

**Thesis Title** Microscopic Anatomy and Chemical Components of Normal and Chilling Injured Longan Fruit Pericarps

**Author** Miss Somkit Jaitrong

**Degree** Doctor of Philosophy (Postharvest Technology)

**Thesis Advisory Committee** Prof. Dr. Nithiya Rattanapanone Chairperson  
 Dr. Elizabeth A. Baldwin Member  
 Assoc. Prof. Dr. Danai Boonyakiat Member

### ABSTRACT

Microscopic anatomy was of longan fruit pericarps cv. Daw and Biew Kiew were assessed using a stereomicroscope, light microscope (LM), scanning electron microscope (SEM) and transmission electron microscope (TEM). It was found that there were many natural crackings on the outer surface of longan pericarp. The thin discontinuous cuticle covered the surface, and there were trichomes and a few stomata scattered on the pericarp. The transverse section was observed by LM, SEM and TEM. The pericarp thickness in cv. Daw was about 518-644  $\mu\text{m}$  (average 575  $\mu\text{m}$ ) and about 476-630  $\mu\text{m}$  (average 552  $\mu\text{m}$ ) in cv. Biew Kiew. The pericarp of both cultivars had similar ultrastructure and consisted of three layers including exocarp, mesocarp (thickness was about 70% of the total pericarp) and endocarp. The layers differed by cell shape and arrangement. In addition, the inner side was slightly curved when assessed by SEM. Longan fruits cv. Daw and Biew Kiew were stored at 5°C, 90±2% relative humidity (RH) appeared symptoms of chilling injury on day 6 and severe chilling injury on day 14 and 10, respectively. Microscopic anatomy of chilling injured pericarp showed flaking of the cuticle, damaged trichomes on the surface and damaged parenchyma cell walls in the mesocarp. Separation and dissolution of the middle lamella and cell walls were evident resulting in a lack of

cellular adhesion when assessed by LM. Electrolyte leakage in fruit pericarp increased during chilling injury. However, moisture content decreased in both varieties of longan fruit with an increase severity of chilling injury symptoms. PPO activity of inner pericarp increased with showed peak on day 10, following the outer pericarp PPO activity showed peak on day 12. PPO activity gradually decreased until the discoloration spread over the whole pericarp. The identification of phenolic compounds in normal and chilling injured longan fruit pericarps of both cultivars was accomplished using freeze-dried samples extracted with 80% aqueous methanol. High performance liquid chromatography-photodiode array (HPLC-PDA) analysis of the methanol extracts demonstrated a very large number of phenolic compounds that were similar in both cultivars. The main classes of phenolic compounds were tentatively identified as ellagic acid and flavone glycosides (quercetin and kaempferol) and a set of unknown compounds. Quercetin and kaempferol contents of longan pericarp cv. Biew Kiew decreased faster than cv. Daw during chilling injury. The unknown compounds were separated using size-exclusion P2 chromatography, followed by thin layer chromatography (TLC) and HPLC separation of the purified, followed by analysis with fourier transform spectroscopic (FTIR). They appeared excellent correlations for the ratio of the intensities of vibration with hydroxycinnamate. The cell wall components, total dietary fiber (TDF), pectin and lignin of both cultivars ranged from 6.95 to 7.62 g, 0.61 to 0.97 g and 0.019 to 0.024 g/100g DW, respectively. TDF increased and pectin decreased in cv. Biew Kiew, but not in cv. Daw and lignin slightly increased with severity of chilling injury in pericarp of both cultivars.

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

จุลกายวิภาคและองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกผลลำไยปกติ  
และที่เกิดอาการสะท้านหนาว

ผู้เขียน

นางสาวสมคิด ใจตรง

ปริญญา

วิทยาศาสตร์คุษุภินัตติ (วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ศ.ดร. นิธิยา รัตนานนท์

ประธานกรรมการ

ดร. อธิชาเบต เอ บาลค์วิน

กรรมการ

รศ.ดร. คณัย บุญเกียรติ

กรรมการ

**บทคัดย่อ**

ผลการศึกษาจุลกายวิภาคของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอและเบี้ยวเขียวด้วยกล้องจุลทรรศน์ สเตอริโอ (stereomicroscope) กล้อง light microscope (LM) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องผ่าน (transmission electron microscope; TEM) พบว่าที่ผิวหนังนอกของเปลือกผลลำไยมีรูเปิดธรรมชาติ ซึ่งมีลักษณะเป็นรอยแตกทั่วผิวผล มีคิวติเคิลบางๆ ปกคลุมอย่างไม่ต่อเนื่อง มี ไตร-โคม (trichomes) และสโตมาตา (stomata) กระจายอยู่บนผิวเปลือก เมื่อตัดเปลือกผลลำไยตามขวางและศึกษาภายใต้กล้อง LM, SEM และ TEM พบว่าความหนาของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ และพันธุ์เบี้ยวเขียว คือ 518-644 ไมโครเมตร (เฉลี่ย 575 ไมโครเมตร) และ 476-630 ไมโครเมตร (เฉลี่ย 552 ไมโครเมตร) ตามลำดับ เปลือกของผลลำไยทั้งสองพันธุ์มีโครงสร้างคล้ายกัน สามารถแบ่งตามรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์ได้เป็น 3 ชั้น คือ ชั้นนอก (exocarp) ชั้นกลาง (mesocarp) ซึ่งมีความหนาประมาณ 70% ของความหนาทั้งเปลือก และชั้นใน (endocarp) ขณะที่ผิวหนังในของเปลือกผลลำไยมีลักษณะเป็นคลื่นเล็กน้อยเมื่อดูภายใต้กล้อง SEM ผลลำไยพันธุ์ดอและเบี้ยวเขียวระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 95% เริ่มแสดงอาการสะท้านหนาวเมื่อเก็บรักษานาน 6 วัน และมีอาการรุนแรง เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 และ 14 วัน ตามลำดับ ลักษณะจุลกายวิภาคของเปลือกผลลำไยที่แสดงอาการ

สะท้อนหนาว คือ คิวติเคิล แดกออกเป็นชั้นเล็กชั้นน้อย ผิวไตรโคมเกิดการหลุดลอกเสียหาย และผนังเซลล์ของเซลล์พารენไคมาโดยเฉพาะในบริเวณชั้นกลางของเปลือกเกิดความเสียหาย มีการแยกและสลายตัวของ middle lamella รวมถึงผนังเซลล์ของเซลล์พารენไคมา โดยพบว่าผนังเซลล์และบริเวณระหว่างเซลล์ที่เชื่อมติดกันมีสีซีดจางลงเมื่อดูภายใต้กล้อง LM นอกจากนี้ยังพบการร่วงไหลของสารอิเล็กโตรไลต์เพิ่มขึ้น ความชื้นของเปลือกทั้งสองพันธุ์ลดลง กิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่บริเวณด้านในของเปลือกและมีกิจกรรมสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน เปลือกด้านนอกมีกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเพิ่มขึ้นและสูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงอย่างต่อเนื่องจนเป็นสีน้ำตาลและน้ำกระจายทั่วทั้งเปลือก เมื่อวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลในเปลือกผลลำไยปกติและที่เกิดอาการสะท้อนหนาว โดยใช้เปลือกผลลำไยที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dried) และสกัดด้วย 80% เมทานอล นำสารที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC-PDA พบสารประกอบฟีนอลจำนวนมากและมีรูปแบบที่คล้ายกันทั้งสองพันธุ์ สารประกอบฟีนอลที่วิเคราะห์ได้ คือ กรดเอลลาจิก (ellagic acid) ฟลาโวนโกลโคไซด์ (เคอเซทินและเคมเฟอร์อล) และสารประกอบที่ไม่สามารถจำแนกได้ (unknown compounds) ระหว่างเกิดอาการสะท้อนหนาวปริมาณเคอเซทินและเคมเฟอร์อลในเปลือกผลลำไยพันธุ์เบี้ยวเขียวลดลงรวดเร็วกว่าพันธุ์ดอกกลุ่มของสารประกอบที่ไม่สามารถจำแนกได้ เมื่อนำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วย P2 โครมาโทกราฟี เพื่อแยกสารประกอบตามขนาดโมเลกุล และแยกให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วย TLC และ HPLC และวิเคราะห์ด้วย Fourier transform spectroscopic (FTIR) พบว่ามีสเปกตรัมที่คล้ายกับสารประกอบกลุ่มไฮดรอกซีชิน-นามิต จึงช่วยยืนยันในขั้นต้นได้ว่าสารประกอบที่ไม่สามารถจำแนกได้นี้เป็นสารประกอบกลุ่มไฮดรอกซีชินนามิต สำหรับองค์ประกอบของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอกและเบี้ยวเขียวมีปริมาณใกล้เคียงกัน ซึ่งประกอบด้วยปริมาณใยอาหารทั้งหมดอยู่ในช่วง 6.95 ถึง 7.62 กรัมเพกทิน 0.61 ถึง 0.97 กรัม และลิกนิน 0.019 ถึง 0.024 กรัม/กรัมของน้ำหนักแห้ง เปลือกผลลำไยพันธุ์เบี้ยวเขียวที่เกิดอาการสะท้อนหนาวมีปริมาณใยอาหารทั้งหมดเพิ่มขึ้น เพกทินลดลง และลิกนินเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในทั้งสองพันธุ์