Agricultural Sci. J. 42 : 3 (Suppl.) : 149-152 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 3 (พิเศษ) : 149-152 (2554)

การศึกษาการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในแวคคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นระหว่างการเก็บรักษา

Chlorophyll degradation in vacuoles of bunching onion during postharvest period

อลิษา สุนทรวัฒน์[1,2] สุกัญญา เอี่ยมละออ[3] วาริช ศรีละออง[1,2] มาซาโยชิ ชิโย[4] และ นาโอกิ ยามาอุจิ[4]

Alisa Soontornwat[1,2], Sukanya Aiamla-or[3], Varit srilaong[1,2], Masayoshi Shiyo[4] and Naoki Yamauchi[4]

Abstract

The yellowing at the tip of bunching onion during storage is a major postharvest problem. This has been attributed to chlorophyll degradation that is commonly thought to occur in the chloroplast; however, it may also occur inside the vacuole. Changes in chlorophyll derivatives including Chlorophyllide a, Pheophytin a, C132-hydroxychlorophyll a, Pheophorbide a and pyropheophorbide a in vacuoles of bunching onion were studied during storage at 4 and 25oC. These chlorophyll derivatives increased dramatically after 2 days storage at 25oC while at 4oC, they increased only slightly. No significant differences in Pheophorbide a and Pheophytin a levels were obtained at both storage temperatures. From the results, chlorophyll degradation may also occur in the vacuole of bunching onion especially at higher storage temperature.

Keywords: Bunching onion, Yellowing, Chlorophyll degradation, Chlorophyll derivatives

บทคัดย่อ

ปัญหาสำคัญของต้นหอมญี่ปุ่นในระหว่างการเก็บรักษา ได้แก่ อาการเหลืองของใบโดยเฉพาะบริเวณปลายใบ ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ มีรายงานว่าการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ในต้นหอมญี่ปุ่นเกิดขึ้นภายในคลอโรพาสต์ และคาดว่าสามารถเกิดภายในแวคคิวโอด้วย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ในแวคคิวโอ โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ ได้แก่ Chlorophyllide a, Pheophytin a, C132-hydroxychlorophyll a, Pheophorbide a และ pyropheophorbide a ในแวคคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียล พบว่าอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 2 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในขณะที่แวคคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียล มีอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ โดยปริมาณของ Pheophorbide a และ Pheophytin a มีค่าเพิ่มสูงขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 และ 25 องศาเซลเซียล จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการสลายตัวของคลอโรฟิลล์อาจเกิดขึ้นภายในในแวคคิวโอของต้นหอมญี่ปุ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียล มีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์มากกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

คำสำคัญ: ต้นหอมญี่ปุ่น, การสลายตัวของคลอโรฟิลล์, อนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์

[1] หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน กรุงเทพฯ 10150

[1] Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10150

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10400

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Commission on Higher Education, Bangkok 10400

[3] คณะวิทยาศาสตร์การเกษตร มหาวิทยาลัยโทโทริ โกย่ามา-มินามิ โทโทริ680-8553 ประเทศญี่ปุ่น

[3] The United Graduate School of Agricultural Science, Tottori University, Koyama-Minami, Tottori 680-8553, Japan

[4] คณะเกษตร มหาวิทยาลัยยามากูจิ โยชิดะ ยามากูจิ 753-8515 ประเทศญี่ปุ่น

[4] Faculty of Agriculture, Yamaguchi University, Yoshida, Yamaguchi 753-8515, Japan

Introduction

Bunching onion is a highly perishable crop. Loss of quality during storage is due mainly to chlorophyll degradation leading to leaf yellowing which renders the produce unacceptable to consumers. Chlorophyll breakdown mostly occurs in the chloroplast. However, other organelles may also take part on chlorophyll catabolism. The chloroplast is the organelle in green cells that exhibits senescence through chloroplast transformation as a result of dissociation of grana, increased size and number of plastogloboli, and disruption of the chloroplast envelope. When chloroplast degradation has already started, thylakoid degradation takes place and plastoglobuli content increases. Plastoglobuli possibly containing chlorophyll move from chloroplast thylakoid to the vacuole. Earlier, chlorophyll degradation in bunching onion has been reported to occur in the chloroplast. This study illustrates that chlorophyll degradation also occurs in the vacuole.

Materials and Methods

Bunching onion leaves harvested from Yamaguchi Prefecture, Japan, were stored in polyethylene bag at 4 and 25ºC for 3 days. The vacuoles were separated from the protoplasts following the method of Alain (1981). The yield of vacuoles was 10-20% of total protoplasts. Vacuoles (0.8 mL) were added with 2 mL of 80 % acetone, then filtered through a DISMIC filter (0.45 µm, AVANCETEC, Japan), and subjected to HPLC analysis for chlorophyll and its derivatives using fluorescence spectrometer. The absorption spectrum of the pigment was measured at wavelengths of 440 and 660 nm (Angelo, 2004).

Results and Discussions

Chlorophyll *a* decreased after 3 days at 4°C and after 2 days at 25ºC (Figure 1A). The decrease in chlorophyll *a* at 25ºC was accompanied by increases in Chlorophyllide *a*, Pheophytin *a*, Pheophorbide *a*, and pyropheophorbide *a* levels (Figure 1B-E) but not with that of C13^2-hydroxychlorophyll *a* (Figure 1F). Because decreasing of chlorophyll a occur to chlorophyll degradation. Chlorophyll *a* is degraded by activity of chlorophyllase, Mg-dechelatase, pheophytinase and pyropheophorbidedase. At 4ºC, the decrease in chlorophyll *a* corresponded with the increased accumulation of C13^2-hydroxychlorophyll *a* (results not shown). Chlorophyll *a* can be degraded by Chl-peroxidase (POX) to form C13^2-hydroxychlorohyll (OHChl) *a* in the presence of some phenolic compounds and hydrogen peroxide (Yamauchi *et al*., 2004). C13^2-hydroxychlorophyll *a* was also implicated in chlorophyll degradation in broccoli stored at low temperature (Yamauchi, 1999).

The results demonstrate that chlorophyll breakdown in the vacuole contributed to yellowing in bunching onion, particularly during 25°C storage. Chlorophyll degradation followed the same pathway as that reported for other green vegetables, such as parsley, spinach (Yamauchi and Watada 1991,1993) and green beans (Monreal, 1999) as evidenced by the accumulation of chlorophyll *a* derivatives. In contrast, at low storage temperature of 4°C, chlorophyll degradation seemed to follow the peroxidase or chlorophyll oxidase mediated pathway which conforms to earlier observations (Yamauchi, 1999). Because low temperature was induce the accumulation free radical. This indicate of chlorophyll a is degraded C13^2-hydroxychlorophyll.

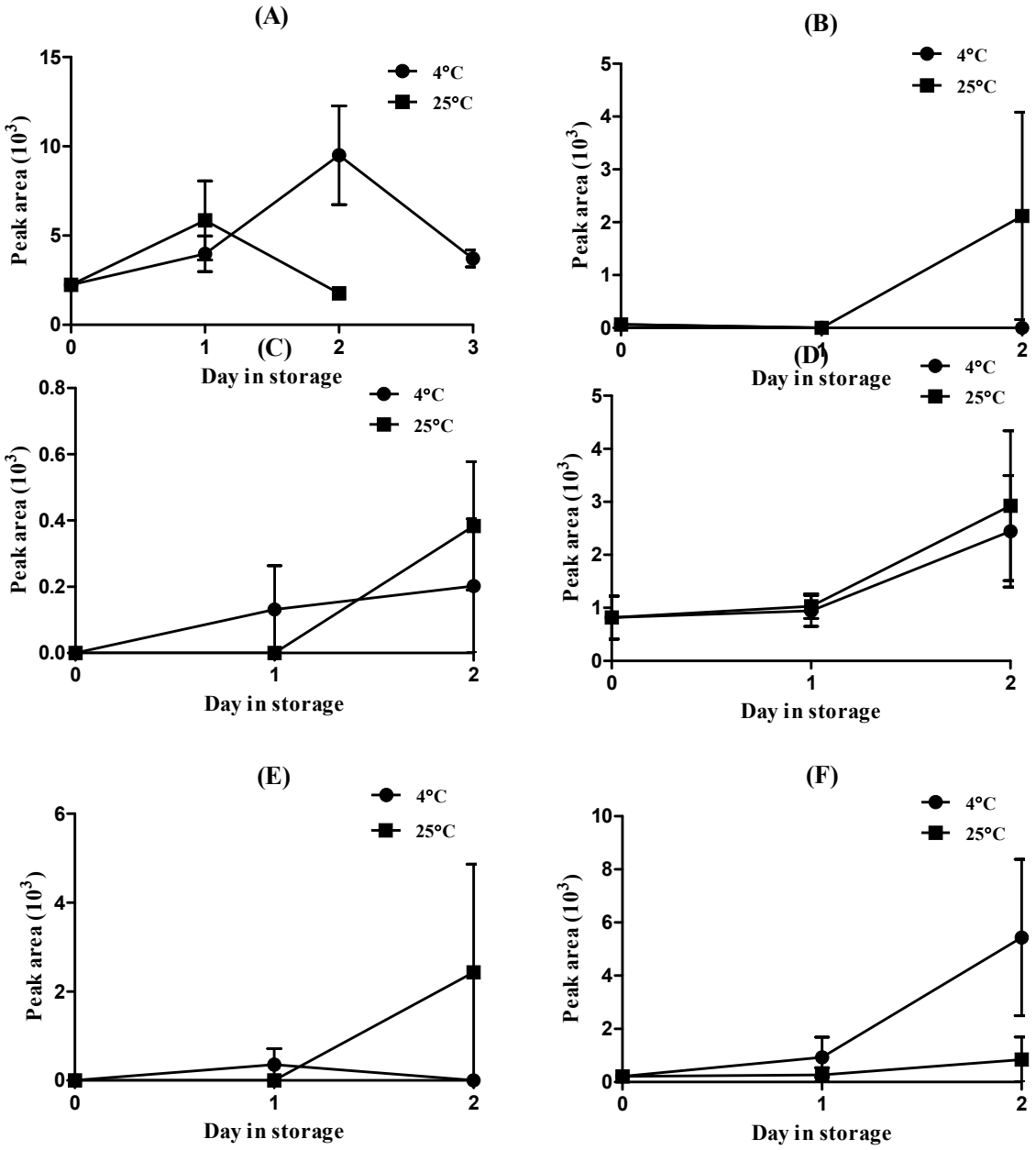

Figure 1 Chlorophyll a (A), Chlorophyllide a (B), Pheophorbide a (C), Pheophytin a (D), Pyropheophorbide a (E), and C13^2-hydroxychlorophyll a (F) in bunching onion stored at 4 and 25°C for 2 days.

Conclusion

Yellowing in bunching onions at ambient temperatures (i.e. 25°C) could be due to not only chlorophyll degradation in the chloroplasts but also that in the vacuole. During cold storage (i.e. 4°C), a different mechanism for chlorophyll loss may operate and could be look into in future follow up studies. This basic information is vital to manipulate the genetic and environmental factors to control yellowing and improve shelf life of the produce.

Acknowledgement

This research project was funded under the JASSO scholarship. We thank Asst. Prof. Varit Srilaong, Prof. Naoki Yamauchi, Prof. Masayoshi Shiyo and Dr. Sukanya Aiamla-or for their valuable suggestions.

References

Alain, M.B., C. Herve and A. Gilbert. 1981. Isolation and characterization of vacuoles from Melilotus alba Mesophyll. Plant physiol. 68: 1354-1358.

Alain, M.B. and A. Gilbert. 1987. Isolation of vacuoles and tonoplast from protoplasts. Methods in enzymology 148: 74-81.

Angelo, C. and P.P. Gian. 2004. High-performance liquid chromatographic analysis of chlorophylls, pheophytins and carotenoids in virgin olive oil: chemometric approach to variely classification. J.Chromatography A. 1046: 141-146.

Monreal, M., B.D. Ancos and M.P. Cano. 1999. Influence of critical storage temperatures on degradative pathways of pigments in green beans (*Phaseolus vulgaris* cvs. Perona and Body). Journal of agricultural and food chemistry 47: 19-24.

Yamauchi, N. and A.E. Watada. 1991. Chlorophyll degradation in spinach leaves during storage, Journal of the American Society for Horticultural Science 116 (1): 58–62.

Yamauchi, N. and A.E. Watada. 1993. Pigment changes in parsley leaves during storage in controlled or ethylene containing atmosphere. Journal of Food Science 58 (3): 616–618.

Yamauchi, N., Y. Funamoto and Y. Kanetsune. 1999. Involvement of chlorophyll degrading enzymes with chlorophyll degradation in stored broccoli (*Brassica oleracea* L.) florets, Food science and technology 5: 300-303.

Yamauchi, N., Y. Funamoto and M. Shigyo. 2004. Peroxidase-mediated chlorophyll degradation in horticultural crops, Phytochemistry Reviews 3 (1-2): 221–228.