Research Article

Received: February 8, 2018; Accepted: February 15, 2018

# ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

# Effect of Biotic Elicitors on Content of Antioxidants and Their Capacities in an Indigenous Brassicaceae Vegetable Microgreens

พรชัย หาระโคตร*, เยาวพา จิระเกียรติกุล และภาณุมาศ ฤทธิไชย

*สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120*

Bhornchai Harakotr*, Yaowapa Jirakiattikul and Panumart Rithichai

*Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120*

**บทคัดย่อ**

สารกระตุ้นชีวภาพเป็นสารที่นำมาใช้ในการกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในพืชหลายชนิด ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แคโรทีนอยด์ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี ผักกาดกวางตุ้ง และผักกาดเขียวน้อย โดยพ่น jasmonic acid (JA) methyl-jasmonate (MeJA) น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครสบนไมโครกรีน เมื่ออายุ 2 วันหลังเพาะ หลังจากนั้นพ่นทุกวันจนถึงอายุ 7 วันหลังเพาะ และเก็บเกี่ยวเมื่ออายุ 8 วันหลังเพาะ พบว่าไมโครกรีนผักแต่ละชนิดตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพแตกต่างกัน โดยการพ่น MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูง อย่างไรก็ตาม ไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวปลีมีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคส นอกจากนี้ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดและเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับการพ่นด้วย MeJA แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ไลโคปีน และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงขึ้นเมื่อได้รับ JA ดังนั้นการใช้ MeJA และ JA เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักวงศ์ Brassicaceae

**คำสำคัญ :** ไมโครกรีน; สารต้านอนุมูลอิสระ; jasmonic acid; methyl-jasmonate; ผักตระกูลกะหล่ำ

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** p.harakotr@gmail.com **doi:** 10.14456/tstj.2019.10

## Abstract

Biotic elicitors have been used to enhance the bioactive compounds in several plant species. Therefore, the aim of this study was to evaluate the effect of biotic elicitors on contents of total phenolic, total flavonoids, carotenoids and antioxidant capacities in the rat-tailed radish, Chinese mustard, Chinese cabbage-Pai Tai, and Indian mustard microgreens. The biotic elicitors; jasmonic acid (JA), methyl jasmonate (MeJA), glucose and sucrose were sprayed from day 2nd to day 7th of sowing (6 days of treatment), and microgreens were harvested at day 8th of sowing. The results indicated that microgreen response differently to the elicitor treatments. The rat-tailed radish, Chinese mustard and Indian mustard microgreens showed the highest contents of antioxidants and their capacity after elicitation with MeJA. However, the application of glucose enhanced carotenoid concentrations in the rat-tailed radish and Chinese mustard microgreens. In addition, Chinese cabbage-Pai Tai microgreen under the exogenous application of JA contained higher total phenolic content and β-carotene, whereas, JA enhanced the highest contents of total flavonoids, lycopene and antioxidant capacity. Therefore, biotic elicitor treatments especially MeJA and JA should be useful for improving antioxidant contents and their capacities in Brassicaceae vegetable microgreens.

**Keywords:** microgreen; antioxidant; jasmonic acid; methyl-jasmonate; cruciferous vegetable

## 1. บทนำ

ไมโครกรีน (microgreen) เป็นต้นกล้าผักหรือสมุนไพรที่เก็บเกี่ยวหลังงอก 7-14 วันหลังเพาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ประกอบด้วยลำต้น ใบเลี้ยง และใบจริง 1-2 ใบ มีความสูงประมาณ 1-2 นิ้ว โดยนิยมนำส่วนที่อยู่เหนือดินมาบริโภคได้โดยตรง หรือวางตกแต่งจานอาหารทำให้ดูน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น เนื่องจากไมโครกรีนมีสีสันที่สวยงาม [1,2] ปัจจุบันไมโครกรีนได้รับความสนใจจากผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพมากขึ้น เพราะมีคุณค่าทางอาหาร (ธาตุแคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก แมงกานีส สังกะสี ซีลีเนียม และโมลิบดินัม) สูงกว่าผักที่เติบโตเต็มที่ ในขณะที่ไมโครกรีนมีปริมาณไนเตรต ($NO_3^-$) ซึ่งเป็นสาเหตุของปัญหาสุขภาพต่าง ๆ ที่ต่ำกว่า ทำให้ผู้บริโภคมั่นใจได้ว่าการรับประทานไมโครกรีนนั้นมีความปลอดภัย [3] นอกจากนี้ไมโครกรีนยังเป็นแหล่งของสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีววิทยา เช่น แคโรทีนอยด์ (ลูทิน ไวโอลาแซนทิน ซีแซนทิน และเบตา-แคโรทีน) แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิค และกลูโคไซโนเลต [2,4,5] ซึ่งสารทุติยภูมิดังกล่าวมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบและการป้องกันโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่าง ๆ ได้แก่ โรคหัวใจขาดเลือด ความดันโลหิตสูง หรือโรคมะเร็งบางชนิด [6,7] จากความสำคัญข้างต้น ไมโครกรีนจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของผู้บริโภคที่จะเข้าถึงอาหารที่ปลอดภัย และมีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผู้ที่อยู่อาศัยในสังคมเมืองที่มีข้อจำกัดเรื่องสถานที่ และเวลาในการดูแล เนื่องจากระบบการปลูกไมโครกรีนเหมาะกับพื้นที่ขนาดเล็ก สามารถปลูกได้ทั้งแนวดิ่งและแนวราบ

ใช้ระยะเวลาในการปลูกสั้น และดูแลรักษาง่าย [8]

สารกระตุ้นชีวภาพ (biotic elicitor) เป็นสารที่มีสมบัติในการชักนำการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา กระตุ้นกลไกหรือชักนำการตอบสนองต่อสภาวะเครียดต่าง ๆ ในพืช [9,10] ปัจจุบันมีการนำสารกระตุ้นชีวภาพมาประยุกต์ใช้ในการกระตุ้นการสร้างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผักหรือผลไม้เพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ประหยัด และเป็นแนวทางเลือกสำหรับผู้บริโภคที่มีปัญหาสุขภาพ ได้แก่ ผู้ป่วยโรคเบาหวาน ภาวะน้ำหนักเกิน อัลไซเมอร์ รวมถึงโรคหัวใจและหลอดเลือด [11] สารกระตุ้นชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ salicylic acid (SA) jasmonic acid (JA) และ methyl jasmonate (MeJA) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการปกป้องพืชจากสภาวะเครียดต่าง ๆ หรือการเข้าทำลายของโรคพืช [12,13] จากรายงานวิจัยพบว่าการใช้ MeJA พ่นไมโครกรีนผักในวงศ์ Brassicaceae ที่มีอายุ 5-9 วัน สามารถเพิ่มปริมาณกลูโคไซโนเลต (glucosinolates, $GLS_s$) โดยเฉพาะ $GLS_s$ ชนิด glucoraphanin ในบรอกโคลี China rose radish และ red radish (183-294, 33 และ 124 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ) และ glucobrassicin ใน turnip และ rutabaga (23.4-91.0 และ 29.6-186 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม ตามลำดับ) [14] มีรายงานการใช้ JA กับผักกาดหอมสามารถกระตุ้นการสร้างฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิค และปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดเพิ่มขึ้น (133, 360 และ 280 % ตามลำดับ) นอกจากนี้มีการใช้น้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคสและซูโครส ซึ่งเป็นตัวกลางในการส่งสัญญาณในกระบวนการเจริญเติบโตและเมทาบอลิซึมในพืช เช่น การป้องกันภาวะออกซิเดชัน การงอก การออกดอก การตอบสนองต่อสภาวะเครียด และการวายของพืช เพื่อเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ดังรายงานการพ่นน้ำตาลซูโครสในบรอกโคลีสามารถเพิ่มปริมาณ $GLS_s$ แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันได้ [15] การใช้น้ำตาลกลูโคสทำให้ผักคะน้าและกวางตุ้งงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น นอกจากนี้น้ำตาลกลูโคสยังสามารถเพิ่มปริมาณกรดแอสคอร์บิกใน radish ได้ แต่ผักคะน้าและผักกาดกวางตุ้งฮ่องเต้งอกกลับมีปริมาณวิตามินดังกล่าวลดลง [16] จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าผักแต่ละชนิดมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้มีจึงวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารกระตุ้นทางชีวภาพ ได้แก่ JA MeJA น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครสต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ แคโรทีนอยด์ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการส่งเสริมการบริโภคไมโครกรีนผักพื้นเมืองของไทยต่อไป

## 2. อุปกรณ์และวิธีการ

### 2.1 การเตรียมตัวอย่างและการผลิตผักไมโครกรีน

คัดเลือกชนิดของผักที่มีศักยภาพสำหรับผลิตเป็นไมโครกรีนและมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีววิทยาสูงจากการศึกษาเบื้องต้น 8 ชนิด (ไม่ได้แสดงข้อมูล) มาจำนวน 4 ชนิด ประกอบด้วยผักขี้หูด (rat tailed radish, *Raphanus sativus* L. var. *caudatus* Alef) ผักกาดเขียวน้อย (Indian mustard, *Brassica juncea* L.Czern) ผักกาดกวางตุ้ง [Chinese cabbage-Pai Tai, *B. chinensis* Jusl var. *parachinensis* (Bailey) Tsen & Lee] และผักกาดเขียวปลี (Chinese mustard, *B. juncea* L *var. rugosa*) นำเมล็ด (3 กรัม/ตัวอย่าง) ที่ผ่านการล้างด้วยน้ำกลั่น มาเพาะในถาดเพาะขนาด 10x15x6 เซนติเมตร บรรจุด้วยพีทมอสที่ผ่านการนึ่งกำจัดเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศา-

เซลเซียส แรงดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที พร้อมกับวางผ้าขาวบางบนพีทมอส นำถาดเพาะไปวางในตู้เพาะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และแสง 16 ชั่วโมง/วัน เมื่อไมโครกรีนอายุ 2 วัน พ่นสารละลาย JA (ความเข้มข้น 150 ไมโครโมลาร์) MeJA (ความเข้มข้น 25 ไมโครโมลาร์) น้ำตาลกลูโคส (ความเข้มข้น 277 มิลลิโมลาร์) และน้ำตาลซูโครส (ความเข้มข้น 146 มิลลิโมลาร์) ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารละลายดังกล่าวมีความเหมาะสมสำหรับกระตุ้นการเจริญเติบโตและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีววิทยาในผักงอก [14] ปริมาตร 30 มิลลิลิตรต่อตัวอย่างต่อครั้ง โดยใช้น้ำกำจัดอิออนเป็นสิ่งทดลองควบคุม หลังจากนั้นพ่นทุก ๆ วัน จนถึงอายุ 7 วันหลังเพาะ เมื่อไมโครกรีนอายุ 8 วันหลังเพาะ ตัดตัวอย่างพืชเหนือวัสดุเพาะและชั่งน้ำหนักสด จุ่มตัวอย่างพืชในไนโตรเจนเหลวและทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง เก็บตัวอย่างในซองสุญญากาศที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

**2.2 การวิเคราะห์น้ำหนักแห้ง**

ทำตามวิธีการของ Xiao และคณะ [2] นำตัวอย่างสด 10 กรัม ทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง ตั้งทิ้งไว้ในโถดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง

**2.3 การสกัดตัวอย่าง**

ดัดแปลงจากวิธีการของ รัชฎาพร และคณะ [17] โดยชั่งตัวอย่างแห้ง 200 มิลลิกรัม เติมตัวทำละลายเมทานอลผสมน้ำ (1 : 1, ปริมาตร/ปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไป sonication เป็นเวลา 60 นาที นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นดูดสารละลายใสส่วนบนใส่หลอดทดลอง และนำไปสกัดซ้ำอีก 2 รอบ นำสารสกัดที่ได้รวมกันและปรับปริมาตรเป็น 20 มิลลิลิตร เก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

**2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด**

ทำตามวิธีการของ รัชฎาพร และคณะ [17] เติมสารละลายตัวอย่างละ 20 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำ 1.58 มิลลิลิตร และสารละลายโฟลินซิโอแคลทรู 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์ทิ้งไว้ 5 นาที เติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20 % ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง แล้วจึงเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดโดยใช้กรดแกลลิคเป็นมาตรฐาน และรายงานในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

**2.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด**

ทำตามวิธีการของ Kubola และคณะ [18] เติมสารละลายตัวอย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นใส่น้ำกลั่น 2.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน และเติมสารโซเดียมไนไตรต์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้น 5 % ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที เติมอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้น 10 % ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที และเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องวอร์เท็กซ์ จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้คาเตชินเป็นสารมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์รายงานในรูปไมโครกรัมสมมูลของคาเตชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

**2.6 การวิเคราะห์ปริมาณแคโรทีนอยด์**

โดยดัดแปลงวิธีการของ Nagata และ Yamashita [19] ชั่งตัวอย่างแห้ง 0.01 กรัม เติมตัวทำละลายที่ประกอบด้วย acetone-hexane (4 : 6,

ปริมาตร/ปริมาตร) นำไป sonication เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที แยกเก็บสารละลายใสส่วนบน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 435, 505, 645 และ 663 นาโนเมตร เพื่อหาค่าปริมาณเบตา-แคโรทีนและไลโคปีนจากสูตร เบตา-แคโรทีน = $0.216A_{663}$ - $1.22A_{645}$ - $0.304A_{505}$ + $0.452A_{453}$ และ ไลโคปีน = $-0.0458A_{663}$ + $0.204\ A_{645}$ + $0.372\ A_{505}$ - $0.0806A_{453}$

**2.7 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-azino-bis (3-ethylbenzothia-zoline-6 - sulfonic acid) free radical scavenging activity (ABTS)**

ทำตามวิธีการของ Harakotr และคณะ [20] เตรียมสารละลายอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ โดยการผสมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และ potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ความเข้มข้น 4.9 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ก่อนใช้นำสารละลาย $ABTS^{\cdot+}$ มาเจือจางด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700±0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นปิเปตสารละลาย $ABTS^{\cdot+}$ ปริมาตร 950 ไมโครลิตร ผสมกับสารสกัดตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้โทรล็อกซ์เป็นสารมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์รายงานในรูปไมโครโมลาร์สมมูลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง

**2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) โดยทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean ± standard deviation) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ด้วยโปรแกรม SAS

## 3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

### 3.1 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้ง

การพ่นสารกระตุ้นชีวภาพบนไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี ผักกาดกวางตุ้ง และผักกาดเขียวน้อย พบว่าสารกระตุ้นชีวภาพส่งผลให้ไมโครกรีนมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง อย่างไรก็ตาม ไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae ทั้ง 4 ชนิด มีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวปลีที่ได้รับการพ่น MeJA มีน้ำหนักสดและแห้งลดลงสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม ซึ่งน้ำหนักสดลดลง 34.01 และ 58.95 % ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักแห้งลดลง 52.53 และ 78.56 % ตามลำดับ การพ่นด้วยน้ำตาลซูโครสทำให้ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งและผักกาดเขียวน้อยมีน้ำหนักสดและแห้งลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม โดยน้ำหนักสดลดลง 61.71 และ 62.76 % ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักแห้งลดลง 65.12 และ 82.14 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่า JA ส่งผลกระทบต่อน้ำหนักสดและแห้งของไมโครกรีนทั้ง 4 ชนิด น้อยที่สุด โดยไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี ผักกาดกวางตุ้ง และผักกาดเขียวน้อย มีน้ำหนักสดลดลง 22.04, 3.96, 13.95 และ 9.17 % ตามลำดับ และน้ำหนักแห้งลดลง 36.86, 32.58, 13.95 และ 15.84 % ตามลำดับ ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อไมโครกรีนได้รับสารกระตุ้นชีวภาพส่งผลให้มีการเจริญเติบโตลดลง สอดคล้องกับรายงาน

การศึกษาที่พบว่าสารกระตุ้นชีวภาพส่งผลให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง [21] เนื่องจากสารกระตุ้นชีวภาพบางชนิดมีผลทำให้กระบวนการเมตาบอลิซึมของสารประกอบปฐมภูมิ (primary metabolite) ลดลง [22] หรือส่งผลให้การตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ในพืชลดลง และกระบวนสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชลดลงตามไปด้วย [11] โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ MeJA และน้ำตาลซูโครสซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Baenas และคณะ [14] ที่พบว่าการพ่นบรอกโคลีงอกด้วย MeJA ทำให้มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งลดลง เนื่องจากบรอกโคลีมีขนาดเล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม โดย MeJA มีบทบาทในการควบคุมการแสดงออกของยีน *OBP2* สำหรับการสังเคราะห์กลูโคไซโนเลต ซึ่งเป็นสารประกอบไนโตรเจนและซัลเฟอร์ที่มีความสัมพันธ์ทางลบต่อการเจริญเติบโตของพืช ในขณะที่ JA มีผลต่อการเจริญเติบโตของไมโครกรีนผักทั้ง 4 ชนิด น้อยที่สุด เช่นเดียวกับผัก red radish ที่มีการเจริญเติบโตลดลงเมื่อได้รับสารกระตุ้นชีวภาพ [14] ดังนั้นการเจริญเติบโต น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของไมโครกรีนขึ้นอยู่กับสารกระตุ้นชีวภาพที่เลือกใช้ให้เหมาะสมกับผักแต่ละชนิด [23]

**3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด**

เมื่อพ่นไมโครกรีนด้วย JA MeJA น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส พบว่าไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae ทั้ง 4 ชนิด มีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันในการสร้างและการสะสมสาร ประกอบฟีนอลิค (ตารางที่ 1) โดยการพ่นไมโครกรีนผักขี้หูดด้วย MeJA น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส และ JA มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่สูงกว่าสิ่งทดลองควบคุม ซึ่งมีค่า 8.41-14.39 % ส่วนไมโครกรีนผักกาดเขียวปลี ผักกาดกวางตุ้ง และผักกาดเขียวน้อยมีการตอบสนองสารกระตุ้นชีวภาพที่คล้ายคลึงกัน โดยการพ่นด้วย MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักทั้ง 3 ชนิด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงกว่าสิ่งทดลองควบคุม เท่ากับ 25.63, 29.18 และ 23.96 % ตามลำดับ รองลงมา คือ การพ่นด้วย JA ส่งผลให้กับไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.20 % เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม อย่างไรก็ตาม การพ่นด้วย JA ทำให้ไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีและผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุม นอกจากนี้ไมโครกรีนผักกาดเขียวปลี ผักกาดกวางตุ้ง และผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดลดลง เมื่อได้รับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสและซูโครส จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักวงศ์ Brassicaceae ทั้ง 4 ชนิด มีการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิคสูงสุด เนื่องจาก MeJA มีบทบาทในการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับวิถีการสังเคราะห์ฟีนอล ผ่านการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine-ammonia lyase (PAL) จึงส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอล [24] สอดคล้องกับผักกาดหอมโรเมน (romaine lettuce) เมื่อพ่นด้วย MeJA พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากกว่า 35 % เมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม โดยเป็นการเพิ่มขึ้นของกรดฟีนอลิคชนิด caffeic acid และอนุพันธ์ [25] นอกจากนี้กะเพราที่ได้รับการพ่นด้วย MeJA ความเข้มข้น 0.5 mM สามารถกระตุ้นการสร้างสารประกอบฟีนอลิค ชนิด rosmarinic acid และ caffeic acid เพิ่มขึ้นเท่ากับ 50 และ 38 % ตามลำดับ [26] อย่างไรก็ตาม การพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสและซูโครสให้กับไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีและผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิคทั้งหมดลดลง เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานสำหรับกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช เมื่อพืชได้รับน้ำตาลจาก

แหล่งภายนอกทำให้พืชมีแหล่งพลังงานสำหรับกระบวนการทางสรีรวิทยาต่าง ๆ จึงลดผลกระทบจากภาวะเครียดที่เกิดขึ้น และส่งผลให้พืชผลิตสารทุติยภูมิในระดับที่ต่ำ [27] ส่งผลให้น้ำตาลกระตุ้นการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดในไมโครกรีนผักบางชนิดในระดับที่ต่ำ

**ตารางที่ 1** ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

| สารกระตุ้นชีวภาพ | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผักขี้หูด | ผักกาดเขียวปลี | ผักกาดกวางตุ้ง | ผักกาดเขียวน้อย |
| JA | 211.03±1.25$^{ab}$ | 171.78±2.84$^{bc}$ | 182.03±3.00$^{b}$ | 157.70±4.65$^{bc}$ |
| MeJA | 225.78±13.75$^{a}$ | 229.53±1.25$^{a}$ | 208.82±8.23$^{a}$ | 209.15±1.88$^{a}$ |
| น้ำตาลกลูโคส | 219.90±10.63$^{a}$ | 165.15±4.88$^{c}$ | 157.65±2.62$^{c}$ | 150.59±12.98$^{c}$ |
| น้ำตาลซูโครส | 218.70±13.07$^{a}$ | 168.28±18.84$^{bc}$ | 166.20±4.38$^{c}$ | 121.65±3.63$^{d}$ |
| Control | 193.28±14.53$^{b}$ | 182.70±2.75$^{b}$ | 161.65±8.87$^{c}$ | 168.78±1.56$^{b}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %; $^{a,b,c,...}$ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

### 3.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae เมื่อได้รับการพ่นด้วยสารกระตุ้นชีวภาพ พบว่าไมโครกรีนมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยการพ่นไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อยด้วย MeJA ทำให้มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเท่ากับ 83.15, 47.99 และ 58.81 % ตามลำดับเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม ในขณะที่การพ่นด้วยน้ำตาลซูโครสส่งผลให้ไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำกว่าสิ่งทดลองควบคุม 20.67 และ 30.10 % ตามลำดับ นอกจากนี้การพ่นไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีด้วย JA ทำให้มีการสะสมปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 17.54±2.53 ไมโครกรัมสมมูลของคาเตชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่แตกต่างจากการพ่นด้วย MeJA และการพ่นไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งด้วย JA มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 18.52±1.55 ไมโครกรัมสมมูลของคาเตชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับไมโครกรีนที่ได้รับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสและสิ่งทดลองควบคุม จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า MeJA มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อยสะสมปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานในบรอกโคลีงอกที่ได้รับการพ่น MeJA ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ สามารถกระตุ้นการสร้าง ฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นมากกว่า 31 % [28] เช่นเดียวกับต้นกล้า buckwheat ที่ได้รับการพ่น MeJA สามารถกระตุ้นใบเลี้ยง (cotyledon) สังเคราะห์

เควอซิตินและอนุพันธ์ และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ MeJA ยังกระตุ้นให้เปลี่ยนแอนโทไซยานินเป็นอนุพันธ์ฟลาโวนอยด์ชนิดอื่น ๆ ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน [29] อย่างไรก็ตาม สารกระตุ้น JA มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสะสมปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในผักกาดเขียวปลีและผักกาดกวางตุ้งได้ดี สอดคล้องกับการทดลองพ่น JA ให้กับผักกาดหอมที่อายุ 21 วันหลังงอก พบว่าสามารถกระตุ้นการสะสมปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น 133 % [30] เนื่องจาก JA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในพืชที่สามารถชักนำการสร้างสารทุติยภูมิหลายชนิด เช่น เทอร์ปีนอยด์ อัลคาลอยด์ และฟลาโวนอยด์ ผ่านการกระตุ้นวิถีการส่งสัญญาณของ JA (JA signaling pathway) [31] ในขณะที่การพ่นไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวน้อยด้วยน้ำตาลซูโครสส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำกว่าสิ่งทดลองควบคุม สอดคล้องกับรายงานในถั่วเลนทิลงอก (Lentil sprout) ที่ได้รับการพ่นน้ำตาล mannitol พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ลดลง และมีความสัมพันธ์ทางลบกับความเข้มข้นของน้ำตาล [32]

**ตารางที่ 2** ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

| สารกระตุ้นชีวภาพ | ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของคาเตชินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผักขี้หูด | ผักกาดเขียวปลี | ผักกาดกวางตุ้ง | ผักกาดเขียวน้อย |
| JA | 38.43±0.27$^{c}$ | 17.54±2.53$^{ab}$ | 18.52±1.55$^{a}$ | 20.57±0.16$^{c}$ |
| MeJA | 75.57±0.12$^{a}$ | 20.23±2.39$^{a}$ | 15.99±0.74$^{b}$ | 27.65±0.74$^{a}$ |
| น้ำตาลกลูโคส | 58.78±3.33$^{b}$ | 12.12±1.09$^{c}$ | 17.19±0.66$^{ab}$ | 23.41±0.29$^{b}$ |
| น้ำตาลซูโครส | 32.73±0.48$^{d}$ | 14.75±1.16$^{bc}$ | 15.68±0.70$^{b}$ | 12.17±1.50$^{e}$ |
| Control | 41.26±1.51$^{c}$ | 13.67±2.09$^{c}$ | 17.39±1.94$^{ab}$ | 17.41±0.12$^{d}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %; $^{a,b,c,...}$ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

**3.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์**

การศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์สองชนิด ได้แก่ เบตา-แคโรทีน และไลโคปีน ในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae เมื่อได้รับการพ่นสารกระตุ้นชีวภาพ พบว่าไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae ทั้ง 4 ชนิด มีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 3 และ 4) โดยไมโครกรีนผักขี้หูดมีปริมาณเบตา-แคโรทีนลดลง เมื่อได้รับการพ่นด้วยสารกระตุ้นชีวภาพทุกชนิด ซึ่งการพ่นด้วย JA ส่งผลให้ ไมโครกรีนมีปริมาณเบตา-แคโรทีนต่ำ (105.77±1.40 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสที่มีปริมาณเบตา-แคโรทีนเท่ากับ 118.00±1.29 ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตาม การพ่นไมโครกรีนผักขี้หูดด้วยสารกระตุ้นชีวภาพส่งผลให้มีปริมาณไลโคปีน

เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม โดยการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสทำให้ไมโครกรีนมีไลโคปีนเพิ่มขึ้น 544.14 % รองลงมา คือ การพ่นด้วยน้ำตาลซูโครสและ MeJA ที่เพิ่มปริมาณ ไลโคปีนในไมโครกรีนผักขี้หูดเท่ากับ 388.62 และ 329.88 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ในขณะที่ไมโคร กรีนผักกาดเขียวปลีที่ได้รับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสและ MeJA มีเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 67.27 และ 23.37 % ตามลำดับ ในขณะที่การพ่นด้วยน้ำตาลซูโครสทำให้ไมโครกรีนมีเบตา-แคโรทีนลดลง (ตารางที่ 3)

**ตารางที่ 3** ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณเบตา-แคโรทีนในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

| สารกระตุ้นชีวภาพ | ปริมาณเบตา-แคโรทีน (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผักขี้หูด | ผักกาดเขียวปลี | ผักกาดกวางตุ้ง | ผักกาดเขียวน้อย |
| JA | 105.77±1.40$^{d}$ | 82.08±7.84$^{c}$ | 132.36±5.56$^{b}$ | 107.16±15.37$^{c}$ |
| MeJA | 113.12±2.17$^{c}$ | 118.09±18.98$^{b}$ | 163.11±14.01$^{a}$ | 141.91±3.40$^{a}$ |
| น้ำตาลกลูโคส | 118.00±1.29$^{dc}$ | 160.11±3.65$^{a}$ | 110.21±8.62$^{c}$ | 125.78±10.36$^{b}$ |
| น้ำตาลซูโครส | 143.85±0.15$^{b}$ | 47.46±5.14$^{d}$ | 100.93±10.01$^{c}$ | 109.19±4.05$^{c}$ |
| Control | 163.25±8.33$^{a}$ | 95.72±6.58$^{c}$ | 50.94±0.53$^{d}$ | 106.19±0.19$^{c}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %; $^{a,b,c,...}$ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

**ตารางที่ 4** ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อปริมาณไลโคปีนในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

| สารกระตุ้นชีวภาพ | ปริมาณไลโคปีน (ไมโครกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผักขี้หูด | ผักกาดเขียวปลี | ผักกาดกวางตุ้ง | ผักกาดเขียวน้อย |
| JA | 15.55±0.21$^{c}$ | 76.16±19.99$^{ab}$ | 66.80±12.07$^{a}$ | 34.56±0.78$^{b}$ |
| MeJA | 25.32±2.74$^{b}$ | 34.95±2.46$^{c}$ | 51.73±1.93$^{b}$ | 51.30±1.12$^{a}$ |
| น้ำตาลกลูโคส | 37.94±2.20$^{a}$ | 95.84±23.02$^{a}$ | 33.14±3.39$^{c}$ | 33.24±0.94$^{b}$ |
| น้ำตาลซูโครส | 28.78±2.45$^{b}$ | 64.13±2.46$^{b}$ | 25.22±1.53$^{c}$ | 31.67±2.62$^{b}$ |
| Control | 5.89±0.01$^{d}$ | 18.96±2.46$^{c}$ | 36.00±5.77$^{c}$ | 23.88±3.74$^{c}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |

** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %; $^{a,b,c,...}$ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ส่วนปริมาณไลโคปีนในผักกาดเขียวปลี พบว่าการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคสและ JA ส่งผลให้มีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 405.48 และ 301.69 % ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การพ่นด้วย MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีมีปริมาณไลโคปีนไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุม (ตารางที่ 4) ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งที่ได้รับการพ่นด้วยสารกระตุ้นชีวภาพมีปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้น โดยการพ่นด้วย MeJA มีปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 220.20 % รองลงมา คือ การพ่น

ด้วย JA น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส (160.95, 117.76 และ 90.14 % ตามลำดับ) (ตารางที่ 3) ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งที่มีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้น 85.56 และ 43.69 % เมื่อได้รับการพ่นด้วย JA และ MeJA ตามลำดับ และการพ่นด้วยน้ำตาลทั้งสองชนิดให้ปริมาณไลโคปีนไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุม (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ไมโครกรีนผักกาดเขียวน้อยที่ได้รับการพ่นด้วย MeJA มีปริมาณเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นสูงสุด (33.64 %) ในขณะที่การพ่นด้วยน้ำตาล JA และน้ำตาลซูโครสส่งผลให้ไมโครกรีนมีปริมาณไลโคปีนไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุม (ตารางที่ 3) การพ่นสารกระตุ้นชีวภาพส่งผลให้ไมโครกรีนผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณไลโคปีนเพิ่มขึ้น โดยไมโครกรีนที่ได้รับ MeJA มีปริมาณโคปีนเพิ่มขึ้น 114.82 % เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม รองลงมา คือ การพ่นด้วย JA น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ตามลำดับ (ตารางที่ 4) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสารกระตุ้น MeJA มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการสะสมเบตา-แคโรทีนในไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งและผักกาดเขียวน้อย และปริมาณไลโคปีนในผักกาดเขียวน้อย เนื่องจาก MeJA มีบทบาทสำคัญในการชักนำการสะสมแคโรทีนอยด์ในพืชหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ไมโครกรีนผักขี้หูดมีการสะสมเบตา-แคโรทีนลดลงเมื่อได้รับสารกระตุ้น MeJA เนื่องจากสารกระตุ้น Jasmonates (JAs) ซึ่งประกอบด้วย JA และ MeJA มีผลในการยับยั้งการแสดงออกของยีน *CYB* และ *CXB* ในกระบวนวิถีสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ ส่งผลให้พืชมีการสะสมปริมาณแคโรทีนอยด์ลดลง [33] นอกจากนี้น้ำตาลกลูโคสส่งผลให้ไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีมีการสะสมปริมาณเบตา-แคโรทีนสูง เช่นเดียวกับไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวปลีที่มีการสะสมไลโคปีนสูงสุด โดยน้ำตาลมีบทบาทสำคัญในการสะสมแคโรทีนอยด์ในส่วนของใบพืช เพราะรงควัตถุดังกล่าวจำเป็นสำหรับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยทำงานร่วมกับหน่วยรับแสงอื่น ๆ ในคลอโรพลาสต์ของใบ เมื่อพืชได้รับน้ำตาลจากแหล่งภายนอกย่อมส่งผลให้มีปริมาณแคโรทีนอยด์เพิ่มสูงขึ้นเช่นเดียวกัน [34] ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่ากลไกการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดผักที่นำมาผลิตเป็นไมโครกรีน ดังนั้นการเลือกชนิดของสารกระตุ้นชีวภาพเพื่อเพิ่มปริมาณแคโรทีนอยด์ในไมโครกรีน ควรเลือกชนิดสารกระตุ้นชีวภาพที่จำเพาะต่อชนิดของผักและแคโรทีนอยด์

**3.5 ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS**

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae เมื่อได้รับการพ่นด้วยสารกระตุ้นชีวภาพ พบว่าไมโครกรีนมีการตอบสนองต่อสารกระตุ้นชีวภาพที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 5) การพ่นสารกระตุ้นชีวภาพทำให้ไมโครกรีนผักขี้หูดมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น โดยการพ่นด้วย MeJA น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคส และ JA สามารถกระตุ้นให้ไมโครกรีนมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 176.58, 106.99, 79.00 และ 65.11 % เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองควบคุม ตามลำดับ สำหรับไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีมีความ สามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุดเมื่อได้รับการพ่นด้วย MeJA และ JA มีค่าเท่ากับ 141.25$\pm$1.09 และ 139.61$\pm$1.64 ไมโครโมลาร์สมมูลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าสิ่งทดลองควบคุม 43.15 และ 41.51 % ตามลำดับ ในขณะที่การพ่นไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีด้วยน้ำตาลทั้งสองชนิดไม่สามารถกระตุ้นให้ไมโครกรีนมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นได้ สำหรับไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

สูงสุดเมื่อได้รับการพ่นด้วย JA ซึ่งมีค่าเท่ากับ 66.80±12.07 ไมโครโมลาร์สมมูลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่การพ่นด้วยน้ำตาลทั้งสองชนิดมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่แตกต่างทางสถิติกับสิ่งทดลองควบคุมเช่นเดียวกับการทดสอบในผักกาดเขียวปลี นอกจากนี้การพ่นไมโครกรีนผักกาดเขียวน้อยด้วย MeJA และ JA มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 157.09±5.47 และ 148.47 ±6.38 ไมโครโมลาร์สมมูลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสิ่งทดลองควบคุม 21.25 และ 14.01 % ตามลำดับ ในขณะที่การพ่นไมโครกรีนผักกาดเขียวน้อยด้วยน้ำตาลกลูโคสส่งผลให้มีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำกว่าสิ่งทดลองควบคุม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า MeJA มีประสิทธิภาพในการเพิ่มความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อย เนื่องจากไมโครกรีนผักดังกล่าวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เมื่อได้รับการพ่นด้วย MeJA (ตารางที่ 1 และ 2) ด้วยเหตุที่สารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหลักในการต้านกระบวนการออกซิเดชั่นต่าง ๆ ในพืช [35-37] ทำให้ไมโครกรีนที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์สูง มีแนวโน้มที่จะมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงตามไปด้วย เช่นเดียวกับการพ่น JA ในไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งส่งผลให้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด สอดคล้องกับ Zlotek และคณะ [38] ที่พบว่าการพ่นโหระพาด้วย JA ความเข้มข้น 0.1 ไมโครโมลาร์มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS และ DPPH เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Ashraf และคณะ [39] รายงานว่าผัก radish ที่ได้รับสารกระตุ้นชีวภาพประเภทสารควบคุมการเจริญเติบโตในพืชมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงขึ้น เนื่องจากสารควบคุมการเจริญเติบโตกระตุ้นการสะสมสารทุติยภูมิต่าง ๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ กลูโคไซโนเลต ไอโซไธโอไซยาเนต และซีแซนทินเพิ่มขึ้น ซึ่งสารทุติยภูมิดังกล่าวมีความสัมพันธ์ทางบวกกับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ

**ตารางที่ 5** ผลของสารกระตุ้นชีวภาพต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักพื้นเมืองวงศ์ Brassicaceae

| สารกระตุ้นชีวภาพ | ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (μM TE/g DW) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ผักขี้หูด | ผักกาดเขียวปลี | ผักกาดกวางตุ้ง | ผักกาดเขียวน้อย |
| JA | 156.16±2.54$^{c}$ | 139.61±1.64$^{a}$ | 112.55±0.64$^{a}$ | 148.47±6.38$^{ab}$ |
| MeJA | 245.45±11.25$^{a}$ | 141.25±1.09$^{a}$ | 92.04±5.46$^{c}$ | 157.90±5.47$^{a}$ |
| น้ำตาลกลูโคส | 143.48±1.69$^{c}$ | 113.95±0.55$^{b}$ | 94.78±0.68$^{bc}$ | 121.11±4.56$^{c}$ |
| น้ำตาลซูโครส | 175.03±9.01$^{b}$ | 94.29±2.73$^{c}$ | 94.78±8.96$^{bc}$ | 144.12±10.11$^{b}$ |
| Control | 83.95±9.30$^{d}$ | 98.66±0.11$^{c}$ | 102.75±3.37$^{b}$ | 130.23±6.38$^{c}$ |
| F-test | ** | ** | ** | ** |

μM TE/g DW คือ ไมโครโมลาร์สมมูลของโทรล็อกซ์ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง; ** แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %; $^{a,b,c,...}$ อักษรแตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการทดลองทั้งหมดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าไมโครกรีนผักขี้หูดและผักกาดเขียวปลีที่ได้รับการพ่นด้วย MeJA มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สูงสุด แต่ไมโครกรีนผักขี้หูดมีปริมาณไลโคปีนสูงเมื่อการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคส ในขณะที่ไมโครกรีนผักกาดเขียวปลีมีปริมาณเบตา-แคโรทีนและไลโคปีนสูงสุดเมื่อได้รับการพ่นด้วยน้ำตาลกลูโคส ส่วนการพ่นไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งด้วย JA ส่งผลให้มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ไลโคปีน และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด อย่างไรก็ตาม การพ่นด้วย MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดและเบตา-แคโรทีนสูงสุด นอกจากนี้ไมโครกรีนผักกาดเขียวน้อยที่ได้รับการพ่น MeJA มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด เบตา-แคโรทีน ไลโคปีน และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด จึงสรุปได้ว่า MeJA เหมาะสำหรับการพ่นเพื่อกระตุ้นการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระในไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อย ในขณะที่น้ำตาลกลูโคสมีความเหมาะสมสำหรับการกระตุ้นการสะสมแคโรทีนอยด์ในไมโครกรีนผักกาดเขียวปลี นอกจากนี้การใช้ MeJA ในไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งเหมาะสมสำหรับกระตุ้นการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดและเบตา-แคโรทีนเท่านั้น แต่ JA สามารถกระตุ้นให้ไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ไลโคปีน และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

## 4. สรุป

การพ่น MeJA ส่งผลให้ไมโครกรีนผักขี้หูด ผักกาดเขียวปลี และผักกาดเขียวน้อยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูง ส่วนไมโครกรีนผักกาดกวางตุ้งมีการสะสมปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดและเบตา-แคโรทีนเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับการพ่นด้วย MeJA แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ไลโคปีน และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงขึ้นเมื่อได้รับ JA

## 5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทุนสนับสนุนการวิจัยจากกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปี 2559 ภายใต้ “ทุนวิจัยรุ่นใหม่” (สัญญาเลขที่ 07/2559) สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร และศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวิจัย รวมทั้ง นางสาววิลาสินี ทวีแสง นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร ที่ช่วยเหลือในการเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ทางเคมี

## 6. เอกสารอ้างอิง

[1] Lee, S.E., Hwang, H.J., Ha, J.S., Ha, H.S., Jeong, H.S. and Kim, J.H., 2003, Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity, Life Sci. 73: 167-179.

[2] Xiao, Z., Lester, G.E., Luo, Y. and Wang, Q., 2012, Assessment of vitamin and carotenoid concentrations of emerging food products: Edible microgreens, J. Agric. Food Chem. 60: 7644-7651.

[3] Pinto, E., Almeida, A.A., Aguiar, A.A. and Ferreira, I.M.P.L.V.O., 2015, Comparison between the mineral profile and nitrate content of microgreens and mature lettuces, J. Food Comp. Anal. 37: 38-43.

[4] Lester, G.E., Hallman, G.J. and Perez, J.A., 2010, γ-Irradiation dose: Effects on baby-leaf spinach ascorbic acid, carotenoids, folate, α-tocopherol, and phylloquinone concentrations, J. Agric. Food Chem. 58: 4901-4906.

[5] Oh, M.M., Carey, E.E. and Rajashekar, C.B., 2010, Regulated water deficits improve phytochemical concentration in lettuce, J. Am. Soc. Hort. Sci. 135: 223-229.

[6] Rice-Evans, C.A. and Miller, N.J. 1 9 9 6, Antioxidant activities of flavonoids as bioactives compounds of foods, Biochem. Soc. T. 24: 790-795.

[7] Pham-Huy, L.A., He, H. and Pham-Huy, C., 2008, Free radicals, antioxidants in disease and health, Int. J. Biomed Sci. 4: 89-96.

[8] กรรณิกา บุญพาธรรม และดนุพล เกษไธสง, 2560, การประเมินผลผลิตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผักไมโครกรีน 13 ชนิด, แก่นเกษตร 45 (ฉบับพิเศษ): 368-373.

[9] Angelova, Z., Georgiev, S. and Roos, W., 2006, Elicitation of plants, Biotechnol. Biotechnol. Equip. 20: 72-83.

[10] Baenas, N., García-Viguera, C. and Moreno, D.A., 2012, Selecting sprouts of *Brassicaceae* for optimum phytochemical composition, J. Agric. Food Chem. 60: 11409-11420.

[11] Beanas, N., Garcia-Viguera, C. and Moreno, D.A., 2014, Elicitation: A tool for enhancing the bioactive composition of foods, Molecules 19: 13541-13563.

[12] Gundlach, H., Muller, M.J., Kutchan, T.M. and Zenk, M.H., 1992, Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89: 2389-2393.

[13] Poulev, A., O'Neal, J.M., Logendra, S., Pouleva, R.B., Timeva, V., Garvey, A.S., Gleba, D., Jenkins, I.S., Halpern, B.T., Kneer, R., Cragg, G.M. and Raskin, I., 2003, Elicitation, a new window into plant chemodiversity and phytochemical drug discovery, J. Med. Chem. 6: 2542-2547.

[14] Baenas, N., García-Viguera, C. and Moreno, D.A., 2014, Biotic elicitors effectively increase the glucosinolates content in *Brassicaceae* sprouts, J. Agric. Food Chem. 62: 1881-1889.

[15] Guo, R., Yuana, G. and Wang, Q., 2011, Effect of sucrose and mannitol on the accumulation of health-promoting compounds and the activity of metabolic enzymes in broccoli sprouts, Sci. Horti. 128: 159-165.

[16] Wei, J., Miao, H. and Wang, O., 2011, Effect of glucosinolates, antioxidants and metabolic enzymes in *Brassica* sprouts, Sci. Horti. 129: 553-540.

[17] รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และจิตรา สิงห์ทอง, 2554, ฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดย่านาง เครือหมาน้อย และรางจืด, รายงานวิจัย, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา, 44 น.

[18] Kubola, J., Siriamornpun, S. and Meeso, N.,

2011, Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits, J. Agric. Food Chem. 126: 972-981.

[19] Nagata, M. and Yamashita, I., 1992, Simple method for simultaneous determination of chlorophyll and carotenoids in tomato fruit, Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaish 39: 925-928.

[20] Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M.P. and Lertrat, K., 2014, Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different maturation stages, J. Funct. Foods 9: 109-118.

[21] Zlotek, U., Sweica, M. and Jakubezyk, A., 2014, Effect of abiotic elicitation on main health-promoting compounds, antioxidant activity and commercial quality of butter lettuce (*Lactuca sativa* L.), Food Chem. 148: 253-260.

[22] รัชนีวรรณ จิระพงศ์พัฒนา, เยาวพา จิระเกียรติกุล, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, ศรีโสภา เรืองหนู และอรุณพร อิฐรัตน์, 2560, ผลของ jasmonic acid และ yeast extract ต่อปริมาณสารทุติยภูมิของยอดหัวข้าวเย็น (*Dioscorea birmanica* Prain & Burkill) ในสภาพปลอดเชื้อ, ว.วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25: 485-496.

[23] Briatia, X., Jomduang, S., Park, C.H., Lumypng, S., Kanpiengjai, A. and Khanongnuch, C., 2017, Enhancing growth of buckwheat sprouts and microgreens by endophytic bacterium inoculation, Int. J. Agric. Biol. 19: 374-380.

[24] บุญร่วม คิดค้า, 2557, อิทธิพลของเมทิลจัสโมเนตต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและคุณค่าทางโภชนาการในผักกาดหอมเรดโอ๊คที่ปลูกในระบบไฮโดรโพนิกส์, แก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ): 652-657.

[25] Kim, H.J., Fonseca, J.M., Choi, J.H. and Kubota, C. 2007, Effect of methyl jasmonate on phenolic compounds and carotenoids of romaine lettuce (*Lactuca sativa* L.), J. Agric. Food Chem. 25: 10366-10372.

[26] Kim, H. J. , Chen, F. , Wang, X. And Rajapakse, N. C. , 2006, Effect of methyl jasmonate on secondary metabolites of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.), J. Agri. Food Chem. 54: 2327–2332.

[27] Ramakrishna, A. and Ravishankar, G.A., 2011, Influence of abiotic stress signals on secondary metabolites in plants, Plant Signal Behav. 6: 1720-1731.

[28] Pérez-Balibrea, S., Moreno, D.A. and García-Viguera, C., 2011, Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation, Food Chem. 129: 35-44.

[29] Horbowicz, M., Chrzanowski, G., Koczkodaj, D. and Mitrus, J., 2011, The effect of methyl jasmonate vapors on content of phenolic compounds in seedlings of common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench), Acta Soc. Bot. Pol. 80: 5-9.

[30] García-Macías, P., Ordidge, M., Vysini, E., Waroonphan, S., Battey, N.H., Gordon, M.H., Hadley, P., John, P., Lovegrove, J.A.

and Wagstaffe, A., 2007, Changes in the flavonoid and phenolic acid contents and antioxidant activity of red leaf lettuce (*Lollo rosso*) due to cultivation under plastic films varying in ultraviolet transparency, J. Agric. Food Chem. 55: 10168-10172.

[31] Pirbalouti, A.G., Rahimmalek, M., Elikaei-Nejhah, L. and Hamedi, B., 2014, Essential oil composition of summer savory under foliar application of jasmonic acid and salicylic acid, J. Essent. Oil Res. 26: 342-347.

[32] Sweica, M., 2015, Elicitation with abiotic stresses improves pro-health constituents, antioxidant potential and nutritional quality of lentil sprouts, Saudi J. Biol. Sci. 22: 419-426.

[33] Thiruvengadam, M., Baskar, V., Kim, S.H. and Chung, I.L., 2106, Effects of abscisic acid, jasmonic acid and salicylic acid on the content of phytochemicals and their gene expression profiles and biological activity in turnip (*Brassica rapa* ssp. *rapa*), Plant Growth Regul. 80: 377-390.

[34] Mortain-Bertrand, A., Stammitti, L., Telef, N., Colardelle, P., Brouquisse, R., Rolin, D., and Gallusci, P., 2008, Effects of exogenous glucose on carotenoid accumulation in tomato leaves, Physio. Plant. 34: 246-256.

[35] Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C.F.R. and Baptista, P., 2007, Total phenols, ascorbic acid, β-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, Food Chem. 103: 413-419.

[36] Chon, S.U., Heo, B.G., Park, Y.S., Kim, D.K. and Gorinstein, S., 2009, Total phenolics level, antioxidant activities and cytotoxicity of young sprouts of some traditional Korean salad plants, Plant Food Hum. Nutr. 64: 25-31.

[37] Rice-Evans, C.A. and Miller, N.J., 1996, Antioxidant activities of flavonoids as bioactives compounds of foods, Biochem. Soc. T. 24: 790-795.

[38] Złotek, U., Szymanowska, U., Karas, M. and Swieca, M., 2016, Antioxidative and anti-inflammatory potential of phenolics from purple basil (*Ocimum basilicum* L.) leaves induced by jasmonic, rachidonic and β-aminobutyric acid elicitation, Int. J. Food Sci. Tech. 51: 163-170.

[39] Ashraf, R., Sultana, B., Iqbal, M. and Mushtaq, M., 2016, Variation in biochemical and antioxidant attributes of *Raphanus sativus* in response to foliar application of plant leaf extracts as plant growth regulator, Genet. Eng. Biotechnol. J. 14: 1-8.