

หัวข้อคุณิพนธ์	ผลของก๊าซคลอรีนไดออกไซด์ต่อสถานภาพรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานและการกำจัดอนุมูลอิสระของเปลือกผลลำไยพันธุ์คอระหว่างการเก็บรักษา	
ผู้เขียน	นายอริวัฒน์ ชุ่มแย้ม	
ปริญญา	ปรัชญาคุษฎีบัณฑิต (ชีววิทยา)	
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผศ. ดร. กอบเกียรติ แสงนิล ผศ. ดร. จำนงค์ อุทัยบุตร ผศ. ดร. ลลิตา แซงค์	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

สถานภาพรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานของไมโทคอนเดรียและการกำจัดอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา สภาพแวดล้อม และการควบคุมเมแทบอลิซึม การเปลี่ยนแปลงศักยภาพรีดอกซ์ในไมโทคอนเดรียและการกำจัดอนุมูลอิสระอาจเกี่ยวข้องกับความเครียดออกซิเดชันซึ่งนำไปสู่การเสื่อมสภาพของพืช ดังนั้นการศึกษานี้เพื่อแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงสถานภาพรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานและการกำจัดอนุมูลอิสระกับการเสื่อมสภาพของผลลำไยพันธุ์คอระหว่างการเก็บรักษา รวมทั้งศึกษาผลของก๊าซคลอรีนไดออกไซด์ (chlorine dioxide, ClO₂) ต่อสถานภาพรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานและการกำจัดอนุมูลอิสระ และต่อการชะลอการเสื่อมสภาพ

การทดลองแรกเป็นการศึกษาผลของ ClO₂ ต่อสถานภาพรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานระหว่างการเก็บรักษาผลลำไยพันธุ์คอ โดยนำผลลำไยมารมด้วย ClO₂ ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 5, 10 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บรักษาผลในกล่องกระดาษที่อุณหภูมิ 25±1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 82±5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 7 วัน พบว่าปริมาณอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) และระดับพลังงาน (energy charge, EC) รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ในการหายใจ ได้แก่ ซักซิเนตดีไฮโดรจีเนส (succinate dehydrogenase, SDH) และไซโทโครมซีออกซิเดส (cytochrome c oxidase, CCO) ของผลลำไยในชุดควบคุมลดลงตลอดการเก็บรักษา การทดลองนี้สัมพันธ์กับการลดลงของสถานภาพรีดอกซ์ซึ่งวัดจากสัดส่วนของนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (nicotinamide

adenine dinucleotide, NAD^+/NADH) และยูบิควิโนน (ubiquinone, Q/QH_2) รวมทั้งยังพบความสัมพันธ์กับการเสื่อมสภาพของผลลำไยโดยประเมินจากการเกิดสีน้ำตาลและการเกิดโรค อย่างไรก็ตามในชุดที่รมด้วย ClO_2 มีปริมาณ ATP และ EC กิจกรรมของ SDH และ CCO รวมทั้งสัดส่วนของ NAD^+/NADH เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทันทีที่ภายหลังการรมก๊าซและปรากฏผลอยู่เป็นเวลาถึง 4 วัน ในขณะที่สัดส่วนของ Q/QH_2 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงแรก แต่เพิ่มขึ้นหลังการรมก๊าซแล้ว 4 วัน ทั้งนี้การรมด้วย ClO_2 ความเข้มข้นสูง (10 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีประสิทธิภาพสูงกว่าการรมด้วยความเข้มข้นต่ำ (5 มิลลิกรัมต่อลิตร) แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสถานภาพรีดอกซ์และการเพิ่มพลังงานโดย ClO_2 นี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการชะลอการเสื่อมสภาพของผลลำไยในระหว่างการเก็บรักษา

การทดลองถัดมาเป็นการศึกษาผลของ ClO_2 ต่อสถานภาพรีดอกซ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษาผลลำไยพันธุ์ดอที่อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 82 ± 5 เปอร์เซ็นต์ โดยนำผลลำไยมารมด้วย ClO_2 ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 5, 10 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บรักษาผลในกล่องกระดาษเช่นเดียวกับการทดลองแรก พบว่าสถานภาพรีดอกซ์ซึ่งวัดจากสัดส่วนของแอสคอร์เบต (ascorbate, ASA/DHA) กลูตาไธโอน (glutathione, GSH/GSSG) และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$) ของผลลำไยในชุดควบคุมลดลงตลอดการเก็บรักษา ขณะที่ในชุดที่รมด้วย ClO_2 พบว่าสัดส่วนเหล่านี้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วทันที แต่ลดลงหลังจากนั้น นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ในการสร้าง NADPH ได้แก่ กลูโคส-6-ฟอสเฟต ดีไฮโดรจีเนส (glucose-6-phosphate dehydrogenase) และ 6-ฟอสโฟกลูโคเนต ดีไฮโดรจีเนส (6-phosphogluconate dehydrogenase) และกิจกรรมของเอนไซม์ในวัฏจักรแอสคอร์เบต-กลูตาไธโอน ได้แก่ แอสคอร์เบต เปอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase) ดีไฮโดรแอสคอร์เบต รีดักเทส (dehydroascorbate reductase) โมโนดีไฮโดรแอสคอร์เบต รีดักเทส (monodehydroascorbate reductase) และกลูตาไธโอน รีดักเทส (glutathione reductase) เพิ่มขึ้น ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ ClO_2 นอกจากนี้ ClO_2 ยังมีผลลดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และการเสื่อมสภาพของผลในเรื่องการเกิดสีน้ำตาลและการเกิดโรคระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งการใช้ ClO_2 ความเข้มข้นสูง (10 และ 25 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีประสิทธิภาพสูงกว่าความเข้มข้นต่ำ (5 มิลลิกรัมต่อลิตร)

ผลการทดลองเหล่านี้แสดงให้เห็นว่า สมดุลของรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานและการกำจัดอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องโดยตรงกับการเสื่อมสภาพของผลลำไย และ ClO_2 มีผลในการปรับสมดุลของรีดอกซ์ในการผลิตพลังงานและการกำจัดอนุมูลอิสระ ทำให้สามารถลดและชะลอการเสื่อมสภาพของผลลำไยพันธุ์ดอระหว่างการเก็บรักษาได้

Dissertation Title	Effects of Gaseous Chlorine Dioxide on Redox Status in Energy Production and Free Radical Scavenging of ‘Daw’ Longan Pericarp During Storage	
Author	Mr. Athiwat Chumyam	
Degree	Doctor of Philosophy (Biology)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Kobkiat Saengnil	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Jamnong Uthaibutra	Co-advisor
	Asst. Prof. Dr. Lalida Shank	Co-advisor

ABSTRACT

Redox status in mitochondrial energy production and free radical scavenging capabilities play a pivotal role in responding to physiological and environmental changes and metabolic control. Changes of redox potential in mitochondria and free radical scavenging may associate with oxidative stress leading to plant senescence. The aims of this study were (1) to demonstrate the involvement of an alteration of the redox status in energy production and free radical scavenging and fruit senescence of longan (*Dimocarpus longan* Lour. cv. Daw) during storage and (2) to investigate the effects of gaseous chlorine dioxide (ClO_2) both on the redox status in energy production and free radical scavenging and on delaying senescence.

Effects of ClO_2 on redox status in energy production during storage of ‘Daw’ longan fruit were first examined. Freshly harvested longan fruits were fumigated with 0 (control), 5, 10 or 25 mg L^{-1} ClO_2 for 10 minutes and then stored in a cardboard box at $25\pm 1^\circ\text{C}$ with $82\pm 5\%$ relative humidity for 7 days. Adenosine triphosphate (ATP) content and energy charge (EC) as well as the activities of respiratory enzymes such as succinate dehydrogenase (SDH) and cytochrome *c* oxidase (CCO) in the untreated control fruits were found to be steadily decreased during storage. These reductions coincided with the decrease in redox status as determined by nicotinamide adenine

dinucleotide (NAD^+/NADH) and ubiquinone (Q/QH_2) ratios and with fruit senescence evaluated from pericarp browning and the onset of disease. However, ATP content, EC, SDH and CCO activities as well as NAD^+/NADH ratio of the fumigated group were immediately and markedly increased after treatment. The effects can be seen up to 4 days of storage. No change in the Q/QH_2 ratio was observed but it increased after 4 days of fumigation. Higher concentrations of ClO_2 (10 and 25 mg L^{-1}) were found to be more effective than the lower one (5 mg L^{-1}). This indicated that altered redox state and increased energy by ClO_2 were associated with a delay in fruit senescence during storage.

The effects of ClO_2 treatment on free radical scavenging in 'Daw' longan fruits stored at $25\pm 1^\circ\text{C}$ with $82\pm 5\%$ relative humidity was then investigated. Fresh longan fruit were fumigated with 0 (control), 5, 10 and 25 mg L^{-1} ClO_2 for 10 minutes and then stored in cardboard box as previously described. Redox status, determined by ASA/DHA, GSH/GSSG and $\text{NADPH}/\text{NADP}^+$ ratios, was found to be steadily decreased in the control fruits during storage. However, these ratios increased rapidly and immediately after treatment and declined steadily afterwards. The activities of NADPH-generating enzymes including glucose-6-phosphate dehydrogenase and 6-phosphogluconate dehydrogenase and ASA-GSH cycle enzymes, including ascorbate peroxidase, monodehydroascorbate reductase, dehydroascorbate reductase and glutathione reductase were upregulated depending on the concentration of ClO_2 . ClO_2 treatment also decreased hydrogen peroxide content and fruit senescence, including browning and the onset of disease symptoms of pericarp during storage. Higher concentrations of ClO_2 (10 and 25 mg L^{-1}) were more effective than the lower one (5 mg L^{-1}).

These results indicated that redox balance in energy production and free radical scavenging directly associated with longan senescence and ClO_2 could restore the redox balance in energy production and free radical scavenging, leading to reduction and delay in 'Daw' longan fruit senescence during storage.