ชื่อเรื่อง ศึกษาผลของ Mg-dechelating Substances และการควบคุมด้วย Heat treatment ต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในบร็อคโคลี

ผู้แต่ง สมัคร แก้วสุกแสง

ที่มา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว) คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 107 หน้า. 2550.

คำสำคัญ broccoli; heat treatment

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อกิจกรรมเอนไซม์ Mg-dechelation และการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอฟิลล์ในบร็อคโคลี โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 15 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถลดการ เปลี่ยนแปลงค่าสี (Hue angle) ปริมาณของคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี และกิจกรรมของเอนไซม์ Mg-dechelation (Chlide) a pheophorbide (Pheide) a pyropheophorbide (Pyropheide) *a* $C13^2$-hydrocylchlorophyll ($C13^2$ -OHChl) *a* และ pheophytin (Phy) *a* พบว่าในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ปริมาณ Chlide *a* $C13^2$ –OHChl *a* และ Phy *a* ลดลงพร้อมกับการเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดของปริมาณPheide *a* และ Pyropheide *a* ในทางกลับกันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสะสมของ Chlide *a* และ Pheide *a* จากการศึกษาข้างต้นพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสสามารถชะลอการสลายตัวของ Chl และอนุพันธ์ในบร็อคโคลี เป็นผลมาจาการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ Mg-dechelation และ Chlorophyllase

ส่วนการศึกษาผลของ heat treatment (50 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง) ต่อการสลายตัวของคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ รวมทั้งกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ในระหว่างการทำ heat treatment และระหว่างการเก็บรักษาบร็อคโคลีที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าระหว่างการทำ heat treatment 2 ชั่วโมง ปริมาณของคลอโรฟิลล์ ได้แก่ Chlide *a* Pheide *a* และ $C13^2$ –OHChl *a* ลดลงระหว่างการทำ heat treatment ในขณะที่ไอโซเมอร์ของคลอโรฟิลล์ (Chl a') และ Phy a เพิ่มขึ้น การทำ heat treatment 2 ชั่วโมง สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ เช่น chlorophyllase Mg-dechelation และ Chl-degrading peroxidase โดยเฉพาะอย่างยิ่งกิจกรรมเอนไซม์ Mg-dechaelation ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีลดลงชัดเจนในชุดควบคุมขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ในบร็อคโคลีที่มีการทำ heat treatment มีการลดลงเล็กน้อย ส่วนอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์พบว่าปริมาณ Pheide *a* ในชุดควบคุมลดลงระหว่างการเก็บรักษา ในทางกลับกันปริมาณ Chlide a ในบร็อคโคลีที่มีการทำ heat treatment สูงกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ปริมาณ Chlide a ในชุดควบคุมลดลงระหว่างการเก็บรักษา ในทางกลับกันปริมาณ Chlied a ในบร็อคโคลีที่มีการทำ heat treatment แทบจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงและพบว่ากิจกรรมเอนไซม์ Mg-dechaelation ถูกยับยั้งในบร็อคโคลีที่มีการทำ heat treatment ในระหว่างการเก็บรักษามีการสะสมของอนุพันธ์คลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นตัวกลาง (intermediates) ในกระบวนการสลายตัวของคลอโรฟิลล์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Pheide *a*

การศึกษาลักษณะและบทบาทของเอนไซม์ Mg-dechaelation ที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในบร็อคโคลี โดยสกัดเอนไซม์ออกเป็น 2 ส่วนตามขนาดโมเลกุลได้แก่ โมเลกุลที่มีขนาดน้อยกว่า 5,000 Da (a

low molecular weight fraction, LMWF) และโมเลกุลที่มีขนาดมากว่ากว่า 5,000 Da (a high molecular weight fraction, HMWF) พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ Mg-dechaelation ทั้ง 2 ขนาดโมเลกุล โดยใช้สารตั้งต้นทำปฏิกิริยาทั้ง chlorophyllin (Chlin) a และ Chlide a กิจกรรมของเอนไซม์ Mg-dechaelation ในบร็อคโครีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสนาน 4 วัน (บร็อคโครีเหลือง) มีค่าสูงกว่าบร็อคโครีที่เก็บรักษาในวันที่ 0 (บร็อคโครีเขียว) ส่วนพีเอชทีเหมาะสม (pH optimum) ค่าความเสถียรของพีเอช (pH stability) และความเสถียรของอุณหภูมิ (temperature stability) ของปฏิกิริยาคือ 8.0 8.5 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับทั้งในบร็อคโครีเขียวและบร็อคโครีเหลือง นอกจากนี้กิจกรรมเอนไซม์ Mg-dechelating สามารถถูกยับยั้งด้วยสารประกอบ Chelating compounds สาร radical scavengers และ reducing agents เช่น Ascorbate และสารประกอบพวก flavonol ซึ่งได้แก่ kaempferol และ quercetin ทั้งในบร็อคโครีเขียวและบร็อคโครีเหลือง เมื่อนำ HMWF ที่มี Mg-dechelating มาทำให้บริสุทธิ์ (partially purified) ด้วยการตกตะกอนโปรตีนด้วย $(NH_4)_2SO_4$ ที่อิ่มตัว 20-60 เปอร์เซ็นต์แล้วต่อเนื่องด้วยวิธีการ molecular exclusion chromatography (Sephacryl S-200) พบว่ากิจกรรมของ Mg-dechelating เพิ่มขึ้นในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาและกิจกรรมถูกยับยั้งในบร็อคโครีที่ผ่านการทำ heat treatment โดยสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยามีการใช้ทั้ง Chlide a และ Chlin a จากนั้นนำเอนไซม์ Mg-dechelating ไปทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Anionic exchange chromatography (DEAE-650M) วิธี Hydrophobic interaction chromatography (Butyl-650M) และวิธี Molecular exclusion chromatography (HW-55F) พบว่าเอนไซม์ Mg-dechelating ไม่ปรากฏ isozyme และมีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 70 KDa เมื่อตรวจสอบด้วย SDS-PAGE อย่างไรก็ตามเอนไซม์ Mg-dechelating ที่บริสุทธิ์ทำปฏิกิริยากับ Chlin a ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่มีในกระบวนการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ จากการศึกษาข้างต้นสรุปได้ว่าสารประกอบที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ไม่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสลายตัวของคลอโรฟิลล์