์ ethylene forming enzymes (EFE) หรือ ACC oxidase ซึ่งมีอยู่มากในเนื้อเยื่อพืชทั่วไป ปัจจุบันเอนไซม์นี้สามารถสกัดแยกออกมาจากเซลล์ได้ และคาดว่าอาจเชื่อมติดอยู่กับเมมเบรน ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม membrane bound enzyme นอกจากนี้ ACC อาจถูกเปลี่ยนไปเป็น malonyl ACC (MACC) ซึ่งค่อนข้างเสถียร สำหรับแหล่งที่เอทิลีนถูกผลิตขึ้นนั้นยังไม่เป็นที่ทราบกันแน่ชัด แต่เป็นไปได้ว่าการสังเคราะห์เอทิลีนอาจเกิดขึ้นที่บริเวณ plasma membrane (สายชล เกตุษา, 2528)

2.3.2 การทำงานของเอทิลีน

เอทิลีนทำงานหรือแสดงอิทธิพลโดยผ่านตัวกลางหรือตัวรับเอทิลีน (receptor) เอทิลีนจับตัวกับโมเลกุลของตัวรับซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งอย่างเฉพาะเจาะจงในเนื้อเยื่อเป้าหมาย การจับกันไปกระตุ้นปฏิกิริยาให้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นลำดับติดต่อกันไป ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาขึ้น ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 กลไกการจับกันระหว่างเอทิลีนกับตัวรับเอทิลีน (receptor)
ที่มา: Rohm and Hass Co. Ltd. (1999)

ตัวรับเอทิลีนทำงานผ่านหมู่โลหะซึ่งทำให้เกิดความสามารถในการตอบสนองต่อเอทิลีนภายในพืชขึ้น มีรายงานว่าเอทิลีนจะจับกับตัวรับซึ่งเป็นโปรตีนที่มีอะตอมของโลหะทองแดงเป็นองค์ประกอบและมีการจับตัวอยู่ที่เมมเบรนของเซลล์พืช (Burg และ Burg, 1967)ในผลไม้ประเภท climacteric การผลิตเอทิลีนจัดได้เป็น 2 ระบบคือ systemI และ systemII โดย systemI คือการสร้างเอทิลีนตามปกติที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อทั่วๆไป ส่วน systemII จะเกิดขึ้นเมื่อ ACC synthase และ Ethylene forming enzyme (EFE) ถูกกระตุ้นขึ้นโดยเอทิลีนเอง ซึ่งเรียกการผลิตเอทิลีนแบบนี้ว่า autocatalytic

2.3.3 การควบคุมการตอบสนองต่อเอทิลีนของพืช

1. การเก็บไว□ที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิต่ำ มีผลทำให้□กระบวนการเมทาลิซึมของผลไม้□เกิดช้□าลง ทำให้□อัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนลดลง

2. การเก็บรักษาในสภาพบรรยากาศควบคุม โดยเฉพาะในสภาพที่มี คาร์□บอนไดออกไซด์□สูง และ ออกซิเจนต่ำ สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีนได้ เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์□สามารถจับบริเวณ active site ของตัวรับเอทิลีนได□ทำให้□เอทิลีนทำงานได้□น้□อยลง

3. การเก็บรักษาในสภาพความดันบรรยากาศต่ำ ความดันบรรยากาศต่ำรอบ ๆ ผลไม□สามารถเร่งการแพร□กระจายของก๊□าซจากภายในผลสู□งภายนอกได้□เร็วขึ้น ทำให้□ความเข้□มข้นของเอทิลีนภายในเนื้อเยื่อผลไม□ลดลง

4. การใช้□สารเคมีในการควบคุมเอทิลีน ปั□จจุบันได้□มีการแบ่□งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่□ ๆ ดังนี้คือ

4.1 สารเคมีที่ใช้□ในการยับยั้งการสังเคราะห์□เอทิลีน ได้□แก่□ aminoethoxyvinylglycine (AVG) และ aminooxy acetic acid (AOA) การพ่น AVG ก่□อนการเก็บเกี่ยวแอปเปิลสามารถชะลอการสุกได้□ (Bramlage และคณะ, 1980) นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการสุกของสาลี่ (Romani และคณะ, 1982) การยับยั้งดังกล่□าวเป็□นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์□ ACC synthase ทำให้□ SAM ไม่□สามารถเปลี่ยนไปเป็น ACC ได้□ นอกจากนั้นการใช้□โคบอลท์□ (CO2+) สามารถยับยั้งการสังเคราะห์□ เอทิลีนได้□โดยยับยั้งการเปลี่ยน ACC ไปเป็□นเอทิลีน (Yang และ Hoffman, 1984)

4.2 สารเคมีที่ใช้□ในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีน การใช้□สารเคมีในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนมีคุณสมบัติที่ดีกว่□าสารเคมีที่อยู่□ในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห□เอทิลีน เนื่องจากพืชมีการตอบสนองต□อเอทิลีนได้ทั้งจากแหล่□งภายในและภายนอก (Abeles และคณะ, 1992) ดังนั้นการควบคุม เอทิลีนในขั้นตอนการสังเคราะห์จึงมีข้□อจำกัดเนื่องจากผลิตผลอาจได้□รับเอทิลีนจากแหล่□งภายนอก (Feng และคณะ, 2000) ด้วยเหตุนี้การใช้□ตัวยับยั้งการทำงานของเอทิลีนจึงมีความเหมาะสมหรือมีคุณสมบัติที่ดีกว่าเมื่อนำมาใช้□กับผลิตผลทางการเกษตร เนื่องจากตัวยับยั้งดังกล่□าวจะสามารถป้องกันและต่อต้□าน เอทิลีนได้ Serek และคณะ (1994) รายงานว่าสารประกอบที่ใช้□ในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนมีหลายชนิดได้□แก่□

1) Silver thiosulphte (STS) จัดเป็□นตัวยับยั้งที่มีประสิทธิภาพ แต่□ข้อจำกัดของการใช้□silver คือ ทำให้□เกิดของเสียที่กำจัดยากและสามารถสร้□างมลภาวะให้กับสิ่งแวดล้□อมได้

2) สารประกอบ 2,5- nonbornadiene มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนได้□ดี แต่□ข้□อเสียคือ มีกลิ่นฉุนรุนแรง มีคุณสมบัติในการกัดกร่อน จึงไม่□เหมาะสมที่จะนำมาใช้กับผลิตผลทางการเกษตรมากนัก

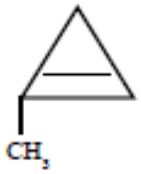
3) Diaro derivative (DACP) สามารถจับกับตัวรับเอทิลีนได้ แต่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการทำงานของเอทิลีนต่ำ และมีข้อจำกัดคือเมื่อใช้ที่ความเข้มข้นสูงอาจเกิดการระเบิดได้

การใช้ตัวยับยั้งการทำงานของเอทิลีนดังกล่าวอาจไม่เหมาะแก่การนำมาใช้ ด้วยเหตุผลหรือข้อจำกัดหลายประการ ดังนั้นจึงได้มีความพยายามที่จะหาสารใหม่ทดแทน ซึ่งเมื่อไม่นานมานี้ได้มีการค้นพบสารประกอบ 1- methycyclopropene (1- MCP) เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเอทิลีนโดยสามารถจับกับตัวรับเอทิลีน ทำให้สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีนได้ นอกจากนั้นสารดังกล่าวยังมีคุณสมบัติที่ดีในการนำมาใช้กับผลิตผลทางการเกษตร เนื่องจากเป็นสารประกอบที่ไม่มีกลิ่น ไม่เป็นพิษ และมีประสิทธิภาพสูง ที่ระดับความเข้มข้นต่ำ (Kende และคณะ, 1982; Serek และคณะ, 1994)

2.4 คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์ของสาร 1- MCP

1- MCP เป็นสารประกอบที่เกิดจากกระบวนการ decomposition ของ DACP มีโครงสร้างเป็น strained olefin เป็นสารที่ไม่เป็นพิษ ไม่มีกลิ่น และเสถียรในสภาวะปกติ

- ชื่อทางเคมี 1- Methylcyclopropene
- โครงสร้างทางเคมี

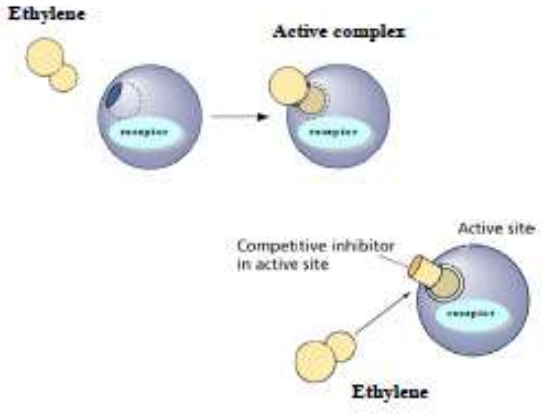


- สูตรโมเลกุล C_4H_6
- น้ำหนักโมเลกุล 54
- สถานภาพ ก๊าซ

เนื่องจากวิธีการเก็บ 1- MCP ในรูปก๊าซเป็นเรื่องที่ยาก ดังนั้นจึงมีการเก็บ 1- MCP ไว้ในรูปของแข็งในลักษณะแป้ง (powder) เมื่อนำผสมกับน้ำ (ในสภาวะปิด) จะปลดปล่อยออกมาในรูปก๊าซ ซึ่งง่ายต่อการใช้ ดังนั้น 1- MCP เป็นสารประกอบที่ปลอดภัย ไม่ก่อให้เกิดพิษ (non-phytotoxic) ไม้ทำให้เกิดของเสียที่กำจัดยากแม้ว่าจะใช้ในปริมาณมากหรือน้อยก็ตาม (Rohm and Hass Co. Ltd., 1999)

2.4.1 กลไกการทำงานของ 1-MCP

1- MCP เป็นสารชนิดใหม่ ถูกนำมาใช้ในการขัดขวางการทำงานของเอทิลีนในพืช และภายหลังการเก็บเกี่ยวผลไม้ จากเอกสารของ Rohm and Hass Co. Ltd. (1999) ซึ่งเป็นผู้ผลิตสารเคมีชนิดนี้ รายงานว่า 1- MCP จะทำหน้าที่ในการจับกับตัวรับของเอทิลีนบริเวณ active site ดังนั้นจึงมีผลในการยับยั้งหรือขัดขวางการทำงานของเอทิลีนจากแหล่งภายในและภายนอกได้



รูปที่ 4 กลไกการจับกันระหว่างง 1-MCP กับตัวรับเอทิลีน (receptor) ที่มา: Rohm and Hass Co. Ltd. (1999)

1- MCP สามารถจับกับตัวรับเอทิลีนเป็นระยะเวลานานมากกว่าเอทิลีนโดยทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขันกับเอทิลีน (competitive inhibitor) และมีประสิทธิภาพสูงที่ระดับความเข้มข้นต่ำในช่วงหนึ่งในพันล้านส่วน (ppb) ซึ่งโดยส่วนใหญ่การตอบสนองต่อ 1-MCP ของตัวรับเอทิลีนจะปรากฏในลักษณะที่ไมอาจเปลี่ยนกลับคืนหรือผันกลับได้ (irreversible)

2.4.2 ผลของ 1-MCP ต่อพืช

การศึกษาการใช้ 1-MCP ในระยะแรกได้ทดลองใช้กับไม้ตัดดอกและไม้กระถางหลายชนิด เช่น คาร์เนชั่น ลิ้นมังกรและกุหลาบ เป็นต้น ต่อมาได้มีการนำมาใช้กับผลิตผลภายหลังการเก็บเกี่ยว หลายชนิดที่มีการตอบสนองต่อเอทิลีนทั้งผักและผลไม้ โดยพบว่า 1-MCP สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและชะลอการสุกของผักและผลไม้ได้ เช่น การใช้ 1-MCP กับผลกล้วย ที่ความเข้มข้น 450 ไมโครลิตร่อลิตร มีผลในการยับยั้งการตอบสนองต่อเอทิลีนและการเปลี่ยนแปลงที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสุก การผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่น ความแน่นเนื้อ และการพัฒนาสีได้อย่างมีนัยสำคัญ (Golding และคณะ, 1998) นอกจากนั้น Ku และคณะ (1999) ได้รายงานว่า 1-MCP สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของ ผลสตรอเบอรี่ อีกทั้งยังสามารถชะลอการเน่าเสียได้อีกด้วย แม้จะใช้ในช่วงความเข้มข้นต่ำ สาร 1-MCP ที่ระดับความเข้มข้นในช่วง 0.10 – 50 ไมโครลิตร่อลิตร สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงสีเขียวของบร็อคโคลีในระหว่างการเก็บรักษาได้ (Ku และ Wills, 1999) ดังนั้น 1-MCP จึงอาจเป็นอีก

ทางเลือกหนึ่งที่นำมาใช้□ในเชิงการค้□า เพื่อควบคุมกระบวนการสุกและการชราภาพของผลิตผลภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ในอนาคต

2.4.3 อิทธิพลของ 1-MCP ต่□อการยับยั้งการทำงานของเอทิลีน

1. การผลิตเอทิลีน

เมื่อผลไม□ได□รับเอทิลีนจะสามารถกระตุ้□นให้□เนื้อเยื่อของผลไม้เกิดการสังเคราะห์□เอทิลีนเพิ่มขึ้นได้□ จากการศึกษาผลของ 1-MCP ต่อการผลิตเอทิลีนในผลท้อ พบว่าสามารถลดอัตราการผลิตเอทิลีนได้□ ทั้งนี้เนื่องจาก 1-MCP สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีนโดยเข□าไปจับกับ receptor ของเอทิลีนโดย 1- MCP สามารถจับกับตัวรับเป็นระยะเวลานานมากกว่าเอทิลีนโดยทำหน้□าที่เป็□นตัวยับยั้งแบบแข่□งขัน (competitive inhibitor) โดยส่□วนใหญ่□การตอบสนองต่□อ 1- MCP จะปรากฏในลักษณะที่ไม่□อาจเปลี่ยนกลับคืนหรือผันกลับได้□ (irreversible) ดังนั้นเมื่อมีการให้□ 1-MCP กับผลิตผล จึงทำให้□ตัวรับเอทิลีนไม่□สามารถจับกับเอทิลีน ทำให□เกิดความผิดปกติต่□อกระบวนการสังเคราะห์□เอทิลีน ส่งผลให้□อัตราการผลิตเอทิลีนลดลง พืชพยายามหาทางเอาชนะการขัดขวางของ 1-MCP โดยการสังเคราะห์□ตัวรับเอทิลีนขึ้นมาใหม่□เมื่อได้□รับการกระตุ้□นโดยเอทิลีน (Mathooko และคณะ, 2001) การสังเคราะห์เอทิลีนมีความเกี่ยวข□องกับการทำงานของเอนไซม์ □2 ชนิด คือ ACC synthase และ ACC oxidase ดังนั้นถ้□าสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์□ดังกล่□าวได้ ก็สามารถควบคุมการผลิตเอทิลีนได้□ เนื่องจากเอทิลีนสามารถกระตุ้□นการทำงานของเอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase ได้□ (Mathooko และคณะ, 2001)

2. กิจกรรมของเอนไซม์□ ACC oxidase

กิจกรรมของเอนไซม์□ ACC oxidase ในผลท้□อ ที่เก็บรักษาที่ 24 องศาเซลเซียส พบว่าการให้□ 1-MCP กับผลท้อมีกิจกรรมของเอนไซม์□ ACC oxidase น้□อยกว่□าชุดควบคุม โดย 1-MCP ไปมีผลต่□อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ACC oxidase คือไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์□ ACC oxidase ได้□ถึง 50% ทั้งนี้การผลิตเอทิลีนในผลท้□อจะมีปริมาณมากในช่□วง climacterric rise ซึ่งการผลิตเอทิลีนที่
เพิ่มขึ้นนี้จะทำให้□กิจกรรมของเอนไซม์□ ACC oxidase เพิ่มขึ้นด้□วย (Mathooko และคณะ, 2001)

3. กิจกรรมของเอนไซม□ ACC synthase

กิจกรรมของเอนไซม์□ ACC synthase ในผลท้□อ ที่เก็บรักษาที่ 24 องศาเซลเซียส ในชุดควบคุม และที่ให้□ 1-MCP ที่ความเข้□มข้น 20 ไมโครลิตรต่□อลิตร พบว่□าการให้□ 1-

MCP สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ ACC synthase ลงต่ำกว่าชุดควบคุม โดย 1-MCP สามารถชะลอการสังเคราะห์ ACC (Mathooko และคณะ, 2001)

4. อัตราการหายใจ (Respiration)

เอทิลีนกระตุ้นให้เนื้อเยื่อทุกชนิดมีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นได้ พบว่าการใช้ 1-MCP สามารถลดอัตราการหายใจของ nectarine ลงได้ เนื่องจาก 1-MCP จะจับที่บริเวณ active site ของตัวรับเอทิลีนจะทำให้เอทิลีนไม่สามารถจับกับตัวรับเอทิลีนได้ และไม่สามารถกระตุ้นให้เนื้อเยื่อมีการหายใจเพิ่มขึ้น (Dong และคณะ, 2001)

5. การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll degradation)

เอทิลีนสามารถเร งให เกิดการสูญเสียสีเขียวของพืช เนื่องจากพืชเกิดการสูญเสียคลอโรฟิลล์ พบว่าการใช้สาร 1-MCP สามารถชะลอการสลายสีเขียวได้ ในสภาพปกติ และที่มีการให้เอทิลีนจะทำให้พืชเกิดการสูญเสียสีเขียวมากที่สุด ทั้งนี้การลดลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาของผลิตผลเมื่อเข้าสู่การสุก โดยเอทิลีนจะไปกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลสทำให้เกิดการสลายตัวของคลอโรฟิลล์เกิดได้เร็วขึ้นได้ โดย 1-MCP สามารถชะลอการสูญเสียคลอโรฟิลล์ได้เนื่องจาก 1-MCP สามารถยับยั้งการทำงานของเอทิลีน มีผลไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คลอโรฟิลล์เลสทำให้การสลายตัวของปริมาณคลอโรฟิลล์เกิดได้ช้าลง (Feng และคณะ, 2000)

การใช้ 1-MCP ให้เกิดประสิทธิภาพต้องใช้ 1-MCP ที่มีความเข้มข้นที่อิ่มตัวเพียงพอกับ receptor จึงจะสามารถแทนที่เอทิลีนได้อย่างสมบูรณ์ ระยะเวลาการใช้ 1-MCP ควรให้เพียงพอกับการกระจายอย่างทั่วถึงของก๊าซ และเข้าไปสู่เนื้อเยื่อของพืชได้ นอกจากนี้อายุของพืชก็มีผลต่อปริมาณการใช้ 1-MCP เช่นกัน

ตารางที่ 2 ผลของการใช้ 1-MCP กับบร็อคโคลี

ลด หรือชะลอ	เพิ่ม	ไม่มีผลกระทบ	อ้างอิง / ผู้ทำการวิจัย
การหายใจ การเหลือง การเน่าเปื่อย การสูญเสียวิตามินซี ปริมาณโปรตีน Diraethyl trisulfide กิจกรรมของ Catalase กิจกรรรมของ Peroxidase กิจกรรมของเอนไซม์ Chlorophyllase	เพิ่มอายุการวางจำหน่าย แต่ถ้าใช้ความเข้มข้น มากกว่า 12 ไมโครลิตรต่อลิตร จะเกิดความเสียหาย (injury) กับผลิตผล	เน่าเสีย	Able และคณะ, 2002; Ku และ Wills, 1999; Fan และ Mattheis, 2000; Forney และคณะ, 2003; Gong และ Mattheis, 2003; Wang และ Win, 2002