

ผลของเมลาโทนินความเข้มข้นต่ำต่ออาการสะท้านหนาวและคุณภาพของผลฝรั่งพันธุ์กิมจู  
Effects of Low Concentrations Melatonin on Chilling Injury and Fruit Quality  
of 'Kimju' Guava Fruit

สิทธิศักดิ์ อินทรสิทธิ์<sup>1</sup> และจารุณี Jungklang<sup>1</sup>  
Sittthisak Intarasit<sup>1</sup> and Jarunee Jungklang<sup>1</sup>

Abstract

Melatonin (MT) plays a crucial role in serving as a signaling molecule to alleviate senescence and maintain the quality of harvested fruits by stimulating antioxidant defense mechanisms. The objective of this research was to investigate the effects of low concentrations of MT on chilling injury (CI) and the quality of 'Kimju' guava fruit during storage at low temperature. Guava fruits were immersed in MT solution at the concentrations of 0 (control), 50, 100 and 200  $\mu\text{M}$  for 30 minutes. Each treatment was done in 3 replications. The fruits were then air-dried and wrapped in foam nets, placed in polyethylene bags and cardboard boxes, and stored at low temperature ( $8\pm 1^\circ\text{C}$ ) for 14 days. Afterward, they were transferred to room temperature ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) for 4 days. Samples were randomly selected from each group 2 days interval during the low-temperature storage and daily during the room temperature storage for analysis of CI, overall quality acceptance, firmness, weight loss, hue value of the peel, hydrogen peroxide ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) and malondialdehyde (MDA) contents. It was found that the 100  $\mu\text{M}$  MT-treated fruit exhibited lower CI,  $\text{H}_2\text{O}_2$  and MDA contents and weight loss, whereas higher overall quality acceptance, firmness and hue value compared to the other treatments throughout the storage period. This treatment also had the highest efficiency to reduce and delay CI and extend the shelf life at room temperature by 3 days. On the other hand, concentrations of 50  $\mu\text{M}$  and 200  $\mu\text{M}$  were able to extend the storage life by only 1 day and 2 days, respectively. This finding indicated that 100  $\mu\text{M}$  MT solution could effectively reduce and delay the occurrence of CI, maintain the quality of 'Kimju' guava fruits during storage at low temperature and pro-long shelf life at room temperature.

**Keywords:** chilling injury, 'Kimju' guava fruit, melatonin

บทคัดย่อ

เมลาโทนิน (MT) มีบทบาทสำคัญในการเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณเพื่อบรรเทาการเสื่อมตามอายุและรักษาคุณภาพของผลไม้หลังเก็บเกี่ยวโดยกระตุ้นกลไกป้องกันการต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ MT ความเข้มข้นต่ำต่อการเกิดอาการสะท้านหนาว (chilling injury, CI) และคุณภาพของผลฝรั่งพันธุ์กิมจูที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำโดยการแช่ผลฝรั่งในสารละลาย MT 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ชุดควบคุม), 50, 100 และ 200  $\mu\text{M}$  เป็นเวลา 30 นาที แต่ละกรรมวิธีทำจำนวน 3 ซ้ำ ผึ่งให้แห้งและห่อผลด้วยตาข่ายโฟม บรรจุในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนและบรรจุลงในกล่องกระดาษลูกฟูก นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ( $8\pm 1^\circ\text{C}$ ) เป็นเวลา 14 วัน แล้วย้ายไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $25\pm 1^\circ\text{C}$ ) เป็นเวลา 4 วัน สุ่มตัวอย่างผลจากแต่ละชุดทุกๆ 2 วัน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและทุกๆ วัน ที่อุณหภูมิห้องมาวิเคราะห์ CI การยอมรับคุณภาพโดยรวม ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักและค่าสีเปลือกผล (hue value) ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) และปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) พบว่า ผลฝรั่งที่แช่ในสารละลาย MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  มีดัชนีการเกิด CI ปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA และการสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่า ในขณะที่การยอมรับคุณภาพโดยรวม ความแน่นเนื้อและค่าสีเปลือกผลสูงกว่ากรรมวิธีอื่นๆ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยกรรมวิธีนี้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการลดและชะลอการเกิด CI และยืดอายุการวางจำหน่ายที่อุณหภูมิห้องได้นาน 3 วัน ขณะที่ความเข้มข้น 50 และ 200  $\mu\text{M}$  สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เพียง 1 วัน และ 2 วัน ตามลำดับ ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการแช่ผลฝรั่งใน MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  สามารถลดและชะลอการเกิด CI และรักษาคุณภาพของผลฝรั่งพันธุ์กิมจูระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

**คำสำคัญ:** อาการสะท้านหนาว ผลฝรั่งพันธุ์กิมจู เมลาโทนิน

<sup>1</sup> ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

<sup>1</sup> Department of Biology, Faculty of Science, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200

## คำนำ

อาการสะท้อนหนาว (CI) เป็นอาการผิดปกติทางสรีรวิทยาเนื่องจากการเก็บรักษาผลผลิตในอุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน ทำให้มีอายุการเก็บรักษาสั้นลง ทั้งนี้ในผลฝรั่งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $13^{\circ}\text{C}$  จะมี CI เกิดขึ้น โดยสีเปลือกผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เกิดรอยบวมที่ผิว การเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นและรสที่ผิดปกติ และมีการสูญเสียน้ำหนัก (Supapvanich *et al.*, 2019) กลไกการเกิด CI เกิดจากความเครียดเมื่อพืชอยู่ในสภาพอุณหภูมิต่ำที่มีผลชักนำการสร้างและสะสมอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) และอนุมูลไฮดรอกซิล ( $\text{OH}^{\cdot}$ ) ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุล โดยเฉพาะลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้ม ซึ่งมีมาลอนไดแอลดีไฮด์ (MDA) เป็นผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มถูกทำลายจนเกิดการรั่วไหลของสารต่างๆ ออกจากเซลล์ ส่งผลให้เกิด CI ที่มองเห็นได้ในที่สุด (Song *et al.*, 2022) สำหรับผลฝรั่งพันธุ์กิมจูการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $8^{\circ}\text{C}$  สามารถยืดอายุการเก็บรักษาและการวางจำหน่ายได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ โดยสามารถชะลอการเกิด CI รักษาคุณภาพผลและผลฝรั่งเกิดการสุกได้อย่างปกติ (Vichaiya *et al.*, 2022) ดังนั้นการหากรรมวิธีลดการเกิด CI ในสภาพอุณหภูมิต่ำ  $8^{\circ}\text{C}$  ควบคู่กับการรักษาคุณภาพผลเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลฝรั่งจึงเป็นเรื่องสำคัญ

การส่งสัญญาณในเซลล์พืชเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีความสำคัญในการตอบสนองต่อความเครียดของพืช ที่ผ่านมามีรายงานว่าการให้สารบางชนิด เช่น ไนตริกออกไซด์ (NO) ทริฮาโลสและเมลาโทนิน (MT) จากภายนอกในระดับความเข้มข้นต่ำๆ ที่มีความเหมาะสมแก่พืชสามารถเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณชักนำให้พืชทนต่อความเครียดได้ โดยมีผลกระทบต่อการส่งสัญญาณเพื่อควบคุมสมดุลของพลังงาน สมดุลรีดอกซ์ และการทำงานของระบบต้านออกซิเดชัน จนสามารถลดความเครียดออกซิเดชันลงได้ (Vichaiya *et al.*, 2022) ในการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า MT ความเข้มข้นต่ำสามารถลดและชะลอการเกิด CI รวมถึงรักษาคุณภาพผลฝรั่งพันธุ์กิมจูที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ  $8\pm 1^{\circ}\text{C}$  โดยคาดว่าเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณภายในเซลล์ของผลฝรั่ง

## อุปกรณ์และวิธีการ

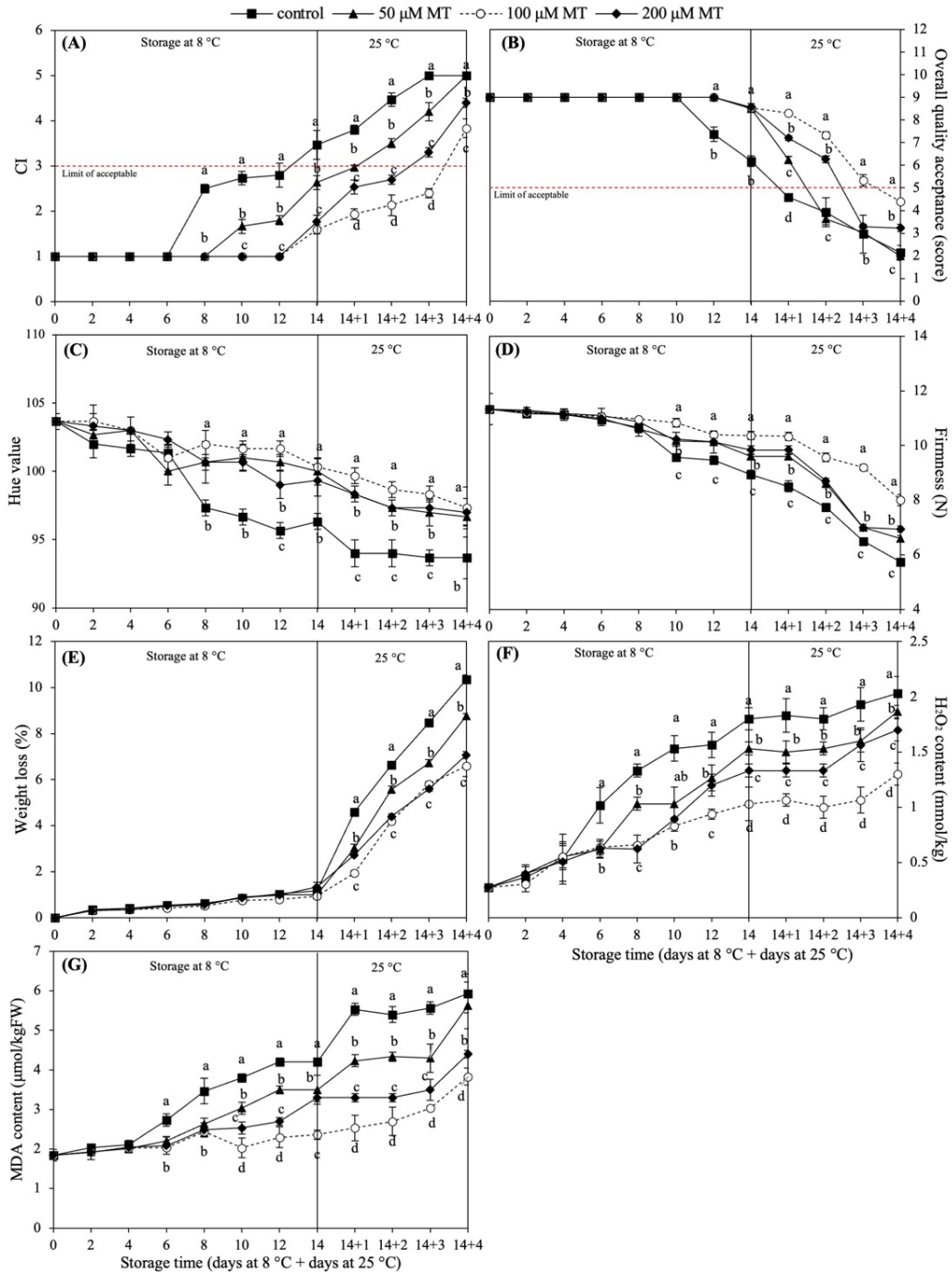
เก็บเกี่ยวและคัดเลือกผลฝรั่งพันธุ์กิมจู (*Psidium guajava* Linn.) ขนาดผลและน้ำหนักผลใกล้เคียงกัน ไม่มีรอยการเข้าทำลายของโรคและแมลงจากสวนเกษตรกรในจังหวัดลำพูนและเชียงใหม่ แล้วนำผลฝรั่งเหล่านี้มาแช่ในสารละลาย MT 4 ระดับความเข้มข้น คือ 0 (ชุดควบคุม), 50, 100 และ  $200\ \mu\text{M}$  เป็นเวลา 30 นาที ผึ่งให้แห้งและห่อผลด้วยตาข่ายโพลีบรูลในถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนและบรรจุลงกล่องกระดาษลูกฟูก นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ( $8\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 14 วัน แล้วย้ายไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ( $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) เป็นเวลา 4 วัน สุ่มตัวอย่างผลจากแต่ละชุดทุกๆ 2 วัน ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและทุกๆ 1 วัน ที่อุณหภูมิห้องมาวิเคราะห์ CI โดยการประเมินด้วยสายตาแล้วบันทึกเป็น CI ที่เปลือกผล (โดยระดับ CI ที่ยอมรับคือไม่เกิน 3) การยอมรับคุณภาพโดยรวมโดยผู้ประเมินโดยใช้ 9-point hedonic scale (โดยระดับที่ยอมรับคือมากกว่า 5) ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก และค่าสีเปลือกผล (hue value) โดยใช้เครื่อง colorimeter (Minolta CR-200) ปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA โดยใช้เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ทั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของกรรมวิธีทดลองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 20 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยทำการทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและสรีรวิทยาของพืช ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

## ผลการทดลอง

การเกิด CI ของผลฝรั่งในทุกกรรมวิธีทดลองเพิ่มขึ้นตามลำดับเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นที่อุณหภูมิต่ำและการเกิด CI รุนแรงขึ้นเมื่อนำผลออกมาเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง ผลที่ผ่านการแช่ด้วย MT ความเข้มข้น 50- $200\ \mu\text{M}$  มี CI ต่ำกว่าชุดควบคุมในช่วง 8-14 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและหลังจากที่นำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (Figure 1A) ที่อุณหภูมิห้องผลฝรั่งที่แช่สารละลาย MT ความเข้มข้น  $100\ \mu\text{M}$  มี CI ต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับนาน 3 วัน ขณะที่ความเข้มข้น 50 และ  $200\ \mu\text{M}$  มี CI ต่ำกว่าเกณฑ์การยอมรับนาน 1 และ 2 วัน ตามลำดับ สอดคล้องกับการยอมรับคุณภาพโดยรวมที่ประเมินที่อุณหภูมิห้อง พบว่าผลฝรั่งที่แช่สารละลาย MT ความเข้มข้น  $100\ \mu\text{M}$  มีการยอมรับสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับนาน 3 วัน ขณะที่ความเข้มข้น 50 และ  $200\ \mu\text{M}$  มีการยอมรับสูงกว่าเกณฑ์การยอมรับนาน 1 และ 2 วัน ตามลำดับ (Figure 1B) สีของเปลือกผลที่แสดงในรูป hue value พบว่าผลที่ผ่านการแช่ด้วย MT ทุกระดับความเข้มข้นมีค่า hue สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางในช่วง 8-14 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและหลังจากที่นำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (Figure 1C) ค่าความแน่นเนื้อของผลฝรั่งไม่แตกต่างกันในช่วง 8 วันแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ อย่างไรก็ตามหลังจากวันที่ 8 ของการเก็บรักษาพบว่าผลฝรั่งที่ได้รับ MT ทุกระดับความเข้มข้นมีความแน่นเนื้อสูงกว่าชุดควบคุม (Figure 1D) นอกจากนี้พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักผลของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่าง

กันในช่วงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ แต่เมื่อนำมาวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าผลที่ได้รับ MT มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1E) โดยผลฝรั่งที่ได้รับ MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด

ปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA ของทุกชุดการทดลองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ และสูงสุดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (Figure 1F-G) ผลฝรั่งที่แช่ในสารละลาย MT ทุกระดับความเข้มข้นมีปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA ต่ำกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดย MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  มีปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA ต่ำที่สุด โดยต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างวันที่ 6-14 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและหลังจากที่ย้ายมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง



**Figure 1** Changes in CI (A), overall quality acceptance (B), hue value (C), firmness (D), weigh loss (E)  $\text{H}_2\text{O}_2$  (F) and MDA (G) contents of 'Kim Ju' guava fruit during storage at  $8\pm 1^\circ\text{C}$  for 14 days and  $25\pm 1^\circ\text{C}$  for 4 days. Bars (standard deviation) with the same letter in each sampling time are not significant difference. (n=3)

### วิจารณ์ผลการทดลอง

การแช่ผลฝรั่งในสารละลาย MT สามารถลดและชะลอการเกิด CI ของผลฝรั่งได้ (Figure 1A) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับความเข้มข้นของ MT โดย MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  มีประสิทธิภาพสูงที่สุด สอดคล้องกับค่าสีเปลือกผลที่พบว่า MT ช่วยรักษาเปลือกผลฝรั่งไม่ให้คล้ำดำดีกว่าชุดควบคุม โดยมีค่า hue สูงและลดลงช้าลงนั่นเอง (Figure 1C) นอกจากนี้ MT ยังช่วยรักษาความแน่นเนื้อ (Figure 1D) และชะลอการสูญเสียน้ำหนักของผลฝรั่งได้ (Figure 1E) นอกจากนี้พบว่าผลการแช่ผลฝรั่งในสารละลาย MT ยังช่วยรักษาคุณภาพผล โดยได้รับคะแนนการยอมรับคุณภาพโดยรวมสูงกว่าชุดควบคุม (Figure 1B) ทั้งนี้คาดว่าป็นผลมาจาก MT ช่วยลดการเกิด CI ของเปลือกผล ชะลอการเปลี่ยนสีและน้ำหนักรวมถึงช่วยรักษาความแน่นเนื้อดังที่กล่าวมาข้างต้น ซึ่งเป็นดัชนีสำคัญของคุณภาพผลฝรั่งหลังเก็บเกี่ยว ซึ่งศักยภาพของ MT ในการลดการเกิด CI ให้ผลเช่นเดียวกับงานทดลองที่ใช้ MT ความเข้มข้นต่ำในมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดการเกิด CI ของผลมะเขือเทศได้เช่นกัน (Aghdam *et al.*, 2019)

นอกจากนี้ MT ยังช่วยลดปริมาณ  $\text{H}_2\text{O}_2$  ลงได้ (Figure 1F) อาจทำให้การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มต่างๆ ลดลง จากผลการทดลองพบว่า MT สามารถลดการสะสม MDA (Figure 1G) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของกระบวนการลิพิดเปอร์ออกซิเดชันโดย  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ  $\text{OH}^\cdot$  ซึ่งอาจเป็นผลให้เปลือกผลได้รับความเสียหายลดต่ำลง โดยระดับความเข้มข้นที่ดีที่สุดคือ 100  $\mu\text{M}$  ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นๆ ลดการสะสมของ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และ MDA ได้เพียงเล็กน้อยในช่วงแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเท่านั้น ซึ่งส่งผลให้ลดการเกิด CI ได้ไม่ดีเท่าความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  กลไกสำคัญในการลดการเกิด CI ของ MT ความเข้มข้นต่ำอาจเกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณ โดยสันนิษฐานว่า MT ทำหน้าที่เป็นสารส่งสัญญาณจากภายนอกไปกระตุ้นการสร้างสารส่งสัญญาณขั้นที่ 2 เช่น  $\text{H}_2\text{O}_2$  หรือ NO ของกระบวนการส่งสัญญาณภายในเซลล์ ซึ่งไปกระตุ้นการทำงานของโปรตีน mitogen-activated protein kinase ในกระบวนการถ่ายทอดสัญญาณ ส่งผลให้มีการตอบสนองระดับเซลล์ในเรื่องการส่งเสริมการแสดงออกของยีนและการทำงานของเอนไซม์ในระบบต้านออกซิเดชัน เช่น ระบบแอสคอร์เบตกลูตาไธโอน ทำให้สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระ จนเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงและ CI ลดลงในที่สุด (Song *et al.*, 2022)

### สรุปผลการทดลอง

การแช่ผลฝรั่งพันธุ์กิมจูในสารละลาย MT ความเข้มข้น 100  $\mu\text{M}$  สามารถลดและชะลอการเกิด CI และรักษาคุณภาพของผลฝรั่งระหว่างเก็บรักษาอุณหภูมิต่ำได้และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ผ่านการลดการสะสมอนุมูลอิสระ  $\text{H}_2\text{O}_2$  และปริมาณ MDA

### คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่สนับสนุนทุนการวิจัยและเอื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- Aghdam, M.S., Z. Luo, A. Jannatizadeh, M. Sheikh-Assadi, Y. Sharafi, B. Farmani, J.R. Fard and F. Razavi. 2019. Employing exogenous melatonin applying confers chilling tolerance in tomato fruits by upregulating ZAT2/6/12 giving rise to promoting endogenous polyamines, proline, and nitric oxide accumulation by triggering arginine pathway activity. *Food Chem.* 275: 549-556.
- 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 Biol. Technol.* 194: 112092.
- Supapvanich, S., Y. Kernprrie, P. Boonyariththongchai, C. Techavuthiporn, R. Tepsorn and P. Youryon. 2019. Physicochemical quality maintenance and bioactive compounds enhancement of Thai guava fruit cv. 'Kim Ju' by using combinative hot water and methyl jasmonate immersion. *Emir. J. Food Agric.* 31: 395-404.
- Vichaiya, T., B. Faiyue, S. Rotarayanont, J. Uthaibutra and K. Saengnil. 2022. Exogenous trehalose alleviates chilling injury of 'Kim Ju' guava by modulating soluble sugar and energy metabolisms. *Sci. Hortic.* 301: 111138.