Agricultural Sci. J. 49 : 4 (Suppl.) : 75-78 (2018) ว. วิทย. กษ. 49 : 4 (พิเศษ) : 75-78 (2561)

ผลของกรดออกซาลิกและกรดซาลิซิลิกความเข้มข้นต่ำต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอระหว่างเก็บรักษา

Effects of Low-Concentration Oxalic Acid and Salicylic Acid Application on Pericarp Browning of 'Daw' Longan Fruit during Storage

อธิวัฒน์ ชุ่มแย้ม[1] อติณัฐ จรดล[1] จำนงค์ อุทัยบุตร[1,2] และ กอบเกียรติ แสงนิล[1,2]

Athiwat Chumyam[1], Atinut Joradol[1], Jamnong Uthaibutra[1,2] and Kobkiat Saengnil[1,2]

Abstract

Oxalic acid (OA) and salicylic acid (SA) at low concentrations could play an important role as signal molecule in alleviating senescence and maintaining postharvest fruit quality by inducing antioxidant defense mechanism. The objective of this study was to investigate the effects of low concentrations of OA and SA in reducing pericarp browning of longan fruit cv. Daw during storage at 25±1 °C. Fresh longan fruits were dipped in 1 and 10 mM OA or 1 and 10 mM SA solutions for 10 minutes and those **dipped** in distilled water were used as control. The fruits were then packed in cardboard boxes and stored at 25±1 °C with 82±5% RH for 7 days. The fruits were sampled every day for analysis of percentage of pericarp browning, pericarp color values (L* and b* values), overall quality acceptance, polyphenol oxidase (PPO) activity and hydrogen peroxide (H_2O_2) content. It was found that the OA-treated fruits showed significantly lower pericarp browning percentage and higher pericarp color values during storage for 7 days, whereas the SA application exhibited less effectiveness in reducing pericarp browning. In addition, fruits treated with OA showed lower PPO activity and H_2O_2 content and higher overall fruit quality compared with the control. OA at 10 mM was most effective in reducing pericarp browning and extending shelf-life from 2 day to 4 days. This study indicated that OA at low concentration (10 mM) could alleviate pericarp browning and maintain high fruit quality of 'Daw' longan fruit during storage at 25±1 °C by reducing PPO activity and H_2O_2 accumulation.

Keywords: signal molecule, antioxidant defense mechanism, senescence

บทคัดย่อ

กรดออกซาลิก (OA) และกรดซาลิซิลิก (SA) มีบทบาทสำคัญในการเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณเพื่อบรรเทาการเสื่อมตามอายุและรักษาคุณภาพของผลไม้หลังเก็บเกี่ยวโดยกระตุ้นกลไกป้องกันการต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ OA และ SA ที่ระดับความเข้มข้นต่ำเพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±1 °ซ โดยนำผลลำไยสดจุ่มในสารละลาย OA หรือ SA ที่ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที และผลลำไยที่จุ่มในน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม จากนั้นบรรจุผลลงในกล่องกระดาษลูกฟูกและนำไปเก็บรักษาที่ 25±1 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 82±5% เป็นเวลา 7 วัน สุ่มตัวอย่างผลทุกๆ วันเพื่อวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาล ค่าสีเปลือกผล (ค่า L* และ b*) การยอมรับคุณภาพผลโดยรวม กิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) และปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) พบว่าผลลำไยที่จุ่มใน OA ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลต่ำกว่าและค่าสีเปลือกผลสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน ขณะที่ SA มีประสิทธิภาพต่ำกว่าในการลดการเกิดเปลือกผลสีน้ำตาล ผลที่จุ่มใน OA มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณ H_2O_2 ที่ต่ำกว่าและมีคุณภาพผลโดยรวมสูงกว่าชุดควบคุม โดย OA 10 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดการเกิดสีน้ำตาลและยืดอายุการวางจำหน่ายจาก 2 วันเป็น 4 วัน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการจุ่มผลลำไยใน OA ความเข้มข้นต่ำ (10 มิลลิโมลาร์) สามารถลดการเกิดเปลือกผลสีน้ำตาลและรักษาคุณภาพของผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างเก็บรักษาที่ 25±1 °ซ ได้โดยการลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และการสะสม H_2O_2

คำสำคัญ: โมเลกุลส่งสัญญาณ, กลไกป้องกันโดยการต้านออกซิเดชัน, การเสื่อมสภาพ

---

[1] ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

[1] Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

[2] ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม.

[2] Postharvest Technology Innovation Center, Office of the Higher Education Commission, Bangkok

คำนำ

การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยเป็นปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นภายหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งเร่งอายุการจำหน่ายให้สั้นลงและลดมูลค่าของผลิตผลลง (Jiang *et al*., 2002) สารประกอบสีน้ำตาลนี้เกิดจากความเครียดที่ผลลำไยได้รับภายหลังการเก็บเกี่ยว ส่งผลกระตุ้นการสะสมอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide, H_2O_2) และอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, OH^-) ซึ่งเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ โดยมีลิพิดในโครงสร้างเซลล์เป็นเป้าหมายสำคัญที่ถูกอนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยา มีผลทำลายโครงสร้างและหน้าที่ของเมมเบรน โดยความเสียหายของเมมเบรนที่เกิดขึ้นนี้ทำให้เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) ในพลาสติดเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันสารประกอบฟีนอลในแวคิวโอลกับออกซิเจนได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีน้ำตาล (Chomkitichai *et al*., 2014)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจเกี่ยวกับระบบส่งสัญญาณที่เกิดขึ้นในพืช ระบบนี้มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการตอบสนองต่อความเครียด มีรายงานว่าการให้สารเคมีบางชนิด เช่น ไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) กรดออกซาลิก (oxalic acid, OA) และกรดซาลิซิลิก (salicylic acid, SA) จากภายนอกในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ที่เหมาะสมสามารถชักนำให้พืชทนทานต่อความเครียดได้ โดยมีผลกระตุ้นระบบส่งสัญญาณให้ทำงานอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ รวมทั้งกระตุ้นการแสดงออกของยีนและการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสภาวะเครียด จนสามารถลดความเครียดออกซิเดชันได้ (Liu and He, 2017) ในการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่า OA และ SA ความเข้มข้นต่ำสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอระหว่างเก็บรักษา โดยคาดว่าเกี่ยวข้องกับกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของผลลำไย

อุปกรณ์และวิธีการ

เก็บเกี่ยวและคัดเลือกผลลำไยพันธุ์ดอ อายุประมาณ 180 วันหลังดอกบาน ขนาดผลใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงจากสวนเกษตรกรในจังหวัดลำพูน ตัดก้านผลให้ยาวประมาณ 0.3 เซนติเมตร แล้วนำผลเดี่ยวเหล่านี้จุ่มลงในสารละลาย OA หรือ SA ความเข้มข้น 1 และ 10 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 10 นาที และผลที่จุ่มในน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม ผึ่งให้ผิวนอกแห้ง แล้วบรรจุผลลงในกล่องกระดาษลูกฟูก (30 ผล/กล่อง) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25±1°C ความชื้นสัมพัทธ์ 82±5% เป็นเวลา 7 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างผลในทุกๆ วันมาวิเคราะห์ ระดับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล โดยการประเมินด้วยสายตาแล้วบันทึกเป็นเปอร์เซ็นต์พื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาลที่เปลือกผล (โดยเปอร์เซ็นต์พื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาลที่ยอมรับคือไม่เกิน 25%) ค่าสีของเปลือกผล โดยใช้เครื่อง colorimeter (Minolta CR-200) แสดงในรูปของค่า L* (สีเข้มหรือสีอ่อน) และค่า b* (สีเหลือง) ประเมินการยอมรับคุณภาพผลโดยรวม โดยใช้ 9-point hedonic scale (ระดับที่ยอมรับคือมากกว่า 5) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณ H_2O_2 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 30 ผล และวิเคราะห์ความแตกต่างของกรรมวิธีทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows version 15 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยทำการทดลองในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนธันวาคม 2560 ณ ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยาของพืชและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ผลการทดลอง

การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยในทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ผลที่ผ่านการจุ่มในสารละลาย OA และ SA มีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในช่วง 7 และ 4 วันแรกของการเก็บรักษา ตามลำดับ โดยผลลำไยที่ผ่านการจุ่มในสารละลาย OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลต่ำที่สุด และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลต่ำกว่า 25% ในช่วง 4 วันแรกของการเก็บรักษา รองลงมาคือสารละลาย OA ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ชุดควบคุม และชุดที่จุ่มในสารละลาย SA ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลต่ำกว่า 25% เพียง 3, 2 และ 1 วันของการเก็บรักษา ตามลำดับ (Figure 1A) ส่วนการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกผลลำไยที่แสดงในรูปค่า L* และค่า b* พบว่าผลที่ผ่านการจุ่มในสารละลาย OA ทั้งสองความเข้มข้นมีค่า L* และค่า b* สูงกว่าชุดควบคุมและชุดสารละลาย SA และมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะการเก็บรักษา (Figure 1B-1C) รวมทั้งยังพบว่าผลลำไยที่ผ่านการจุ่มในสารละลาย OA และ SA ทั้งสองความเข้มข้นได้รับคะแนนการยอมรับคุณภาพโดยรวม ซึ่งพิจารณาจาก สีเปลือกผล กลิ่น ลักษณะเนื้อผล และรสชาติ สูงกว่าชุดควบคุมเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 และ 5 วัน ตามลำดับ (Figure 1D)

กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และสูงที่สุดในวันที่ 2 แล้วลดต่ำลงหลังจากนั้น ผลลำไยที่จุ่มในสารละลาย OA และ SA มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในช่วง 7 และ 3

วัน ตามลำดับ โดยสารละลาย OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพสูงสุด สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO 24.04% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมในวันที่ 2 ของการเก็บรักษา (Figure 1E)

ปริมาณ H_2O_2 ของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และสูงสุดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ผลลำไยที่จุ่มในสารละลาย OA มีปริมาณ H_2O_2 ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติตลอดระยะการเก็บรักษา โดยสารละลาย OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีปริมาณ H_2O_2 ต่ำที่สุด ในขณะที่ผลลำไยที่จุ่มในสารละลาย SA มีปริมาณ H_2O_2 ไม่แตกต่างจากชุดควบคุมตลอดระยะการเก็บรักษา (Figure 1F)

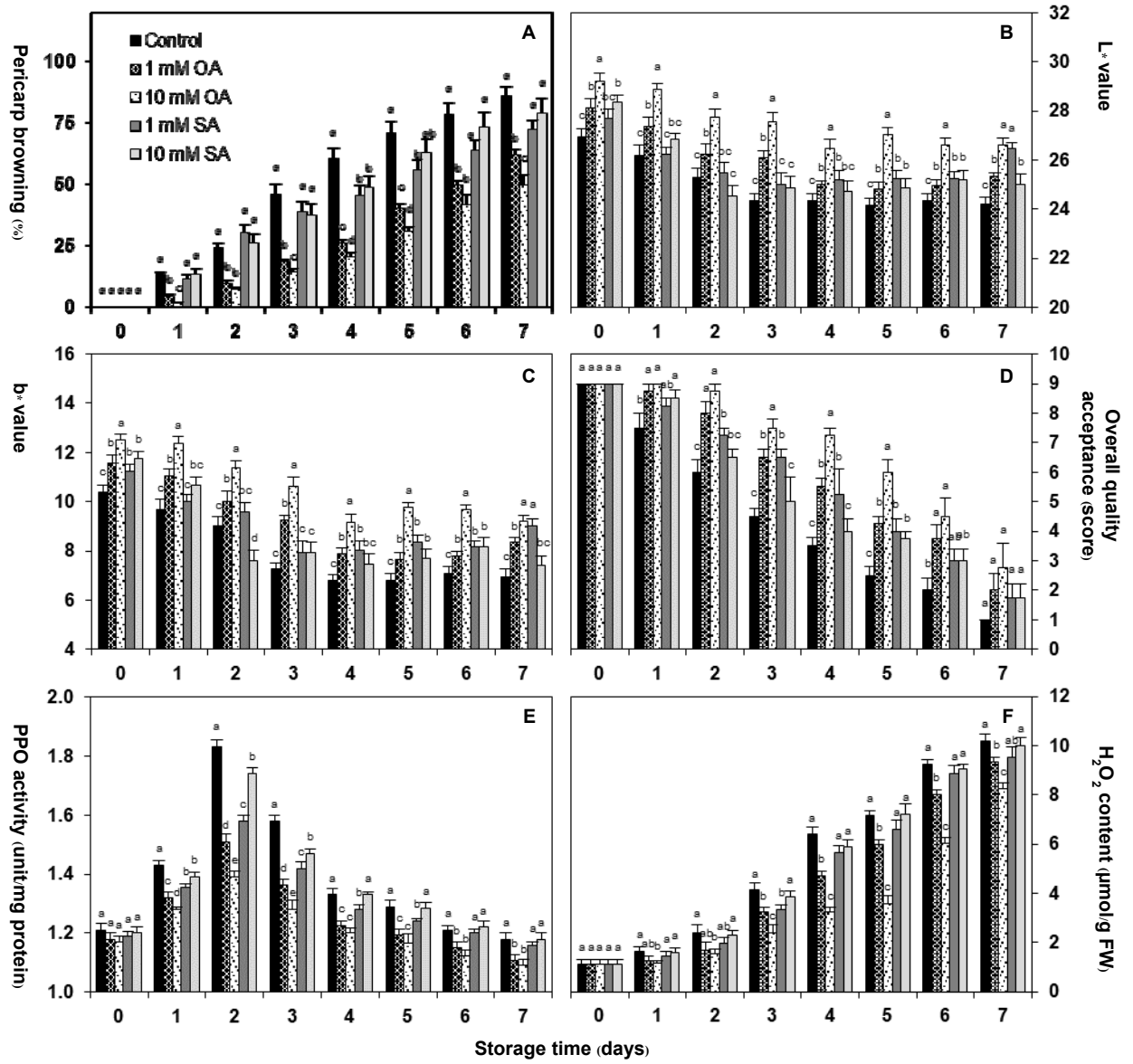

Figure 1 Changes in pericarp browning (A), L* (B) and b* (C) values, overall quality acceptance (D), PPO activity (E) and H_2O_2 content (F) of longan fruit during storage at 25±1°C for 7 days. Bars (standard deviation) with the same letter in each sampling time are not significant difference. (n=3).

วิจารณ์ผลการทดลอง

การจุ่มผลลำไยในสารละลาย OA สามารถลดและชะลอการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยได้ดีกว่าสารละลาย SA (Figure 1A) รวมทั้งขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของสารละลาย OA โดยสารละลาย OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ มีประสิทธิภาพสูงกว่าความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ สอดคล้องกับค่าสีเปลือกผลที่พบว่าการจุ่มผลลำไยในสารละลาย OA ช่วยรักษาเปลือกผลลำไยไม่ให้มีสีคล้ำและมีสีเหลืองไว้ได้ดีกว่าการจุ่มในสารละลาย SA โดยมีค่า L* และ b* สูงและลดลงช้ากว่านั่นเอง (Figure 1B-1C) ซึ่งศักยภาพของ OA ในการลดการเกิดสีน้ำตาลนี้ให้ผลเช่นเดียวกับงานทดลองใช้ OA ความเข้มข้นต่ำ 2-4 มิลลิโมลาร์ (Zheng and Tian, 2006) และ OA ความเข้มข้นต่ำ 10 มิลลิโมลาร์ (Mohamed *et al*., 2016) ที่สามารถลด

การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลิ้นจี่และผลส้ม ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าการจุ่มผลลำไยในสารละลาย OA ยังช่วยรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษา โดยได้รับคะแนนการยอมรับคุณภาพโดยรวมสูงกว่าชุดควบคุมและชุดสารละลาย SA (Figure 1D) ทั้งนี้สันนิษฐานว่าเป็นผลมาจาก OA ช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นดัชนีสำคัญของคุณภาพผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยว

การจุ่มผลลำไยในสารละลาย OA ยังช่วยลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ได้ดีกว่าสารละลาย SA (Figure 1E) ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลต่ำลง ซึ่งอาจเป็นผลให้เปลือกผลเกิดสีน้ำตาลน้อยลง โดยระดับความเข้มข้นดีที่สุดคือ 10 มิลลิโมลาร์ ซึ่งสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO 24.04% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในผลส้มที่แสดงให้เห็นว่า OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลง 56-62% สัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลส้มที่ลดลง (Mohamed *et al*., 2016) ในขณะที่การจุ่มผลลำไยในสารละลาย SA ลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ได้เพียงเล็กน้อยและในช่วงแรกของการเก็บรักษาเท่านั้น ซึ่งส่งผลให้ลดการเกิดสีน้ำตาลได้ไม่ดีเท่ากับสารละลาย OA นอกจากนี้การจุ่มผลลำไยในสารละลาย OA ยังมีผลลดการสะสมอนุมูลอิสระ H_2O_2 ในเปลือกผลลำไยได้ (Figure 1F) สอดคล้องกับผลการศึกษาที่ผ่านมาในผลกล้วยที่พบว่าการใช้ OA ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ สามารถลดการสะสม H_2O_2 ในเปลือกผลกล้วย ทำให้การเสื่อมสภาพของผลกล้วยลดลง (Huang *et al*., 2013)

กลไกสำคัญในการลดการเกิดสีน้ำตาลของ OA และ SA ความเข้มข้นต่ำอาจเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ โดยสันนิษฐานว่า OA และ SA ทำหน้าที่เป็นสารส่งสัญญาณหรือกระตุ้นการสร้างสารส่งสัญญาณขั้นที่ 2 (secondary messenger) เช่น H_2O_2 ในช่วงต้นๆ ของระบบส่งสัญญาณ ซึ่งไปกระตุ้นการทำงานของโปรตีน mitogen-activated protein kinase (MAPK) ในกระบวนการถ่ายส่งสัญญาณ ส่งผลให้มีการตอบสนองระดับเซลล์ในเรื่องการส่งเสริมการแสดงออกของยีนและการทำงานของเอนไซม์ในระบบต้านออกซิเดชัน เช่น เอนไซม์แคตาเลส แอสคอร์เบทเปอร์ออกซิเดส กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส และซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Rhee *et al*., 2003; Liu and He, 2017) ทำให้สามารถกำจัดและลดปริมาณอนุมูลอิสระ H_2O_2 ของเปลือกผลลำไยลง ซึ่งเป็นปัจจัยหลักของการชักนำให้เกิดความเครียดออกซิเดชันและความเสียหายของเมมเบรน จึงทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างสารประกอบ ฟีนอลและออกซิเจนโดยมีเอนไซม์ PPO เป็นตัวเร่งลดลง การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยจึงลดลงในที่สุด

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า OA มีศักยภาพช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกและรักษาคุณภาพผลลำไยได้ดีกว่า SA ทั้งนี้เกิดจากการที่ OA ในระดับความเข้มข้น 1-10 มิลลิโมลาร์นี้ เหมาะสมในการชักนำหรือกระตุ้นให้ระบบส่งสัญญาณในการต้านออกซิเดชันทำงานได้ดีขึ้น ส่งผลให้สามารถลดการสะสมอนุมูลอิสระ H_2O_2 และลดการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้ดีกว่า SA นั่นเอง

สรุปผลการทดลอง

การจุ่มผลลำไยพันธุ์ดอในสารละลาย OA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ สามารถชะลอและลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยวให้ผลดีที่สุด ผ่านการลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และลดการสะสมอนุมูลอิสระ H_2O_2

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กทม. 10400 ที่สนับสนุนทุนการวิจัยและเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

Chomkitichai, W., A. Chumyam, P. Rachtanapan, J. Uthaibutra and K. Saengnil. 2014. Reduction of reactive oxygen species production and membrane damage during storage of 'Daw' longan fruit by chlorine dioxide. Scientia Horticulturae 170: 143-149.

Huang, H., G. Jing, L. Guo, D. Zhang, B. Yang, X. Duan, M. Ashraf and Y. Jiang. 2013. Effect of oxalic acid on ripening attributes of banana fruit during storage. Postharvest Biology and Technology 84: 22-27.

Jiang, Y.M., Z. Zhang, D.C. Joyce and S. Ketsa. 2002. Postharvest biology and handling of longan fruit (*Dimocarpus longan* Lour.). Postharvest Biology and Technology 26: 241-252.

Liu, Y. and C. He. 2017. A review of redox signaling and the control of MAP kinase pathway in plants. Redox Biology 11: 192-204.

Mohamed, M.A.A., A.F. Abd El-khalek, H.G. Elmehrat and G.A. Mahmoud. 2016. Nitric oxide, oxalic acid and hydrogen peroxide treatments to reduce decay and maintain postharvest quality of 'Valencia' orange fruits during cold storage. Egyptian Journal of Horticulture 43: 137-161.

Rhee, S.G., T.S. Chang, Y.S. Bae, S.R. Lee and S.W. Kang. 2003. Cellular regulation by hydrogen peroxide. Journal of the American Society of Nephrology 14: S211-S215.

Zheng, X. and S. Tian. 2006. Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. Food Chemistry 96: 519-523.