Agricultural Sci. J. 37 : 5 (Suppl.) : 34-37 (2006) ว. วิทย. กษ. 37 : 5 (พิเศษ) : 34-37 (2549)

การเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย – ไลเอส ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการเจริญของผล

Changes in Activity of Phenylalanine Ammonia – Lyase, Levels of Total Phenolic Compounds and Anthocyanins in "Mahajanaka" Mango Fruit Skin During Fruit Development

ยุทธนา จันทร์ชารา[1] กอบเกียรติ แสงนิล[1] และ จำนงค์ อุทัยบุตร[1]
Yuttana Chanchara[1], Kobkiat Saengnil[1] and Jamnong Uthaibutra[1]

Abstract

The relationships among phenylalanine ammonia – lyase (PAL) activity, levels of total phenolic compounds and anthocyanins in the fruit skin of mango (*Mangifera indica* Linn. cv. Mahajanaka) were studied during fruit development. PAL catalyzed the first step in the biosynthesis of phenylpropanoids pathway, which are further modified into a wide variety of phenolic compounds and anthocyanins. During fruit development, PAL activity gradually increased to a maximun at 119 days after full bloom (DAF) and then declined. There were two peaks of total anthocyanin content, one at the young fruit stage (42 DAF) and another at the fruit maturation stage (126 DAF). Only the second peak paralleled changes in PAL activity, but the first did not. Total phenolic compounds reached a maximum level soon after fruit set, then gradually declined to a low constant value before fruit maturation. A slight rise in phenolic content began again at fruit maturation stage, concomitant with the rise in PAL activity. This result therefore indicated that the mango fruit skin have a developmental – dependent expression of PAL activity and accumulation of phenolic compounds and anthocyanins. High correlations between PAL activity and total phenolics and anthocyanins were found in the fruit maturation stage.

Keywords : phenylalanine ammonia – layse (PAL), phenolic compounds, anthocyanins

บทคัดย่อ

ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย – ไลเอส (PAL) ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการเจริญของผล โดยที่ PAL เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาในขั้นตอนแรกของกระบวนการสังเคราะห์ฟีนิลโพรพานอยด์ซึ่งจะถูกนำไปสร้างเป็นสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินหลายชนิดต่อไป พบว่าในระหว่างการเจริญของผลนี้แอคติวิตีของ PAL ค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นและสูงสุดเมื่อผลมีอายุ 119 วันหลังดอกบานเต็มที่ (DAF) หลังจากนั้นแอคติวิตีลดต่ำลง ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมีการเพิ่มสูงสุด 2 ครั้ง โดยครั้งแรกในระยะผลยังอ่อน (42 DAF) และอีกระยะเมื่อผลแก่ (126 DAF) ทั้งนี้การเพิ่มสูงสุดของปริมาณแอนโทไซยานินในครั้งที่สองเท่านั้นที่เกิดคู่ขนานไปกับการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของ PAL แต่การเพิ่มสูงสุดในครั้งแรกไม่เป็นเช่นนั้น ส่วนปริมาณสารประกอบฟีโนลิคทั้งหมดเพิ่มสูงสุดภายหลังติดผลไม่นานจากนั้นปริมาณค่อย ๆ ลดต่ำลงและคงที่ ในระยะก่อนผลแก่ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยอีกครั้งควบคู่กับการเพิ่มขึ้นของแอคติวิตีของ PAL เมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่ จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าแอคติวิตีของ PAL การสะสมของสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินในเปลือกผลมะม่วงนี้ขึ้นอยู่กับระยะของการเจริญของผล โดยพบว่าแอคติวิตีของ PAL มีความสัมพันธ์อย่างมากกับปริมาณสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินทั้งหมดในระยะผลแก่

คำสำคัญ ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย – ไลเอส สารประกอบฟีโนลิค แอนโทไซยานิน

คำนำ

มะม่วงพันธุ์มหาชนกำลังได้รับความนิยมและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของประเทศไทย โดยเมื่อผลแก่ผิวเปลือกผลจะมีสีสันสีแดงสวยงาม ผลมีขนาดใหญ่ เปลือกหนา มีกลิ่นหอม ซึ่งสีแดงที่เปลือกผลเกิดจากการสะสมของรงค

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
[1]Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

วัตถุแอนโทไซยานิน ซึ่งเป็นสารประกอบฟีโนลิคชนิดหนึ่ง โดยในกระบวนการสร้างรงควัตถุนี้ต้องอาศัยเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย - ไลเอส (phenylalanine ammonia - lyase (PAL, EC. 4. 3. 1. 5) ในการเร่งปฏิกิริยารวมทั้ง PAL ยังเป็นเอนไซม์สำคัญตัวแรกในกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบฟาโวนอยด์และฟีนิลโพรพานอยด์อื่น ๆ เช่น สารประกอบฟีโนลิค ฟาโวนอยด์ แทนนิน และลิกนิน เป็นต้น (Ju, *et al*., 1995) ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลมักพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีโนลิคมีความสัมพันธ์กับแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ดังในรายงานการการศึกษาในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ ‘Starkrimsom Delicious’ และ ‘Golden Delicious’ ผลองุ่นพันธุ์ ‘Grape berry’ ผลท้อพันธุ์ ‘Akatsuki’ และผลมะม่วงพันธุ์เค้นท์ (Blankenship and Unrath, 1988; Jeong *et al*., 2004; Ohmiya, 2000; วารุณี, 2543) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสารประกอบสำคัญเหล่านี้มีความแตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด แต่ละพันธุ์ รวมทั้งมีปัจจัยภายนอกบางอย่างที่มีผลต่อกระบวนการสังเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ เช่น แสง สารควบคุมการเจริญเติบโต และธาตุอาหาร เป็นต้น (Saure, 1990) ที่ผ่านมายังไม่เคยมีรายงานในเปลือกของผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกมาก่อน ดังนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีเอนไซม์ PAL ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินทั้งหมดในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกระหว่างการเจริญของผลจึงน่าจะเป็นประโยชน์เพื่อให้ทราบถึงกลไกการควบคุมการเกิดสีแดงของเปลือกผลมะม่วงพันธุ์นี้ในขั้นสูงต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เลือกต้นมะม่วงพันธุ์มหาชนกที่สมบูรณ์อายุ 5 ปี และติดป้ายที่ช่อดอกเพื่อให้ทราบอายุของผลที่จะนำมาศึกษา หลังจากนั้นเก็บเกี่ยวผลที่มีอายุ 28 วันถึง 133 วันหลังดอกบานมาวิเคราะห์ผลโดยทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของเปลือกผลในช่วงอายุดังกล่าวห่างกันทุก ๆ 7 วัน ในเรื่องต่อไปนี้

แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL การสกัดและวิเคราะห์แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ดัดแปลงจากวิธีการของ Faragher and Chalmers (1977) และ Arakawa *et al*. (1986)

ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคทั้งหมด การสกัดและวิเคราะห์สารประกอบฟีโนลิคทั้งหมดดัดแปลงจากวิธีการของ Ketsa and Atantee (1998) และ Singleton and Rossi (1965)

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด การสกัดและการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยวิธี estimation of total anthocyanin method (Ranganna, 1977)

การประเมินวิเคราะห์ผล โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistical Packages for the Social Science) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance : ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย LSD

ผลการทดลอง

แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL มีการเพิ่มสูงขึ้นตามอายุที่เพิ่มขึ้นโดยแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในวันเริ่มต้นการทดลอง (28 วันหลังดอกบาน) มีค่า 16.58 n mole / mg protein • hr จากนั้นเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ และมีแอคติวิตีสูงที่สุดเมื่อผลอายุ 119 วันหลังดอกบาน ซึ่งมีค่า 51.09 n mole / mg protein • hr หลังจากนั้นจึงลดต่ำลง (Fig. 1)

ปริมาณสารประกอบฟีโนลิคมีการเพิ่มสูงขึ้น 2 ครั้ง โดยในวันเริ่มต้นการทดลองมีค่า 519.51 mg / 100 g fresh weight จากนั้นเพิ่มสูงขึ้นโดยมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อผลอายุ 35 วันหลังดอกบาน ซึ่งมีค่า 598.11 mg / 100 g fresh weight จากนั้นลดต่ำลงและมีปริมาณต่ำที่สุดเมื่อผลมีอายุ 98 วันหลังดอกบาน หลังจากนั้นเพิ่มสูงขึ้นอีกครั้งโดยมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อผลอายุ 133 วันหลังดอกบาน โดยมีค่า 327.20 mg / 100 g fresh (Fig. 1)

ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินมีการเพิ่มขึ้น 2 ครั้งเช่นเดียวกันกับสารประกอบฟีโนลิค โดยในวันเริ่มต้นการทดลองมีค่า 0.97 mg / 100 g fresh weight จากนั้นเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อผลมีอายุ 42 วันหลังดอกบานซึ่งมีค่า 1.12 mg / 100 g fresh weight แล้วจึงลดต่ำลง จากนั้นค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอีกครั้งและเพิ่มสูงที่สุดเมื่อผลมีอายุ 126 วันหลังดอกบานซึ่งมีค่า 1.57 mg / 100 g fresh weight แล้วจึงลดต่ำลง (Fig. 1)

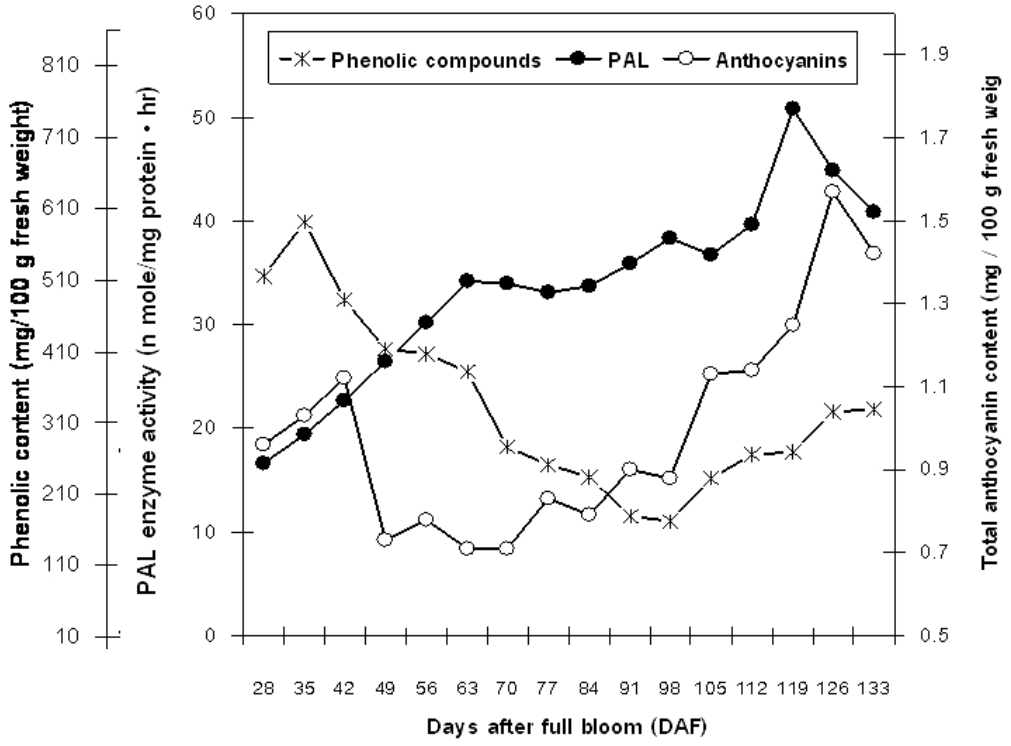

Fig. 1 Changes in PAL activity, phenolic compounds and anthocyanins in “Mahajanaka” mango skin during fruit development

วิจารณ์ผลการทดลอง

โดยทั่วไปแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ปริมาณสารประกอบฟีโนลิค และแอนโทไซยานินในเปลือกผลมีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเจริญของผล โดยมีปัจจัยที่ควบคุมทั้งภายในผล เช่น อายุของผล ยีน และปัจจัยภายนอกผล เช่น แสง อุณหภูมิ และสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช เป็นต้น (Saure, 1990) แอคติวิตีของเอนไซม์ PAL มักเพิ่มสูงขึ้นตามอายุของผลที่เพิ่มขึ้นจนกระทั่งผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพ สันนิษฐานว่าเอนไซม์ตัวนี้จะเร่งปฏิกิริยาการสังเคราะห์ฟาโวนอยด์และฟีนิลโพรพานอยด์เพื่อการสร้างสารประกอบฟีโนลิค ฟาโวนอยด์ แทนนิน ลิกนินและแอนโทไซยานิน เป็นต้น ซึ่งล้วนเป็นสารประกอบที่จำเป็นในระหว่างการเจริญของผล โดยปริมาณของสารประกอบเหล่านี้อาจแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของผล (Ju *et al*., 1995) ในการทดลองนี้พบว่าแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ค่อย ๆ เพิ่มสูงขึ้นตามอายุผลเช่นกันสอดคล้องกับแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ ‘Starking Delicious’ และ ‘Golden Delicious’ ที่เพิ่มสูงในระยะการติดผลและเมื่อผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพซึ่งมีอัตราการผลิตเอทิลีนในปริมาณที่สูง (Kobo *et al*., 1988) และมีการเพิ่มขึ้นของระดับเอนไซม์ PAL ในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ ‘Starkrimson Delicious’ สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของปริมาณการผลิตเอทิลีน ซึ่งการเพิ่มขึ้นของแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL และปริมาณเอทิลีนมักเกิดขึ้นในระหว่างที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพโดยในระยะนี้เปลือกผลจะเริ่มเปลี่ยนสีอย่างเด่นชัด (Bankenship and Unrath, 1988)

สารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยานินมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น 2 ครั้ง โดยสารประกอบฟีโนลิคมีปริมาณที่สูงกว่าแอนโทไซยานิน ซึ่งการเพิ่มขึ้นในครั้งแรกเกิดขึ้นในช่วงการติดผลซึ่งในช่วงนี้จะมีการแบ่งเซลล์ภายในผลสูง รวมทั้งมีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่งสารประกอบฟีโนลิคนับว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโครงสร้างของเซลล์ (Saure, 1990) อย่างไรก็ตามยังไม่ทราบเหตุผลแน่ชัดถึงการเพิ่มขึ้นของสารประกอบแอนโทไซยานินในระยะนี้ ส่วนสารประกอบฟีโนลิคและปริมาณแอนโทไซยานินที่เพิ่มสูงขึ้นในครั้งที่ 2 นั้น แอนโทไซยานินเริ่มมีการสะสมเกิดขึ้นตั้งแต่ช่วงกลางของการเจริญของผลและเพิ่มสูงขึ้นในช่วงที่ผลเข้าสู่ระยะการแก่หรือเสื่อมสภาพซึ่งในช่วงนี้เซลล์ไม่มีการขยายขนาดของเซลล์เพิ่มขึ้นอีกแต่มีการสะสมแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูงกว่าสารประกอบฟีโนลิค สันนิษฐานว่าผลมีการสะสมแอนโทไซยานินสูงมากในระยะนี้เพื่อนำไปใช้ในการสร้างรงควัตถุ กลิ่นในกระบวนการสุกแก่รวมทั้งเพื่อป้องกันอันตรายจากรังสียูวีของดวงอาทิตย์ (Palmer, 1995) เมื่อผลเริ่มเข้าสู่การเสื่อมสภาพ ซึ่งในช่วงนี้ผลจะมีอัตราการหายใจที่สูง มีการอ่อนนุ่มของเนื้อผลและมีปริมาณน้ำตาลในผลสูง ทำให้ง่ายต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง (Ju, *et al*., 1995; Palmer, 1995)

สรุป

ในระหว่างการเจริญของผลมีการเปลี่ยนแปลงแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL ปริมาณสารประกอบฟีโนลิค และแอนโทไซยานินในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์มหาชนก โดยการเพิ่มสูงขึ้นของแอคติวิตีของเอนไซม์ PAL มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีโนลิคและแอนโทไซยา*นินในระยะที่ผลแก่เท่านั้น*

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนประจำปี 2548 จากบัณฑิตวิทยาลัยและคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

วารุณี วงค์ชมภู. 2543. ผลของแสงและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชบางชนิดต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนีย – ไลเอส และการพัฒนาสีแดงในเปลือกผลมะม่วงพันธุ์เค้นท์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 154 น.

Arakawa, O., Hori, Y. and Ogata, R. 1986. Characteristics of color development and relationship between anthocyanin synthesis and phenylalanine ammonia – lyase activity in Starking Delicious, Fuji and Mutsu apple fruits. J. Japan. Soc. Hort. Sci. 54 : 424 – 430.

Blankenship, S. M and Unrath, C. R. 1988. PAL and ethylene content during maturation of 'Red' and 'Golden Delicious' apples. Phytochem. 27(4) : 1001 – 1003.

Farager, J. D. and Carmer, D. J. 1977. Regulation of anthocyanin synthesis in apple skin. III. Involvement of phenylalanine ammonia – lyase. Aust. J. Plant Physiol. 4 : 133 – 141.

Jeong, S. T., Yamamoto, G. N., Kobayashi, S. and Esaka, M. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. Plant Sci. 167 : 247 – 252.

Ju, Z. G., Yuan, Y. B., Liou, C. L. and Xin, S. H. 1995. Relationships among phenylalanine ammonia – lyase activity, simple phenol concentrations and anthocyanin accumulation in apple. Sci Hort. 61 : 215 – 226.

Ketsa, S. and Atantee, S. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of mangosteen fruit after impact. Postharvest Biol. Technol. 14 : 117 – 124.

Kobo, Y., Taira, S., Zshio, S., Sugiura, A. and Tamana, T. 1988. Color development of four apple cultivars grown in the southwest of Japan, with special reference to fruit bagging. J. Jpn. Soc. Hortic. Sci. 57 : 191 – 197.

Ohmiya, A. 2000. Effects of auxin on growth and ripening of mesocarp discs of peach fruit. Sci. Hort. 84 : 309 – 319.

Palmer, T. 1995. Understanding Enzymes. 4th edition. Wadsword. California.

Ranganna, S. 1977. Plant pigment. *In* S. Ranganna (ed.). Manual of Analysis of Fruit and Vegetable Products. Tata McGraw – Hill Publishing Co., Ltd., New Delhi. 72 – 93.

Singleton, V. L. And Rossi, J. R. 1965. Colorimetry of total phenoloc with phosphomolypbic – phosphotungstic acid reagent. Amer. J. Enol. Vite. 16 : 144 – 157.

Saure, M. C. 1990. External control of anthocyanin formation in apple. Sci. Hortic. 42 : 181 – 218.