

ผลของการใช้ความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงโปรตีน
ระหว่างการสะท้อนหนาวของผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์

Effect of Heat Treatment on Protein Changes During
Chilling Injury of Mango Fruit cv. Chok - Anan

วีรพล โพธิ์สว่าง^{1/} นิธิยา รัตนพานนท์^{1/} และ ดนัย บุญเกียรติ^{1/}

Weerapon Poswang^{1/} Nithiya Rattanapanone^{1/} and Danai Boonyakiat^{1/}

Abstract : Mangoes (*Mangifera indica* Linn. cv. “Chok-Anan”) were dipped at $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ and $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30, 45, 60 and 75 minutes and the fruit were then stored at $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ with 90-95% RH for 24 days. The results showed that soluble protein contents that was analyzed by a dye binding method in the pulp of mangoes that were dipped at $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ were more than those dipped at $45\pm 1^{\circ}\text{C}$. Mangoes that were dipped in hot water for 75 minutes had less soluble protein contents in its pulp than those mangoes that dipped in hot water for 30, 45 and 60 minutes. Protein pattern of mango pulp were analyzed by a 10% SDS-PAGE showing 36 bands were visible in all treatments throughout the storage time with the range of molecular weight of 14.00-170.00 kDa. The molecular weights of major protein bands were determined by a Gel Documentation and Analysis System. The results showed 18 bands in the control sample on the first day of storage with the range of molecular weight of 16.36-104.32 kDa. The mangoes that were dipped at $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 60 and 75 minutes showed less 1 protein band than the control sample in the range of molecular weight of 25.11-26.84 kDa. On the fourth day of storage, the major protein bands at 16.06-16.36 kDa were absented in all treatments and the 23.28-24.01 kDa proteins remained only in a control sample and the hot water treatment at $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30 and 45 minutes. After storage for 8 days, all treatments showed 16 protein bands in the range of molecular weight of 20.00-116.00 kDa.

^{1/} ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand.

บทคัดย่อ: การแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ และ $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ นาน 30, 45, 60 และ 75 นาที แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $5\pm 1^{\circ}\text{C}$ ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% เป็นเวลา 24 วัน พบว่า การแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ ทำให้ผลมะม่วงมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในเนื้อเมื่อวิเคราะห์โดยวิธี dye binding มากกว่าการแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ การแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนนาน 75 นาที พบว่ามีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้น้อยกว่าผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนนาน 30, 45 และ 60 นาที เมื่อตรวจสอบรูปแบบของโปรตีนโดยวิธีเอสดีเอส-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโตรโฟรีซิสความเข้มข้น 10% พบแถบโปรตีนที่เห็นได้ชัดเจนจำนวน 36 แถบในผลมะม่วงทุกกรรมวิธีตลอดระยะเวลาเก็บรักษา ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 14.00-170.00 กิโลดาลตัน เมื่อวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของแถบโปรตีนโดยเครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่า เมื่อเริ่มต้นการเก็บรักษา ผลมะม่วงชุดควบคุมมีแถบโปรตีนหลัก 18 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 16.36-104.32 กิโลดาลตัน ส่วนผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ $45\pm 1^{\circ}\text{C}$ นาน 60 และ 75 นาทีมีแถบโปรตีนหลักน้อยกว่าชุดควบคุม 1 แถบ ซึ่งเป็นแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 25.11-26.84 กิโลดาลตัน เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 วัน ผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีไม่พบว่ามีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 16.06-16.36 กิโลดาลตัน แต่มีแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 23.28-24.01 กิโลดาลตันในผลมะม่วงชุดควบคุมและผลมะม่วงที่แช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ $40\pm 1^{\circ}\text{C}$ นาน 30 และ 45 นาทีเท่านั้น ภายหลังการเก็บรักษานาน 8 วัน ผลมะม่วงในทุกกรรมวิธีมีแถบโปรตีนหลักเท่ากันคือ 16 แถบ ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 20.00-116.00 กิโลดาลตัน

Index words: การใช้ความร้อน โปรตีน การสะท้อนหนาว ผลมะม่วง
Heat treatment, Protein, Chilling Injury, Mango Fruit

คำนำ

มะม่วง เป็นไม้ผลชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ซึ่งปลูกและให้ผลผลิตได้ในทุกพื้นที่ของประเทศไทย และเป็นผลไม้ที่สามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศด้วย (วิจิตร, 2526) มะม่วงพันธุ์โชคอนันต์เป็นมะม่วงที่เกษตรกรนิยมปลูกกันมากเนื่องจากสามารถให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี และยังสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศได้ (วิจิตร, 2533) แต่มีปัญหาไม่สามารถขนส่งไปจำหน่ายได้เป็นระยะทางไกล เนื่องจากมีอายุการเก็บรักษาสั้น การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลผลิตไว้ได้นานขึ้น แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเกินไปอาจทำให้เกิดอาการผิดปกติที่เรียกกันว่า อาการสะท้อนหนาว (chilling injury) ขึ้นได้ มะม่วงจัดเป็นผลไม้เขตร้อนอุณหภูมิที่เหมาะสมใน

สมในการเก็บรักษามะม่วงอยู่ในช่วง 12-13 องศาเซลเซียส ซึ่งหากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำอาจทำให้เกิดความเสียหายขึ้นได้ (จรัสแท้, 2542) ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหาวิธีการลดความเสียหายที่เกิดจากอาการสะท้อนหนาว รวมทั้งหาวิธีการที่จะทำให้ผลิตผลมีความต้านทานต่อการเกิดอาการ สะท้อนหนาว หรือสามารถชะลอการพัฒนาของการเกิดอาการสะท้อนหนาวในผลิตผลพืชสวนหลายชนิดได้ เช่น การใช้ความร้อนก่อนการเก็บรักษาจะช่วยเพิ่มความทนทานต่อการเกิดอาการสะท้อนหนาวในผักและผลไม้บางชนิด และยังทำให้เนื้อเยื่อพืชมีการสังเคราะห์กลุ่มของโปรตีนชนิดพิเศษขึ้นมาเรียกว่า Heat Shock Proteins (HSPs) (Ferguson *et al.*, 2000) ซึ่งมีรายงานพบ HSPs ในผลมะเขือเทศ (Sabeheh *et al.*, 1995) ผลอะโวคาโด (Woolf, 1997) มันฝรั่ง (Berkel *et al.*, 1994) ผลมะละกอ (Paull and Chen,

1990) ผลแอปเปิ้ล (Lurie and Klein, 1990) และผลมะม่วง (Leon and Gomez, 2001) ที่ได้รับความร้อนก่อนนำไปเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

นำผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่เก็บเกี่ยวในระยะแก่ทางการค้ามีน้ำหนักอยู่ในช่วง 250 - 280 กรัม มาแช่ในน้ำที่มีอุณหภูมิ 40 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30, 45, 60 และ 75 นาที โดยแช่ผลมะม่วงทีละ 46 ผลในน้ำ 40 ลิตร จุ่มผลมะม่วงในน้ำเย็นทันทีหลังจากแช่ในน้ำร้อนเพื่อลดอุณหภูมิ ผลมะม่วงให้ผิวนอกแห้ง นำผลมะม่วงบรรจุในกล่องกระดาษขนาด กว้าง×ยาว×สูง เท่ากับ $29.5 \times 50 \times 9$ เซนติเมตร ที่มีรูด้านข้าง แล้วนำมาเก็บรักษาไว้ในที่อุณหภูมิ 5 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ สุ่มตัวอย่างผลมะม่วงออกมาทุก 4 วัน จนครบ 24 วัน เพื่อนำเนื้อมะม่วงมาสกัดโปรตีนด้วยสารละลาย extraction buffer ซึ่งประกอบด้วย SDS 1.5% (w/v) ที่มี 2-mercaptoethanol 10% และ Tris-HCl buffer 0.5 โมลาร์ พีเอช 7.5 ในอัตราส่วนน้ำหนักเนื้อมะม่วงต่อปริมาตร extraction buffer เป็น 1:2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้โดยวิธี dye binding (Caprette, 1997) ที่วัดการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบจากโปรตีนมาตรฐาน และวิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนโดยวิธี SDS-PAGE ที่มีความเข้มข้นของ acrylamide เท่ากับ 10% โดยใช้ระบบบัฟเฟอร์คือ สารละลาย Tris-HCl บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น

0.0083 โมลาร์ พีเอช 8.3 ที่มีไกลซีน 0.192 โมลาร์ และ SDS 0.1% (Laemmli, 1970) ซึ่งสามารถสังเกตแถบของโปรตีนที่แยกได้แต่ละแถบจากแถบสีน้ำเงินที่เกิดจากการย้อมสีของโปรตีนโดยสารละลาย coomassie brilliant blue R-250 ความเข้มข้น 0.1% ที่มี methanol 50% และ acetic acid 10% วิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยวัดการเคลื่อนที่ของสารละลายโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่แน่นอนจากการเคลื่อนที่ใน separating gel แล้วคำนวณหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดจากสมการ

$$\text{ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Relative mobility, } R_m) = \frac{\text{ระยะทางที่โปรตีนแต่ละแถบเคลื่อนที่}}{\text{ระยะทางที่ bromophenol blue เคลื่อนที่}}$$

นำค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (R_m) ของโปรตีนมาตรฐานแต่ละชนิดมาเขียนกราฟกับค่า log น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบโปรตีนจากเนื้อมะม่วงไปอ่านค่าเพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนแต่ละแถบจากกราฟมาตรฐาน

นำแผ่นเจลจากการทำอิเล็กโตรโฟรีซิสของโปรตีนไปถ่ายภาพและวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System ของบริษัท Synoptic Ltd., (U.S.A.) โดยใช้ Lowest slope กำหนดความกว้างของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 7 พิกเซล ความสูงของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 3 พิกเซล volume ของ peak ต่ำสุดเท่ากับ 1% และความสูงของ Filter ระบบ Savisky-Golay filter ต่ำสุดเท่ากับ 3 พิกเซล

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีน

ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ที่สกัดจากเนื้อมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ในทุกกรรมวิธีมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ตารางที่ 1) โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 0.28-0.35 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด และเมื่อเก็บรักษาครบ 24 วัน ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงมีค่าผันแปรอยู่ระหว่าง 0.31-0.40 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 1) เมื่อศึกษาผลของ

ระดับอุณหภูมิความร้อนที่ใช้แช่ผลมะม่วงต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้พบว่า ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 40 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียสมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.34 และ 0.31 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 ($P < 0.01$) (ตารางที่ 2) และเมื่อพิจารณาผลของระยะเวลาที่ใช้ในการแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้พบว่า เมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงเป็นระยะเวลา 16 วัน ผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนนาน 75 นาที มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.29 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด (ตารางที่ 2) ซึ่งมี

Table 1 The soluble protein contents in the pulp of mango fruits dipped in hot water at $40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ and $45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at $5 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 24 days.

Temperature and time for dipping mango fruits in hot water	The soluble protein contents (mg/g fresh weight)						
	Storage time (days)						
	0	4	8	12	16	20	24
Control	0.32	0.31	0.40	0.39 ^a	0.34	0.35 ^a	0.33
$40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30 minutes	0.34	0.32	0.30	0.36 ^{ab}	0.31	0.33 ^{ab}	0.33
$40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 45 minutes	0.34	0.35	0.32	0.35 ^{ab}	0.36	0.34 ^{ab}	0.33
$40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 60 minutes	0.35	0.35	0.35	0.33 ^{ab}	0.33	0.33 ^{ab}	0.32
$40 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 75 minutes	0.34	0.32	0.29	0.31 ^{ab}	0.33	0.31 ^{ab}	0.33
$45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30 minutes	0.32	0.33	0.36	0.35 ^{ab}	0.30	0.31 ^{ab}	0.31
$45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 45 minutes	0.32	0.34	0.33	0.38 ^a	0.28	0.33 ^{ab}	0.40
$45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 60 minutes	0.31	0.33	0.33	0.38 ^a	0.32	0.35 ^a	0.37
$45 \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 75 minutes	0.28	0.31	0.39	0.26 ^b	0.26	0.32 ^{ab}	0.32
LSD 0.05	0.09	0.11	0.17	0.11	0.17	0.06	0.11
CV (%)	5.95	9.58	10.97	6.43	14.24	3.04	7.20

* Mean followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD .

ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญเท่ากับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับผลมะม่วงที่แช่ในน้ำร้อนนาน 30, 45 และ 60 นาที รวมทั้งชุดควบคุมที่มีปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 0.31, 0.32, 0.33 และ 0.34 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ($P < 0.01$) ทั้งนี้อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิของน้ำ และระยะเวลาที่ใช้แช่มีปฏิสัมพันธ์กัน เมื่อเก็บรักษา

นาน 4 และ 8 วัน (ตารางที่ 2) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อแช่ผลมะม่วงในน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิสูงขึ้น ปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงลดลง สอดคล้องกับรายงานของ Key *et al.* (1981) ที่พบว่าต้นถั่วเหลืองมีการสังเคราะห์โปรตีน และมีปริมาณโปรตีนโดยรวมทั้งหมดลดลงเมื่อได้รับอุณหภูมิ 40 ± 1 องศาเซลเซียสหรืออุณหภูมิที่สูง

Table 2 The soluble protein contents in the pulp of mango fruits dipped in hot water at 40 ± 1 °C and 45 ± 1 °C for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at 5 ± 1 °C for 24 days.

Factor 1	The soluble protein contents (mg/g fresh weight)						
	Storage time (days)						
	0	4	8	12	16	20	24
Temperature							
40 ± 1 °C	0.34 ^a	0.32	0.33	0.30	0.33	0.33	0.33
45 ± 1 °C	0.31 ^b	0.30	0.35	0.35	0.33	0.33	0.35
C.V. (%)	6.04	14.29	8.98	10.51	14.38	4.34	9.36
Factor 2	Storage time (days)						
	0	4	8	12	16	20	24
Time							
30 minutes	0.33	0.30	0.33	0.35 ^a	0.31 ^a	0.33 ^a	0.32
45 minutes	0.33	0.30	0.33	0.37 ^a	0.32 ^a	0.33 ^a	0.36
60 minutes	0.33	0.34	0.34	0.35 ^a	0.33 ^a	0.34 ^a	0.35
75 minutes	0.31	0.32	0.34	0.30 ^b	0.29 ^b	0.32 ^b	0.32
C.V. (%)	17.07	14.29	11.60	7.71	16.71	4.34	9.36
Control	0.32	0.31	0.40	0.39	0.34	0.35	0.33
Factor 1	*	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
Factor 2	ns	Ns	ns	*	*	*	ns
Factor1×2	*	*	*	ns	ns	ns	ns

* Mean followed by the same letters are not significantly different at the 5% level by LSD .

* = significantly different ns = non significantly different

กว่า ในทำนองเดียวกัน Ferguson *et al.* (1994) ได้รายงานว่าผลสาลีที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาตั้งแต่ 1 – 8 ชั่วโมงมีการสังเคราะห์ Heat Shock Proteins (HSPs) แต่เมื่อผลสาลีได้รับอุณหภูมิสูง 40 ± 1 องศาเซลเซียสขึ้นไป มีการสังเคราะห์ HSPs ลดลง และเมื่อระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิสูงนานขึ้น การเสื่อมสลายของโปรตีน

เพิ่มขึ้นตามไปด้วย และผลสาลีที่ได้รับความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง มีการสลายตัวของโปรตีนสูงกว่าผลสาลีที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 42 และ 39 องศาเซลเซียส เมื่อได้รับความร้อนนานเท่ากัน คาดว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปทำให้ mRNA สลายตัว และกระบวนการการ transcription และ translation ลดลง

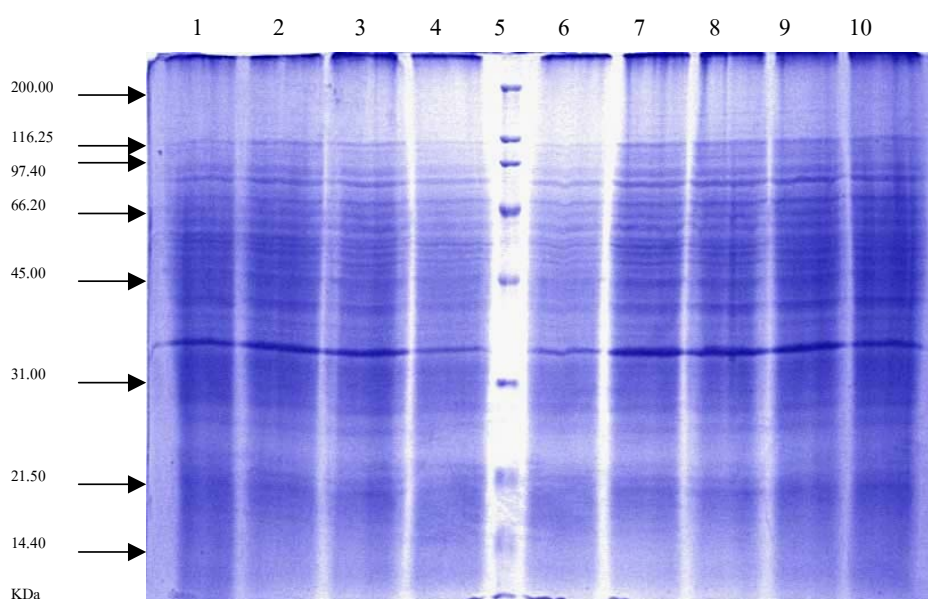


Figure 1 The protein patterns of mango pulp dipped in hot water at $40 \pm 1^\circ\text{C}$ and $45 \pm 1^\circ\text{C}$ for 30, 45, 60 and 75 minutes and then stored at $5 \pm 1^\circ\text{C}$ for 24 days.

- 1 = The protein pattern of mango pulp in control.
- 2 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $40 \pm 1^\circ\text{C}$ for 30 minutes.
- 3 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $40 \pm 1^\circ\text{C}$ for 45 minutes.
- 4 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $40 \pm 1^\circ\text{C}$ for 60 minutes
- 5 = The protein pattern of standards protein.
- 6 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $40 \pm 1^\circ\text{C}$ for 75 minutes.
- 7 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $45 \pm 1^\circ\text{C}$ for 30 minutes.
- 8 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $45 \pm 1^\circ\text{C}$ for 45 minutes.
- 9 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $45 \pm 1^\circ\text{C}$ for 60 minutes.
- 10 = The protein pattern of mango pulp dipped in hot water at $45 \pm 1^\circ\text{C}$ for 75 minutes.

2. การเปลี่ยนแปลงรูปแบบโปรตีน

รูปแบบของโปรตีนที่ได้จากผลมะม่วงในทุกระยะการเก็บรักษามีจำนวนแถบที่สังเกตได้ด้วยตาเปล่าเท่ากัน คือเท่ากับ 36 แถบ ซึ่งแถบโปรตีนส่วนใหญ่อยู่ชิดกัน (รูปที่ 1) ผลการวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่าในวันแรกของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่น้ำอุณหภูมิ 40 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 30, 45, 60 และ 75 นาที มีแถบโปรตีน 18 แถบ เท่ากับชุดควบคุม มีเพียงการแช่ผลมะม่วงในน้ำอุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที ที่ตรวจพบแถบโปรตีนหลักเพียง 17 แถบ โดยแถบโปรตีนที่พบในกรรมวิธีอื่นแต่ไม่พบในกรรมวิธีทั้งสองคือแถบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 25.11-26.84 กิโลดาลตัน

คาดว่า การได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้นและการได้รับอุณหภูมิสูงเป็นเวลานานขึ้นมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของโปรตีนบางชนิดในผลมะม่วง ซึ่งสอดคล้องกับ Leon and Gomez (2001) ที่รายงานว่าผลมะม่วงพันธุ์ Manila ที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 36 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษารูปแบบโปรตีน พบว่าผลมะม่วงที่ได้รับความร้อนก่อนการเก็บรักษาไม่พบโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 73 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในผลมะม่วงชุดควบคุม แต่ตรวจพบโปรตีนกลุ่มใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 64, 62, 32, 26, 24, และ 19 กิโลดาลตันซึ่งคาดว่า เป็น HSPs และ Woolf *et al.* (1995) รายงานว่าโปรตีนที่สังเคราะห์ HSP17 และ HSP70 ในผลอะโวคาโดพันธุ์ Hass ที่ได้รับความร้อนก่อนนำไปเก็บรักษาถูกกระตุ้นให้แสดงออกเพิ่มขึ้นเมื่อผลอะโวคาโดได้รับอุณหภูมิ 38 และ 40 องศาเซลเซียส นาน 3-10 ชั่วโมง และมีการแสดงออกของโปรตีนสูงสุดเมื่อผลอะโวคาโดได้รับอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แต่

เมื่อได้รับอุณหภูมิเพิ่มสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส การแสดงออกของโปรตีนดังกล่าวลดลง ในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาผลมะม่วงที่แช่น้ำที่อุณหภูมิ 40 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที และผลมะม่วงที่แช่น้ำที่อุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 30, 45, 60 และ 75 นาที ไม่พบแถบโปรตีนหลักที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 23.3-24.0 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในผลมะม่วงชุดควบคุมและผลมะม่วงที่แช่น้ำที่อุณหภูมิ 40 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 30 และ 45 นาที และภายหลังการเก็บรักษาวันที่ 8 เป็นต้นไป ผลมะม่วงในทุกระยะการเก็บรักษามีจำนวนแถบโปรตีนหลักเท่ากับ 16 แถบ โดยไม่พบแถบโปรตีนหลักที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 21.9-24.5 กิโลดาลตัน และ 16.1-16.7 กิโลดาลตัน ซึ่งพบในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา แสดงว่าเมื่อเก็บรักษานานขึ้นโปรตีนในเนื้อมะม่วงมีการเปลี่ยนแปลง โดยผลิตภัณฑ์เก็บรักษาเป็นเวลานานอาจมีการสลายตัวของโปรตีนหรือเปลี่ยนจากโปรตีนไปเป็นกรดอะมิโนอิสระ (จริง-แท้, 2542) การได้รับความร้อนยังมีผลในการลดการสังเคราะห์และการทำงานของเอนไซม์บางชนิดเช่นเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์เอทิลิน พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีการเสื่อมสภาพหรือหยุดการทำงานเมื่อผลิตผลได้รับความร้อนเป็นผลให้กระบวนการสังเคราะห์เอทิลินถูกยับยั้ง โดย Yang *et al.* (1990) ได้เก็บรักษาผลมะเขือเทศภายหลังที่ได้รับความร้อน มีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase ถูกยับยั้ง ส่งผลให้ปริมาณเอทิลินในผลมะเขือเทศลดลง ผลมะเขือเทศสุกช้าลงและไม่มีการตอบสนองต่อเอทิลินที่ได้รับจากภายนอก ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่าไม่ปรากฏแถบโปรตีนบางแถบเมื่อเก็บรักษาผลมะม่วงเป็นระยะ

เวลานานขึ้นนั้นอาจเกิดจากการที่โปรตีนมีการสลายตัวหรือเปลี่ยนรูปไปเป็นโปรตีนที่มีขนาดเล็กหรือเปลี่ยนเป็นกรดอะมิโนอิสระ โดยในธรรมชาติพบว่าโปรตีนเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่มีในผักและผลไม้มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างมากภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยในผลไม้ประเภท climacteric พบปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นอิสระน้อยลงเมื่อผลิตผลเข้าสู่ระยะ climacteric แสดงให้เห็นว่ามีการสร้างโปรตีนในระยะดังกล่าว แต่เมื่อผลิตผลเข้าสู่ระยะเสื่อมสภาพพบว่าปริมาณกรดอะมิโนที่เป็นอิสระเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการสลายตัวของโปรตีน จึงอาจกล่าวได้ว่าโปรตีนในผักและผลไม้เป็นโปรตีนสำหรับการทำงานหรือเพื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ (Functional protein) (จริงแท้, 2542) นอกจากนี้ Sabehat *et al.* (1996) ยังรายงานว่าผลมะเขือเทศที่ได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง มีการสังเคราะห์ HSPs ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 70 กิโลดาลตัน (HSP70) และโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 18-21 กิโลดาลตัน และผลมะเขือเทศที่ได้รับอุณหภูมิดังกล่าวแสดงอาการสะท้อนหนาวน้อยกว่าผลมะเขือเทศชุดควบคุม จึงเชื่อว่า HSPs ที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นเป็นกลุ่มโปรตีนที่ทำหน้าที่เหมือน molecular chaperone ที่จับกับโปรตีนที่เสียหายเนื่องจากสภาพเครียดต่างๆ แล้วทำให้เกิดการรวมตัวสร้างเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์อีกครั้ง และยังช่วยป้องกันการรวมตัวที่ผิดปกติของโปรตีน ส่วนโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดกับโปรตีนภายในเซลล์และโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับเยื่อหุ้ม ดังนั้น HSPs จึงสามารถเพิ่มความทนทานของเนื้อเยื่อพืชต่อการเกิดอาการสะท้อนหนาวเมื่อนำมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำได้ สอดคล้องกับ Woolf (1997) ที่รายงานว่าผล

อะโวคาโดที่แช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที ก่อนนำไปแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 องศาเซลเซียส นาน 1 สัปดาห์ แสดงอาการสะท้อนหนาวลดลง เมื่อศึกษา HSPs พบว่า ผลอะโวคาโดที่แช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส นาน 120 นาที ก่อนนำไปแช่น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีการแสดงออกของยีนส์ที่สังเคราะห์ HSPs เพิ่มขึ้น และไม่พบการแสดงออกของยีนส์ดังกล่าวในผลอะโวคาโดที่ไม่ได้รับความร้อน

สรุปผลการทดลอง

การแช่ผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 40 ± 1 และ 45 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30, 45, 60 และ 75 นาทีแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 70-75 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 24 วัน ผลมะม่วงแสดงอาการสะท้อนหนาวเมื่อเก็บรักษานาน 16 วัน และมีผลทำให้โปรตีนที่ละลายได้ในเนื้อมะม่วงที่แช่น้ำอุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียสมีปริมาณน้อยกว่าเนื้อมะม่วงที่แช่น้ำอุณหภูมิ 40 ± 1 องศาเซลเซียส ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา และรูปแบบของแถบโปรตีนจากการสังเคราะห์ด้วยตาเปล่าไม่มีความแตกต่างกัน แต่การวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนโดยใช้เครื่อง Gel Documentation and Analysis System พบว่าการแช่ผลมะม่วงในน้ำอุณหภูมิ 45 ± 1 องศาเซลเซียส นาน 60 และ 75 นาที มีแถบโปรตีนหลักน้อยกว่ากรรมวิธีอื่น และไม่ปรากฏแถบโปรตีนหลักที่มีมวลโมเลกุลต่ำบางแถบเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว (ADB)

เอกสารอ้างอิง

- จริงแท้ ศิริพานิช. 2542. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ. สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม. 369 น
- วิจิตร วังใน. 2526. มะม่วง. ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. น. 70-71.
- วิจิตร วังใน. 2533. พันธุ์มะม่วง. น. 1-17. ใน ไพบุลย์ไพรีพ่ายฤทธิ์ (ผู้รวบรวม) การทำสวนมะม่วง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.
- Caprette, D.R. 1997. "Bradford protein assay" [Online] Available <http://www.ruf.rice.edu/~bioslabs/methods/protein/bradford.html> (17 May 2002).
- Ferguson, I.B., S. Lurie and J.H. Bowen. 1994. Protein synthesis and breakdown during heat shock of cultured pear (*Pyrus communis* L.) cells. Plant Physiol. 104 : 1429-1437.
- Ferguson, I.B., S. Ben-Yehoshua, E.J. Mitcham, R.E. McDonald and S. Lurie. 2000. Postharvest heat treatments : introduction and workshop summary. Postharvest Biol. Technol. 21 : 1-6.
- Hershko, A. and A. Ciechanover. 1992. The ubiquitin system for protein degradation Ann. Rev. Biochem. 61 : 801-807.
- Key, J.L., C.Y. Lin and Y.M. Chen. 1981. Heat shock proteins of higher plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 78 : 3526-3530.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature. 227 : 680-685.
- Leon, D.M. and M.A. Gomez. 2001. Heat shock proteins in refrigerated heat pre-treated mango. Annual Meeting, Section 30B, Fruit and Vegetable Products, New Orleans, Louisiana, USA. [Online] Available http://ift.confex.com/ift/2001/techprogram/session_900.htm. (9 October 2002).
- Lurie, S. and J.D. Klein. 1990. Heat treatment of ripening apples, differential effects on physiology and biochemistry. Physiol. Plant., 78 :181-186.
- Paull, R.E. and N.T. Chen. 1990. Heat shock response in field grown, ripening papaya fruit. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 115(4) : 623-631.
- Sabehat, A., D. Weiss and S. Lurie. 1995. Persistence of heat shock proteins in heated tomato fruit and resistance to chilling injury of the fruit. Acta Hort. 398 : 11-21.
- Sabehat, A., D. Weiss and S. Lurie. 1996. The correlation between heat-shock protein accumulation, persistence and chilling tolerance in tomato fruit. Plant Physiol. 110 : 531-537.
- Wettern M., H.A. Parag, L. Pallman, I. Ohad and R.G. Kullka. 1990. Ubiquitin in *Chlamydomonas reinhardtii*. distribution in the cell and effect of heat shock and photoinhibition on its conjugate patterns. Eur. J. Biochem. 191 : 571-576.

- Woolf, B.A., C.B. Watkins, J.H. Bowan, M. Lay-Yee, J.H. Maindonald and J.B. Ferguson. 1995. Reducing external chilling injury in stored 'Hass' avocado with dry heat treatments. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120(6) : 1050-1056.
- Woolf, A.B. 1997. Reduction of chilling injuries in stored 'Hass' avocado fruit by 38 degrees C water treatments. HortScience. 32(7) : 1247-1254.
- Yang, R.F., T.S. Chenge and R.L. Shewfelt. 1990. The effect of high temperature and ethylene treatment on the ripening of tomatoes. Plant Physiol. 136 : 368-372.
-