

การเปลี่ยนแปลงปริมาณและการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทินของฝักวนิลลา

Changes in Content and Molecular Size Distribution of Pectin in Vanilla Pods

พรพรรณ นุชโพธิ์พันธุ์¹ ลำแพน ขวัญพูล¹ และ อริตามา วงศ์ชีรี²
 Pornphan Nuchpophan¹, Lampan Khurnpoon¹ and Thitima Wongsheree²

Abstract

Vanilla pod shattering before processing is a main problem. The objective of this research was to investigate the changes in pectin content and molecular size distribution of pectin in the shattering and non-shattering zones of vanilla pods. Vanilla pods were harvested at three maturity stages: immature green 0% yellow, mature 10% yellow and over mature 50% yellow. The results showed that total pectin in the non-shattering zone was higher than that in the shattering zone. However, the over mature pods had lower water soluble pectin content than those harvested at the other stages with the non-significant difference between the shattering and non-shattering zones. Water soluble pectin content from the pods harvested at all the stages was higher in the shattering zone than that in the non-shattering zone. There was higher sodium carbonate (Na_2CO_3) soluble pectin content in the shattering zone with the significant difference between the shattering zone and non-shattering zone of the pods harvested at the immature green and mature stages. The non-significant difference between the shattering and non-shattering zones was found in 1,2-cyclohexanediamine tetraacetic acid (CDTA) and potassium hydroxide (KOH) soluble pectin for all the three stages. The study of molecular size distribution of pectin in showed that the molecular size distribution of pectin solubilized in water, 1,2-cyclohexanediamine tetraacetic acid (CDTA), sodium carbonate (Na_2CO_3) and potassium hydroxide (KOH) from the pods at the over mature stage had decreased more rapidly than that in the mature and immature green stages, respectively. In addition, the molecular size distribution of pectin in the shattering zone was distribute to smaller size than that in the non-shattering zone.

Keywords: shattering, pectin, molecular size distribution

บทคัดย่อ

ฝักวนิลามักเกิดการแตกก่อนการแปรรูป วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณและการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทินในบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกของฝักวนิลลา 3 ระยะการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ระยะฝักอ่อน (สีเหลือง 0%) ฝักเริ่มเปลี่ยนสี (สีเหลือง 10%) และฝักแก่ (สีเหลือง 50%) พบร่วมบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีปริมาณเพกทินรวมมากกว่าบริเวณรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว สอดคล้องกับปริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำในบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีค่าน้อยกว่าในบริเวณรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตาม พบร่วมเมื่อเก็บเกี่ยวในระยะฝักแก่เพกทินที่ละลายได้ในน้ำมีปริมาณน้อยกว่าในระยะอื่น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก สำหรับเพกทินที่ละลายใน Na_2CO_3 พบร่วมปริมาณมากในบริเวณรอยแตก โดยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกในระยะฝักอ่อนและฝักเริ่มเปลี่ยนสี ส่วนปริมาณเพกทินที่ละลายในสารละลาย CDTA และ KOH พบร่วมไม่แตกต่างกันระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทิน พบร่วมจะยังคงแก่เมื่อการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทินที่ละลายในน้ำ CDTA, Na_2CO_3 และ KOH ลดลงมากกว่าระยะฝักเริ่มเปลี่ยนสีและฝักอ่อน ตามลำดับ โดยบริเวณรอยแตกมีการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทินลดลงมากกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก

คำสำคัญ: รอยแตก เพกทิน การกระจายตัวโมเลกุล

¹ หลักสูตรปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

² สาขาวิชาระบบที่นักศึกษาศึกษาในสาขาวิชาเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

² Institute for Scientific and Technological Research and Services, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

คำนำ

วนิลลา (Vanilla) ออยในวงศ์กล้วยไม้ (Orchidaceae) มีถิ่นกำเนิดในประเทศเม็กซิโก ผลิตผลของวนิลามีคุณค่าทางเศรษฐกิจมาก บริมานการใช้และการนำเข้าผ่านตลาดจากต่างประเทศ ในปี 2542-2550 รวม 2,997 และ 6,940 กิโลกรัม มูลค่าประมาณ 4.34 ล้านบาท และ 0.40 ล้านบาท ตามลำดับ และความต้องการผลิตวนิลามีแนวโน้มมากขึ้น (ศิริพร แสงคง, 2552) ประไชยของผ่านวนิลลาคือการนำกลิ่นมาใช้ในการปูรุ่งแต่งกลิ่น สถานที่รวมทั้งเครื่องดื่ม ชีสเค้กและขนมหม้อเพิ่มขึ้น เมื่อสีของผักเข้มขึ้น และค่อยๆ ลดลงเรื่อยๆ จนในที่สุดหมดกลิ่น ผ่านวนิลลาที่มีคุณภาพดีและเหมาะสมกับการเปลี่ยนแปลง คือ ผักกาด โดยปัจจุบันเป็นสีเหลือง แต่ในระยะนี้มักเกิดการแตกของผัก (Minoo et al., 2006) เกิดความเสียหาย ทั้งก่อนการบ่ม ระหว่างการบ่ม หรือในกระบวนการการเปลี่ยนแปลงผัก การแตกของผักพบว่าเป็นปัญหาในทางการเกษตรอย่างมาก เมื่อมีลักษณะในเชิงเดียวโดยเดิมที่ผักจะเที่ยงแต่ง บางกรณีผักอาจแตกก่อนที่เมล็ดพันธุ์เติบโต ทำให้เกิดความเสียหาย (จริงแท้, 2549; Patterson, 2001) การแตกของผลหรือผักมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพหลักของผังเซลล์ ได้แก่ เพกทิน เยมิเซลลูโลส และเซลลูโลส โดยมีเอนไซม์ที่รับบทหน้าที่รักษา เช่น polygalacturonase (PG) และ pectin methylesterase (PME) เป็นต้น ซึ่งเอนไซม์เหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับการสลายโมเลกุลของผังเซลล์ และการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวของโมเลกุล (Khungrpoon et al., 2008) โดยเฉพาะเพกทินที่ก่อให้เกิดการแตกของผลหรือผักในพืช งานนี้ รวมทั้งผ่านวนิลลา จึงได้ทำการศึกษาปริมาณและการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทินของผ่านวนิลลา

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บตัวอย่างผ่านวนิลลาจากแปลงปุกในพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงชุมทาง อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ เดือน มกราคม ถึง มีนาคม นำผ่านวนิลลาบรุณในถุงพลาสติกเจาะรู ขนาดส่วนผ่านวนิลามาทำการวิจัยที่ห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บ เก็บ หลักสูตรพืชสวน สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design ประกอบด้วย 3 ทรีเมนต์ ได้แก่ ผักอ่อน (สีเหลือง 0%) ผักเข้มเปลี่ยนสี (สีเหลือง 10%) และผักแก่ (สีเหลือง 50%) โดยแต่ละทรีเมนต์ใช้ผ่านวนิล่า 20 ฝั่ง จากนั้นทำการตัดชิ้นตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกของผัก สดแยกออกเป็นชิ้นๆ ด้วยเขียงก้อน 95% บดให้ละเอียดและกรองด้วยผ้าขาวบาง นำเฉพาะส่วนเนื้อที่กรองได้มาทำการล้างด้วยอะซีตออล บริมาตร 20 ml นำไปอบในตู้อบคุณอุณหภูมิที่ 60°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างแห้งมาบดละเอียด นำไปสกัดและเครื่องห้าบรมามเพกทินรวม (total pectin) และเพกทินที่ละลายได้ในสารละลายต่างๆ(pectin fractions) ตามลำดับ คือ บริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำ บริมาณเพกทินที่ละลายใน CDTA บริมาณเพกทินที่ละลายใน Na₂CO₃ และบริมาณเพกทินที่ละลายใน KOH นำตัวอย่างที่สกัดได้จากแต่ละชั้นตอนไปวัดบริมาณเพกทิน ดัดแปลงตามวิธีการของ Brummell และ Labavitch (1997) โดยดูดตัวอย่างจากแต่ละชั้น sodium tetraborate (Na₂B₄O₇) ความเข้มข้น 0.0125 M ใน conc. sulfuric acid (H₂SO₄) บริมาตร 4 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย m-hydroxyphenyl ความเข้มข้น 0.15% ใน sodium hydroxide (NaOH) ความเข้มข้น 0.5% บริมาตร 20 ml เขย่าส่วนผสมให้เข้ากัน และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 520nm (NaOH)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวโมเลกุลของเพกทิน โดยนำตัวอย่างที่ได้จากการสกัดเพกทินที่ละลายในสารละลายชนิดต่างๆ ข้างต้น บริมาตร 5 ml นำไปโหลดตัวอย่างลงบนคอลัมน์การกระจายตัว 200 cm³ ที่บรรจุด้วย sepharose 4B จากนั้นชำระด้วยสารละลาย sodium acetate buffer pH 6.0 โดยมีอัตราการเคลื่อนที่ของสารผ่านคอลัมน์เพากับ 1.33 cm³/min เก็บตัวอย่างที่เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 3 ml จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดปริมาณเพกทินเช่นเดียวกับวิธีการข้างต้น (Brummell and Labavitch, 1997)

ผลการทดลอง

การเปลี่ยนแปลงปริมาณเพกทินของผ่านวนิลลา

จากการสกัดเพื่อหาปริมาณเพกทินของผ่านวนิลลา พบว่าเพกทินรวมบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีปริมาณมากกว่าบริเวณที่เกิดรอยแตกในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว โดยระยะผักกาดมีปริมาณเพกทินรวมในบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมากที่สุด คือ 56.98 mg galacturonic acid/mg AIS สอดคล้องกับปริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำในบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีค่าน้อยกว่าบริเวณรอยแตกของผักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว อย่างไรก็ตาม พบว่าเมื่อเก็บเกี่ยวในระยะผักกาดเพกทินที่ละลายได้ในน้ำมีปริมาณน้อยกว่าในระยะอื่น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก สำหรับเพกทินที่ละลายใน Na₂CO₃ มีปริมาณมากในบริเวณรอยแตก โดยในระยะผักอ่อนมีปริมาณมากที่สุด คือ 21.74 mg galacturonic acid/mg AIS และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก ในระยะผักอ่อนและผักเข้มเปลี่ยนสี

ส่วนปริมาณแพกทินที่ละลายในสารละลาย CDTA และ KOH มีค่าไม่แตกต่างกันระหว่างบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว (Table 1)

การเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวโมเลกุลของแพกทิน

จากการที่ทำการเปลี่ยนแปลงการกระจายตัวโมเลกุลของแพกทิน พบร่วมจะฝักแก่มีการกระจายตัวโมเลกุลของแพกทินที่ละลายในน้ำ CDTA, Na_2CO_3 และ KOH ลดลงมากกว่าจะฝักเริ่มเปลี่ยนสีและฝักอ่อน ตามลำดับ และบริเวณรอยแตกของฝักนานิลดา มีการกระจายตัวโมเลกุลของแพกทินลดลงมากกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว (Figure 1)

Table 1 Changes in pectin content in shattering zone (SZ) and non-shattering zone (NSZ) from three maturity stages of vanilla pods

	Stages of harvest					
	Immature green 0% yellow		Mature 10% yellow		Over mature 50% yellow	
	SZ	NSZ	SZ	NSZ	SZ	NSZ
Total pectin	50.22±1.2 bB ¹	52.79±1.6 bA	53.65±0.5 aB	55.32±0.1 abA	52.82±0.3 aB	56.98±0.3 aA
Water soluble pectin	36.53±0.5 aA	35.49±0.8 aA	34.45±0.1 bA	30.52±0.5 bB	31.63±0.5 cA	30.28±0.1 bA
CDTA soluble pectin	28.13±1.9 aA	29.42±1.8 aA	25.84±0.7 bA	23.20±1.0 bA	18.58±0.5 cA	17.50±0.2 cA
Na_2CO_3 soluble pectin	21.74±1.7 aA	16.60±0.5 bB	17.09±0.5 bA	13.69±1.4 bB	15.04±0.3 cA	14.59±0.5 abA
KOH soluble pectin	6.05±0.2 aA	5.21±0.2 aA	5.73±0.4 abA	5.25±0.3 aA	4.83±0.4 bA	4.00±0.8 bA

¹ Mean ± SD followed by different small or capital letters within row are significantly different by DMRT, $P < 0.05$

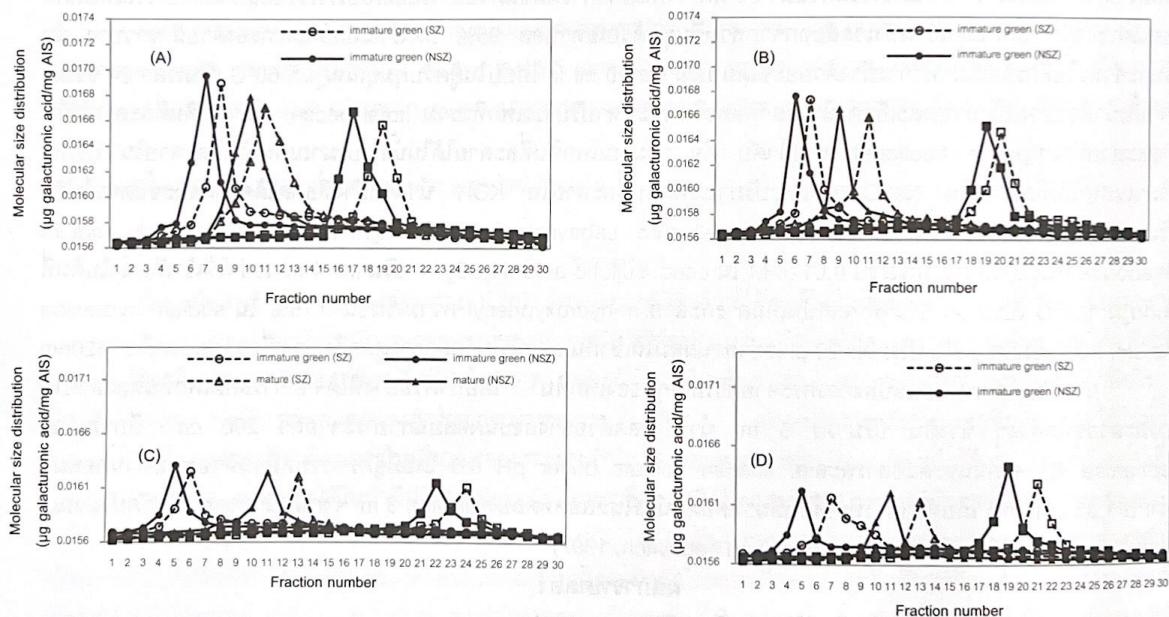


Figure 1 Molecular size distribution of water (A), CDTA (B), Na_2CO_3 (C) and KOH (D) soluble fraction in shattering and non-shattering zone from three maturity stages of vanilla pods

วิจารณ์ผล

จากการทดลอง พบร่วมจะการเก็บเกี่ยวของฝักนานิลดา ที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณและการกระจายตัวโมเลกุลของแพกทิน รวมทั้งบริเวณรอยแตกและบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก โดยบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีปริมาณแพกทินรวมมากกว่าบริเวณรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว ลดลงตามลำดับ ตามที่ได้กล่าวไว้ในน้ำ บริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมีค่าที่สูงกว่าในบริเวณรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว นอกจากนี้ในระยะฝักแก่แพกทินที่ละลายได้ในน้ำ จะมากกว่าจะฝักเริ่มเปลี่ยนสีและระยะฝักอ่อน เนื่องจากปริมาณของแพกทินที่ละลายได้ในน้ำเพิ่มขึ้นตามการพัฒนาของการ

สูก โดยมีค่าเพิ่มมากขึ้นที่จะยับผลสุกหรือฝักแก่ ส่วนเพกทินที่ละลายใน CDTA และ Na_2CO_3 มีปริมาณลดลงเมื่อความสูกเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับพืชชนิดอื่น เช่น มะเขือเทศ (Huber, 1983) อุ่น (Nunan et al., 1998) ทุเรียน (Khunthipoom et al., 2008) และมะลอก (ศิริพานิช, 2554) เป็นต้น และในขณะที่จะยับฝักแก่มีปริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำเพิ่มมากขึ้น ส่วนที่ไม่ละลายลดลง เช่นเดียวกับแก่นของโมเลกุลของเพกทินที่จะถูกสลายให้เล็กลง เช่น กัน (จริงแท้, 2550; Rugkong et al., 2010) izophy ที่บ่งบอกว่ากราดจายตัวโมเลกุลของเพกทินที่ละลายในน้ำ CDTA, Na_2CO_3 และ KOH ในระยะฝักแก่ลดลงมากกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแยก และการกราดจายตัวโมเลกุลของเพกทินที่ละลายในน้ำ CDTA, Na_2CO_3 และ KOH ในระยะฝักแก่ลดลงมากกว่าในระยะฝักที่เปลี่ยนสีและระยะฝักอ่อน แสดงให้เห็นว่าการแตกของฝักวนิดลาก็ใช้วิธีนี้กับการสลายโมเลกุลของผนังเซลล์โดยเฉพาะเพกทิน

สรุป

บริเวณที่เกิดรอยแตกมีปริมาณเพกทินรวมน้อยกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก ส่วนบริเวณรอยแตกมีปริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำมากกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกของฝักในทุกระยะของการเก็บเกี่ยว โดยระยะฝักแก่มีปริมาณเพกทินรวมในบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตกมากที่สุด ในขณะที่ระยะฝักอ่อนมีปริมาณเพกทินที่ละลายได้ในน้ำบริเวณรอยแตกมากที่สุด และบริเวณรอยแตกมีการกราดจายตัวโมเลกุลของเพกทินที่ละลายได้ในสารละลายชนิดต่างๆ ลดลงมากกว่าบริเวณที่ไม่เกิดรอยแตก โดยในระยะฝักแก่มีการกราดจายตัวโมเลกุลของเพกทินลดลงมากกว่าระยะฝักที่เปลี่ยนสีและฝักอ่อน ตามลำดับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงชุมชนวัง อ. แม่วาง จ.เชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้วยย่างฝักวนิดลากและขอขอบคุณห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยว หลักสูตรพืชสวน คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่างๆ ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- จริงแท้ ศิริพานิช. 2550. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวิเคราะห์ของพืช. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, นครปฐม. 453 หน้า.
พิรญา คงยุทธิ วาริช ศรีลักษณ์ และ ศิริรัช ภัลยานันต์. 2554. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของผนังเซลล์ของมะลอกอันสืบต่อและเร GOODMAN ภาคต่อที่จะยับความแก่ต่างๆ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรฯ 42: 107-110.
ลักษ ลีวงศ์, อธิมา วงศ์ชัย, สุเมธ ทำนันเจริญ, วันเพ็ญ วรรณศิริพงศา และ ชนะ พรมทอง. 2553. การผลิต การตลาดและการวิจัยวนิดลากในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตรฯ 41: 469-472.
Brummell, D.A. and J.M. Labavitch. 1997. Effect of antisense suppression of endopolygalacturonase activity on polyuronide molecular weight in ripening tomato fruit and in fruit homogenates. Plant Physiology 115: 717-725.
Huber, D. J. 1983. The role of cell wall hydrolases in fruit softening. Horticulture Review Journal 5: 169-215.
Khunthipoom, L., J. Siriphani and J. M. Labavitch. 2008. Cell wall metabolism during durian fruit dehiscence. Postharvest Biology and Technology 48: 391-401.
Minoo, D., N. K. Babu and K. V. Peter. 2006. Conservation of vanilla species, in vitro. Scientia Horticulturae. 110: 175-180.
Nunan, J.K., I.M.Sims, A. Bacic, S. P. Robinson and G. B. Fincher. 1998. Change in cell wall composition during ripening of grape berries. Plant Physiology 118: 783-792.
Patterson, S. E. 2001. Cutting loose: Abscission and dehiscence in *Arabidopsis*. Plant Physiol. 126: 494-500.
Rugkong, A., J. K. C. Rose, S. J. Lee, J. J. Giovannoni, M. A. O'Neill and C. B. Watkins. 2010. Cell wall metabolism in cold-stored tomato fruit. Postharvest Biology and Technology 57: 106-113.