



การลดอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพาและใบกะเพราหลังการเก็บเกี่ยวด้วยเมลานิน: การศึกษาความเสียหายจากออกซิเดชันและกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับฟีนอลิกภายใต้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Alleviating chilling injury in postharvest sweet basil and holy basil leaves by melatonin: insights into oxidative damage and phenolic-related enzymatic activities under low-temperature storage

ธนากร วิชัยยา^{1*} และ สิริวิชญ์ โชติกะคาม²

Thanakorn Vichaiya^{1*} and Sirawich Chotikakham²

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา จังหวัดพระนครศรีอยุธยา 13000

¹ Division of Biology, Faculty of Science and Technology, Phranakhon Si Ayutthaya Rajabhat University, Ayutthaya, 13000

² ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

² Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajabhat University, Ratchaburi, 70150

บทคัดย่อ: โหระพา (*Ocimum basilicum*) และกะเพรา (*Ocimum tenuiflorum*) เป็นพืชที่ไวต่ออุณหภูมิต่ำ ซึ่งแสดงอาการสะท้อนหนาวเป็นจุดสีน้ำตาลที่ผิวใบ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเมลานินต่อการลดอาการสะท้อนหนาว ความเสียหายจากออกซิเดชัน และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับฟีนอลิกในใบโหระพาและกะเพรา โดยใช้เมลานินความเข้มข้น 0, 50, 100, 200 และ 400 μM ฉีดพ่นก่อนการเก็บรักษาที่ 6 °C เป็นเวลา 8 วัน ผลการทดลองพบว่า ใบกะเพราเริ่มแสดงอาการสะท้อนหนาวตั้งแต่วันที่ 2 และมีค่าเกินระดับที่ยอมรับได้ในวันที่ 4 ขณะที่ใบโหระพาเริ่มแสดงอาการในวันที่ 4 และเกินระดับที่ยอมรับได้ในวันที่ 6 การใช้เมลานิน 200 μM สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ถึง 2 วัน และลดอาการสะท้อนหนาวในพืชทั้งสองชนิดได้ 20–22% เทียบกับชุดควบคุมตลอดการเก็บรักษา นอกจากนี้ เมลานินสามารถลดการรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ 9% ในโหระพา และ 24% ในกะเพรา ลดระดับมาลอนไดแอลดีไฮด์ 12% และ 21% ลดปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 18% และ 31% ตามลำดับ นอกจากนี้ เมลานินยังช่วยรักษาศักยภาพต้านอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับที่สูงกว่าชุดควบคุม 23% ในโหระพา และ 58% ในกะเพรา และเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิก 13% และ 62% ตามลำดับ นอกจากนี้ เมลานินยังลดกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสและเพอร์ออกซิเดสในกะเพรา 19% และ 24% ตามลำดับ แม้โหระพาจะตอบสนองทางสรีรวิทยาได้ต่ำกว่ากะเพรา แต่เมลานินสามารถลดอาการสะท้อนหนาวได้ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นถึงกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดพืช

คำสำคัญ: เมลานิน; อาการสะท้อนหนาว; การตอบสนองทางสรีรวิทยา; โหระพา; กะเพรา

ABSTRACT: Sweet basil (*Ocimum basilicum*) and holy basil (*Ocimum tenuiflorum*) are sensitive to low temperatures and typically exhibit chilling injury (CI) as brown spots on the leaf surface. This study aimed to investigate the effects of melatonin on alleviating CI, oxidative damage, and phenolic-related enzymatic activities in sweet and holy basil leaves. Melatonin was sprayed at concentrations of 0, 50, 100, 200, and 400 μM before storage at 6 °C for 8 days. The results showed that holy basil began to exhibit CI on day 2 and surpassed the acceptable threshold by day 4, whereas sweet basil started showing symptoms on day 4 and exceeded the threshold by day 6. Application of 200 μM melatonin can extend shelf life up to 2 days and reduce CI in both species by 20–22% compared to the control throughout storage. Additionally, melatonin can reduce electrolyte leakage by 9% in sweet basil and 24% in holy

* Corresponding author; thanakorn@aru.ac.th

Received: date; April 3, 2025 Revised: date; September 4, 2025

Accepted: date; September 4, 2025 Published: date; December 18, 2025

basil, decrease malondialdehyde level by 12% and 21%, and lower hydrogen peroxide content by 18% and 31%, respectively. Melatonin also maintained antioxidant capacity by 23% higher than the control in sweet basil and 58% in holy basil, and increased total phenolic content by 13% and 62%, respectively. Furthermore, melatonin also reduced polyphenol oxidase and peroxidase activities in holy basil by 19% and 24%, respectively. Although sweet basil responds physiologically less than holy basil, melatonin can still reduce CI to a similar extent, which indicates different mechanisms of action in each plant species.

Keywords: melatonin; chilling injury; physiological responses; sweet basil; holy basil

บทนำ

โหระพา (*Ocimum basilicum* var. *thyrsiflora*) และกะเพรา (*Ocimum tenuiflorum*) เป็นพืชผักสวนครัวที่มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว นิยมใช้ใบสดปรุงรสอาหาร และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ โดยในปี พ.ศ. 2567 ใบโหระพาและกะเพรามีมูลค่าทางการค้าภายในประเทศสูงถึง 278 และ 251 ล้านบาท ตามลำดับ (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2567) นอกจากนี้ความนิยมในการบริโภคใบโหระพาและกะเพราในต่างประเทศยังมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง จึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีการเก็บรักษาและการขนส่งโหระพาและกะเพราทางไกลให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามพืชทั้งสองมีอายุการเก็บรักษาสั้นหลังจากที่ถูกเก็บเกี่ยวเพียง 1-2 วัน (ที่อุณหภูมิห้อง) ทั้งนี้การเก็บรักษาพืชผักที่อุณหภูมิต่ำเป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อใช้ยืดอายุผลผลิตทางการเกษตร (Aghdam and Bodbodak, 2013) อย่างไรก็ตาม พืชทั้งสองชนิดมีความไวต่ออุณหภูมิต่ำเป็นอย่างมาก โดยใบจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำภายใน 1-2 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-6 °C ลักษณะดังกล่าวเรียกว่า “อาการสะท้อนหนาว” (chilling injury) (Chotikakham et al., 2023; ธิติมา, 2551) ซึ่งส่งผลให้ใบที่เกิดอาการไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการลดการเกิดอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพาและกะเพราเพื่อเป็นประโยชน์เชิงการค้าในระหว่างการขนส่งที่อุณหภูมิต่ำหรือระหว่างการจัดจำหน่ายที่อุณหภูมิต่ำ เช่น ในซูเปอร์มาร์เก็ต

ตามรายงานของ ณัฐชัย และ วาริช (2550) แสดงให้เห็นว่าพืชในวงศ์กะเพรา (Lamiaceae) มักจะสร้างและเก็บสะสมน้ำมันหอมระเหยและสารฟีนอลิกในต่อมที่หลังใบเป็นจำนวนมาก เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำตมน้ำมันดังกล่าวมักจะแตกออกและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำ นอกจากนี้ Wongsheree et al. (2009) และ Supapvanich et al. (2015) พบว่าการเกิดอาการสะท้อนหนาวในใบแมงลักมีความสัมพันธ์กับความเสียหายออกซิเดชันไขมันของเยื่อหุ้ม อาจเป็นเพราะว่าความเครียดจากอุณหภูมิต่ำที่พืชได้รับ กระตุ้นให้เกิดการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระกลุ่มออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) เร่งกระบวนการออกซิเดชันภายในเซลล์ โดยเฉพาะโมเลกุลไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ที่ไวต่อการถูกออกซิไดซ์โดย ROS ทำให้โครงสร้างเยื่อหุ้มเสียหายได้ง่าย ส่งผลให้สารประกอบภายในเซลล์รั่วออกมาทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศจนเกิดเป็นจุดสีน้ำตาลคล้ำบนผิวใบ อย่างไรก็ตาม พืชมีกลไกการป้องกันอนุมูลอิสระ (antioxidant defense system) ซึ่งควบคุมระดับ ROS ภายในเซลล์ให้อยู่ในระดับที่ไม่เป็นอันตราย (Aghdam and Bodbodak, 2013) สอดคล้องกับรายงานของ Rodeo and Mitcham (2024) ที่พบว่าใบโหระพาและกะเพราที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง มักแสดงอาการสะท้อนหนาวน้อยกว่า ดังนั้นการส่งเสริมศักยภาพของระบบต้านออกซิเดชัน จึงน่าจะเป็นหนึ่งในกลไกที่ช่วยให้พืชวงศ์กะเพราทนทานต่ออาการสะท้อนหนาว

การฉีดพ่นสารเคมีบางชนิดให้กับพืชก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ สามารถช่วยลดและป้องกันการเกิดอาการสะท้อนหนาวได้ดังที่มีรายงานการฉีดพ่นกรดออกซาลิก (oxalic acid) ให้กับใบกะเพราก่อนนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ช่วยลดอาการสะท้อนหนาวได้ดี โดยกรดออกซาลิกมีบทบาทในการรักษาโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ช่วยลดโอกาสที่สารฟีนอลิกในต่อมน้ำมันจะเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศ (Suamuang et al., 2016) ซึ่งให้ผลลัพธ์ที่คล้ายกันพบในใบแมงลักที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยกรดซาลิซิลิก (salicylic acid) ก่อนการเก็บรักษา มีผลเพิ่มศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ สัมพันธ์กับระดับของอาการสะท้อนหนาวที่ลดลง (Supapvanich et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานการแช่ใบโหระพาด้วยเมทิลซาลิไซเลต (methyl salicylate) และกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ก่อนเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ สามารถลดการเกิดอาการสะท้อนหนาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยสารทั้งสองชนิดมีบทบาทสำคัญในการช่วยรักษาโครงสร้างของเนื้อเยื่อใบภายใต้ภาวะเครียดจากอุณหภูมิต่ำ (Chotikakham et al., 2023; Chotikakham and Janhom, 2025)

เมลาโทนิน (melatonin) หรือ N-acetyl-5-methoxytryptamine เป็นอนุพันธ์ของอินโดเลมีน (indoleamine) ที่พบในสัตว์และพืชชั้นสูง มีบทบาทสำคัญต่อการเจริญเติบโตและเสริมสร้างความทนทานต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเครียดจากอุณหภูมิต่ำ (Shah et al., 2023) นอกจากนี้ งานวิจัยทางคลินิกยืนยันว่าการใช้เมลาโทนินในปริมาณไม่เกิน 10 mg ต่อวัน มีความปลอดภัยต่อมนุษย์ (Andersen et al., 2021) และมีรายงานการศึกษาจำนวนมากที่นำเมลาโทนินมาใช้กับผลผลิตทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อป้องกันและบรรเทาความเครียดจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำหรืออาการสะท้อนหนาว เช่น การแช่ผลสับปะรดในสารละลายเมลาโทนิน 500 และ 1000 μM นาน 2 ชั่วโมง ก่อนการเก็บรักษาที่ 10 °C นาน 28 วัน ช่วยลดอาการไส้สีน้ำตาลซึ่งเป็นลักษณะของอาการสะท้อนหนาวให้ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (พฤติยา และคณะ, 2566) การแช่พริกหยวกในสารละลายเมลาโทนิน 100 μM นาน 30 นาที ก่อนการเก็บรักษาที่ 4 °C นาน 20 วัน ช่วยลดอาการสะท้อนหนาวได้เป็นอย่างดีมีประสิทธิภาพ (Kong et al., 2020) อย่างไรก็ตาม พืชแต่ละชนิดตอบสนองต่อเมลาโทนินในความเข้มข้นและระยะเวลาที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังไม่มีรายงานการใช้เมลาโทนินเพื่อลดอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพาและกะเพราหลังการเก็บเกี่ยว

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) หาความเข้มข้นของเมลาโทนินที่เหมาะสมต่อการลดอาการสะท้อนหนาวของใบโหระพาและกะเพราหลังการเก็บเกี่ยว และ (2) ศึกษากลไกทางสรีรวิทยาของเมลาโทนินที่ช่วยเพิ่มความทนทานต่ออาการสะท้อนหนาว โดยมุ่งเน้นที่ (2.1) การรักษาโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ภายใต้ความเครียดจากความหนาวเย็น (2.2) การส่งเสริมศักยภาพต้านออกซิเดชันเพื่อควบคุมระดับของ ROS ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อ และ (2.3) การยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล (ผ่านกระบวนการออกซิเดชันของฟีนอลิก)

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างพืชทดลอง

โหระพาไทยพันธุ์ใบใหญ่ (*Ocimum basilicum* var. *thyriflora*) และกะเพราขาวพันธุ์ใบใหญ่ (*Ocimum tenuiflorum*) กิ่งแก่ที่พร้อมเก็บเกี่ยวในเชิงการค้า ถูกเก็บจากสวนในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการภายในเวลา 2 ชั่วโมง คัดเลือกเฉพาะกิ่งที่สมบูรณ์ ความยาว 25–30 cm (4–5 ข้อปล้อง) น้ำหนักตอกิ่ง 12–15 กรัม เพื่อใช้สำหรับการทดลองต่อไป

การออกแบบการทดลอง

การออกแบบการทดลองใช้รูปแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) แบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้:

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของเมลาโทนินต่อการเกิดอาการสะท้อนหนาวของใบโหระพาและกะเพรา พืชแต่ละชนิดแบ่งเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 12 กิ่ง พืชแต่ละกลุ่มได้รับการฉีดพ่นสารละลายเมลาโทนิน (A.K. Scientific Co., Ltd., India) ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 200 หรือ 400 μM ผสมสารช่วยเกาะผิว (Tween 20) ความเข้มข้น 0.05% ฉีดพ่น 15 mL ต่อกิ่ง จนสารละลายไหลล้น (runoff) จากนั้นผึ่งลม 15 นาที แล้วบรรจุในถุงพลาสติก (PE) ขนาด 30 × 45 cm เพื่อจำลองการวางขายผักสดในซูเปอร์มาร์เก็ต ถุงมีรูระบายอากาศ 8 รู (เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 cm) บรรจุจำนวน 4 กิ่งต่อถุง (กลุ่มละ 3 ถุง) ปิดปากถุงด้วยยางรัด พืชแต่ละกลุ่มเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 6 ± 1 °C และความชื้นสัมพัทธ์ $75 \pm 5\%$ เป็นเวลา 8 วัน ระหว่างที่เก็บรักษาทำการสุ่มตัวอย่างพืช ทุกๆ 2 วัน เพื่อประเมินอาการสะท้อนหนาวและการสูญเสียน้ำหนัก ความเข้มข้นของสารละลายเมลาโทนินที่สามารถลดอาการสะท้อนหนาวได้ดีที่สุดในใบโหระพาและกะเพราจะถูกคัดเลือกไปใช้ต่อในการทดลองที่ 2

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของเมลาโทนินต่อความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้ม ศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ และกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับฟีนอลิกของใบโหระพาและกะเพราระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ พืชแต่ละชนิดถูกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 40 กิ่ง โดยกลุ่มทดลองได้รับการฉีดพ่นสารละลายเมลาโทนินความเข้มข้น 200 μM และชุดควบคุมได้รับน้ำกลั่น จากนั้นผึ่งลม เก็บใส่ถุงพลาสติกและนำไปเก็บรักษาในสภาพควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ตามการทดลองที่ 1 ระหว่างที่เก็บรักษาทำการสุ่มตัวอย่างพืช จำนวน 8 กิ่งต่อกลุ่ม ทุก ๆ 2 วัน เพื่อนำไปวิเคราะห์ความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้ม ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

และศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันฟีนอลิกปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของเอนไซม์ฟีนอลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส

การประเมินอาการสะท้อนหนาว

อาการสะท้อนหนาวประเมินจากพื้นที่สีน้ำตาลที่ปรากฏบนผิวใบ โดยแบ่งเป็น 5 ระดับ ตามวิธีการของ Wongsheree et al. (2009) โดยมีระดับดังนี้: 1 ไม่เกิดอาการสะท้อนหนาว, 2 เกิดอาการสะท้อนหนาวเล็กน้อย มีพื้นที่สีน้ำตาลประมาณ 1–5%, 3 เกิดอาการสะท้อนหนาวปานกลาง มีพื้นที่สีน้ำตาลประมาณ 6–20%, 4 เกิดอาการสะท้อนหนาวมาก มีพื้นที่สีน้ำตาลประมาณ 21–50% และ 5 เกิดอาการสะท้อนหนาวรุนแรง มีพื้นที่สีน้ำตาลเกิน 50% ดัชนีอาการสะท้อนหนาวถูกคำนวณตามสมการ: ดัชนีอาการสะท้อนหนาว = ผลรวมของระดับอาการสะท้อนหนาวในตัวอย่างทั้งหมด / จำนวนตัวอย่างทั้งหมด โดยเกณฑ์การยอมรับสำหรับใบโหระพาและกะเพราค่าดัชนีอาการสะท้อนหนาวไม่เกิน 3

การสูญเสียน้ำหนัก

ทำการชั่งน้ำหนักของตัวอย่างทุก 2 วัน ตลอดการเก็บรักษา เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักถูกคำนวณตามสมการ: ร้อยละการสูญเสียน้ำหนัก = [(น้ำหนักเริ่มต้น - น้ำหนักหลังเก็บรักษา) / น้ำหนักเริ่มต้น] × 100

การประเมินความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเซลล์

ความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มประเมินจาก (1) การรั่วไหลของสารอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte leakage, EL) และ (2) ปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA)

ปริมาณ MDA วิเคราะห์ตามวิธีการของ Velikova et al. (2000) โดยนำใบของตัวอย่างพืชหั่นละเอียดจำนวน 5 กรัม บดสกัดด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid) ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 50 mL จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยแรง 5,000 × g ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนของเหลวใสปริมาตร 1 mL ผสมกับกรดไทโอบาร์บิโตนิก (thiobarbituric acid) ความเข้มข้น 0.5% ในกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้น 20% ปริมาตร 2 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปต้มในอ่างน้ำเดือด เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ 532 (A₁) และ 600 (A₂) nm ด้วย UV-1900i spectrophotometer (Shimadzu, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณปริมาณ MDA ตามสมการ: ปริมาณ MDA (nmol) = [(A₁-A₂)/155] × 1000

ค่า EL วิเคราะห์ตามวิธีการของ Cheng et al. (1985) โดยนำใบของตัวอย่างพืชจำนวน 10 ใบต่อกลุ่ม มาล้างด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) 3 ครั้ง จากนั้นเจาะด้วยที่เจาะจุก (cork borer) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm จำนวน 3 รูต่อใบ นำชิ้นใบที่เจาะแล้วจำนวน 10 ชิ้นต่อกลุ่มใส่ลงในขวดที่มีน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 25 mL ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้วนำสารละลายมาวัดค่าการนำไฟฟ้า (E1) ด้วย ST3030 JEDTO Conductivity/Temp Meter (Santa Technology, Thailand) จากนั้นนำไปแช่ในอ่างเดือดนาน 15 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าการนำไฟฟ้า (E2) อีกครั้ง นำค่าการนำไฟฟ้าที่ได้ไปคำนวณตามสมการ: ค่า EL (%) = (E1/E2) × 100

การวิเคราะห์ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) และศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ

ปริมาณ H₂O₂ วิเคราะห์ตามวิธีการของ El-Shabrawi et al. (2010) และ Kaur et al. (2016) โดยนำใบของตัวอย่างพืชหั่นละเอียดจำนวน 5 กรัม บดสกัดด้วยกรดไตรคลอโรอะซิติก ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 50 mL จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยแรง 5,000 × g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C นำส่วนของเหลวใสปริมาตร 1 mL ผสมกับสารละลายเฟอร์รัสออกซิเดชันไซลิโนลออเรนจ์ (ferrous oxidation-xyleneol orange) ปริมาตร 2 mL แล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 nm คำนวณปริมาณ H₂O₂ (nmol) โดยการเปรียบเทียบกับสารละลาย H₂O₂ มาตรฐาน

ศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ตามวิธีการของ Mun'im (2003) โดยนำใบของตัวอย่างพืชหั่นละเอียดหนัก 5 กรัม บดสกัดด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 50 mL จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนด้วยแรง 5,000 × g ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที นำส่วนของเหลวใสปริมาตร 0.05 mL ผสมกับโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (sodium acetate buffer) ความเข้มข้น 0.1 M (pH 5.5) ปริมาตร 3 mL และสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.12 mM ในเอทานอล 95% ปริมาตร 2.95 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วย

วิธีวิเคราะห์ DPPH คำนวณจากค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่น้ำกลั่นแทนสารสกัดจากพืช ดังสมการ: ศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ (% การยับยั้ง DPPH) = $[(A \text{ blank} - A \text{ sample}) / A \text{ blank}] \times 100$ โดยที่ A blank = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดที่ไม่ใส่สารสกัด และ A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดลองที่มีสารสกัด

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก

ปริมาณสารฟีนอลิก วิเคราะห์ตามวิธีการของ Ketsa and Atantee (1998) โดยนำใบของตัวอย่างพืชแห้งละเอียดจำนวน 5 กรัม บดสกัดด้วย 95% เอทานอล 50 mL นำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 5,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที นำส่วนของเหลวใส ปริมาตร 0.2 mL ผสมกับสารละลายฟอลินซิโอแคลเตอูเรเจนต์ (Folin-Ciocalteu reagent) ความเข้มข้น 10% ปริมาตร 1 mL และสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 0.8 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm เทียบกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกมาตรฐาน (gallic acid equivalent, GAE) และคำนวณปริมาณฟีนอลิก ในหน่วยของ mg GAE/g FW

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับออกซิเดชันของสารฟีนอลิก

กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันของสารฟีนอลิก วิเคราะห์จาก (1) กิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) และ (2) กิจกรรมของเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (POD) ตามวิธีการของ Huang et al. (1990) และ Jiang (1999)

นำใบของพืชแห้งละเอียดจำนวน 5 กรัม บดสกัดด้วยโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (sodium phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.1 M (pH 6.8) ปริมาตร 25 mL และเติมโพลีไวนิลไพโรลิโดน (PVP) จำนวน 0.5 กรัม นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 10,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที ดูดเอาชั้นของเหลวใสไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD และปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ PPO นำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปริมาตร 0.1 mL ผสมกับโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.4 mL และ 4-เมทิลแคทีคอล (4-methylcatechol) ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 0.5 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm เป็นเวลา 5 นาที กำหนดให้ค่าการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสง 0.01 หน่วยต่อนาที เท่ากับ 1 U โดยกิจกรรมของเอนไซม์ PPO แสดงหน่วยเป็น U/mg protein

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ POD นำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปริมาตร 0.1 mL ผสมกับโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (pH 6.8) ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2.7 mL และกัวไอคอล (guaiacol) ความเข้มข้น 4% ปริมาตร 0.1 mL และ H_2O_2 ความเข้มข้น 1% ปริมาตร 0.1 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 470 nm เป็นเวลา 5 นาที กำหนดให้ค่าการเปลี่ยนแปลงของการดูดกลืนแสง 0.01 หน่วยต่อนาที เท่ากับ 1 U โดยกิจกรรมของเอนไซม์ POD แสดงหน่วยเป็น U/mg protein

ปริมาณโปรตีนในสารสกัดเอนไซม์ วิเคราะห์ตามวิธีการของ Lowry et al. (1951) เทียบกับโปรตีนมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน (bovine serum albumin) โดยปริมาณโปรตีนที่วัดได้มีหน่วยเป็น mg

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารฟีนอลิก

กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารฟีนอลิกวิเคราะห์จาก กิจกรรมของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส (phenylalanine ammonia lyase, PAL) ดัดแปลงวิธีการจาก López-Gálvez et al. (1996)

โดยนำใบของตัวอย่างพืชแห้งละเอียดจำนวน 5 กรัม บดสกัดด้วยโซเดียมบอเรตบัฟเฟอร์ (sodium borate buffer) ความเข้มข้น 50 mM (pH 8.8) ที่มีส่วนผสมของ 2-เมอร์แคปโตเอทานอล (2-mercaptoethanol) ความเข้มข้น 7 mM และกรดเอทิลีนไดอะมีนเตตราอะซิติก (EDTA) ความเข้มข้น 1 mM ปริมาตร 20 mL จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความแรง 10,000 x g ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 20 นาที ดูดเอาชั้นของเหลวที่ได้ไปวิเคราะห์กิจกรรมของ PAL และปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์กิจกรรมของ PAL โดยนำสารสกัดหยาบเอนไซม์ปริมาตร 0.1 mL ผสมกับโซเดียมบอเรตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 M (pH 8.8) ปริมาตร 1.9 mL และแอลฟีนิลอลานีน (L-phenylalanine) ความเข้มข้น 20 mM ปริมาตร 1 mL เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่ 30 °C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วย H_2SO_4 ความเข้มข้น 3 M ปริมาตร 0.1 mL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 290 nm กำหนดให้ค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลง 0.001 ต่อนาที เท่ากับ 1 U และกิจกรรมของเอนไซม์ PAL แสดงหน่วยเป็น U/mg protein

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลถูกวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) ด้วยโปรแกรม Statistics Package for Social Sciences (SPSS), version 26 (Chicago, IL, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดทดลองในช่วงเวลาเดียวกัน ด้วยวิธีของทูกีย์ (Tukey's multiple range test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สำหรับการศึกษความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่าง ๆ ใช้วิธีการของเพียร์สัน (Pearson's correlation) โดยอาศัยข้อมูลจากทุกช่วงเวลาตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 8 ของการเก็บรักษา

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ผลของเมลาโทนินต่อการเกิดอาการสะท้อนหนาวของใบโหระพาและกะเพรา

จากผลการทดลองพบว่า ใบโหระพาชุดควบคุมเริ่มแสดงอาการสะท้อนหนาวในวันที่ 4 และมีค่าดัชนีอาการสะท้อนหนาวเกินระดับที่ยอมรับได้ (> 3) ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาที่ 6°C การฉีดพ่นเมลาโทนินก่อนการเก็บรักษาด้วยความเข้มข้น 50, 100, 200 และ $400\ \mu\text{M}$ ใบเริ่มแสดงอาการสะท้อนหนาวในวันที่ 4 และเมลาโทนินที่ความเข้มข้น 100, 200 และ $400\ \mu\text{M}$ ช่วยลดความรุนแรงของการเกิดอาการสะท้อนหนาวได้ใกล้เคียงกัน 20–22% (เทียบกับชุดควบคุมเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา) โดยมีค่าดัชนีการเกิดอาการสะท้อนหนาวเกินระดับการยอมรับในวันที่ 8 (ยี่ดระยะเวลาการยอมรับออกไป 2 วัน) ขณะที่เมลาโทนินที่ความเข้มข้น $50\ \mu\text{M}$ ให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (Figure 1A)

ในใบกะเพราชุดควบคุมเริ่มแสดงอาการตั้งแต่วันที่ 2 และมีค่าดัชนีเกินระดับยอมรับในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาที่ 6°C การใช้เมลาโทนินความเข้มข้น $200\ \mu\text{M}$ ช่วยลดอาการสะท้อนหนาวที่เกิดขึ้นได้ถึง 20% (เทียบกับชุดควบคุมเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา) โดยมีค่าดัชนีการเกิดอาการสะท้อนหนาวเกินระดับยอมรับในวันที่ 6 (ยี่ดระยะเวลาการยอมรับออกไป 2 วัน) ขณะที่เมลาโทนินที่ความเข้มข้น 50, 100 และ $400\ \mu\text{M}$ ให้ผลลดอาการสะท้อนหนาวไม่แตกต่างจากชุดควบคุม (Figure 2A)

การสูญเสียน้ำหนักหลังการเก็บเกี่ยวเป็นสาเหตุหลักของอาการเหี่ยวเฉา จากผลการทดลองพบว่า ใบโหระพาและกะเพราชุดควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา ใบโหระพาและกะเพราสูญเสียน้ำหนักคิดเป็น 15% และ 14% ตามลำดับ การฉีดพ่นเมลาโทนินด้วยความเข้มข้น 100 และ $200\ \mu\text{M}$ ก่อนการเก็บรักษาที่ 6°C ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้เฉลี่ย 11% และ 15% ตามลำดับ (เทียบกับชุดควบคุมเฉลี่ยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา) ขณะที่ใบกะเพราที่ได้รับเมลาโทนินที่ความเข้มข้น 100 และ $200\ \mu\text{M}$ ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้เฉลี่ย 15% และ 16% ตามลำดับ ทั้งนี้เมลาโทนินที่ความเข้มข้น 50 และ $400\ \mu\text{M}$ ให้ผลไม่แตกต่างจากชุดควบคุมในพืชทั้งสองชนิด (Figures 1B and 2B)

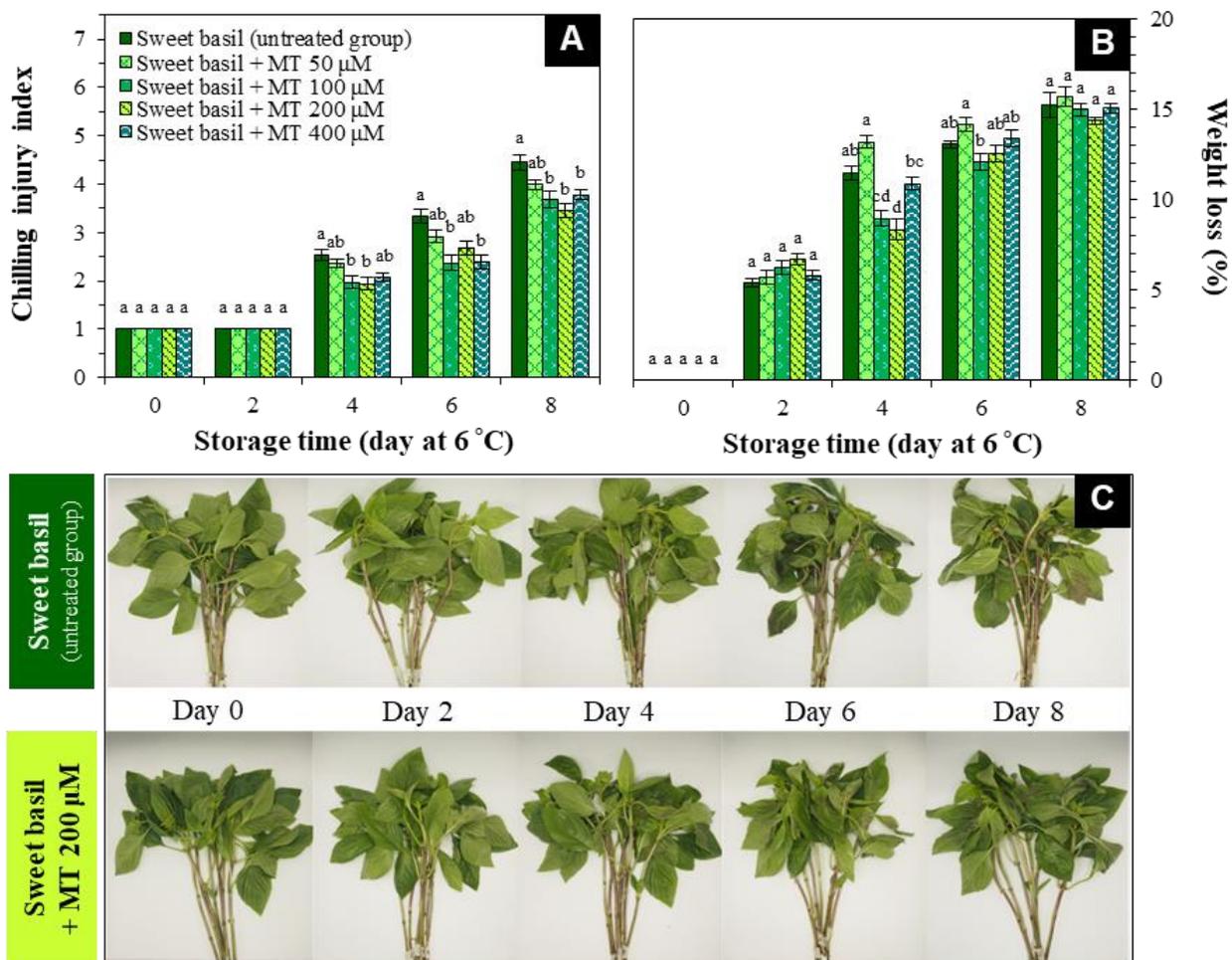


Figure 1 Changes in chilling injury index (A), weight loss (B) and visual appearance (C) in untreated and melatonin (MT)-treated groups of sweet basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Values are presented as mean ± SEM (n = 12). Different letters above the bars indicate significant differences between treatments on the same day, as determined by Tukey's multiple range test ($p \leq 0.05$).

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า อาการสะท้อนหนาวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการสูญเสียน้ำหนักในใบโหระพา ($r = 0.919$) และกะเพรา ($r = 0.977$) (Tables 1 and 2) สะท้อนให้เห็นว่าอาการสะท้อนหนาวที่เกิดขึ้นกับพืชทั้งสองชนิด อาจเกี่ยวข้องกับการฉีกขาดของเนื้อเยื่อ ทำให้เกิดบาดแผลและเป็นช่องทางให้เกิดการสูญเสียน้ำเพิ่มขึ้น (ชัยพิชิต และ ดนัย, 2556) นอกจากนี้ยังพบว่า ใบกะเพราที่มีความไวต่ออาการสะท้อนหนาวสูงกว่าโหระพาระหว่างการเก็บรักษาที่ 6 °C สันนิษฐานว่าใบกะเพราอาจมีโครงสร้างและระบบป้องกันที่อ่อนแอต่ออุณหภูมิต่ำมากกว่าโหระพา จึงทำให้เกิดอาการสะท้อนหนาวเร็วและรุนแรงกว่า จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อเปรียบเทียบกับใบโหระพา และพัฒนาแนวทางการเก็บรักษาที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิด

การใช้เมลานินความเข้มข้น 100, 200 และ 400 μM สามารถลดอาการสะท้อนหนาวได้สูงสุดในใบโหระพา (Figure 1A) ขณะที่เมลานินความเข้มข้น 200 μM ให้ผลลดอาการสะท้อนหนาวได้สูงสุดในใบกะเพรา (Figure 2A) ซึ่งสอดคล้องกับผลการสูญเสียน้ำหนักของพืชทั้งสองชนิด โดยกลุ่มที่ได้รับเมลานินมีแนวโน้มสูญเสียน้ำน้อยกว่าชุดควบคุมตลอดช่วงการเก็บรักษา (Figures 1B and 2B) จากผลดังกล่าวผู้วิจัยจึงเลือกใช้เมลานินที่มีความเข้มข้น 200 μM สำหรับการศึกษาทั่วโลกในการลดอาการสะท้อนหนาวเนื่องจากให้ผลดีในพืชทั้งสองชนิดอย่างสม่ำเสมอ โดยคาดว่ากลไกของเมลานินอาจเกี่ยวข้องกับการลดความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเซลล์ การเพิ่มศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ หรือการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับฟีนอลิก ซึ่งจะได้อภิปรายในส่วนถัดไป ทั้งนี้ความเข้มข้นของเมลานินที่เลือกใช้ยังสอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้า ซึ่งระบุว่าช่วงความเข้มข้น

100–200 μM ให้ผลดีที่สุดในการยับยั้งอาการสะท้อนหนาวในผลผลิตทางการเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว เช่น มะเขือเทศ แตงกวา พริกหวาน และมะเขือม่วง (Song et al., 2022; Shah et al., 2024)

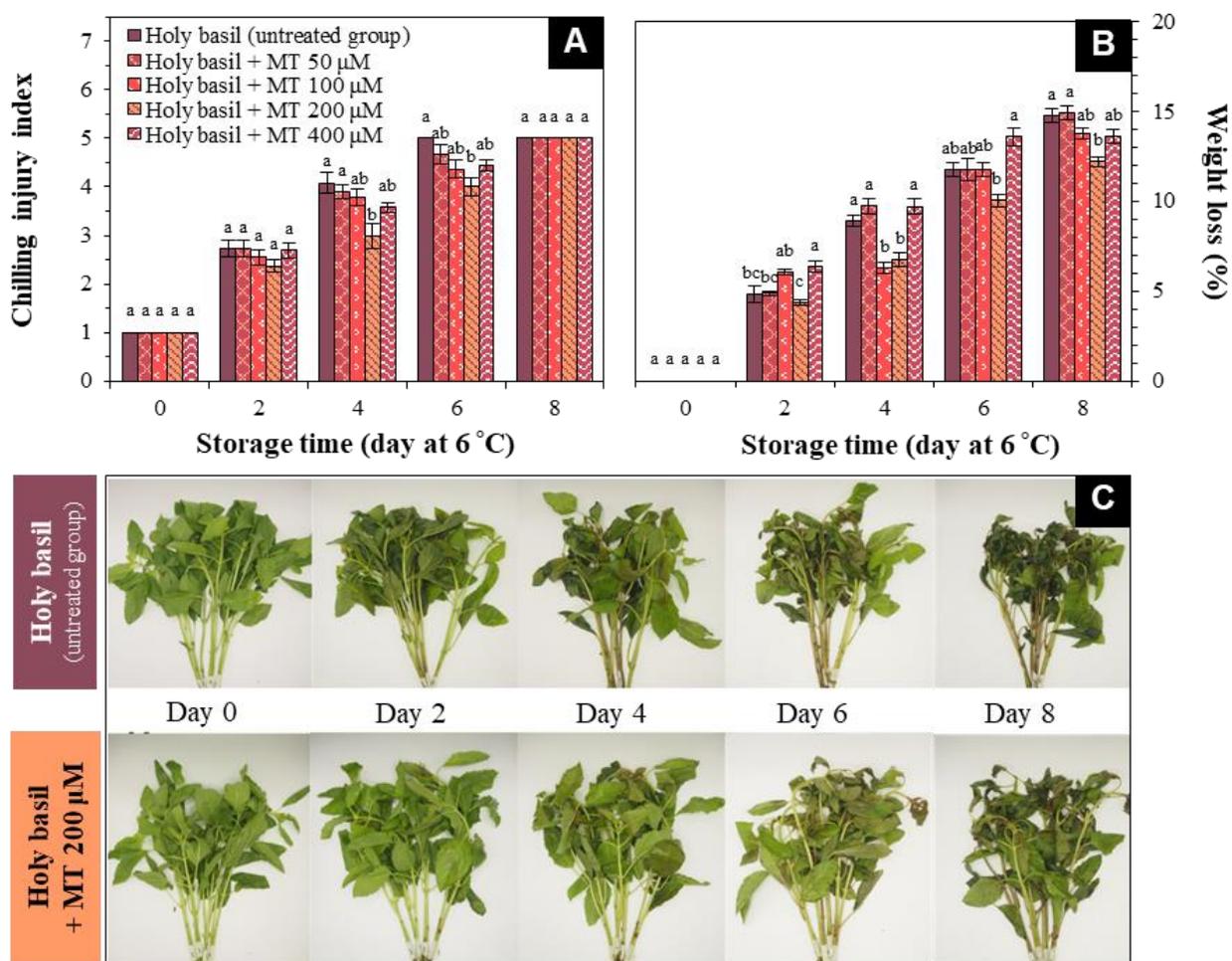


Figure 2 Changes in chilling injury index (A), weight loss (B) and visual appearance (C) in untreated and melatonin (MT)-treated groups of holy basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Values are presented as mean \pm SEM (n = 12). Different letters above the bars indicate significant differences between treatments on the same day, as determined by Tukey's multiple range test ($p \leq 0.05$).

ผลของเมลานินต่อความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มของใบโหระพาและกะเพราระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เยื่อหุ้มเซลล์ของใบโหระพาและกะเพรามีความเสียหายเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่ 6 °C โดยประเมินจากค่า EL และปริมาณ MDA ซึ่งเป็นตัวชี้วัดความเสียหายของโครงสร้างไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของเยื่อหุ้มเซลล์

จากผลการทดลองในชุดควบคุม ค่า EL ในใบโหระพาเพิ่มจาก 8% (วันที่ 0) เป็น 28% ในวันที่ 8 เช่นเดียวกับใบกะเพรามีค่า EL เพิ่มจาก 6% เป็น 32% ในเวลาเดียวกัน ในกลุ่มที่ได้รับเมลานิน 200 μM ใบโหระพามีค่า EL เพิ่มจาก 7% (วันที่ 0) เป็น 27% ในวันที่ 8 โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 9% ตลอดการเก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลานินมีค่า EL เพิ่มจาก 9% เป็น 24% ในเวลาเดียวกัน โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 24% ตลอดการเก็บรักษา (**Figure 3A**)

จากผลการทดลองในชุดควบคุม ปริมาณ MDA ในใบโหระพาเพิ่มจาก 14.8 nmol/g FW (วันที่ 0) เป็น 20.7 nmol/g FW ในวันที่ 8 เช่นเดียวกับใบกะเพรามีปริมาณ MDA เพิ่มจาก 13.8 nmol/g FW เป็น 19.1 nmol/g FW ในเวลาเดียวกัน ในกลุ่มที่ได้รับ

เมลานิน 200 μM ใบโหระพามีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นจาก 14.8 nmol/g FW (วันที่ 0) เป็น 20.7 nmol/g FW ในวันที่ 8 โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 12% ตลอดการเก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลานินมีปริมาณ MDA เพิ่มขึ้นจาก 13.7 nmol/g FW เป็น 19.1 nmol/g FW ในเวลาเดียวกัน โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 21% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 3B)

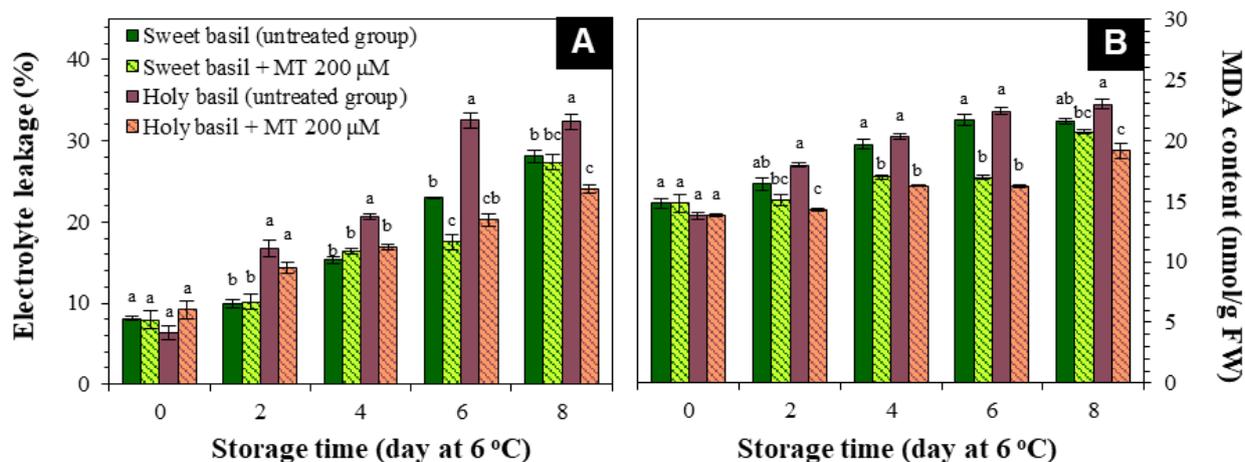


Figure 3 Changes in EL (A) and MDA content (B) in untreated and melatonin (MT)-treated groups of sweet basil and holy basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Values are presented as mean \pm SEM (n = 3). Different letters above the bars indicate significant differences between treatments on the same day, as determined by Tukey's multiple range test ($p \leq 0.05$).

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่า ค่า EL และ MDA มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอาการระคายเคืองผิวหนังในใบโหระพา ($r = 0.988$ และ 0.939 ตามลำดับ) และกะเพรา ($r = 0.974$ และ 0.997 ตามลำดับ) (Tables 1 and 2) ซึ่งชี้ให้เห็นถึงความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเซลล์ที่เพิ่มขึ้นเป็นปัจจัยสำคัญ ชักนำไปเกิดอาการระคายเคืองผิวหนังของใบโหระพาและกะเพรา

เมลานินมีผลลดค่า EL และ MDA ในใบโหระพาและกะเพรา (Figures 3A and 3B) ทั้งนี้ใบกะเพราตอบสนองต่อเมลานินในการลดค่า EL และ MDA ได้ดีกว่าใบโหระพา แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการตอบสนองต่อเมลานินที่แตกต่างในพืชทั้งสองชนิด ซึ่งอาจเกิดจากกลไกการป้องกันทางสรีรวิทยาที่แตกต่างของพืชแต่ละชนิด ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Song et al. (2022) ที่พบว่าเมลานินสามารถลดค่า EL และ MDA รวมทั้งชะลอการเกิดอาการระคายเคืองผิวหนังในผลมะเขือม่วงอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม แม้ว่าใบโหระพาจะตอบสนองต่อเมลานินในการลดค่า EL และ MDA ที่น้อยกว่าใบกะเพรา แต่เมลานินสามารถลดอาการระคายเคืองผิวหนังได้ใกล้เคียงกันในพืชทั้งสองชนิด (Figures 1A and 2A) ซึ่งอาจบ่งชี้ถึงการออกฤทธิ์ของเมลานินผ่านกลไกอื่นที่ไม่ได้จำกัดแค่การป้องกันความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มในใบโหระพา

ผลของเมลานินต่อศักยภาพต้านอนุมูลอิสระของใบโหระพาและกะเพราระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

ผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเซลล์ของใบโหระพาและกะเพราเกิดความเสียหายเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาโดยประเมินจากค่า EL และ MDA ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับการสะสมของ H_2O_2 หนึ่งใน ROS ที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นภายใต้ความเครียดจากความหนาวเย็น การประเมินระดับ H_2O_2 ร่วมกับ MDA และศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ช่วยสะท้อนระดับความเครียดออกซิเดชันและศักยภาพต้านอนุมูลอิสระของพืชทั้งสองชนิดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

จากผลการทดลองในชุดควบคุม ปริมาณ H_2O_2 ในใบโหระพาเพิ่มขึ้นจาก 75 nmol/g FW (วันที่ 0) เป็น 374 nmol/g FW ในวันที่ 8 เช่นเดียวกับใบกะเพรามีปริมาณ H_2O_2 เพิ่มขึ้นจาก 24 nmol/g FW เป็น 450 nmol/g FW ในเวลาเดียวกัน ในกลุ่มที่ได้รับเมลานิน 200 μM ใบโหระพามีปริมาณ H_2O_2 เพิ่มขึ้นจาก 75 nmol/g FW (วันที่ 0) เป็น 287 nmol/g FW ในวันที่ 8 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าชุด

ควบคุมเฉลี่ย 18% ตลอดการเก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลานินมีปริมาณ H_2O_2 เพิ่มขึ้นจาก 24 nmol/g FW เป็น 272 nmol/g FW ในช่วงเวลาเดียวกัน โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 31% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 4A)

จากผลการทดลองในชุดควบคุม ศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในใบโหระพาลดลงจาก 79% (วันที่ 0) เป็น 44% ในวันที่ 8 เช่นเดียวกับใบกะเพราที่มีศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงจาก 80% เป็น 30% ในช่วงเวลาเดียวกัน ในกลุ่มที่ได้รับเมลานิน 200 μ M ใบโหระพามีศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงจาก 79% (วันที่ 0) เป็น 65% ในวันที่ 8 โดยมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 23% ตลอดการเก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลานินมีศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ลดลงจาก 80% เป็น 47% ในช่วงเวลาเดียวกัน โดยมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 58% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 4B)

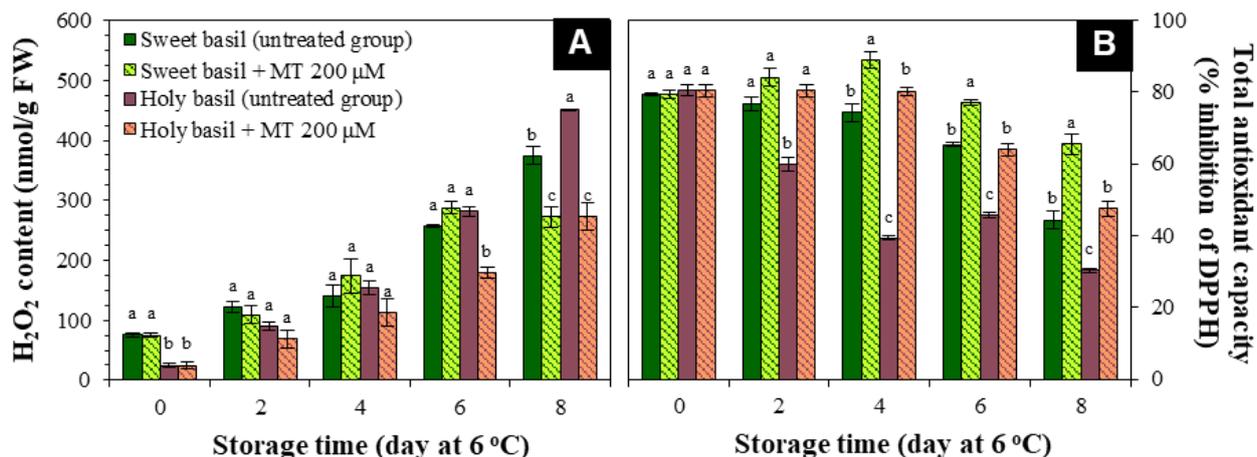


Figure 4 Changes in H_2O_2 content (A) and total antioxidant capacity (B) in untreated and melatonin (MT)-treated groups of sweet basil and holy basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Values are presented as mean \pm SEM (n = 3). Different letters above the bars indicate significant differences between treatments on the same day, as determined by Tukey's multiple range test ($p \leq 0.05$).

การวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์พบว่า ปริมาณ H_2O_2 มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพา ($r = 0.949$) และกะเพรา ($r = 0.884$) (Tables 1 and 2) ขณะที่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับศักยภาพต้านอนุมูลอิสระในใบโหระพา ($r = -0.978$) และกะเพรา ($r = -0.847$) นอกจากนี้พบว่าศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีความสัมพันธ์เชิงลบกับอาการสะท้อนหนาวในทั้งใบโหระพา ($r = -0.939$) และกะเพรา ($r = -0.942$) (Tables 1 and 2) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการลดลงของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญต่อการเพิ่มขึ้นของ H_2O_2 และนำไปสู่การเกิดอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพาและกะเพรา ทั้งนี้คาดว่า H_2O_2 ที่สะสมเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาอาจมีบทบาทสำคัญในการเร่งกระบวนการออกซิเดชันไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้โครงสร้างเกิดความเสียหาย ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกที่นำไปสู่อาการสะท้อนหนาวตามที่ได้อภิปรายไว้ข้างต้น สอดคล้องกับค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างระดับ H_2O_2 กับค่า MDA และ EL ซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดความเสียหายออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยในใบโหระพามีค่า $r = 0.856$ และ 0.977 ตามลำดับ และในใบกะเพรามีค่า $r = 0.861$ และ 0.884 ตามลำดับ (Tables 1 and 2)

เมลานินมีบทบาทสำคัญในการลดความเครียดจากออกซิเดชันในใบโหระพาและกะเพรา โดยมีผลช่วยลดการสะสมของ H_2O_2 และรักษาศักยภาพต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ให้อยู่ในระดับสูง (Figures 4A and 4B) ที่น่าสนใจใบกะเพราตอบสนองต่อเมลานินได้เด่นชัดกว่าใบโหระพา ทั้งในแง่การลดระดับ H_2O_2 และการรักษาศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ กลไกดังกล่าวอาจสะท้อนถึงความสามารถของใบกะเพราต่อการกระตุ้นระบบป้องกันด้วยเมลานินได้อย่างมีประสิทธิภาพ สอดคล้องกับรายงานของ Zhang et al. (2018) ซึ่งพบว่าเมลานินช่วยลดการสะสม H_2O_2 และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระในผลสตรอว์เบอร์รี่ ส่งผลให้พืชมีความทนทานต่ออาการสะท้อนหนาว

ผลของเมลาโทนินต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับฟีนอลิกของใบโหระพาและกะเพราระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

การสะสม ROS และ H_2O_2 ภายในเซลล์จำนวนมาก นอกจากจะก่อให้เกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มแล้ว โมเลกุลดังกล่าวยังเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสีน้ำตาลคล้ำในเนื้อเยื่อของผักและผลไม้หลายชนิด (Rodeo and Mitcham, 2024) เมื่อโครงสร้างเซลล์ถูกทำลาย ส่งผลให้สารฟีนอลิกสัมผัสกับเอนไซม์ออกซิเดสได้ง่ายยิ่งขึ้น การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการนี้ ได้แก่ PPO, POD และ PAL รวมถึงปริมาณสารฟีนอลิก จึงมีความสำคัญต่อการทำความเข้าใจกลไกการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาระหว่างการอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพาและกะเพรา

จากผลการทดลองในชุดควบคุม กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในใบโหระพาลดลงจาก 2.24 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 1.35 U/mg protein ในวันที่ 8 ขณะที่ใบกะเพรามีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นจาก 3.52 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 4.11 U/mg protein ในวันที่ 6 จากนั้นค่อย ๆ ลดลง ในกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนิน 200 μ M ใบโหระพามีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากชุดควบคุมระหว่างที่เก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลาโทนินมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO คงที่ในช่วง 4 วันแรก (2 U/mg protein) จากนั้นลดลงเหลือ 1.65 U/mg protein ในวันที่ 8 โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 19% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 5A)

จากผลการทดลองในชุดควบคุม กิจกรรมของเอนไซม์ POD ในใบโหระพาเพิ่มขึ้นจาก 0.21 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 0.41 U/mg protein ในช่วง 4 วันแรก และคงที่ถึงวันที่ 8 ขณะที่ใบกะเพรามีกิจกรรมของเอนไซม์ POD เพิ่มขึ้นจาก 0.20 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 1.01 U/mg protein ในช่วง 6 วันแรก จากนั้นคงที่ถึงวันที่ 8 ในกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนิน 200 μ M ใบโหระพามีกิจกรรมของเอนไซม์ POD เปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากชุดควบคุมระหว่างที่เก็บรักษา และใบกะเพราที่ได้รับเมลาโทนินมีกิจกรรมของเอนไซม์ POD เพิ่มขึ้นจาก 0.19 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 0.99 U/mg protein ในวันที่ 8 โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 24% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 5B)

จากผลการทดลองในชุดควบคุม ปริมาณสารฟีนอลิกในใบโหระพาลดลงจาก 3.00 mg/g FW (วันที่ 0) เป็น 1.17 mg/g FW ในวันที่ 8 เช่นเดียวกับใบกะเพรา ปริมาณสารฟีนอลิกลดลงจาก 3.79 mg/g เป็น 0.93 mg/g ในเวลาเดียวกัน ในกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนิน 200 μ M ใบโหระพามีปริมาณสารฟีนอลิกลดลงจาก 3.06 mg/g FW (วันที่ 0) เป็น 1.89 mg/g FW ในวันที่ 8 โดยมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 13% และใบกะเพราที่ได้รับเมลาโทนินมีปริมาณสารฟีนอลิกลดลงจาก 3.79 mg/g FW เป็น 1.17 mg/g FW ในเวลาเดียวกัน โดยมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมเฉลี่ย 62% ตลอดการเก็บรักษา (Figure 5C)

จากผลการทดลองในชุดควบคุม กิจกรรมของเอนไซม์ PAL ในใบโหระพาและกะเพราลดลงอย่างต่อเนื่องจาก 0.11 U/mg protein (วันที่ 0) เป็น 0.07 U/mg protein ในวันที่ 8 ในกลุ่มที่ได้รับเมลาโทนิน 200 μ M ใบโหระพาและกะเพรามีกิจกรรมของเอนไซม์ PAL เปลี่ยนแปลงไม่แตกต่างจากชุดควบคุมระหว่างที่เก็บรักษา (Figure 5D)

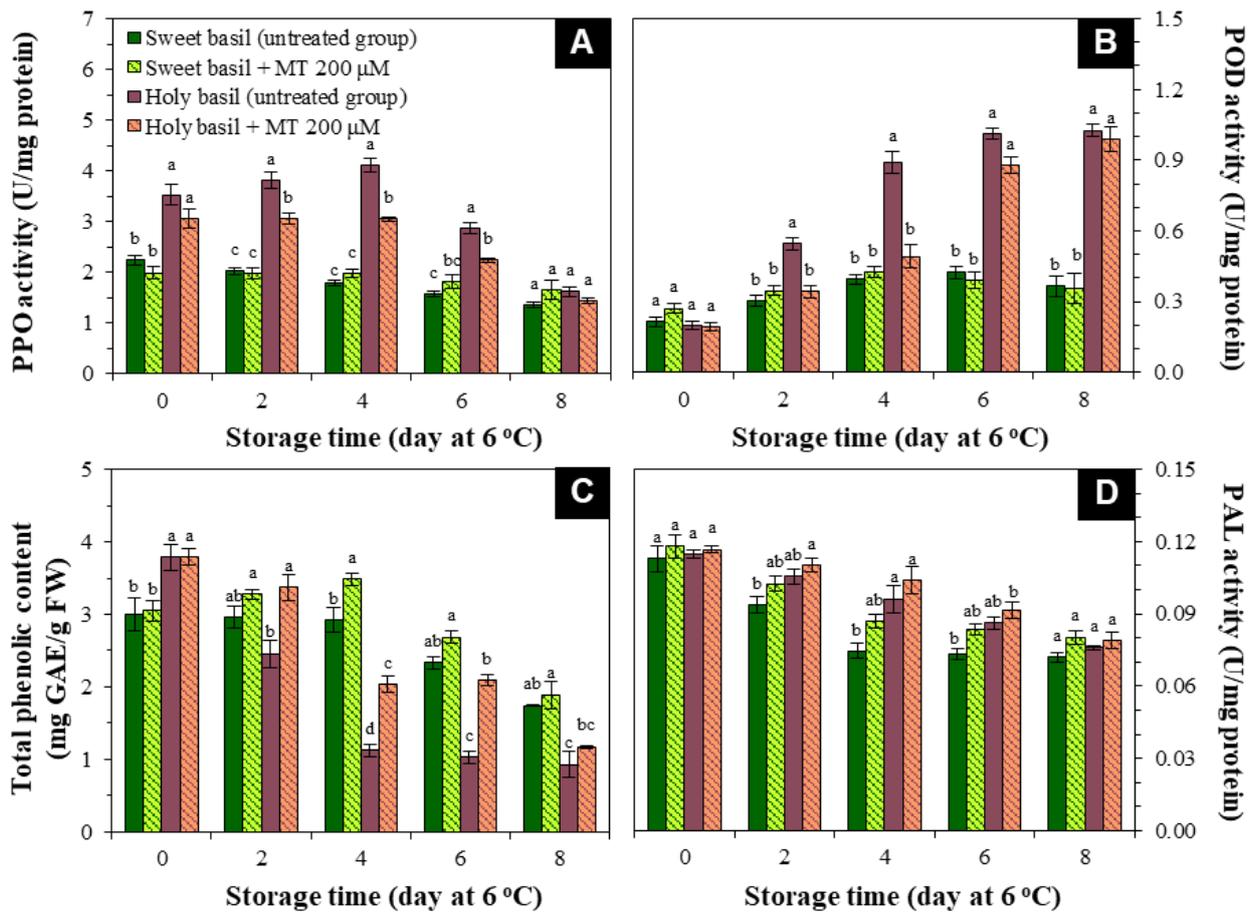


Figure 5 Changes in PPO activity (A), POD activity, total phenolic content (C) and PAL activity (D) in untreated and melatonin (MT)-treated groups of sweet basil and holy basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Values are presented as mean ± SEM (n = 3). Different letters above the bars indicate significant differences between treatments on the same day, as determined by Tukey's multiple range test ($p \leq 0.05$).

ในใบกะเพราชุดควบคุมเกิดอาการสั้ทำนหนารวดเร็วและรุนแรงในช่วงต้นของการเก็บรักษา สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PPO และ POD (Figures 2A, 5A and 5B) เนื่องด้วยเอนไซม์ทั้งสองทำหน้าที่เร่งการออกซิเดชันของสารฟีนอลิก ส่งผลให้เกิดการสะสมของสารประกอบสีน้ำตาลบนผิวใบ (Rodeo and Mitcham, 2024) สอดคล้องกับปริมาณสารฟีนอลิกที่ลดลง (Figure 5C) อาจเป็นผลจากการถูกใช้อย่างต่อเนื่องในกระบวนการออกซิเดชันที่เร่งโดย PPO และ POD ในใบโหระพาชุดควบคุม มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่กิจกรรมของ POD เพิ่มขึ้นในระยะแรกก่อนจะคงที่ โดยทั้งสองเอนไซม์มีระดับกิจกรรมต่ำกว่าเมื่อเทียบกับใบกะเพรา (Figures 5A and 5B) แนวโน้มดังกล่าวอาจช่วยชะลอกระบวนการออกซิเดชันของฟีนอลิก ส่งผลให้เกิดสารประกอบสีน้ำตาลและอาการสั้ทำนหนารวดเร็วในใบโหระพาเกิดช้ากว่าในใบกะเพรา (Figures 1A and 2A) นอกจากนี้กิจกรรมของเอนไซม์ PAL ซึ่งมีบทบาทในการสังเคราะห์สารฟีนอลิกในใบโหระพาและกะเพรา กลับลดลงในระหว่างการเก็บรักษา (Figure 5D) จึงอาจเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้การสร้างสารฟีนอลิกมีปริมาณน้อยและไม่เพียงพอต่อการชดเชยส่วนที่สูญเสียไป

เมลลาโทนิสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PAL ในใบกะเพรา (Figures 5A, 5B and 5D) ซึ่งบ่งชี้ว่าเมลลาโทนิมีบทบาทในการยับยั้งการออกซิเดชันของสารฟีนอลิกมากกว่าการกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์ ส่งผลให้ใบกะเพราที่ได้รับเมลลาโทนิมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงกว่าชุดควบคุม (Figure 5C) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า (1) กิจกรรมของเอนไซม์ POD ที่ลดลง เกี่ยวข้องกับการชะลออาการสั้ทำนหนารวดเร็วในใบกะเพรา ($r = 0.993$) ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีความสัมพันธ์ที่ต่ำกว่า ($r = -0.536$) (Table 2) เนื่องด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ POD ต้องอาศัย H_2O_2 ร่วมในการ

ออกซิเดชันฟีนอลิกให้เกิดเป็นสารประกอบสีน้ำตาล (Huang et al. 1990) สอดคล้องกับผลการทดลองข้างต้นที่บ่งชี้ว่า H₂O₂ เป็นหนึ่งในสาเหตุหลักของอาการเสถียรภาพของใบกะเพรา ดังนั้นการลดลงของกิจกรรมเอนไซม์ POD และ H₂O₂ (r = 0.891) (Table 2) โดยเมลลาโทนินจึงอาจเป็นกลไกหนึ่งในการยับยั้งการเกิดอาการเสถียรภาพของใบกะเพรา สอดคล้องกับรายงานของ Luo et al. (2021) ที่พบว่าเมลลาโทนินมีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ POD ส่งผลลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย และ (2) การเพิ่มขึ้นของปริมาณสารฟีนอลิกเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ของอาการเสถียรภาพ โดยพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกในใบกะเพรามีความสัมพันธ์เชิงลบกับอาการเสถียรภาพ (r = -0.985) และมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับศักยภาพต้านออกซิเดชัน (r = 0.967) (Table 2) เนื่องจากสารฟีนอลิกมีคุณสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระและกำจัด H₂O₂ (เนรินทร์ และคณะ, 2560) การรักษาระดับของสารฟีนอลิกภายหลังการใช้เมลลาโทนิน จึงอาจเป็นกลไกหนึ่งที่ช่วยให้ใบกะเพราทนทานต่ออาการเสถียรภาพ สอดคล้องกับรายงานของ Wang et al. (2022) ที่พบว่าเมลลาโทนินสามารถช่วยเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกและศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) และลดความรุนแรงของอาการเสถียรภาพในผลพริกเขียว อย่างไรก็ตาม ใบโหระพาที่ได้รับเมลลาโทนิน แม้จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO, POD และ PAL ใกล้เคียงกับชุดควบคุม (Figures 5A, 5B and 5D) และมีระดับสารฟีนอลิกสูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย (Figure 5C) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเมลลาโทนินสามารถช่วยลดการเกิดจุดสีน้ำตาลหรืออาการเสถียรภาพในโหระพา ซึ่งอาจไม่ได้เกิดจากการยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของสารฟีนอลิกผ่าน PPO และ POD โดยตรงเช่นในใบกะเพรา แต่อาจเกี่ยวข้องกับกลไกอื่น

Table 1 The correlation between chilling injury (CI), weight loss (WL), electrolyte leakage (EL), malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), antioxidant capacity (DPPH), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), total phenolic content (TPC) and phenylalanine ammonia lyase (PAL) of sweet basil during storage at 6 °C for 8 days

The correlation between parameters of sweet basil during storage 6 °C for 8 days										
	CI	WL	EL	MDA	H ₂ O ₂	DPPH	PPO	POD	TPC	PAL
CI	1									
WL	0.919*	1								
EL	0.988**	0.920*	1							
MDA	0.939*	0.982**	0.937*	1						
H ₂ O ₂	0.949*	0.864	0.977**	0.856	1					
DPPH	-0.917*	-0.781	-0.930*	-0.762	-0.978**	1				
PPO	-0.925*	-0.999**	-0.921*	-0.980**	-0.864	0.787	1			
POD	0.727	0.915*	0.723	0.915*	0.605	-0.467	-0.909*	1		
TPC	-0.922*	-0.782	-0.952*	-0.787	-0.988**	0.984**	0.783	-0.491	1	
PAL	-0.843	-0.980**	-0.830	-0.956*	-0.747	0.653	0.980**	-0.963**	0.645	1

Note: significant correlations are indicated by asterisks: $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**)

Table 2 The correlation between chilling injury (CI), weight loss (WL), electrolyte leakage (EL), malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide (H₂O₂), antioxidant capacity (DPPH), polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), total phenolic content (TPC) and phenylalanine ammonia lyase (PAL) of holy basil during storage at 6 °C for 8 days

		The correlation between parameters of holy basil during storage 6 °C for 8 days									
	CI	WL	EL	MDA	H ₂ O ₂	DPPH	PPO	POD	TPC	PAL	
CI	1										
WL	0.977**	1									
EL	0.974**	0.972**	1								
MDA	0.997**	0.986**	0.980**	1							
H ₂ O ₂	0.861	0.945*	0.911*	0.884*	1						
DPPH	-0.942*	-0.953*	-0.873	-0.947*	-0.847	1					
PPO	-0.536	-0.681	-0.670	-0.574	-0.880	0.501	1				
POD	0.993**	0.990**	0.960**	0.993**	0.891*	-0.970**	-0.860	1			
TPC	-0.985**	-0.950*	-0.920*	-0.977**	-0.799	0.967**	0.757	-0.985**	1		
PAL	-0.944*	-0.990**	-0.963**	-0.956*	-0.981**	0.915*	0.967**	-0.962**	0.899*	1	

Note: significant correlations are indicated by asterisks: $p < 0.05$ (*) and $p < 0.01$ (**)

บทบาทเชิงกลไกของเมลาโทนินต่อการลดอาการสะท้อนหนาวของใบโหระพาและกะเพรา

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าใบกะเพรามีความไวต่อความเย็นมากกว่าโหระพา โดยเกิดอาการสะท้อนหนาวได้รวดเร็วและรุนแรงกว่า ซึ่งอาจสะท้อนถึงความเปราะบางของโครงสร้างเซลล์หรือระบบป้องกันภายในที่มีประสิทธิภาพน้อยกว่า (Rodeo and Mitcham (2024) อย่างไรก็ตาม เมลาโทนินสามารถช่วยลดอาการสะท้อนหนาวในพืชทั้งสองชนิดได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในใบกะเพรา เมลาโทนินสามารถกระตุ้นการตอบสนองอย่างชัดเจน ทั้งในด้านการลดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (ประเมินจากค่า EL และ MDA) การจำกัดการสะสมของ H₂O₂ และการรักษาศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ให้อยู่ในระดับที่เพียงพอต่อการลดผลกระทบจากความเครียดออกซิเดชัน นอกจากนี้ เมลาโทนินยังมีบทบาทในการยับยั้งการออกซิเดชันฟีนอลิกผ่านการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ PAL ซึ่งเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ฟีนอลิกไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัด ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกยังคงอยู่ในระดับสูง และมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มศักยภาพต้านอนุมูลอิสระและช่วยกำจัด H₂O₂ ทำให้ความเสียหายของเยื่อหุ้มลดลง และช่วยชะลอการเกิดอาการสะท้อนหนาวได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Figure 6A)

ในใบโหระพา แม้การตอบสนองทางสรีรวิทยาต่อเมลาโทนินจะไม่ชัดเจนเท่ากับที่พบในกะเพรา แต่ยังคงพบว่าการสะท้อนหนาวลดลงได้ในระดับใกล้เคียงกัน โดยค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (EL และ MDA) ลดลงเล็กน้อย ขณะที่การควบคุมการสะสมของ H₂O₂ และการรักษาศักยภาพต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) แสดงผลได้น้อยกว่ากะเพรา อย่างไรก็ตาม เมลาโทนินยังสามารถกระตุ้นระดับสารฟีนอลิกให้อยู่สูงกว่าชุดควบคุม แม้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PAL จะไม่เปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน และไม่มีผลยับยั้งกิจกรรมของ PPO และ POD ได้อย่างมีนัยสำคัญ จึงอาจบ่งชี้ว่าเมลาโทนินมีกลไกการออกฤทธิ์ที่หลากหลาย ไม่จำกัดเพียงการปกป้องเยื่อหุ้มเซลล์จากการทำลายของ H₂O₂ หรือการควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันฟีนอลิก แต่อาจเกี่ยวข้องกับกลไกอื่นเช่น การเสริมความแข็งแรงของผนังเซลล์ (Bhardwaj et al., 2022) การชะลอกระบวนการโปรแกรมการตายของเซลล์ (Jalili et al., 2022) การรักษาสมดุลของพลังงานและสถานะรีดอกซ์ภายในเซลล์ (Loh and Reiter, 2024) การกระตุ้นการสะสมของสารป้องกันแรงดันออสโมติก (Kebbeh et al., 2023) รวมถึงการกระตุ้นการแสดงออกของยีนในการสร้างโปรตีนที่เกี่ยวข้องกับความทนทานต่ออุณหภูมิต่ำ (Hayat et al., 2022) ซึ่งประเด็นเหล่านี้ควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติม เพื่อทำความเข้าใจกลไกการตอบสนองต่อเมลาโทนินอย่างลึกซึ้งในพืชแต่ละชนิด (Figure 6B)

ผลการศึกษานี้อาจนำไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวพืชใบระหว่างการรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและคงคุณภาพไว้ได้นานยิ่งขึ้น อีกทั้งยังเปิดโอกาสให้มีการศึกษาเชิงลึกเกี่ยวกับบทบาทของเมลาโทนินในพืชชนิดอื่น หรือพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชีวภาพที่ใช้เมลาโทนินเป็นสารออกฤทธิ์หลักในการเพิ่มความทนทานต่อความเครียดจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อภาคเกษตรกรรม ระบบโลจิสติกส์สินค้าเกษตร และการสร้างมูลค่าเพิ่มในอุตสาหกรรมเกษตรแปรรูปอย่างยั่งยืน

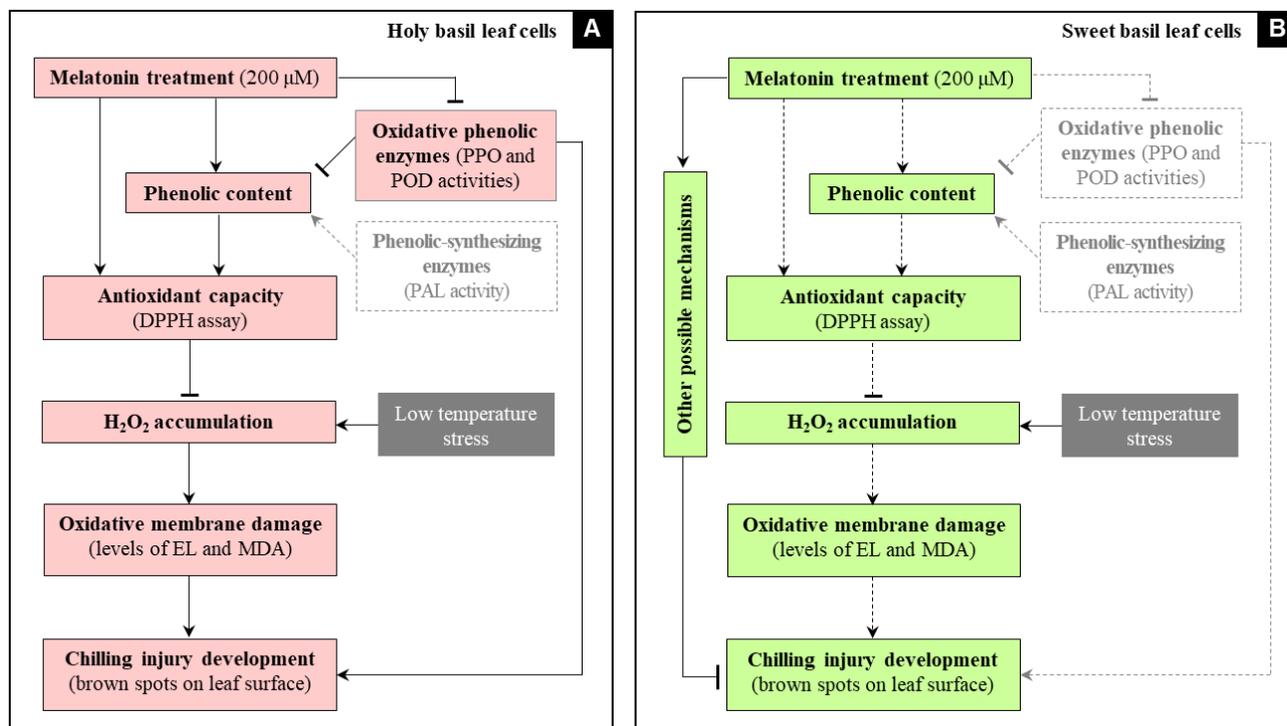


Figure 6 Proposed mechanisms of melatonin in alleviating chilling injury in sweet basil and holy basil leaves during storage at 6 °C for 8 days. Holy basil leaf cells (A) show that melatonin more clearly alleviates chilling injury through suppression of phenolic oxidative enzymes, enhancement of antioxidant capacity, reduction of H₂O₂ accumulation and maintenance of membrane stability. Sweet basil leaf cells (B) show that melatonin effectively alleviates chilling injury, while only slightly enhancing antioxidant capacity and reducing H₂O₂ accumulation and mitigating membrane damage. This finding suggests that additional mechanisms may be involved in its protective effects. ← represents activation; ⊣ represents inhibition. Solid black line (—) indicates statistically significant effects, dashed black line (.....) indicates minor or subtle effects, and dashed grey line (.....) indicates non-significant changes.

สรุป

การฉีดพ่นเมลาโทนินที่ความเข้มข้น 200 μM ให้กับใบโหระพาและใบกะเพร่าก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 °C ช่วยลดอาการสั่ช่นหนาวได้อย่างมีประสิทธิภาพในทั้งสองพืช โดยผลการตอบสนองต่อเมลาโทนินในใบกะเพร่ามีความเด่นชัดมากกว่าใบโหระพาในด้านการปรับตัวทางสรีรวิทยา ซึ่งแสดงออกผ่านการลดค่าความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ (EL และ MDA) ควบคุมการสะสมของ H₂O₂ และรักษาสถิติภาพต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ได้ดีกว่า นอกจากนี้ เมลาโทนินยังช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลบนผิวใบ และรักษาระดับฟีนอลิกให้อยู่ในระดับสูง แม้จะไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ PAL

สำหรับใบโหระพา แม้ว่าการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการใช้เมลานินไม่เด่นชัดเท่ากับใบกะเพรา แต่เมลานินยังสามารถช่วยลดอาการสะท้อนหนาวได้ในระดับใกล้เคียงกัน ซึ่งบ่งชี้ถึงกลไกการออกฤทธิ์ของเมลานินที่หลากหลาย นอกเหนือจากการป้องกันการออกซิเดชันของเยื่อหุ้มเซลล์และการควบคุมเอนไซม์กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันฟีนอลิก

เอกสารอ้างอิง

- ชัยพิชิต เชื้อเมืองพาน และ ดนัย บุญเกียรติ. 2556. ผลของอุณหภูมิเก็บรักษาต่ออาการสะท้อนหนาวของโหระพา. วิทยาศาสตร์เกษตร. 44: 241–244.
- ณัฐชัย พงษ์ประเสริฐ และ วาริช ศรีระยอง. 2550. การเปลี่ยนแปลงของ oil gland ในระหว่างการเกิดอาการสะท้อนหนาวในใบโหระพา. วิทยาศาสตร์เกษตร. 38: 185–188.
- ธิดิมา วงษ์ศรี. 2551. ความสัมพันธ์ระหว่างความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์และการเกิดอาการสะท้อนหนาวของใบพืชสกุลกะเพรา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- นรินทร์ ท้าวแก่นจันทร์, ภาวินี อารีศรีสม, เทิดศักดิ์ โทณลักษณ์, วาริน สุหนต์ และกอบลาภ อารีศรีสม. 2560. ผลของอายุการเก็บเกี่ยวและความเข้มแสงต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบเตยหอม. แก่นเกษตร. 45: 433–438.
- พฤติยา นิลประพุกษ์, เทอญฤดี หนูยี่ง และพิมพ์พี อาสาสันติ. 2566. บทบาทของเมลานินต่ออาการไส้สีน้ำตาลของผลสับปะรดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ. วารสารแก่นเกษตร. 1: 533–538.
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2567. สถานการณ์โหระพาและกะเพราปี 2567. แหล่งข้อมูล: <https://production.doae.go.th/site/login>. ค้นเมื่อ 31 พฤษภาคม 2568.
- Aghdam, M. S., and S. Bodbodak. 2013. Physiological and biochemical mechanism regulating chilling tolerance in fruit and vegetables under postharvest salicylates and jasmonates treatments. Scientia Horticulturae. 156: 73–85.
- Andersen, L. P., I. Gögenur, O. Macdonald, and J. Rosenberg. 2021. The safety of melatonin in humans: a systematic review. Journal of Pineal Research. 71: e12758.
- Bhardwaj, R., M. S. Aghdam, M. B. Arnao, J. K. Brecht, O. A. Fawole, and S. Pareek. 2022. Melatonin alleviates chilling injury symptom development in mango fruit by maintaining intracellular energy and cell wall and membrane stability. Frontiers in Nutrition. 9: 936932.
- Cheng, H. T., S. Sanxter, and H. M. Couey. 1985. Electrolyte leakage and ethylene production induced by chilling injury of papayas. HortScience. 20: 1070–1072.
- Chotikakham, S., and N. Janhom, 2025. Ascorbic acid mitigates ROS-induced chilling injury development in postharvest sweet basil via improving antioxidant defense system to impede senescence process. Postharvest Biology and Technology. 219: 113265.
- Chotikakham, S., N. Janhom, and K. Tangjitman. 2023. Methyl salicylate-improved mitochondrial stability obstructed cell death activation in preventing visible chilling injury in sweet basil under cold storage. Postharvest Biology and Technology. 206: 112555.
- El-Shabrawi, H., B. Kumar, T. Kaul, M. K. Reddy, S. L. Singla-Pareek, and S. K. Sopory. 2010. Redox homeostasis, antioxidant defense, and methylglyoxal detoxification as markers for salt tolerance in Pokkali rice. Protoplasma. 245: 85-96.
- Hayat, F., Z. Sun, Z. Ni, S. Iqbal, W. Xu, Z. Gao, Y. Qiao, M.A. Tufail, M.S. Jahan, U. Khan, C. Wan, and X. Gu. 2022. Exogenous melatonin improves cold tolerance of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) through modulation of DREB/CBF-COR pathway and antioxidant defense system. Horticulturae. 8: 194.

- Huang, H., H. Lee, and L. Wicker. 1990. Enzymatic and color changes during post-harvest storage of lychee. *Journal of Food Science*. 55: 1762–1763.
- Jalili, S., A. A. Ehsanpour, and S. M. Javadirad. 2022. The role of melatonin on caspase-3-like activity and expression of the genes involved in programmed cell death (PCD) induced by in vitro salt stress in alfalfa (*Medicago sativa* L.) roots. *Botanical Studies*. 63: 19.
- Jiang, Y. M. 1999. Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. *Food Chemistry*. 66: 75–79.
- Kaur, N., M. Dhawan, I. Sharma, and P. K. Pati. 2016. Interdependency of reactive oxygen species generating and scavenging system in salt sensitive and salt tolerant cultivars of rice. *BMC Plant Biology*. 16: 131.
- Kebbeh, M., J. Dong, C. Huan, Y. Liu, and X. Zheng. 2023. Melatonin treatment alleviates chilling injury in mango fruit 'Keitt' by modulating proline metabolism under chilling stress. *Journal of Integrative Agriculture*. 22: 935–944.
- Ketsa, S., and S. Atantee. 1998. Phenolics, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. *Postharvest Biology and Technology*. 14: 117–124.
- Kong, X., W. Ge, B. Wei, Q. Zhou, X. Zhou, Y. Zhao, and S. Ji. 2020. Melatonin ameliorates chilling injury in green bell peppers during storage by regulating membrane lipid metabolism and antioxidant capacity. *Postharvest Biology and Technology*. 170: 111315.
- Loh, D., and R. J. Reiter. 2024. The mitochondria chronicles of melatonin and ATP: Guardians of phase separation. *Mitochondrial Communications*. 2: 67–84.
- López-Gálvez, G., M. Saltveit, and M. Cantwell. 1996. Wound-induced phenylalanine ammonia lyase activity: factors affecting its induction and correlation with the quality of minimally processed lettuces. *Postharvest Biology and Technology*. 9: 223–233.
- Lowry, O. H., N. J. Rosebrough, A. L. Farr, and R. J. Randall. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. 193: 265–275.
- Luo, X., Z. Liao, Y. Zhang, C. Wang, and J. Li. 2021. Postharvest melatonin treatment inhibited longan browning and reduced oxidative stress. *Postharvest Biology and Technology*. 178: 111539.
- Mun'im, A., O. Negishi, and T. Ozawa. 2003. Antioxidative compounds from *Crotalaria sessiliflora*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*. 67: 410–414.
- Rodeo, A. J. D., and E. J. Mitcham. 2024. Basil postharvest chilling sensitivity is modulated by the dynamics between antioxidant enzymes and metabolites. *Postharvest Biology and Technology*. 211: 112805.
- Shah, H. M. S., Z. Singh, E. Afrifa-Yamoah, M. U. Hasan, J. Kaur, and A. Woodward. 2023. Insight into the role of melatonin in mitigating chilling injury and maintaining the quality of cold-stored fruits and vegetables. *Food Reviews International*. 40: 1238–1264.
- Song, L., W. Zhang, Q. Li, Z. Jiang, Y. Wang, S. Xuan, J. Zhao, S. Luo, S. Shen, and X. Chen. 2022. Melatonin alleviates chilling injury and maintains postharvest quality by enhancing antioxidant capacity and inhibiting cell wall degradation in cold-stored eggplant fruit. *Postharvest Biology and Technology*. 194: 112092.
- Suamuang, N., A. Poolpukdee, W. Herkhuntod, P. Pholpakdee, I. Intarated, and S. Supapvanich. 2016. Chilling injury alleviation of holy basil by preharvest salicylic acid and oxalic acid application. pp. 158-164. In: *Proceedings of the Burapha University International Conference 2016, 28–29 July 2016*. Burapha University, Chonburi.

- Supapvanich, S., R. Pholpakdee, and P. Wongsuwan, 2015. Chilling injury alleviation and quality maintenance of lemon basil by preharvest salicylic acid treatment. *Emirates Journal of Food and Agriculture*. 27: 801–807.
- Velikova, V., I. Yordanov, and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant system in acid rain-treated bean plant: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*. 151: 59–66.
- Wang, L., X. Shen, X. Chen, Q. Ouyang, X. Tan, and N. Tao. 2022. Exogenous application of melatonin to green horn pepper fruit reduces chilling injury during postharvest cold storage by regulating enzymatic activities in the antioxidant system. *Horticulturae*. 8: 803.
- Wongsheree, T., S. Ketsa, and W. G. van Doorn. 2009. The relationship between chilling injury and membrane damage in lemon basil (*Ocimum × citriodourum*) leaves. *Postharvest Biology and Technology*. 51: 91–96.
- Zhang, N., Q. Sun, H. Zhang, Y. Cao, S. Weeda, S. Ren, and Y. D. Guo. 2018. Melatonin treatment enhances bioactive compound retention, antioxidant activity and shelf-life of strawberry fruit during cold storage. *HortScience*. 53: 1010–1015.