บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลกำลังเป็นที่นิยมของท้องตลาด ตลอดจนส่งออกไปจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศ โดยเฉพาะ จีน ไต้หวัน อินโดนีเซีย ฮ่องกง แคนาดาและยุโรป ทั้งนี้เนื่องจากพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลมีผลขนาดใหญ่ สีเขียวสวยงาม มีทรงผลที่โดดเด่น รสชาติดีคล้ายแอปเปิ้ล เกษตรกรไทยสามารถปลูกพุทราได้ผลดี เนื่องจากสภาพอากาศเหมาะสม นอกจากนี้พุทรายังมีศัตรูธรรมชาติน้อย ราคาดี ให้ผลผลิตทั้งปี

สำหรับปัญหาที่พบกับผลพุทราได้แก่ การเสื่อมสภาพไปอย่างรวดเร็ว (ประมาณ 2-5 วัน) เช่นการเหี่ยว นิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเน่าจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ผลพุทราเป็นผลไม้ที่เกิดการชอกช้ำและบาดแผลได้ง่าย เนื่องจากมีเปลือกค่อนข้างบาง อย่างไรก็ตามการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำและความชื้นสัมพัทธ์สูงเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถชะลอการเสื่อมสภาพดังกล่าวได้ แต่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเกินไปส่งผลให้เกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury; CI) และถ้าความชื้นสัมพัทธ์สูงทำให้เชื้อราชนิดต่าง ๆ เจริญเติบโตได้ดี ซึ่งเป็นข้อจำกัดการขนส่งและการเก็บรักษาของพุทรา ดังนั้นหากสามารถยับยั้งหรือลดการเกิดอาการสะท้านหนาว และการเน่าเสียรวมทั้งการเสื่อมสภาพไปอย่างรวดเร็วของผลพุทราหลังการเก็บเกี่ยวได้ก็จะสามารถลดปัญหาดังกล่าว

การลดอาการสะท้านหนาวสามารถทำได้ด้วยการใช้สารเมทิลจัสโมเนส ซึ่งมีรายงานใน มะม่วง อะโวกาโด มะละกอ และแตงกวา (Wang และ Buta, 1994;Meir และคณะ, 1998; González-Aguilar และคณะ, 2000; González-Aguilar และคณะ, 2003) รวมทั้งการใช้สาร Salicylic acid ซึ่งมีรายงานว่าสามารถลดอาการสะท้านหนาวในมะเขือเทศ (Ding และคณะ, 2002) และกล้วย (Kang และคณะ, 2003) และยับยั้งการสังเคราะห์หรือการทำงานของเอทิลีนในกล้วย(Srivartava และ Dwivedi, 2000) และกีวี (Zhang และคณะ, 2003) รวมทั้งควบคุมการเกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งศึกษาถึงการใช้ สาร methyl jasmonate และ salicylic acid เพื่อลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทรา ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรไทยมีศักยภาพในการส่งไปจำหน่ายยังตลาดที่อยู่ห่างไกลรวมไปถึงส่งออกไปยังต่างประเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุด

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของสารเมทิลจัสโมเนสต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

2. เพื่อศึกษาผลของสารซาลิคไซลิกต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

ขอบเขตของโครงการวิจัย

1. ศึกษาผลของพุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนสความเข้มข้น 0 0.1 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ นาน 8 ชั่วโมง ต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

2. ศึกษาผลของการจุ่มด้วยสารซาลิคซาลิกความเข้มข้น 0 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร และเก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ต่ออาการสะท้านหนาวในผลพุทรา

วิธีการดำเนินการวิจัยโดยสรุป

1. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้น มาแบ่งชุดการทดลอง โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

2. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้นมาแบ่งชุดทดลอง รมด้วยเมทิลจัสโมเนทความเข้มข้น 0 0.1 และ 1.0 ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลซียส ทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

3. นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้นมาแบ่งชุดทดลอง ทำการจุ่มด้วยสารซาลิคไซลิกความเข้มข้น 0 และ 2.0 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลซียส ทำการบันทึกผลการทดลองทางกายภาพและทางชีวเคมีทุก 3 วัน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับเทคโนโลยีการใช้สารเมทิลจัสโมเนทและกรดซาลิคไซลิกในการลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทรา ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

2. ได้คู่มือหรือเอกสารประกอบการของโครงการวิจัยนี้

3. ได้เผยแพร่ความรู้จากงานวิจัยแก่นักศึกษาและนักวิชาการ ให้มีความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับการยืดอายุและการเก็บรักษาพุทราในระหว่างการเก็บรักษาโดยการใช้สารเมทิลจัสโมเนทและกรดซาลิคไซลิก

ตรวจเอกสาร

พุทรา (*Zizyphus mauritiana* Lamk.) เป็นไม้ผลยืนต้นเขตร้อนขนาดกลางที่ปลูกง่ายในดินทุกชนิด มีความทนทานต่อความแห้งแล้งและบริเวณฝนตกชุกได้ดี ให้ผลเร็วกว่าไม้ผลชนิดอื่นหลายชนิดและให้ผลผลิตสูง ในประเทศไทยปลูกกันมากในแถบอำเภอดำเนินสะดวก อำเภอสวนผึ้ง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี และอำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม ผลผลิตที่ได้นอกจากบริโภคภายในประเทศแล้ว ยังมีการส่งไปจำหน่ายในต่างประเทศ คือ มาเลเซีย อาหรับอิมิเรตส์ และประเทศในแถบยุโรป (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545) ปัจจุบันพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล หรือจัมโบ้ เป็นพันธุ์ที่ผลมีขนาดใหญ่ น้ำหนักมากกว่า 100 กรัมขึ้นไป มีเนื้อมาก และกรอบ ผลแก่จัดมีสีเหลือง เป็นพันธุ์ที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่งในปัจจุบัน

การเสื่อมคุณภาพของผลพุทราเป็นไปอย่างรวดเร็ว (ประมาณ 2 – 5 วัน) หลังจากเก็บเกี่ยว โดยลักษณะที่ปรากฏได้แก่ การเหี่ยวนิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและผลเน่าจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ พุทราเป็นผลไม้ที่ชอกช้ำและเกิดบาดแผลได้ง่าย เนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ผิวชั้นนอกสุดของผลไม้คือ Epidermis เป็นเซลล์ที่มีการติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก บนผนังเซลล์ด้านนอกจะมีสารพวกคิวติน (cutin) ซึ่งเป็นสารคล้ายขี้ผึ้งฉาบอยู่เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ เรียกว่าคิวติเคิล (cuticle) (เทียมใจ คมกฤส, 2541) แต่เซลล์ Epidermis และ cuticle ของพุทราค่อนข้างบาง เมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่น การใช้อุณหภูมิต่ำเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพวิธีการหนึ่งในการชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ (จริงแท้, 2538) นอกจากอุณหภูมิต่ำแล้ว การเก็บรักษาในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้เชื้อราชนิดต่างๆ ที่มีอยู่บนผิวผลไม้เจริญเติบโตได้ดีส่งผลให้ผลไม้เน่าเสียได้ง่าย แต่หากเก็บในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ผลไม้จะเกิดการสูญเสียน้ำซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับเนื่องจากผลจะเหี่ยวนิ่มและทำให้มีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นตามไปด้วย พุทราเป็นผลไม้ในเขตร้อน ซึ่งถ้าอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ำกว่าอุณหภูมิในการเก็บที่เหมาะสม แต่สูงกว่าจุดเยือกแข็งสามารถทำให้ผลไม้เกิดความเสียหาย หรือเกิดอาการผิดปรกติทางสรีระวิทยา หรือที่เรียกว่า อาการสะท้านหนาว (Chilling injury, CI) ซึ่งการเกิดอาการสะท้านหนาวเป็นปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญมากต่อการเสื่อมคุณภาพของผลไม้เขตร้อน และเขตกึ่งร้อน อาการผิดปกติจากอาการสะท้านหนาว ได้แก่ การเกิดรอยแผลสีน้ำตาล หรือ ดำ (discoloration) รอยบุ๋ม (pitting) เนื่องจากเซลล์บริเวณนั้นตายไป เนื้อเยื่อถูกทำลาย (breakdown of tissue) เนื้อเยื่อฉ่ำน้ำ

สาเหตุของการเกิดอาการสะท้านหนาว สันนิษฐานว่าเนื่องจากองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์หรือเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์บางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงคือ fatty acid side chain ของ phospholipids ในเยื่อหุ้มเหล่านี้แตกต่างกัน ซึ่งพวกที่เกิดอาการสะท้านหนาวได้ง่ายจะเป็นพวกที่มีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นองค์ประกอบของ phospholipids ของเยื่อหุ้มต่าง ๆ และจะเปลี่ยนสภาพทางกายภาพจากลักษณะที่อ่อนตัว (liquid crytaline) มาเป็นลักษณะแข็ง (solid gel) ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มนั้นผิดปกติ ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของกระบวนการทางสรีระวิทยาภายในเซลล์ขึ้น การควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ จะเสื่อมลง ทำให้ substrate ต่าง ๆ มีโอกาสสัมผัสกับเอนไซม์ได้โดยขาดการควบคุม ส่งผลให้เซลล์ขาดสมดุลและตายในที่สุด ส่วนในผลิตผลที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำจะมีกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นส่วนใหญ่ เมื่ออุณหภูมิต่ำลงก็ยังคงรักษาสถานะที่อ่อนตัวอยู่ได้ (จริงแท้, 2538) นอกจากนี้อาการสะท้านหนาวยังเกิดจากขบวนการออกซิเดชัน (oxidative damage) อีกด้วย

การเกิดออกซิเดชัน (oxidation damage) เป็นการตอบสนองอีกอย่างหนึ่งของพืชเมื่อเกิดอาการสะท้านหนาว (Horiyadi และคณะ, 1991) โดยเกิดจากออกซิเจนในรูปแอคทีฟ (active form of oxygen) ได้แก่ superoxide radical (O_2^-) hydrogen peroxide (H_2O_2) hydroxyl radical (OH) ซึ่งเกิดจากการปลดปล่อยระหว่างที่เซลล์เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม และพบว่ามีการสะสมในระดับที่สูงเมื่อเกิดความเครียด (Bowler และคณะ, 1992) superoxide radical จะมีการเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟเหล่านี้สามารถทำให้เกิดการออกซิเดชันทำลายพันธะคู่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ในเยื่อหุ้มเซลล์ (Wang, 1995)

ระบบการป้องกันอันตรายโดยการเกิดออกซิเดชัน โดยปกติพืชจะมีระบบป้องกันการทำงานโดยการเกิดออกซิเดชันดังกล่าว โดยการทำงานร่วมกันของระบบเอนไซม์ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD) จะทำงานร่วมกับเอนไซม์ catalase โดยเอนไซม์ SOD ทำการเปลี่ยนรูป superoxide radical เป็น hydrogen peroxide จากนั้นเอนไซม์ catalase จะทำการเปลี่ยน hydrogen peroxide ไปเป็นโมเลกุลของน้ำ และออกซิเจน ในขณะที่เอนไซม์ peroxidase มีกลไกแตกต่างจากเอนไซม์ catalase โดยจะปลดปล่อย free radical แทน ออกซิเจน (Burris, 1960)

$2O_2^-$ (superoxide) + 2H+ SOD $\longrightarrow$ H_2O_2 (hydrogen peroxide) + O_2

$2H_2O_2$ $\xrightarrow{\text{catalase}}$ $2H_2O + O_2$

$2H_2O_2RH_2$ peroxidase $2H_2O$ + R (free radical)

สาร Methyl jasmonate เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตมีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช และการพัฒนาของผล การสุก และการตอบสนองต่อสภาวะความเครียด (Creelman และ Mullet, 1997) มีรายงานการใช้สาร Methyl jasmonate ในการลดการเกิดโรค และอาการสะท้านหนาวในพืชหลายชนิด รวมทั้ง มะเขือเทศ ฝรั่ง และลูกพีช (Ding และคณะ, 2002; Feng และคณะ, 2003;González-Aguilar และคณะ,2004) จากการศึกษาของ Jin และคณะ (2009) พบว่าการรม Methyl jasmonate ความเข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อลิตร ที่ 38 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมงในผลพีชมีคุณภาพสูง และมีเปอร์เซ็นต์การเกิดอาการสะท้านหนาวต่ำ นอกจากนี้ Cao และคณะ (2007) ทำการทดลองด้วยการรม Methyl jasmonate ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อลิตร สามารถลดอาการสะท้านหนาวในผล loquat ได้

ส่วนสาร Salicylic acid (SA) สามารถลดความรุนแรงในการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยเพิ่มความทนทานให้พืช และผลิตผลด้วยการช่วยลดการสูญเสียน้ำ ปรับปรุงองค์ประกอบของเมมเบรนลิปิด และเพิ่มกิจกรรมของแอนติออกซิแดนซ์ โดยสาร Salicylic acid เป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบ Phenolic ที่นิยมใช้ในพืชและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช มีการนำสาร Salicylic acid มาใช้เพิ่มความต้านทานอาการสะท้านหนาวในข้าวโพด(Janda และคณะ, 1999) มะเขือเทศ (Ding และคณะ, 2002) และกล้วย (Kang และคณะ, 2003) นอกจากนี้ สาร Salicylic acid ยังมีบทบาทในการยับยั้งเอนไซม์ catalase และมีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์และการทำงานของเอทิลีน โดยพบว่ามีการใช้สาร Salicylic acid ในการชะลอการสุกของกล้วย และกีวี โดยไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (Srivartava และ Dwivedi, 2000; Zhang และคณะ, 2003) จากการศึกษาของ Xu และคณะ (2000) พบว่า Salicylic acid มีผลในการลดกิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase (LOX) ในชิ้นเนื้อของกีวีฟรุ้ต ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของ free radical และการผลิตเอทิลีนลดลง และจากการศึกษาในข้าวโพด โดยการใช้ Salicylic มีผลทำให้ลดอัตราการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพแวดล้อมปกติ ส่งผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme,

peroxidase) ส่งผลให้ข้าวโพดมีความต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำ 2 องศาเซลเซียส ได้เพิ่มมากขึ้น (Janda และคณะ, 1999) รวมทั้งมีบทบาทควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของพืช โดยมีผลทำให้มีปริมาณของ H_2O_2เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก H_2O_2 จัดเป็นปฏิกิริยาตอบสนองอื่น ๆ ที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา (Lamb และDixon, 1997)

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การใช้สาร Methyl jasmonate และ Salicylic acid เพื่อลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทราในช่วงการขนส่ง และการเก็บรักษา ซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกษตรกรไทยมีศักยภาพในการส่งไปจำหน่ายยังตลาดที่อยู่ห่างไกลรวมไปถึงส่งออกไปยังต่างประเทศได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การเตรียมผลิตผล

คัดเลือกผลพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล จากสวนของเกษตรกรจังหวัดสมุทรสาคร นำมาคัดเลือกผลที่ปราศจากตำหนิ และการเข้าทำลายของโรค และแมลงต่างๆขนาดใกล้เคียงกัน ทำการขนส่งโดยรถยนต์มายังห้องปฏิบัติการสายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี วิทยาเขตบางขุนเทียน แล้วนำไปทำการทดลองต่อไป

2.ขั้นตอนการทดลอง

<u>การทดลองที่</u> 1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพการเก็บรักษาของผลพุทรา

นำผลพุทราที่ผ่านการเตรียมเบื้องต้น มาแบ่งชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ชุดการทดลองที่ 2 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ชุดการทดลองที่ 3 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ในแต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 4 ซ้ำ และในแต่ละซ้ำใช้ 1 ผล วิเคราะห์โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และ วิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) จากนั้นทำการบันทึกผลการทดลองทุก 3 วัน

<u>การทดลองที่</u> 2 ศึกษาผลของเมทิลจัสโมเนท(Methyl jasmonate, MeJA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

นำผลพุทราที่เตรียมได้จากข้างต้น รมด้วยสาร Methyl jasmonate ที่ความเข้มข้นดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 รมด้วย Methyl jasmonate เข้มข้น 0 ไมโครโมลต่อลิตร

ชุดทดลองที่ 2 รมด้วย Methyl jasmonate เข้มข้น 0.1 ไมโครโมลต่อลิตร

ชุดทดลองที่ 3 รมด้วย Methyl jasmonate เข้มข้น 1 ไมโครโมลต่อลิตร

รมผลพุทราในถังรมที่ปิดสนิท นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำผลพุทราใส่ตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 90

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ในแต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 4 ซ้ำ และในแต่ละซ้ำใช้ 1 ผลวิเคราะห์โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) จากนั้นทำการบันทึกผลการทดลองทุก 3 วัน

<u>การทดลองที่</u> 3 ศึกษาผลของซาลิคไซลิก(Salicylic acid, SA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

นำผลพุทราที่เตรียมได้จากข้างต้น จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้นดังนี้

ชุดทดลองที่ 1 จุ่มด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ชุดทดลองที่ 2 จุ่มด้วยน้ำกลั่น เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

ชุดทดลองที่ 3 จุ่มด้วย Salicylic acid เข้มข้น 2.0 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

ชุดทดลองที่ 4 จุ่มด้วย Salicylic acid เข้มข้น 2.0 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

จุ่มผลพุทราในสารดังกล่าว นาน 3 นาที แล้วนำผลพุทราใส่ตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิข้างต้น ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 80-90 วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) ในแต่ละชุดการทดลองประกอบด้วย 4 ซ้ำ และในแต่ละซ้ำใช้ 1 ผลวิเคราะห์โดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) จากนั้นทำการบันทึกผลการทดลองทุก 3 วัน

บันทึกผลการทดลองทุก ๆ 3 วัน จนกระทั่งหมดอายุการเก็บรักษาวิเคราะห์ผลการทดลองดังนี้

1.ความเสียหายของพุทราที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำ (Chilling injury, CI) โดยสังเกตความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวเปลือก กำหนดระดับคะแนนดังนี้

คะแนน 0 หมายถึง ปกติ

คะแนน 1 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI น้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ผิว

คะแนน 2 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI ร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ผิว

คะแนน 3 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI มากกว่าร้อยละ 51 ของพื้นที่ผิวและผิวเหี่ยวนิ่ม

2. กิจกรรมเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)

โดยนำเนื้อเยื่อมา 1 กรัม ปั่นร่วมกับ PVPP จำนวน 0.1 กรัม และ 5 มิลลิลิตร ของ 50 มิลลิโมล sodium borate buffer (pH 7.8) ที่ 4 องศาเซลเซียส ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000×g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และของเหลวใสที่ได้ มาเติมสารต่าง ๆ ได้แก่ 50 มิลลิโมล ของ sodium borate buffer (pH 7.8) 0.1 มิลลิโมลของ EDTA 13 มิลลิโมล ของ methionine 2 ไมโครโมล ของ riboflavin และ 75 ไมโครโมล ของ 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl-formazan (MTT) ปล่อยให้ผสมกันในแสงฟลูออเรทเซ้ท ที่ความเข้มแสง 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ผสมกันก่อนนำของเหลวใสสีน้ำเงินไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

3. กิจกรรมเอนไซม์ Lipoxygenase (LOX)

นำเนื้อเยื่อมา 5 กรัม ปั่นร่วมกับ 20 มิลลิลิตร ของ 0.1 โมลาร์ phosphate buffer (pH 7) ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 17,400×g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที กิจกรรมเอนไซม์วัดโดยผสม 10 ไมโครลิตร ของ linoleic acid เติมน้ำ 4 มิลลิลิตร เติม 1 มิลลิลิตร ของ NaOH ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และ 5 ไมโครลิตร ของ Tween 20 ผสมและเขย่าด้วยมือ เจือจางด้วยน้ำดีไอออนไน ให้ได้ 25 มิลลิลิตร ต่อมาวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยการเติม 1.80 มิลลิลิตร ของ phosphate buffer pH 6.8 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เติม 50 ไมโครลิตร ของ linoleic acid และสารสกัดเอนไซม์ 150 ไมโครลิตร อ่านค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 234 นาโนเมตร หลังผสมทันที

4. กิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase (POD)

โดยนำเนื้อเยื่อมา 5 กรัม ปั่นร่วมกับ PVPP จำนวน 0.5 กรัม และ 20 มิลลิลิตร ของ 0.05 โมล่าร์ sodium phosphate buffer (pH 7) ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000×g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และของเหลวใสที่ได้ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมกับ 2.78 มิลลิลิตร ที่มี 0.05 โมล่าร์ ของ sodium phosphate buffer (pH 7.0) 0.1 มิลลิลิตร ของ 1% H_2O_2 และ 0.1 มิลลิลิตร ของ 4% guaiacol วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร บันทึกข้อมูลหลังทำปฏิกิริยา 2 นาที

5. ปริมาณโปรตีน

ดูดสารละลายส่วนใสที่สกัดได้จากการวิเคราะห์หาเอนไซม์ (PAL, SOD, PPO, POD) มา 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย coomassie blue 4 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จากนั้นเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโปรตีนมาตรฐาน BSA (bovine serum albumin) กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

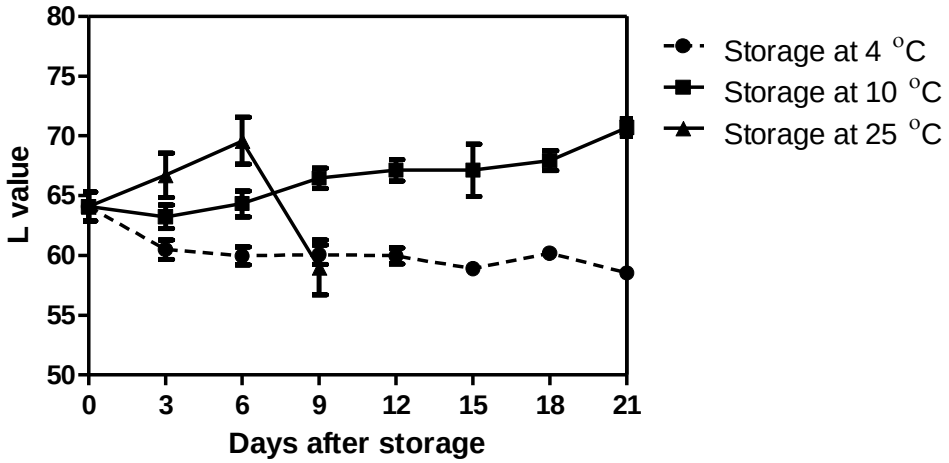
ผลการทดลอง

ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพการเก็บรักษาของผลพุทรา

1.ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

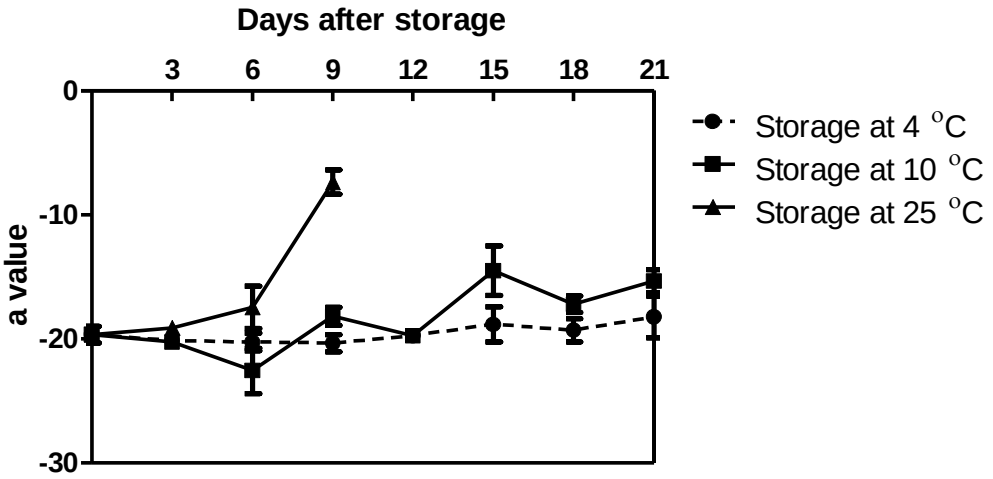
การเปลี่ยนแปลงสีของผลพุทรา โดยการพิจารณาค่า L a b และ Hue angel ซึ่งค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่าง พุทราชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น แต่ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 6 และมีค่าลดลง ในขณะที่ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีค่าลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยผลพุทราชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่าความสว่างสูงที่สุดในวันที่ 6 เท่ากับ 69.60 ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีอายุการเก็บรักษาสั้นที่สุดเท่ากับ 9 วัน แต่ชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีอายุการเก็บรักษาถึง 21 วัน ซึ่งในวันที่ 9 ของการเก็บรักษาชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสมีค่าความสว่างสูงที่สุดเท่ากับ 66.45 รองลงมาคือ ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียสเท่ากับ 60.07 และ 58.98 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 70.72 รองลงมาคือ ชุดที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเท่ากับ 58.54 ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง(รูปที่ 1.1)



รูปที่ 1.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L value ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ค่า a

ค่า a เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของสีในช่วงสีเขียว-แดง โดยค่า a เป็นลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว ค่า a เป็นบวก แสดงความเป็นสีแดง ผลการทดลองการเปลี่ยนแปลงค่า a พบว่า ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงค่า a เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา สีเขียวของผลพุทราลดน้อยลงในระหว่างการเก็บรักษา ค่า a เริ่มต้นของผลพุทราเท่ากับ -19.66 โดยผลพุทราชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่า a เพิ่มขึ้นจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 9)เท่ากับ -7.39 ซึ่งแตกต่างจากชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติในขณะที่พุทราชุดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 4 องศาเซลเซียสมีค่า a ค่อยๆเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา 21 วัน และมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 15 และ 21 เท่ากับ -14.51 และ -18.23 ตามลำดับ(รูปที่ 1.2)

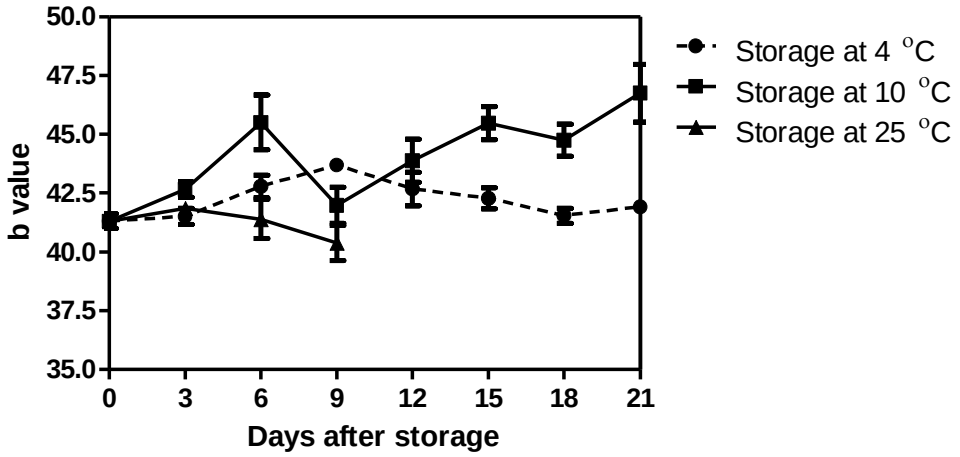


รูปที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a value ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ค่า b

ค่า bเป็นของเปลี่ยนแปลงของสีในช่วงสีน้ำเงิน-เหลือง ในกรณีที่ ค่า b เป็นลบ จะแสดงสีน้ำเงิน และในกรณีที่ค่า b เป็นบวกจะแสดงสีเหลือง โดยค่าที่ห่างจาก 0 มาก หมายถึงการปรากฏของสีเด่นชัดมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงค่า b หรือสีเหลืองของผลพุทราพบว่า ผลพุทราในชุดการทดลองที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ค่า b เริ่มต้นของผลพุทราเท่ากับ 41.30พุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสมีค่า b เพิ่มสูงกว่าพุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ในระหว่างการเก็บรักษา นั่นคือพุทราที่เก็บที่ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากกว่าชุดที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่ชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงค่า b ลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 9)เท่ากับ 40.37 ซึ่งแตกต่างทางสถิติ

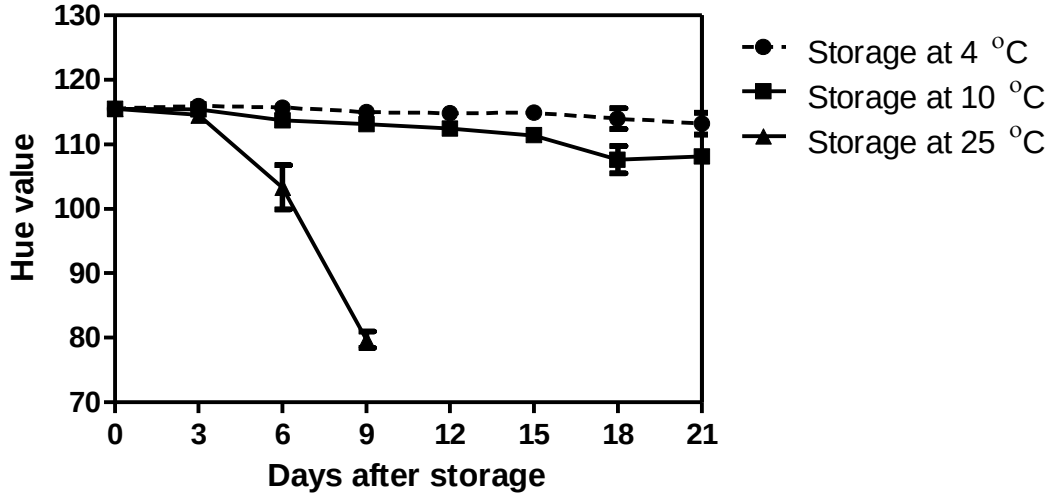
อย่างมีนัยสำคัญ ชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่า b สูงที่สุดในวันที่ 9 และ 6 เท่ากับ 43.70 และ 45.51 ตามลำดับ(รูปที่ 1.3)



รูปที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b value ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

ค่า Hue angle

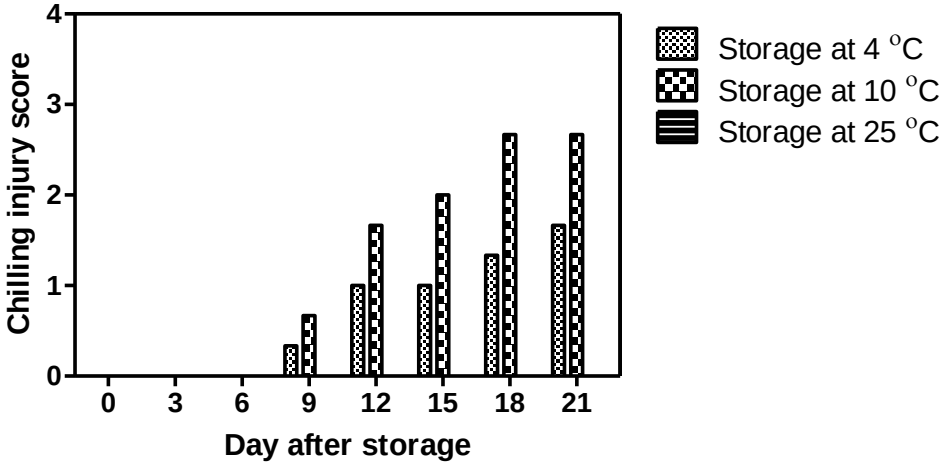
การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle พบว่า ผลพุทราในชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พุทรามีค่า Hue เริ่มต้นเท่ากับ 115.45 และพุทราทุกชุดทดลองมีแนวโน้มของค่า Hue ลดลงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาค่า Hue ที่ลดลงหมายถึงผลพุทราเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ผลการทดลอง พบว่า พุทราชุดที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสมีการลดลงของค่า Hue มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 10 และ 4 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยพุทราชุดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่าลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 9)เท่ากับ 78.92 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ซึ่งตลอดอายุการเก็บรักษาผลพุทราไว้ที่อุณหภูมิต่างๆพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวันที่ 6 และ 9 ของการเก็บรักษา และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา(รูปที่ 1.4)



รูปที่ 1.4การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angleของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.1.2 การเกิดอาการสะท้านหนาว

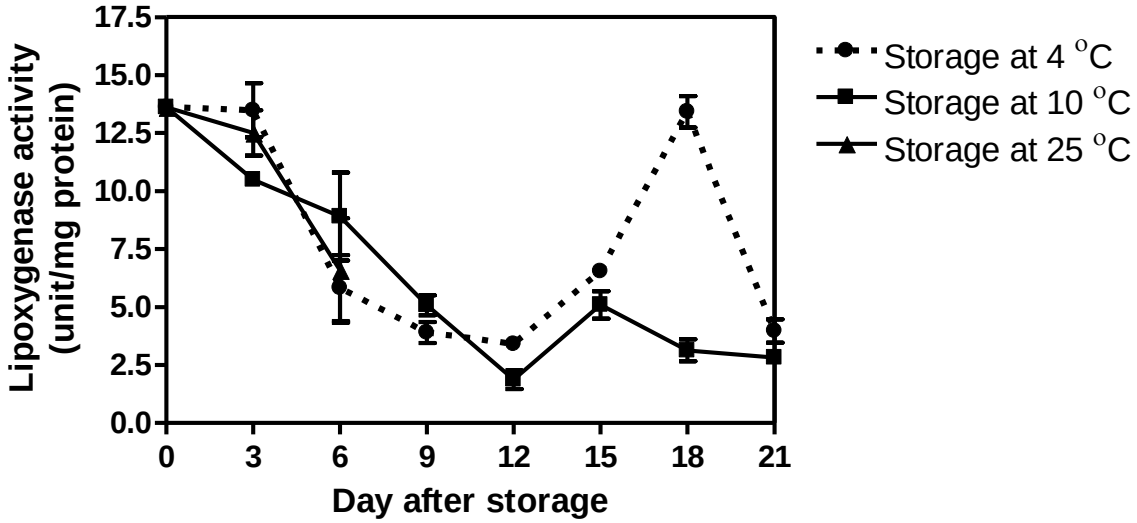
ความเสียหายของพุทราที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำ (Chilling injury, CI) โดยสังเกตความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวเปลือกโดยการให้คะแนน ผลการทดลองพบว่า พุทราที่เก็บที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เริ่มมีอาการผิดปกติตั้งแต่วันที่ 9 ของการเก็บรักษา โดยผลที่เก็บที่ 10 องศาซาเซลเซียส เริ่มมีจุดสีดำเล็กๆบนผิว ส่วนชุดที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เริ่มมีอาการผิวย่นเล็กน้อย ผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส แสดงอาการสะท้านหนาว โดยมีจุดสีน้ำตาลกระจายอยู่บริเวณผิวผล และมีปริมาณมากขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ในขณะที่ผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส มีการเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว เกิดสีน้ำตาล และมีการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ มีอายุการเก็บรักษา 6 วัน โดยไม่มีอาการสะท้านหนาว ผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส แสดงอาการผิวย่น และมีความรุนแรงมากขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น (รูปที่ 1.5)



รูปที่ 1.5คะแนนการเกิดอาการสะท้านหนาว (คะแนน 0 หมายถึง ปกติ; คะแนน 1 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI น้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ผิว; คะแนน 2 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI ร้อยละ 26-50 ของพื้นที่ผิว; คะแนน 3 หมายถึง ผิวผลเริ่มแสดงอาการ CI มากกว่าร้อยละ 51 ของพื้นที่ผิว และผิวเหี่ยวนิ่ม) ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.1.3กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX)

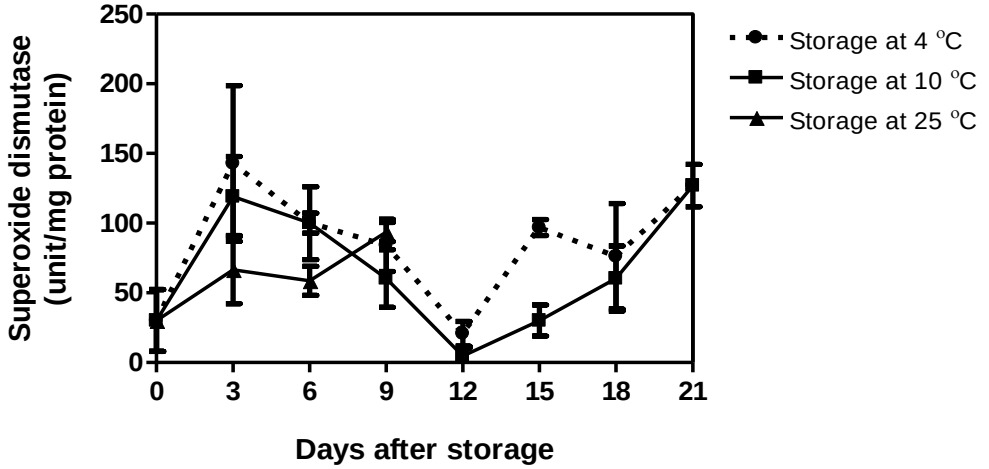
กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ในทุกชุดการทดลองพบว่า ผลพุทรามีกิจกรรมเอนไซม์ LOX วันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่ากับ 13.61 unit/mg protein และพุทราทุกชุดการทดลองมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังจากเก็บรักษา 12 วัน พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเริ่มมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX เพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าสูงสุดในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา มีค่าเท่ากับ 13.42 unit/mg proteinซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX สูงกว่าพุทราที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 3.13 unit/mg protein ในขณะที่ชุดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) เท่ากับ 6.58 ΔOD_{238} min / mg protein โดยมีค่าแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในวันที่ 12 และ 18 ของการเก็บรักษา(รูปที่ 1.6)



รูปที่ 1.6 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX)ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.1.4กิจกรรมเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Soperoxide dismutase, SOD)

กิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในพุทราชุดการทดลองที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมเอนไซม์ขึ้นลงในรูปแบบเดียวกัน พุทรามีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD ในวันเริ่มต้นการเก็บรักษาเท่ากับ 30.16 unit/mg protein พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสมีกิจกรรมเอนไซม์ SOD สูงกว่าพุทราชุดทดลองอื่นๆ วันที่ 15 ของการเก็บรักษา พุทราที่เก็บที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD 96.83 unit/mg protein และ 30.16 unit/mg proteinในขณะที่ชุดที่เก็บรักษาที่25 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (วันที่ 6) เท่ากับ 45.12 Unit/mg protein โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา(รูปที่ 1.7)



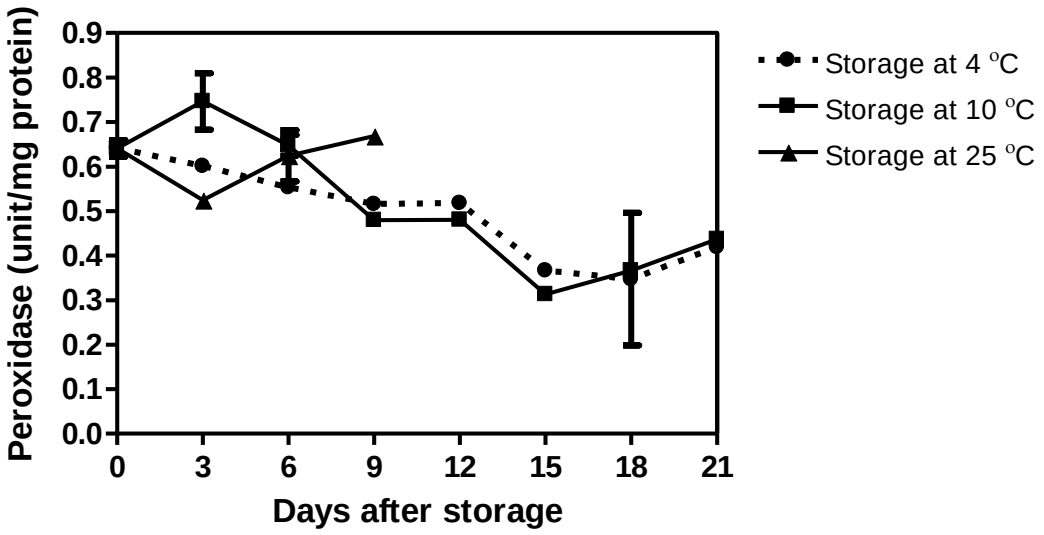
รูปที่ 1.7 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส(superoxide dismutase, SOD) ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.1.5กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD)

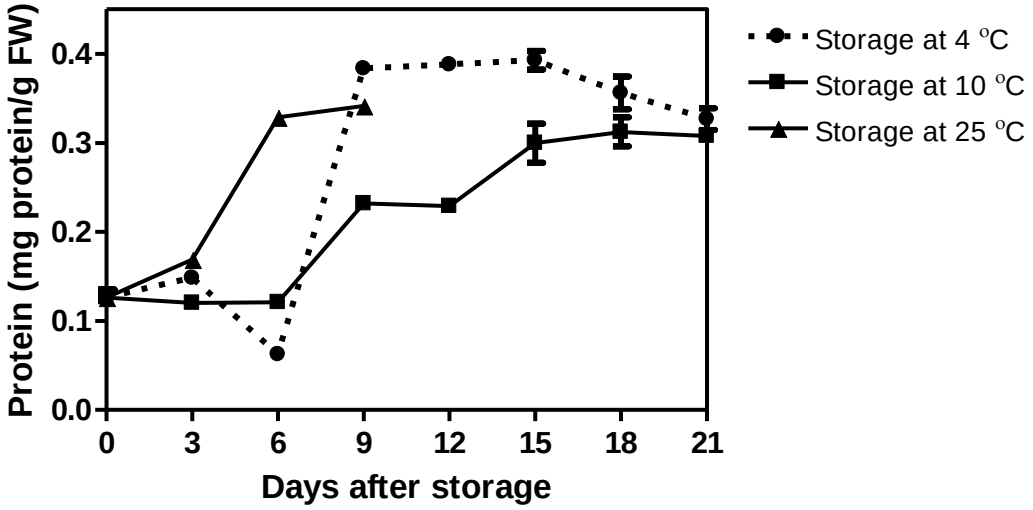
พุทราทุกชุดการเก็บรักษามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ POD เริ่มต้นเท่ากับ 0.64 unit/mg protein โดยทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ POD ลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พุทราที่เก็บที่ 10 องศาเซลเซียสมีกิจกรรมเอนไซม์ POD สูงกว่าชุดทดลองอื่นในช่วง 9 วันของการเก็บรักษา หลังจากนั้น พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ POD สูงกว่าพุทราที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส วันที่ 12 ของการเก็บรักษา พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ 0.52 และ 0.48 unit/mg protein(รูปที่ 1.8)

4.1.6ปริมาณโปรตีน

พุทราทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา พุทรามีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นเก็บรักษาเท่ากับ 0.13 mg protein/g FW และมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.380.23 และ0.34mg protein/g FW ตามลำดับ พุทราที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว 0.34 mg protein/g FW ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (9 วัน) ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.33และ 0.31mg protein/g FW (รูปที่ 1.9)



รูปที่ 1.8 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส(Peroxidase, POD) ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน



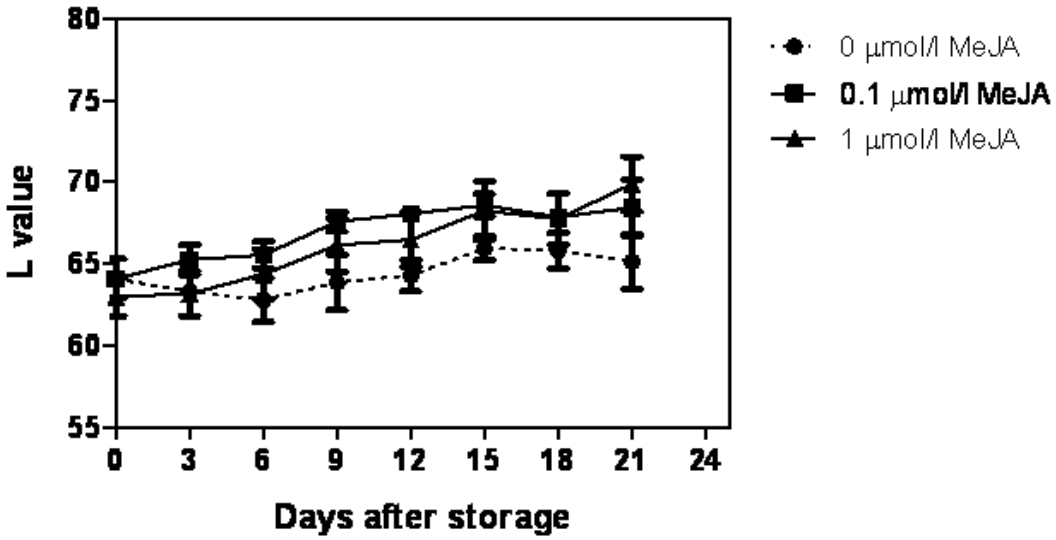
รูปที่ 1.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.2 ศึกษาผลของเมทิลจัสโมเนท(Methyl jasmonate, MeJA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

4.2.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

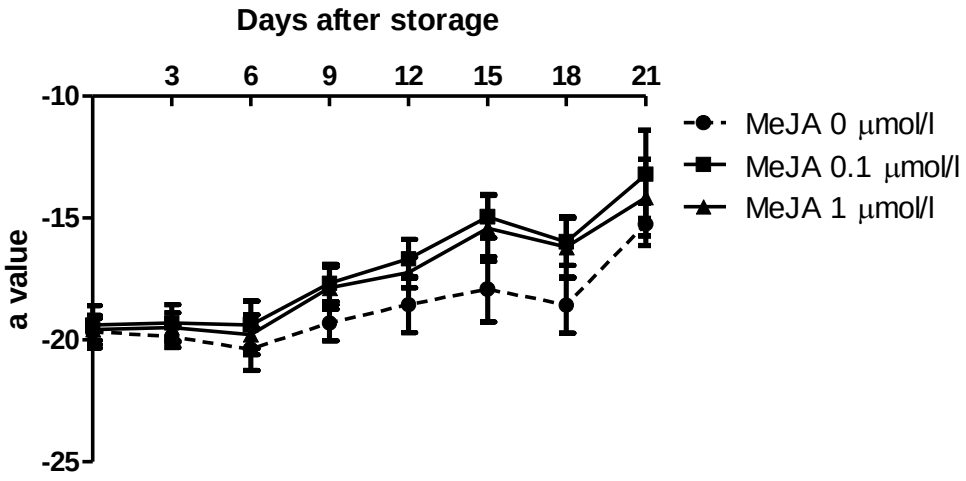
ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างเพิ่มขึ้นตามช่วงอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นมากที่สุดเท่ากับ 69.89 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}โมลาร์ และ ชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ 68.45 และ 65.17 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา(รูปที่ 2.1)



รูปที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L value ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

ค่า a

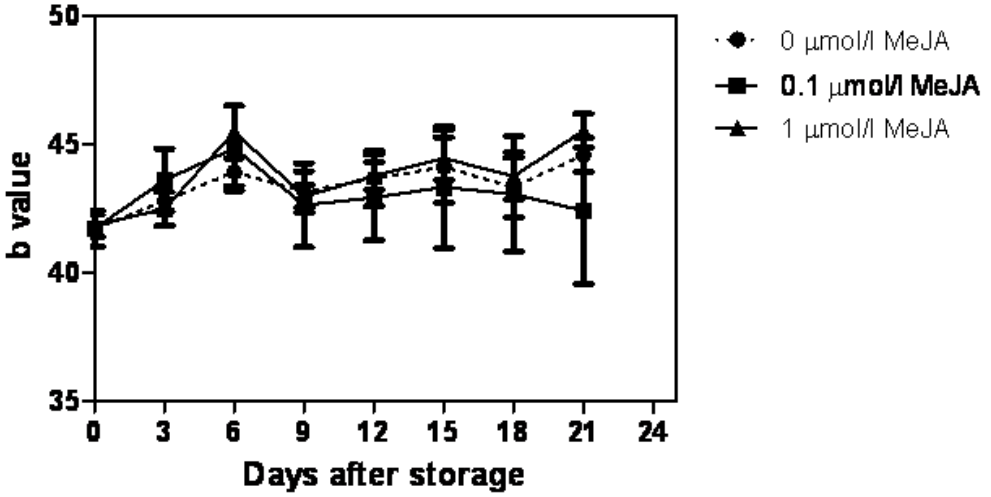
ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า a เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} โมลาร์ มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นมากที่สุดเท่ากับ -13.23 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2}โมลาร์ และ ชุดควบคุม มีค่าเท่ากับ -14.16 และ -15.26 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา(รูปที่ 2.2)



รูปที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a value ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

ค่า b

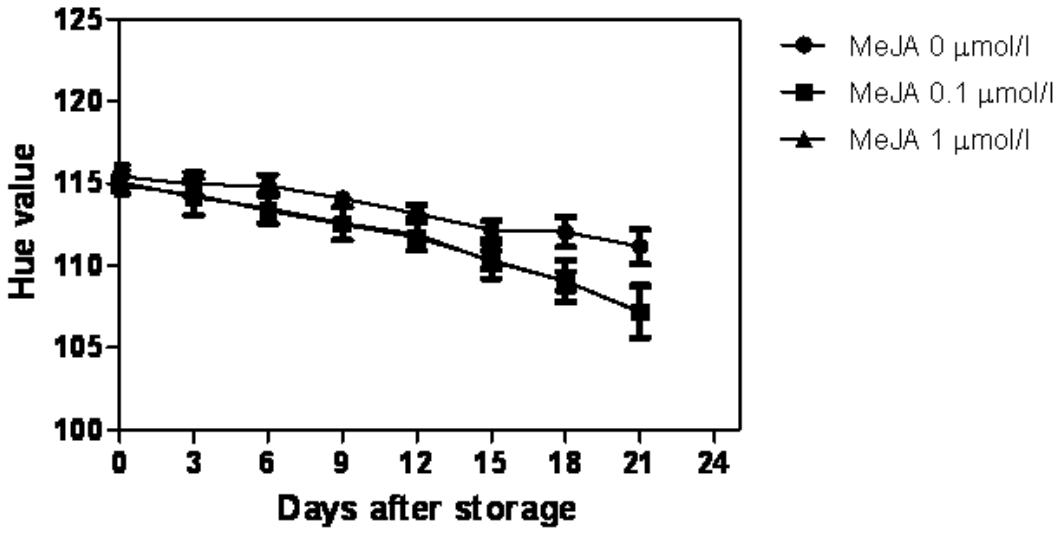
การเปลี่ยนแปลงค่า b หรือสีเหลืองของผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า b เพิ่มขึ้น ลดลงในรูปแบบเดียวกันตลอดอายุการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ มีค่า b มากที่สุดเท่ากับ 45.52 รองลงมาคือ ชุดควบคุม และ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}โมลาร์ และ มีค่าเท่ากับ 44.57 และ 42.20 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา(รูปที่ 2.3)



รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b value ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

ค่า Hue angle value

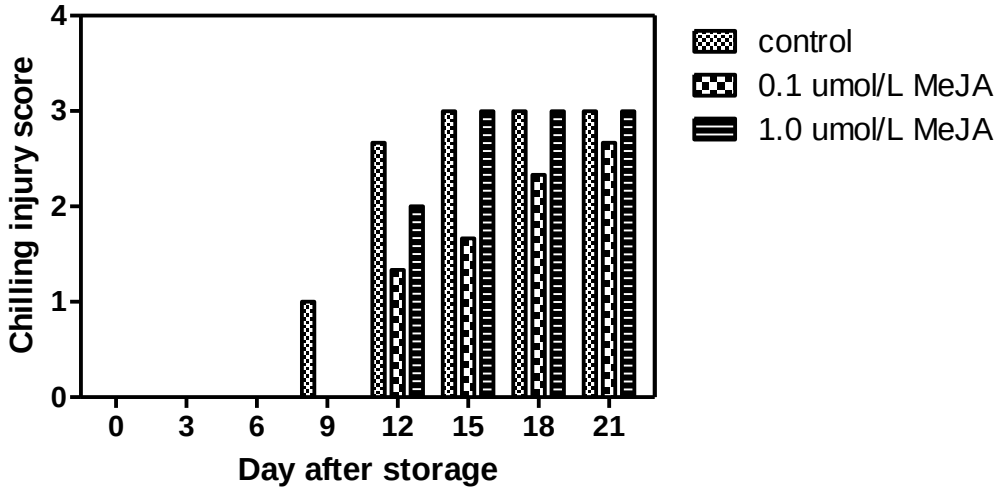
การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle พบว่า ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ลดลงตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า ชุดควบคุมมีค่าHue angle มากที่สุดเท่ากับ 111.16 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ และ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1}โมลาร์ และมีค่าเท่ากับ 107.21 และ 107.16 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา(รูปที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle value ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.2.2 การเกิดอาการสะท้านหนาว

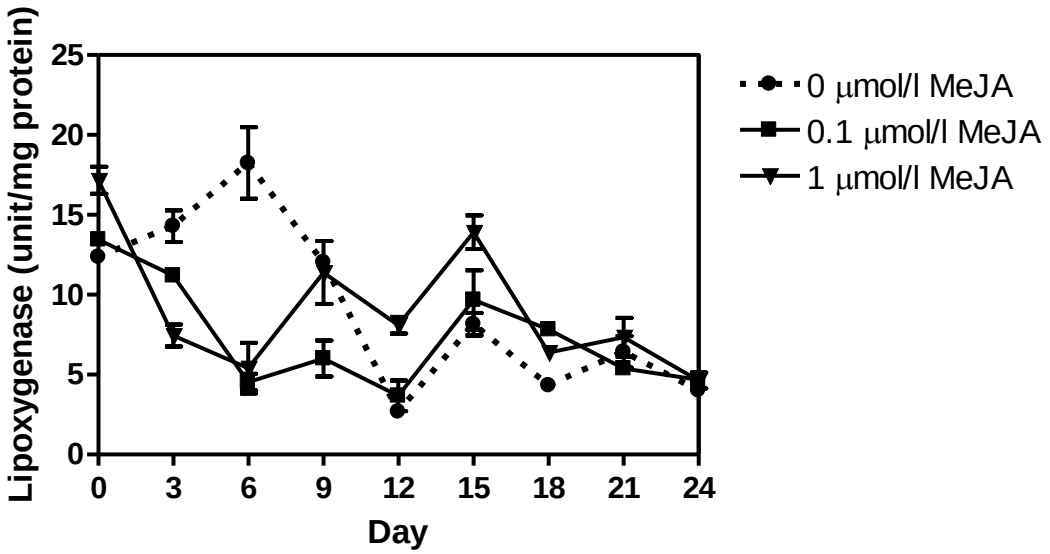
ผลพุทราชุดควบคุมเริ่มเกิดอาการสะท้านหนาว โดยมีจุดสีดำที่ผิว (น้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ผิว) ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พุทราชุดที่รมด้วยเมทิลจัสโมเนททั้งสองความเข้มข้นเริ่มแสดงอาการสะท้านหนาววันที่ 12 ของการเก็บรักษา โดยชุดที่รมเมทิลจัสโมเนท 1.0 µmol/L มีจุดสีน้ำตาลมากกว่าชุดที่รมด้วย 1.0 µmol/Lพุทราที่ผ่านการรมด้วยเมทิลจัสโมเนท 1.0 µmol/L มีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนพื้นผิวมากกว่าร้อยละ 25 ในขณะที่พุทราที่ผ่านการรมด้วยเมทิลจัสโมเนท 0.1 µmol/L มีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนพื้นผิวน้อยกว่าร้อยละ 25 มีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกระจายบนพื้นผิวมากกว่าร้อยละ 25 (รูปที่ 2.5)



รูปที่ 2.5 คะแนนการเกิดอาการสะท้านหนาวของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.2.3กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX)

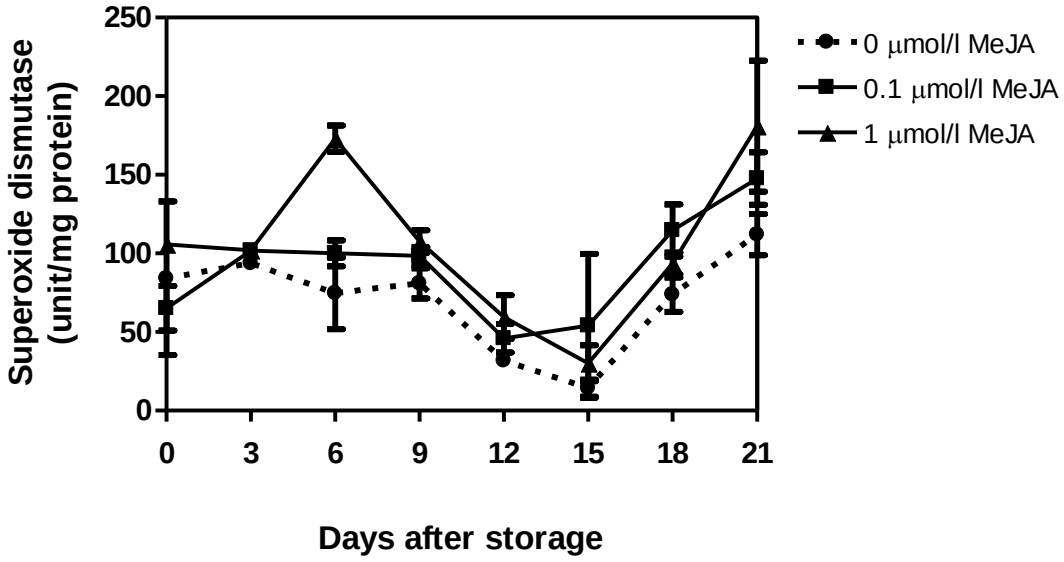
กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ในทุกชุดการทดลองพบว่า ผลพุทราชุดควบคุม ชุดที่รมด้วยMeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX เริ่มต้นเท่ากับ 12.37 13.45 และ 17.16unit/mg protein ตามลำดับ ผลพุทราที่รมด้วย MeJA มีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา 6 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา พุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เท่ากับ 8.159.67และ 13.91unit/mg proteinตามลำดับ ผลพุทราทุกชุดทดลองมีแนวโน้มกิจกรรมเอนไซม์ LOX ลดลงจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เท่ากับ 6.425.38 และ7.35unit/mg protein ตามลำดับ(รูปที่ 2.6)



รูปที่ 2.6 กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX) ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.2.4 กิจกรรมเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Soperoxide dismutase, SOD)

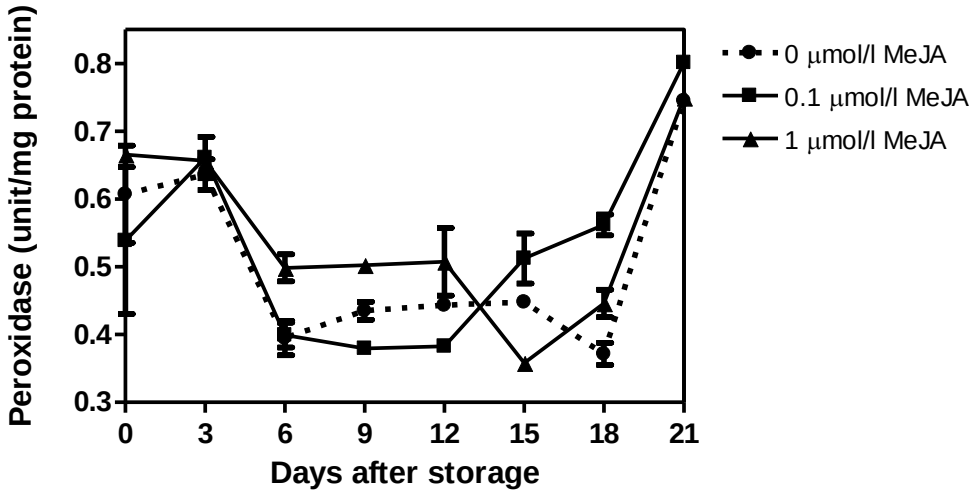
ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 84.1365.08และ 152.38unit/mg protein ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดที่ได้รับ MeJA 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าสูงที่สุด ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 173.02 unit/mg protein หลังจากนั้นพุทราทุกชุดการทดลองมีกิจกรรมเอนไซม์ SOD ลดลง โดยในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา โดย ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมด้วยMeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 14.2953.97 และ 30.16unit/mg protein ตามลำดับ หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์ SOD ของผลพุทราทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา โดยในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 147.62147.62และ 180.95unit/mg protein ตามลำดับทั้งนี้ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาผลพุทราชุดที่ไม่ผ่านการรมด้วย MeJA มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD ต่ำว่าพุทราชุดที่รมด้วย MeJA (รูปที่ 2.7)



รูปที่ 2.7 กิจกรรมเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase, SOD) ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.2.5กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD)

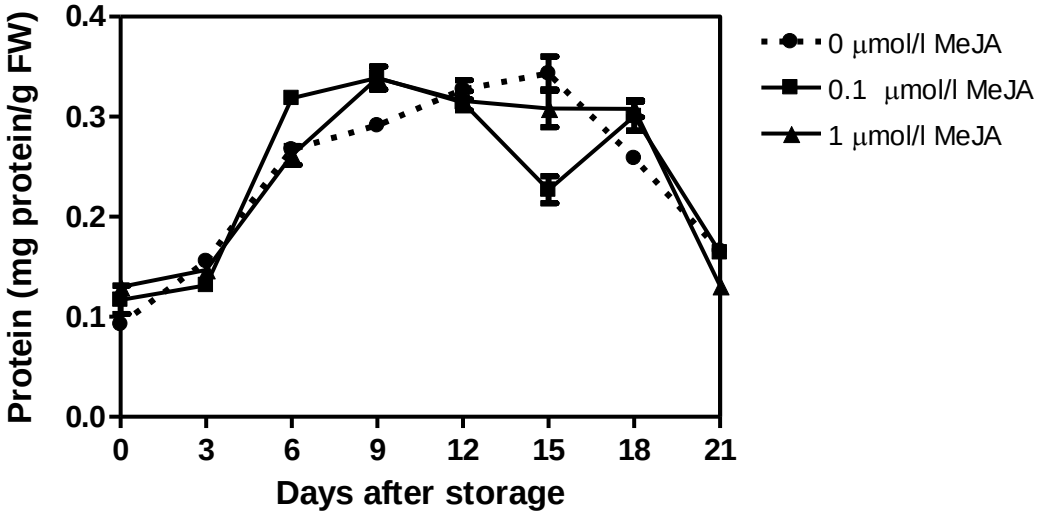
ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ 0.770.540.67 unit/mg protein โดยทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ POD ลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจนวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่กิจกรรมของเอนไซม์ POD มีค่าสูงขึ้นในวันสิ้นสุดการเก็บรักษา ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน พุทราชุดควบคุมและชุดที่รม 0.1unit/mg protein มีกิจกรรมเอนไซม์ POD ลดต่ำกว่าพุทราที่รมด้วย MeJA 1.0 µmol/Lในวันที่ 6 ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ 0.390.40และ 0.50 unit/mg protein โดยหลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ POD ค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 12 ของการเก็บรักษา โดยวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ0.440.38 และ 0.51µmol/Lหลังจากนั้นกิจกรรมของ POD มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา โดยผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ0.740.80และ 0.75µmol/Lในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา(รูปที่ 2.8)



รูปที่ 2.8 กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD) ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.2.6ปริมาณโปรตีน

ปริมาณโปรตีนของพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L ในวันเริ่มต้นการเก็บรักษามีค่าเท่ากับ 0.090.12และ 0.13mg protein/g FW พุทรามีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา จนวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.290.34 และ 0.34mg protein/g FW ตามลำดับ หลังจากนั้นพุทราทั้งสามชุดการทดลองมีแนวโน้มของปริมาณโปรตีนลดลงจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา พุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 μmol/Lมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.26 0.30และ 0.31 mg protein/g FW ตามลำดับ และในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา พุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 μmol/Lมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.170.16และ 0.13 mg protein/g FW ตามลำดับ (รูปที่ 2.9)



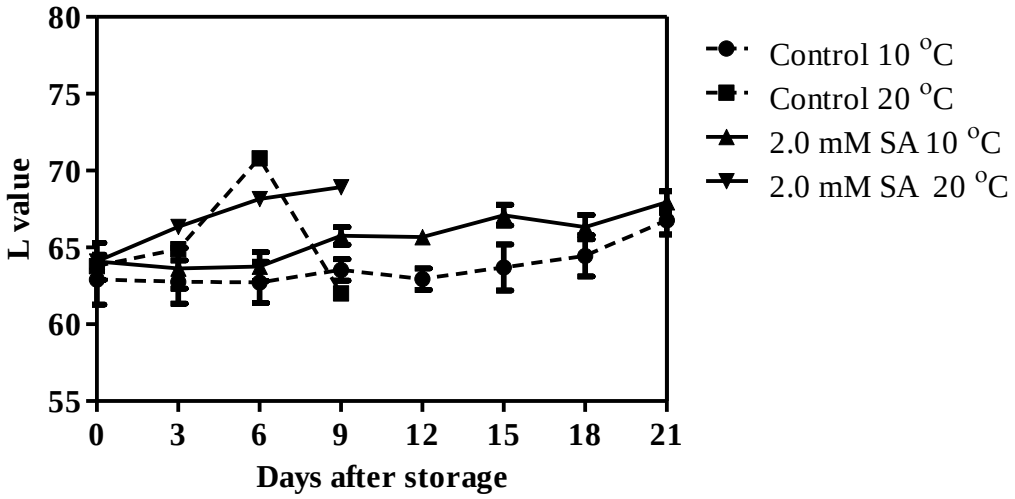
รูปที่ 2.9 ปริมาณโปรตีนของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.3 ผลของกรดซาลิคไซลิค(Salicylic acid, SA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

4.3.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

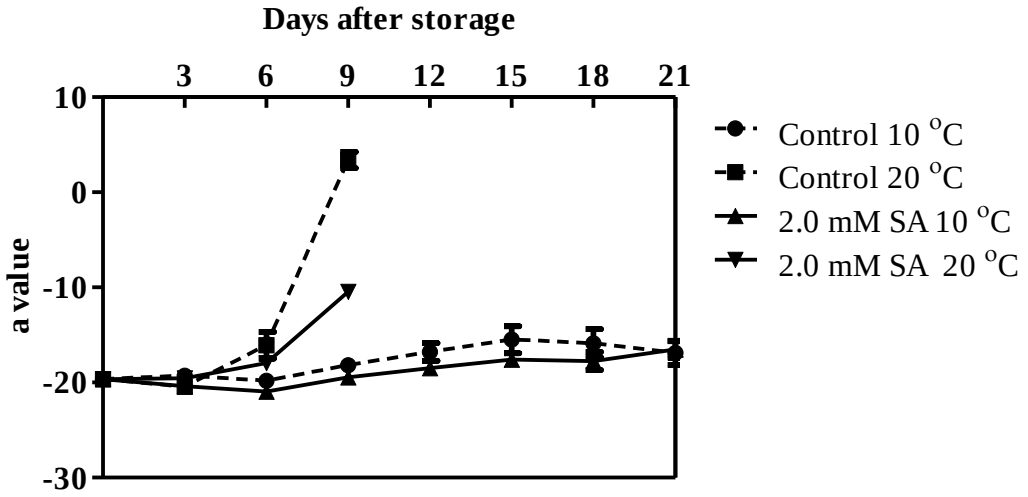
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า L ของสีเปลือก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษา ยกเว้นวันที่ 6 9 และ 12 ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วัน โดยที่ค่า L ของสีเปลือกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดเวลาที่เก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง 63.77-70.80 และผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 21 วันโดยค่า L ของสีเปลือกมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง 62.90-67.95(รูปที่ 3.1)



รูปที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

ค่า a

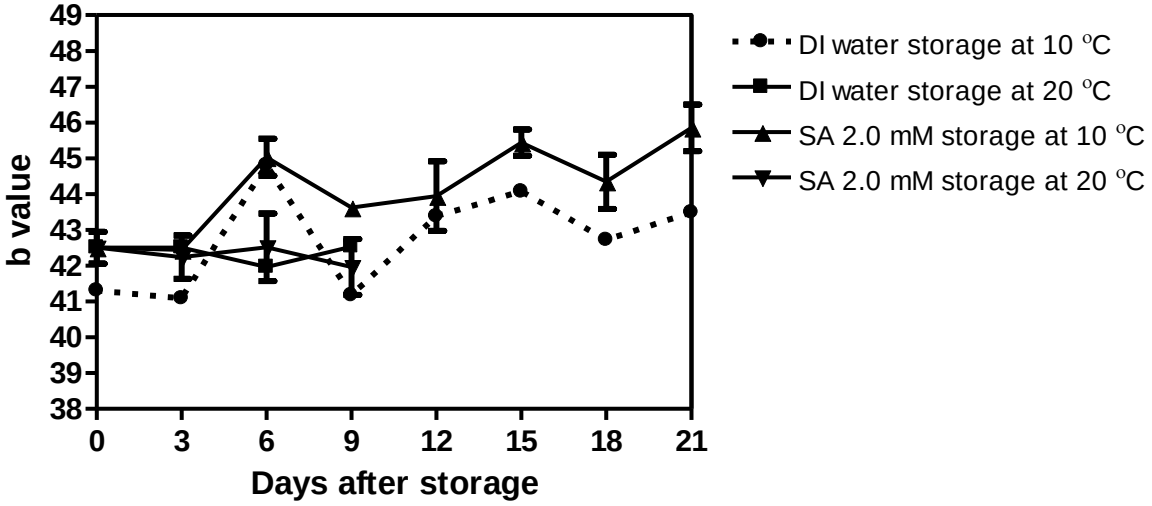
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า a ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นในวันที่ 6 และ 9 ที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วันโดยที่ค่า a มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตลอดการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง -20.43-3.39 และชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาได้นาน 21วัน โดยค่า a มีแนวโน้มลดลงจนถึงวันที่ 6 โดยอยู่ในช่วง (-20.26)-(-19.29) และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนตลอดการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง (-18.49)-(-10.46) (รูปที่ 3.2)



รูปที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

ค่า b

พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าค่าการเปลี่ยนแปลงค่า b ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยในชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่าค่า b อยู่ในช่วง 41.97-42.59 โดยชุดควบคุมมีค่ามากที่สุดในวันที่ 9 ของการเก็บรักษาโดยมีค่า 42.59 และชุดที่จุ่ม Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีค่ามากที่สุดในวันที่ 6 ของการทดลองโดยมีค่า 42.52 ชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่าค่า b อยู่ในช่วง 41.08-45.85 โดยชุดควบคุมมีค่า b สูงที่สุดในวันที่ 6 ของการเก็บรักษาโดยมีค่า 44.80 และชุดที่จุ่ม Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีค่าสูงที่สุดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาโดยมีค่า 45.85(รูปที่ 3.3)



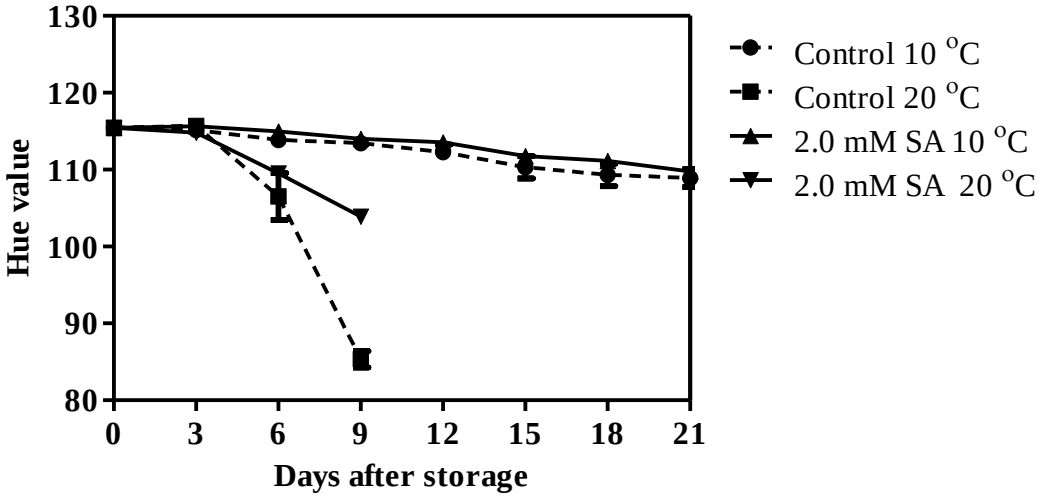
รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

ค่า Hue angle value

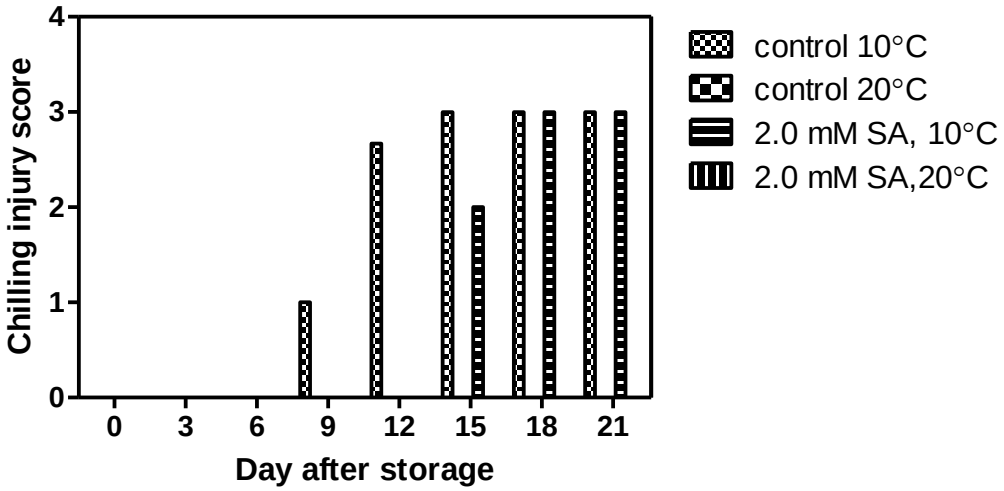
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า Hue ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นในวันที่ 6 และ 9 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสพบว่าค่า Hue มีแนวโน้มลดลงโดยชุดควบคุมลดลงมากที่สุดในวันที่ 9 ของการทดลองโดยมีค่าเท่ากับ 85.33 และชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่าค่า Hue มีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกันโดยชุดควบคุมลดลงต่ำสุดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาโดยมีค่าเท่ากับ 108.91 (รูปที่ 3.4)

4.3.2คะแนนการเกิดอาการสะท้านหนาว

ผลพุทราชุดควบคุมเริ่มเกิดอาการสะท้านหนาว โดยมีจุดสีดำที่ผิว (น้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ผิว) ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พุทราชุดควบคุมและชุดที่จุ่ม SA และเก็บที่ 20 องศาเซลเซียส ไม่เกิดอาการสะท้านหนาวแต่มีการเสื่อมสภาพ การเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์และมีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ทั้งนี้พุทราชุดควบคุมและชุดที่จุ่ม SA และเก็บที่ 10 องศาเซลเซียส เกิดอาการสะท้านหนาว โดยมีผิวเป็นจุดสีน้ำตาลในวันที่ 9 และ 15 ตามลำดับ และอาการจะรุนแรงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น (รูปที่ 3.5)



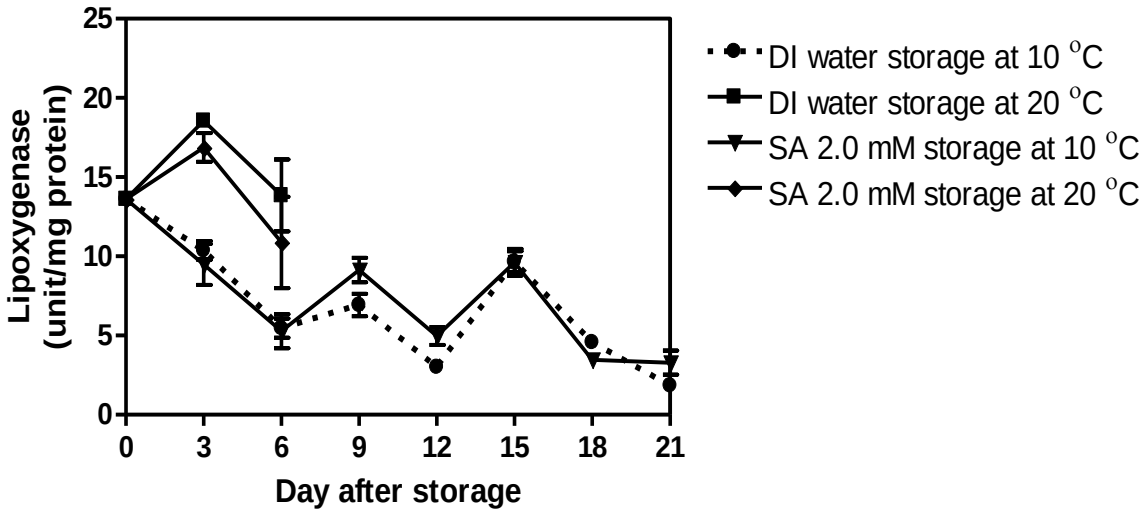
รูปที่ 3.4การเปลี่ยนแปลงค่า Hue value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส



รูปที่ 3.5 คะแนนการเกิดอาการสะท้านหนาวของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

4.3.3กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX)

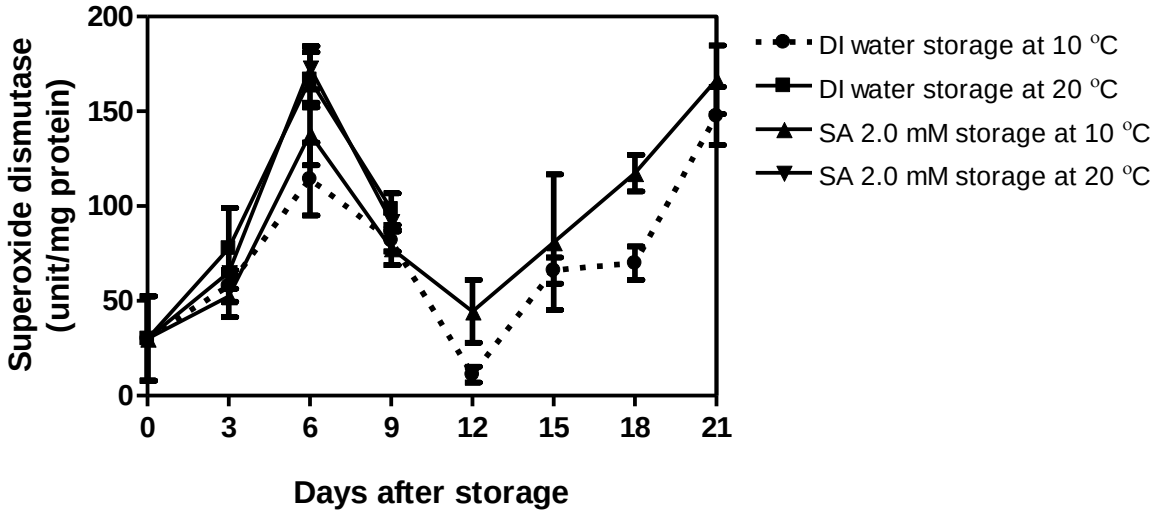
ผลพุทราชุดควบคุม (จุ่มในน้ำกลั่น) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส และพุทราที่จุ่ม SA 2.0 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่ากับ 13.60 unit/ mg protein พุทราที่เก็บรักษาที่ 20 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการจุ่มและไม่จุ่ม SA มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา โดยมีค่าเท่ากับ 16.87 และ 18.54unit/ mg protein และลดต่ำลงจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา โดยผลที่จุ่ม SA มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ต่ำกว่าชุดที่ไม่จุ่ม SA และผลพุทราที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียสมีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ต่ำลงในระหว่างการเก็บรักษา ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดควบคุม (จุ่มในน้ำกลั่น) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส และพุทราที่จุ่ม SA 2.0 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เท่ากับ 5.47 13.845.27 และ 10.87unit/ mg protein ตามลำดับ โดยผลพุทราชุดควบคุมที่เก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ต่ำกว่าพุทราชุดที่จุ่ม SA และเก็บที่ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งในวันที่ 12 พุทราชุดควบคุม และชุดที่จุ่ม SA เก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เท่ากับ 3.00 และ 4.97unit/ mg protein ตามลำดับ ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา พุทราชุดควบคุม และชุดที่จุ่ม SA เก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX เท่ากับ 1.84 และ 3.29 unit/ mg protein ตามลำดับ(รูปที่ 3.6)



รูปที่ 3.6 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX) ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

4.3.4 กิจกรรมเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)

กิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase ในผลพุทราไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ยกเว้นในวันที่ 18 ของการทดลองที่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่งโดยในชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase ในผลพุทราที่จุ่มด้วย Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีปริมาณสูงที่สุดในวันที่ 6 โดยมีค่า 173.02 และในชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Superoxide dismutase ในผลพุทราที่จุ่มด้วย Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 21 โดยมีค่า 166.67(รูปที่ 3.7)

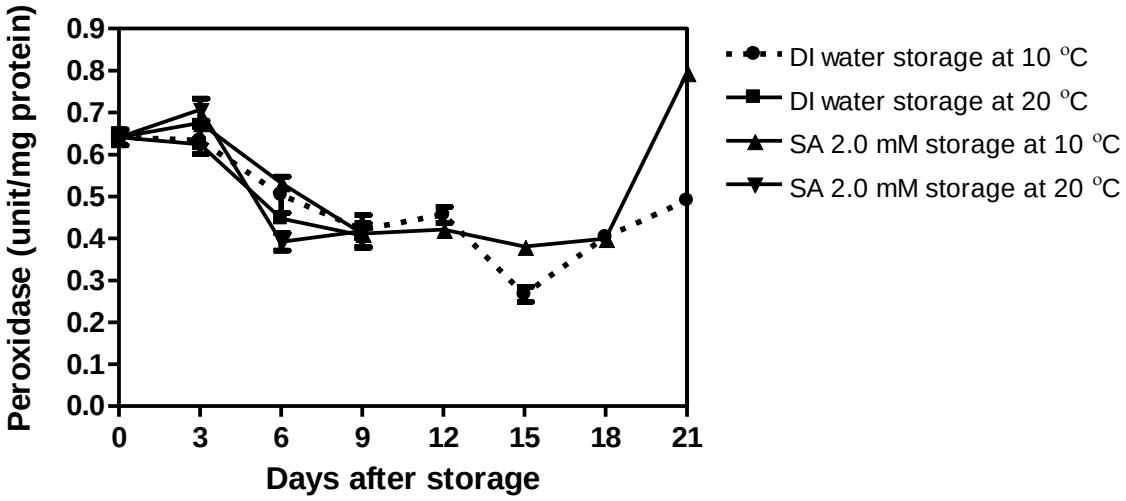


รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส(Superoxide dismutase, SOD) ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

4.3.5 กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD)

ปริมาณเอนไซม์ Peroxidase ของพุทราพบว่าชุดการทดลองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสโดยชุดควบคุมมีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase อยู่ในช่วง 0.41-0.64 โดยในวันแรกของการเก็บรักษามีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุดคือ 0.64 และชุดที่จุ่มด้วย Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าในวันที่ 3 ของการเก็บรักษามีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุดคือ 0.71 และชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสพบว่าชุดการควบคุมมีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase อยู่ในช่วง 0.27-0.64 โดยในวันแรกของการเก็บรักษาพบปริมาณเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุดคือ 0.64

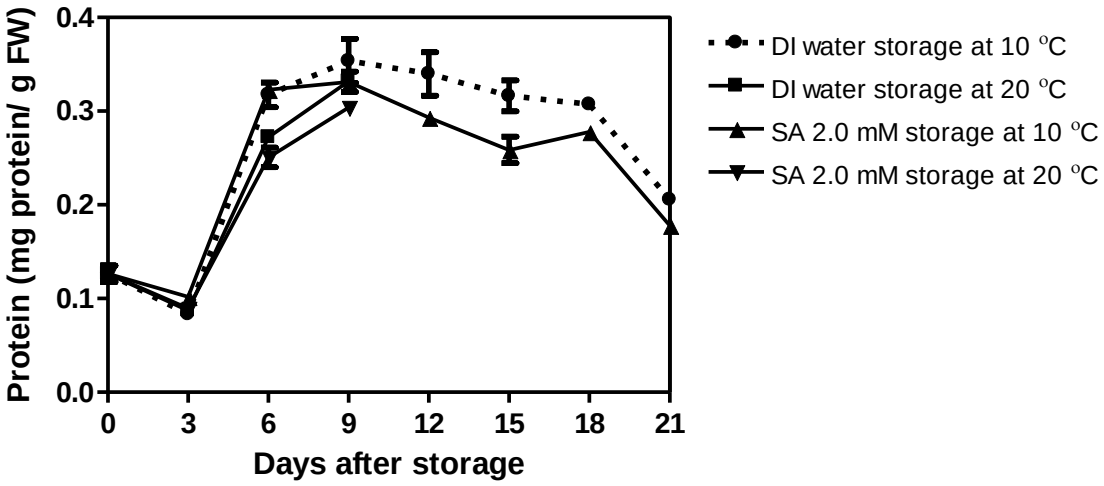
และชุดที่จุ่มด้วย Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase อยู่ในช่วง 0.38-0.79 ซึ่งพบว่ามีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา คือ 0.79(รูปที่ 3.8)



รูปที่ 3.8 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD) ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

4.3.6 ปริมาณโปรตีน

ผลพุทราทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนเริ่มต้นเก็บรักษาเท่ากับ 0.13 mg protein/ g FW ในระยะเวลาในการเก็บรักษา 9 วัน พุทราทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนเพิ่มสูงขึ้นจนวันที่ 9 ของการเก็บรักษา โดยพุทราชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีน 0.35 และ 0.33mg protein/ g FW ตามลำดับ ในขณะที่พุทราที่จุ่ม SA และเก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีน 0.33และ 0.30mg protein/ g FW ตามลำดับ หลังจากนั้นพุทราทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาพุทราชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียสมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.21mg protein/ g FW และชุดที่จุ่ม SA เก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีปริมาณโปรตีน0.18mg protein/ g FW ตามลำดับ (รูปที่ 3.9)



รูปที่ 3.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

วิจารณ์ผลการทดลอง

การเสื่อมคุณภาพของผลพุทราเป็นไปอย่างรวดเร็ว ประมาณ 5-6 วัน หลังจากเก็บเกี่ยว โดยลักษณะที่ปรากฏได้แก่ การเหี่ยวนิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและผลเน่าจากการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ พุทราเป็นผลไม้ที่เกิดบาดแผลได้ง่าย เนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ผิวชั้นนอกสุดของผลไม้เป็นเซลล์ที่มีการติดต่อกับสิ่งแวดล้อมภายนอก และผนังเซลล์มีสารพวกคิวติน (cutin) ซึ่งเป็นสารคล้ายขี้ผึ้งฉาบอยู่เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำ ซึ่งในการสูญเสียน้ำจะส่งผลให้เซลล์สูญเสียความเต่ง และแวคิวโอลมีขนาดเล็กลง โพรโทพลาสต์เกิดการหดตัวจากผนังเซลล์ เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า พลาสโมไลซิส (plasmolysis) ในที่สุดเซลล์ก็จะเหี่ยว (สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์, 2544) การใช้อุณหภูมิต่ำเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพวิธีการหนึ่งในการชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538) นอกจากอุณหภูมิต่ำแล้ว การเก็บรักษาในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะทำให้เชื้อราชนิดต่างๆ ที่มีอยู่บนผิวผลไม้เจริญเติบโตได้ดีส่งผลให้ผลไม้เน่าเสียได้ง่าย แต่หากเก็บในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ ผลไม้จะเกิดการสูญเสียน้ำซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ เนื่องจากผลจะเหี่ยวนิ่มและทำให้มีการสูญเสียน้ำหนักมากขึ้นตามไปด้วย พุทราเป็นผลไม้ในเขตร้อน ซึ่งถ้าอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่ำกว่าอุณหภูมิในการเก็บที่เหมาะสม แต่สูงกว่าจุดเยือกแข็งสามารถทำให้ผลไม้เกิดความเสียหาย หรือเกิดอาการผิดปรกติทางสรีระวิทยา หรือที่เรียกว่า อาการสะท้านหนาว (Chilling injury, CI) ซึ่งการเกิดอาการสะท้านหนาวเป็นปัญหาหลังการเก็บเกี่ยวที่สำคัญมากต่อการเสื่อมคุณภาพของผลไม้เขตร้อน และเขตกึ่งร้อน อาการผิดปกติจากอาการสะท้านหนาว ได้แก่ การเกิดรอยแผลสีน้ำตาล หรือ ดำ (discoloration) รอยบุ๋ม (pitting) เนื่องจากเซลล์บริเวณนั้นตายไป เนื้อเยื่อถูกทำลาย (breakdown of tissue) เนื้อเยื่อฉ่ำน้ำ ซึ่งจากงานทดลองของ Perez-Tello และคณะ (2001) ได้ทดลองเก็บรักษาผลมะเฟืองที่อุณหภูมิ 2 10 และ 20 องศาเซลเซียส เพื่อดูอาการสะท้านหนาวพบว่าอุณหภูมิ 2 และ 10 องศาเซลเซียส ผลมะเฟืองเกิดอาการสะท้านหนาวและมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาล การสูญเสียน้ำหนัก กิจกรรมเอนไซม์ peroxidase และ phenylalanine amonialyase โดยเฉพาะที่ 2 องศาเซลเซียส ส่งผลให้มะเฟืองมีลักษณะขอบเป็นสีดำ ผิวเป็นรอยบุ๋ม และผิวเสื่อมสภาพ

ในการยืดอายุการเก็บรักษาพุทราต้องใช้อุณหภูมิต่ำซึ่งมีผลในการลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ ทั้งภายในเซลล์พืช และจุลินทรีย์ที่ไม่ทนความเย็น การเก็บรักษาผลิตผลที่อุณหภูมิต่ำสามารถลดการเกิดสีน้ำตาล ลดอัตราการหายใจ (Soliva-Fortuny และ Martin-Belloso, 2003) แต่ทั้งนี้ พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เกิดอาการสะท้านหนาว คือ มีรอยย่น เหี่ยวและเกิดจุดสีน้ำตาลกระจายอยู่บนผิวผล เนื่องจากพุทราจัดเป็นไม้ผลยืนต้นเขตร้อน และเป็นผลิตผลที่อ่อนแอต่อการเกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury, CI)การเกิดอาการสะท้านหนาว สันนิษฐานว่าเนื่องจากองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์หรือเยื่อหุ้มออร์แกเนลล์บางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพขึ้นเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลงคือ

fatty acid side chain ของ phospholipids ในเยื่อหุ้มเหล่านี้แตกต่างกัน ซึ่งพวกที่เกิดอาการสะท้านหนาวได้ง่ายจะเป็นพวกที่มีกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) เป็นองค์ประกอบของ phospholipids ของเยื่อหุ้มต่าง ๆ และจะเปลี่ยนสภาพทางกายภาพจากลักษณะที่อ่อนตัว (liquid crytaline) มาเป็นลักษณะแข็ง (solid gel) ทำให้การทำงานของเยื่อหุ้มนั้นผิดปกติ ส่งผลให้เกิดความไม่สมดุลของกระบวนการทางสรีระวิทยาภายในเซลล์ขึ้น การควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ จะเสื่อมลง ทำให้ substrate ต่าง ๆ มีโอกาสสัมผัสกับเอนไซม์ได้โดยขาดการควบคุม ส่งผลให้เซลล์ขาดสมดุลและตายในที่สุด ส่วนในผลิตผลที่ทนต่ออุณหภูมิต่ำจะมีกรดไขมันประเภทไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) เป็นส่วนใหญ่ เมื่ออุณหภูมิต่ำลงก็ยังคงรักษาสถานะที่อ่อนตัวอยู่ได้ (จริงแท้, 2538) นอกจากนี้อาการสะท้านหนาวยังเกิดจากขบวนการออกซิเดชัน (oxidative damage) อีกด้วย

การเกิดออกซิเดชัน (oxidation damage) เป็นการตอบสนองอีกอย่างหนึ่งของพืชเมื่อเกิดอาการสะท้านหนาว (Horiyadi และคณะ, 1991) โดยเกิดจากออกซิเจนในรูปแอคทีฟ (active form of oxygen) ได้แก่ superoxide radical (O_2^-) hydrogen peroxide (H_2O_2) hydroxyl radical (OH) ซึ่งเกิดจากการปลดปล่อยระหว่างที่เซลล์เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม และพบว่ามีการสะสมในระดับที่สูงเมื่อเกิดความเครียด (Bowler และคณะ, 1992) superoxide radical จะมีการเพิ่มขึ้นโดยมีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟเหล่านี้สามารถทำให้เกิดการออกซิเดชันทำลายพันธะคู่ของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ในเยื่อหุ้มเซลล์ (Wang, 1995) ระบบการป้องกันอันตรายโดยการเกิดออกซิเดชัน โดยปกติพืชจะมีระบบป้องกันการทำงานโดยการเกิดออกซิเดชันดังกล่าว โดยการทำงานร่วมกันของระบบเอนไซม์ได้แก่ Superoxide dismutase (SOD) จะทำงานร่วมกับเอนไซม์ catalase โดยเอนไซม์ SOD ทำการเปลี่ยนรูป superoxide radical เป็น hydrogen peroxide จากนั้นเอนไซม์ catalase จะทำการเปลี่ยน hydrogen peroxide ไปเป็นโมเลกุลของน้ำ และออกซิเจน ในขณะที่เอนไซม์ peroxidase มีกลไกแตกต่างจากเอนไซม์ catalase โดยจะปลดปล่อย free radical แทนออกซิเจน (Burris, 1960) พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX สูงกว่าชุดทดลองอื่น การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ของชุดที่เก็บ 4 องศาเซลเซียส มีกิจกรรม LOX เพิ่มขึ้นในระหว่างของการเก็บรักษา ทั้งนี้ LOX เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการสะท้านหนาว (Pinhero และคณะ, 1998) ขณะที่ LOX เพิ่มขึ้น อาการสะท้านหนาวก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกันการตรวจสอบสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ระหว่างการเก็บรักษา ตรวจวัดจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซิจิเนสจากการทดลองพบว่าพุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดทดลองอื่น แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำที่ 4 องศาเซลเซียส ผลพุทราเกิดภาวะเครียดจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ จึงมีกิจกรรม SOD สูง จากงานวิจัยของSala และคณะ (1998) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ SOD ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ จะช่วยขจัด O_2^- ที่เกิดขึ้นระหว่างที่ส้มแมนดารินเกิดอาการสะท้านหนาวเมื่อเก็บรักษาที่ 2.5 องศาเซลเซียส เมื่อ SOD มีกิจกรรมมากขึ้นส่งผลให้มีปริมาณ H_2O_2ในเซลล์ที่สูงขึ้น

(Wang และ คณะ, 2005) ซึ่งเอนไซม์ CAT จะทำหน้าที่ขจัด H_2O_2ออกจากเซลล์ (Wang, 1995; Noctor และ Foyer, 1998)

การรมเมทิลจัสโมเนทในผลพุทรา พบว่า พุทราชุดที่รมสารมีการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกมากกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องจาก เมทิลจัสโมเนทกระตุ้นการสลายตัวของคลอโรฟิลด์ (Abeles et al 1989) การเกิดอาการสะท้านหนาว จากผลของการเกิดออกซิเดชันของลิปิด และจากกระบวนการดังกล่าวยังส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยปกติแล้วการเกิดอนุมูลอิสระจะเป็นอันตรายต่อพืช (Hagar และคณะ, 1996) และมีรายงานว่า การเกิดอนุมูลอิสระสามารถไปส่งเสริมกระบวนการสังเคราะห์เอทิลีน และการแสดงออกของยีน โดยมีการชักนำให้มีปริมาณ ACC synthase เพิ่มขึ้นในพืชตระกูลน้ำเต้าที่ปลูกในฤดูหนาว (Watanabe และ Sakai, 1998) เมทิลจัสโมเนทสามารถกระตุ้นการผลิตเอทิลีนในระหว่างกระบวนการสุกของมะม่วงพันธุ์ Kensington Pride แต่การตอบสนองต่อเมทิลจัสโมเนทก็มีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช ระยะการเจริญเติบโตและระยะการพัฒนา ดังรายงานของ Saniewsky และคณะ (1997) พบว่าเมทิลจัสโมเนทสามารถกระตุ้นหรือยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ ACC synthase และ ACC oxidase แต่อย่างไรก็ตาม พืชจะมีการพัฒนาให้มีการสร้างสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะมีทั้ง เป็นเอนไซม์ และไม่ใช่เอนไซม์ ในการป้องกันเซลล์พืช โดยจะไปควบคุมระดับอนุมูลอิสระภายในพืช (Liu และ Huang, 2000) พุทราที่ผ่านการรมเมทิลจัสโมเนท พบอาการสะท้านหนาวน้อยกว่าพุทราชุดควบคุม ทั้งนี้เนื่องจากเมทิลจัสโมเนสเป็นสัญญาณโมเลกุลเล็กๆในพืช ที่สามารถป้องกันการเกิดอาการสะท้านหนาวได้ (Fallik, 2004) โดยเมื่อได้รับเมทิลจัสโมเนส เซลล์ของพืชจะกระตุ้นกลไกการป้องกันซึ่งถูกผลิตมาจากเมตาบอลิซึมขั้นที่สอง (Pauwels และคณะ., 2008) และส่งสัญญาณการแสดงออก การสะสมของยีนจะเกี่ยวข้องกับการลดลงของอาการสะท้านหนาว เช่น ในผลมะเขือเทศและพริกหวาน (Meir และคณะ, 1996) (Dingและคณะ, 2001, 2002; Fung และคณะ, 2004) พุทราที่ผ่านการรมด้วยเมทิลจัสโมเนทมีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดควบคุม โดยเมทิลจัสโมเนสสามารถป้องกันเซลล์เมมเบรนโดยไปลดขบวนการเปอร์ออกซิเดชั่นของเมมเบรน และรักษากิจกรรมเอนไซม์ SOD ให้สูงในผลสตรอบอรี่ในสภาวะขาดน้ำ (Wang, 1999) และลดการรั่วไหลของไอออน (Gonzalez-Aguilar และคณะ, 2000) การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ของพุทรามีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระหว่างของการเก็บรักษา ทั้งนี้ LOX เกี่ยวข้องกับการเกิดอาการสะท้านหนาว (Pinhero และคณะ, 1998) ขณะที่ LOX เพิ่มขึ้น อาการสะท้านหนาวก็เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกันโดยปกติเอนไซม์LOX เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่ง (polyunsaturated fatty acid) ได้แก่ กรด linoleic และกรด linolenie ซึ่งพบมากในเยื่อหุ้มของพืช กิจกรรมของเอนไซม์ไลพอซิจิเนสเกิดขึ้นหลังจากที่กรดไขมันได้ถูกย่อยออกมาจากโมเลกุลของ phospholipid และผลิตภัณฑ์สุดท้ายของกระบวนการสลายตัวของกรดไขมันจะได้ มาลอนไดอัลดีไฮด์ และถ้าหากมีปริมาณของสารพวกไฮโดรคาร์บอนและแอลดีไฮด์เหล่านี้ ส่งผลให้เยื่อหุ้มเปลี่ยนสถานะมีสภาพเป็นเจลมากขึ้น และยอม

ให้สารผ่านเข้าออกเพิ่มมากขึ้น (จริงแท้ ศิริพานิช, 2549) ซึ่งสอดคล้องกับพุทราชุดควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX สูงกว่าพุทราชุดที่รมเมทิลจัสโมเนท เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิต Reactive oxygen species (ROS) พืชบางชนิดที่ต้านทานโรคจะควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรคที่เข้าทำลายให้จำกัดอยู่ในบริเวณเล็กๆ รอบบริเวณที่เชื้อเริ่มเข้าไปในพืช ซึ่งจะเห็นเป็นรอยแผลสีน้ำตาล โดยเซลล์พืชจะมีการสะสม H_2O_2 บริเวณที่เชื้อราเข้าทำลาย ทำให้เซลล์พืชบริเวณนี้ตายอย่างรวดเร็ว การป้องกันโดยการฆ่าตัวเองของเซลล์นี้เรียกว่า Hypersensitive reaction (HR) เช่น เอนไซม์ POD และ Superoxide disemutase (SOD) นอกจากนี้ยังลดกิจกรรมของเอนไซม์ Catalases (CAT) และ Ascorbate peroxidase (Raskin, 1992; Chan และ Tian, 2006)

พุทราที่จุ่มด้วย SA และเก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงสีน้อยกว่าชุดทดลองอื่น ทั้งนี้เนื่องจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ของผลพุทราเกิดจากการกระตุ้นโดยเอทิลีน โดยกรดซาลิไซลิกมีผลยับยั้งกระบวนการผลิตเอทิลีน โดยชะลอการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ACC oxidase ได้ ซึ่งสอดคล้องกับกระบวนการผลิตเอทิลีน เอนไซม์ ACC oxidase เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญของกระบวนการผลิตเอทิลีน โดยทำหน้าที่เปลี่ยน ACC ให้เป็นเอทิลีน เมื่อเอนไซม์ ACC oxidase ถูกรบกวนกระบวนการผลิตเอทิลีนจึงไม่สามารถ ACC ให้เป็นเอทิลีนได้ (Salunkhe และ Desai, 1984; Li et al., 1992; Fan et al., 1996) มีรายงานว่า กรดซาลิไซลิกและ Acetylsalicylic acid (ASA) สามารถลดอัตราการผลิตเอทิลีนในผลสาลี่ (Leslie และ Romani, 1986; Leslie และ Romani, 1988) และจากการศึกษาของ Srivastava และ Dwivedi (2000) พบว่า กรดซาลิไซลิกสามารถชะลอการสุกของกล้วยได้ โดยมีผลต่อลดอัตราการหายใจของกล้วย ซึ่งสอดคล้องกับ ศิริชัย กัลยาณรัตน์ (2548) พบว่า กรดซาลิไซลิกสามารถลดอัตราการหายใจและอัตราการผลิตเอทิลีนของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ได้ นอกจากนี้กรดซาลิไซลิกยังมีผลต่อการ Transcription และกิจกรรมของเอนไซม์ ACC synthase ในผลมะเขือเทศ (Li et al., 1992)

นอกจากนี้พุทราที่จุ่ม SA ลดอาการสะท้านหนาวได้ เนื่องจาก SA สามารถลดความรุนแรงในการเกิดอาการสะท้านหนาว โดยเพิ่มความทนทานให้พืช และผลิตผลด้วยการช่วยลดการสูญเสียน้ำ ปรับปรุงองค์ประกอบของเมมเบรนลิปิด และเพิ่มกิจกรรมของแอนติออกซิแดนซ์ โดยสาร Salicylic acid เป็นกลุ่มหนึ่งของสารประกอบ Phenolic ที่นิยมใช้ในพืชและมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช มีการนำสาร Salicylic acid มาใช้เพิ่มความต้านทานอาการสะท้านหนาวในข้าวโพด(Janda และคณะ, 1999) มะเขือเทศ (Ding และคณะ, 2002) และกล้วย (Kang และคณะ, 2003) นอกจากนี้ สาร Salicylic acid ยังมีบทบาทในการยับยั้งเอนไซม์ catalase และมีความสัมพันธ์กับกระบวนการสังเคราะห์และการทำงานของเอทิลีน โดยพบว่ามีการใช้สาร Salicylic acid ในการชะลอการสุกของกล้วย และกีวี โดยไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีน (Srivartava และ

Dwivedi, 2000; Zhang และคณะ, 2003) จากการศึกษาของ Xu และคณะ (2000) พบว่า Salicylic acid มีผลในการลดกิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase (LOX) ในชิ้นเนื้อของกีวีฟรุ้ต ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของ free radical และการผลิตเอทิลีนลดลง และจากการศึกษาในข้าวโพด โดยการใช้ Salicylic มีผลทำให้ลดอัตราการสังเคราะห์แสงภายใต้สภาพแวดล้อมปกติ ส่งผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant enzyme, peroxidase) ส่งผลให้ข้าวโพดมีความต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำ 2 องศาเซลเซียส ได้เพิ่มมากขึ้น (Janda และคณะ, 1999) รวมทั้งมีบทบาทควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของพืช โดยมีผลทำให้มีปริมาณของ H_2O_2 เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก H_2O_2 จัดเป็นปฏิกิริยาตอบสนองอื่น ๆ ที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา (Lamb และDixon, 1997)ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองนี้ พุทราที่จุ่ม SA มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

สรุปผลการทดลอง

1. พุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษา 21 วัน ผลพุทราเริ่มแสดงอาการสะท้านหนาวเล็กน้อยในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา หลังจากนั้นอาการสะท้านหนาวเพิ่มขึ้นเมื่ออายุเก็บรักษานานขึ้นในขณะที่ผลที่เก็บที่ 25 องศาเซลเซียส มีอายุการเก็บรักษา 9 วัน อาการสะท้านหนาวของพุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส ได้แก่ ผลเหี่ยว เกิดรอยย่น ในขณะที่อาการสะท้านหนาวของผลที่เก็บที่ 10 องศาเซลเซียส เป็นจุดสีดำกระจายบนบริเวณผิวผล และเหี่ยว
2. การรมด้วยเมทิลจัสโมเนท0.1ไมโครโมลาร์ เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ชะลอการเกิดอาการสะท้านหนาว ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส โดยผลพุทราที่ผ่านการรม MeJA เริ่มแสดงอาการสะท้านหนาวในวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ในขณะที่พุทราชุดควบคุมเริ่มแสดงอาการสะท้านหนาวในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พุทราที่รมเมทิลจัสโมเนทมีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ต่ำกว่าชุดควบคุม กิจกรรมเอนไซม์ SOD สูงกว่าชุดควบคุม
3. พุทราที่ผ่านการจุ่มกรดซาลิคไซลิค2.0 มิลลิโมลาร์เป็นเวลา 3 นาที และเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส ลดการเกิดอาการสะท้านหนาวได้และชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของผิว มีกิจกรรมของเอนไซม์ SOD สูงกว่าพุทราชุดควบคุม และมีกิจกรรมเอนไซม์ LOX และ POD ไม่ต่างจากชุดควบคุม ในระหว่างการเก็บรักษา

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาการใช้สภาพบรรยากาศดัดแปลง (Modified atmosphere storage) ในการเก็บรักษาพุทราร่วมกับการใช้เมทิลจัสโมเนทและกรดซาลิคไซลิกเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการลดอาการสะท้านหนาวและรักษาคุณภาพของผลผลิตในระหว่างการเก็บรักษาและการขนส่ง
2. ควรมีการศึกษาผลของการใช้เมทิลจัสโมเนทร่วมกับกรดซาลิคไซลิก ในการลดอาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

เอกสารอ้างอิง

เทียมใจ คมกฤส. 2541. กายวิภาคของพฤกษ์. บริษัท เทกซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 308 หน้า.

สมบุญ เตชะภิญญาวัฒน์. 2544. สรีรวิทยาของพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. 237 หน้า.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2538.สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.ภาควิชาพืชสวนคณะเกษตร, สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 369 หน้า.

ศิริชัย กัลยาณรัตน์, 2548, "ผลของ Salicylic acid ต่อคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้", Postharvest Newsletter, ปีที่ 4, ฉบับที่ 2, หน้า 1.

Abu-Kpawoh, J.C., Xi, Y.F., Zhang, Y.Z., Jin, Y.F., 2002.Polyamine accumulation following hot-water dips influenceschilling injury and decay in 'Friar' plum fruit. J. Food Sci. 67,2649–2653.

Albeles, F.B., Dunn, L..J., Morgens, P., Callahan, A., Dinterman, R.E. and Schmidt, J., 1988, "Introduction of 33-kD and 60-kD Peroxidase During Ethylene Induce Senescence of Cucumber Cotyledons", Plant Physiology, Vol. 87, pp. 609-615.

Bowler, C., Van Montagu, M., Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43, 83–116.

Burris, R.H., 1960. Hydroperoxidase (peroxidases and catalases). In: W. Ruhland (Editor), Encyclopedia of Plant Physiology, Vol. 12. Springer-Verlag, Berlin, pp. 365-400.

Cao, S.F., Zheng, Y.H., Yang, Z.F., Ma, S.J., Li, N., Tang, S.S., Wang, X.Q., & Wang,3 X.X. (2007). Effects of methyl jasmonate treatment on quality and decay in cold-stored loquat fruit. Acta Horticulture, 750, 425-430.

Chan, Z. and Tian, S., 2006, "Induction of H2O2-Metabolizing Enzymes and Total Protein Synthesis by Antagonistic Yeast and Salicylic Acid in Harvested Sweet Cherry Fruit", Postharvest Biology and Technology, Vol. 39, pp. 314-320.

Creelman, R.A., Mullet, J.E., 1997. Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates:nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression.Plant Cell 9, 1211–1223.

Ding, C.K.,Wang, C.Y., Gross, K.C., Smith, D.L., 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. Planta 214, 895–901.

Fan, X., Mattheis, J.P. and Fellman, J.K., 1996, "Inhibition of Apple Fruit 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylic Acid Oxidase Activity and Respiration by Acetylsalicylic Acid", Plant Physiology, Vol. 149, pp. 469-471.

Fallik, E., Ilic, Z., Tuvia-Alkalai, S., Copel, A., Polevaya, Y., 2002. A short hot water rinsing and brushing reduces chilling injury and enhance resistance against Botrytis cinerea in fresh harvested tomato. Adv. Hortic. Sci. 16, 3–6.

Feng, L., Zheng, Y.H., Zhang, Y.F.,Wang, F., Zhang, L., Lu, Z.X., 2003. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality in peaches. Sci. Agric. Sin. 11, 1246–1252

Forney, C.F. (1995). Hot water dips extend the shelf life of fresh broccoli. HortScience 30,1054-1057

Gonzalez-Aguilar, G.A., Buta, J.G., Wang, C.Y., 2003. Methyl jasmonate and modified atmosphere packaging (MAP) reduce decay and maintain postharvest quality of papaya 'Sunrise', Postharvest Biol. Technol. 28, 361–370.

González-Aguilar, G.A., Fortiz, J., & Wang, C.Y. (2000). Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit. Journal of Agriculture and Food Chemistry, 48, 515-519.

Gonzalez-Aguilar, G.A., Gayosso, L., Cruz, R., Fortiz, J., Baez, R., Wang, C.Y., 2000. Methyl jasmonate reduces chilling injury and maintains postharvest quality of mango fruit, J. Agric. Food Chem. 48, 515–519.

González-Aguilar, G.A., Tizuado-Hernándoz, M.E., Zavaleeta-Gatica, R., Martínez-Téllez, M.A., 2004. Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. Biochem. Biophysiol.Res.Commun.313, 694–701.

Horiyadi, P. and Parkin, J.L., 1991, Chilling-induced oxidative stress in cucumber fruit, Postharvest Biology and Technology, Vol. 1, pp. 33-45.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I., Paldi, E., 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (Zea mays L.) plants. Planta. 208, 175–180.

Jin, P., Zheng, Y.H., GaoSaltveit, M.E. 2000. Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browning are altered by heat shock. Postharvest Biology and Technology. 21, 61-69.

Jin, P., Zheng, Y.H., Tang, S., Rui, H., Wang, C.Y., 2009. A combination of hot air and methyl jasmonate vapor treatment alleviates chilling injury of peach fruit. Postharvest Biology and Technology. 52, 24-29.

Kang, G., Wang, C., Sun, G., Wang, Z., 2003. Salicylic acid changes activities of H2O2-metabolizing enzymes and increases the chilling tolerance of banana seedlings. Environ. Exp. Bot. 50, 9–15.

Knight, R.J., Jr. 1989.Carambola cultivars and improvement programs. Proc. Interamer.Soc.Trop. Hort. 33, 72-78.

Lamb, C., Dixon, R.A., 1997. The oxidative burst in plant disease resistance.Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 48, 251-275.

Leslie, C.A. and Romani, R.J., 1986, "Salicylic Acid : a New Inhibitor of Ethylene Biosynthesis", Plant Cell Report, Vol. 5, pp. 144-146.

Li, N., Parsons, B.L., Liu, D. and Mattoo, A.K., 1992, "Accumulation of Wound-Inducible ACC Synthase Transcript in Tomato Fruit is Inhibited by Salicylic Acid and Polyamines", Plant Molecular Biology, Vol. 18, pp. 477-487.

Lurie, S., 1998.Postharvest heat treatments of horticultural crops.Hortic.Rev. 22, 91–121.Wang, C.Y. (1995). Effect of temperature preconditioning on catalase,peroxidase,and superoxide dismutase in chilled zucchini squash. Postharvest Biology and Technology, 5, 67-76.

Martin-Diana, A.B., Rico, D., Frias, J., Henehan, G.T.M., Mulcahy, J., Barat, J.M. and Barry-Ryan, C. 2006.Effect of calcium lactate and heat-shock on texture in fresh-cut lettuce during storage.Journal of Food Engineering. 77, 1069-1077.

McDonald, R.E., McCollum, T.G., Baldwin, E.A., 1999. Temperature of hot water treatments influences tomato fruit quality following low-temperature storage. Postharvest Biol. Technol. 16, 147–155.

Meir, S., Droby, S., Davidson, H., Alsevia, S., Cohen, L., Horev, B., Philosoph-Hadas, S., 1998. Suppression of Botrytis rot in cut rose flowers by postharvest application of methyl jasmonate, Postharvest Biol. Technol. 13, 235–243.

Noctor, G. and Foyer, C.H., 1998, "Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control", Annual Review Plant Physiology, Vol. 49, pp. 249-279.

O'Hare, T.J., 1997. Carambola. In: Mitra, S. (Ed.), Postharvest Physiology and Storage of Tropical and Sub-tropical Fruits. CAB International, Oxon, pp. 295–307.

Paull, R.E., Chen, N.J., 2000. Heat treatment and fruit ripening.Postharvest Biol. Technol. 21, 21–38.Pavoncello, D., Lurie, S., Droby, S., Porat

Porat, R., Pavoncello, D., Peretz, Y., Weiss, B., Cohen, L.,Ben-Yehoshua, S., Fallik, E., Droby, S., Lurie, S., 2000.Induction of resistance against Penicillium digitatum and chilling injury in Star Ruby grapefruit by a short hot water brushing treatment. J. Hort. Sci. Biotechnol. 75, 428–432.

Raskin, I., 1992, "Role of Salicylic Acid in Plants", Annual Reviews Plant Physiological and Molecular Plant Pathology, Vol. 43, pp. 439-463.

Sala, J.M., 1998, " Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits", Postharvest Biology and Technology, Vol.13, pp. 255–261.

Salunkhe, D.K. and Desai, B.B., 1984, Postharvest Biotechnology of Fruits Vol.1, CRC Press, Florida, 208 p.

Schirra, M., Agabbio, M., D'Hallewin, G., Pala, M., Ruggiu, R., 1997.Response of Tarocco oranges to picking date, postharvest hot water dips, and chilling storage temperature.J. Agric. Food Chem. 45, 3216–3220.

Srivastava, M.K., Dwivedi, U.N., 2000, Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid, Plant Science, 158, 87-96.

Suzuki, Y., Asoda, T., Matsumoto, Y., Terai, H., Kato, M., 2005.Suppression of the expression of genes encoding ethylene biosynthetic enzymes in harvested broccoli with high temperature treatment.Postharvest Biology and Technology. 36, 265-271.

Tsouvaltzis, P., Gerasppoulos, D. and Siomos, A.S. 2007.Effects of base removal and heat treatment on visual and nutritional quality of minimally processed leeks.Postharvest Biology and Technology. 43, 158-164.

Wang, C.Y., Buta, G., 1994. Methyl jasmonate reduces chilling injury in Curcubita pepo through its regulation of abscisic and polyamine levels, Environ. Exp. Bot. 43, 427–432.

Wang, C.Y., 1995, "Effect of temperature preconditioning on catalase, peroxidase and superoxide dismutase in chilled zucchini squaeh", Postharvest Biology and Technology, Vol. 5, pp. 67-76.

Wang, Y.S., Tian, S.P. and Xu, Y., 2005, "Effects of high oxygen concentration on pro-and anti-oxidant enzymes in peach fruits during Postharvest periods", Food Chemistry, Vol. 91, pp. 99-104.

Woolf, A.B., 1997. Reduction of chilling injury in stored 'Hass'avocado fruit by 38 ˚C water treatments.HortScience. 32,1247–1251.

Xu, W.P., Chen, K.S., Li, F., Zhang, S.L., 2000.Regulation of lipoxygenase on jasmonic acid biosynthesis in ripening kiwifruit.Acta Phytophysiol.Sin. 26, 507-514.

Zhang, Y., Chen, K.S., Zhang, S.L., Ferguson, I., 2003. The role of salicylic acid in postharvest ripening of kiwifruit. Postharvest Biol. Technol. 28, 67–74.

ผลของกรดซาลิไซลิคต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล

Effect of salicylic acid on chilling injury of jujube cv. Bomb apple

พนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย[1], ศุภลักษณ์ พิริยะพันธุ์สกุล[1] และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์[1]

Panida Boonyaritthongchai[1], Suphaluk Piriyaphansakul[1] and Sirichai Kanlayanarat[1]

Abstract

Jujube fruit (cv. Bomb apple) were pre-treated with 0 (control) and 2.0 mM salicylic acid (SA) for 3 min and then stored at 10 and 25°C for 21 days to investigate the effect of SA treatment and cold temperature on chilling injury and changes in quality of jujube. Jujube fruit developed chilling injury, manifested as increased fruit pitting, and browning during storage. These chilling injury symptoms were significantly reduced by SA treatment and cold temperature. The result shown that L value of jujube fruits was treated with 2.0 mM SA and untreated then stored at 25°C higher than stored at 10°C. The a value of jujube fruits was treated with 2.0 mM SA and untreated then stored at 10°C less value than stored at 25°C. Although, SA treated fruits revealed the decline of Hue value than untreated fruits. Meanwhile, both of SA-treated and untreated shown non-significant of peroxidase(POD) activity during 12 days of storage after that SA-treated fruit higher POD activity than control until the end of storage period.

Key words: Jujube fruits (cv. bomp apple), salicylic acid, chilling injury

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ได้นำพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ลจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิคที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) และ 2.0 mM นาน 3 นาที หลังจากนั้นนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 21 วัน เพื่อศึกษาผลของกรดซาลิไซลิคและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำต่อการลดอาการสะท้านหนาวและคุณภาพของพุทรา ซึ่งอาการสะท้านหนาวได้แก่ เป็นรอยบุ๋มสีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ อาการสะท้านหนาวนี้สามารถลดได้โดยการใช้สารละลายกรดซาลิไซลิคร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ จากผลการทดลองพบว่าพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค 2.0 mM และชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสมีค่า L สูงกว่าที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ค่า a ของพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิก 2.0 mM และชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียสมีค่า a ต่ำกว่าที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ค่า Hue ของพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค 2.0 mM จะมีค่าต่ำลงกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ไม่มีความแตกต่างกันในช่วง 12 วันของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้นพุทราที่จุ่มด้วยสารละลายกรดซาลิไซลิคมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase สูงกว่าชุดควบคุมจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา

คำสำคัญ:พุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล กรดซาลิไซลิก อาการสะท้านหนาว

[1]หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพฯ 10140

[1]Postharvest Technology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok 10140

คำนำ

พุทราเป็นไม้ผลยืนต้นเขตร้อน ปลูกกันมากในแถบอำเภอดำเนินสะดวก อำเภอสวนผึ้ง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี และอำเภอบ้านแพ้ว อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสาคร เนื่องจากปลูกง่าย สามารถทนทานต่อความแห้งแล้งและฝนตกชุกได้ดี จึงมีศักยภาพที่เหมาะสมต่อการผลักดันให้เป็นพืชเศรษฐกิจ แต่มีการเสื่อมคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวอย่างรวดเร็ว (ประมาณ 2-5 วัน) โดยมีลักษณะผลเหี่ยวนิ่ม สีผลเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว และผลเน่าเนื่องจากการทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพราะพุทราเป็นผลไม้ที่บอบช้ำและเกิดบาดแผลได้ง่าย เนื่องจากเปลือกค่อนข้างบาง ดังนั้นการใช้อุณหภูมิต่ำจึงเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ในการชะลอการเน่าเสียและยืดอายุการเก็บรักษาผลไม้ (จริงแท้, 2549) แต่การใช้อุณหภูมิต่ำแล้วที่มีความชื้นสัมพัทธ์สูงจะสามารถทำให้เชื้อราชนิดต่างๆที่มีอยู่บนผิวเจริญเติบโตได้ง่าย ส่งผลให้ผลไม้เน่าเสียได้เร็วขึ้นและถ้าเก็บในสภาพที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำผลไม้จะเกิดการสูญเสียน้ำ ทำให้สูญเสียน้ำหนักและผลเหี่ยวนิ่ม ไม่มีที่ยอมรับของผู้บริโภคนอกจากนี้พุทราเป็นไม้ผลเขตร้อน การใช้อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม จะส่งผลให้เกิดอาการสะท้านหนาว เช่น เกิดรอยบุ๋มสีน้ำตาล อาการฉ่ำน้ำ เนื่องจากเนื้อเยื่อถูกทำลาย เป็นต้น ดังนั้นจึงมีการใช้กรดซาลิไซลิคเพื่อลดอาการสะท้านหนาว ดังนั้นงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของกรดซาลิไซลิคและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำต่อการลดอาการสะท้านหนาวและคุณภาพของพุทราหลังการเก็บเกี่ยว

อุปกรณ์และวิธีการ

คัดเลือกผลพุทราพันธุ์บอมแอปเปิ้ล จากสวนของเกษตรกรจังหวัดสมุทรสาคร นำมาคัดเลือกผลที่ปราศจากตำหนิ การเข้าทำลายของเชื้อโรคขนาดใกล้เคียงกัน ทำการขนส่งโดยรถตู้ปรับอากาศที่ควบคุมอุณหภูมิตลอดระยะเวลาการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการวิจัย สายวิชาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี จากนั้นจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิคที่ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม) และ 2.0 mM เป็นเวลา 3 นาที วางให้แห้ง แล้วนำผลพุทราใส่ตะกร้าพลาสติกและทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 25 องศาเซลเซียส ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 80-90 หลังจากนั้นทำการบันทึกข้อมูลทุกๆ 3วัน

ผล

จากการศึกษาผลของกรดซาลิไซลิคและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำต่อการลดอาการสะท้านหนาวและคุณภาพของพุทราหลังการเก็บเกี่ยวพบว่าผลของพุทราที่จุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิคที่ความเข้มข้น 0 และ 2.0 mM และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้นาน 21 วัน ในขณะที่ผลของพุทราที่จุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค ที่ความเข้มข้น 0 และ 2.0 mM และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน(Table 1)

Table 1 Storage life of jujube treated DI water then storage at 10 and 25 °C and SA 2.0 mM then storage at 10 and 25 °C, 80-90% RH

Treatment	Storage life (days)
DI water (SA 0 mM, control) storage at 10°C	21
DI water (SA 0 mM, control) storage at 25°C	9
SA 2.0 mM storage at 10°C	21
SA 2.0 mM storage at 25°C	9

การเปลี่ยนแปลงค่าสีพบว่าพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค 2.0 mM และชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสมีค่า L สูงกว่าที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ค่า a ของพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรด ซาลิไซลิค 2.0 mM และชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียสมีค่า a ต่ำกว่าที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส ส่วนค่า Hue ของพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค 2.0 mM และชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียสมีค่าต่ำกว่าที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส แต่พบว่าค่า Hue ของพุทราที่ผ่านการจุ่มในสารละลายกรดซาลิไซลิค 2.0 mM ที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส มีค่าสูงกว่าชุดควบคุมที่เก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส (Fig 1) ทั้งนี้พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ไม่มีความแตกต่างกันในช่วง 12 วันของการเก็บรักษา แต่หลังจากนั้นพุทราที่จุ่มด้วยสารละลายกรดซาลิไซลิคมีกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase สูงกว่าชุดควบคุมจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา (Fig 2)

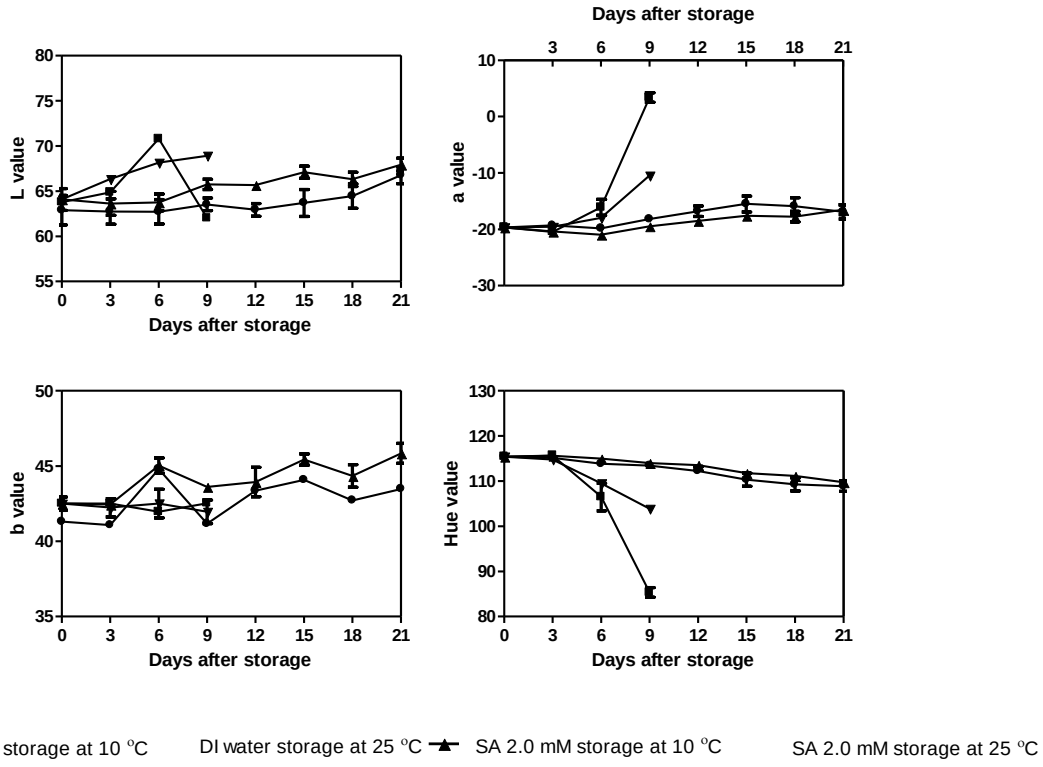


Fig 1 Colour change of jujube treated DI water then storage at 10 and 25 °C and SA 2.0 mM then storage at 10 and 25 °C, 80-90% RH

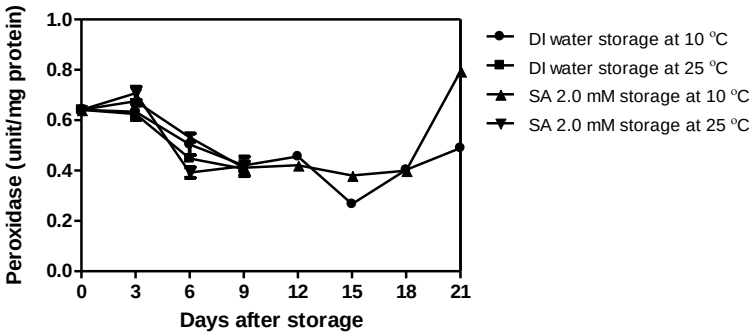


Fig 2 Peroxidase activity (unit/mg protein) jujube treated DI water then storage at 10 and 25 °C and SA 2.0 mM then storage at 10 and 25 °C, 80-90% RH

วิจารณ์ผล

การลดอาการสะท้านหนาวด้วยการจุ่มสารละลายกรดซาลิไซลิคร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ สามารถลดการเกิดรอยบุ๋มสีน้ำตาล อาการฉ่ำน้ำ เนื่องจากเนื้อเยื่อถูกทำลาย โดยกรดซาลิไซลิคสามารถลดความรุนแรงในการเกิดอาการสะท้านหนาวได้โดยการเพิ่มความทนทานให้แก่พืช ปรับปรุงองค์ประกอบของเมมเบรนลิปิด และเพิ่มกิจกรรมของแอนติออกซิแดนซ์ ซึ่งกรดซาลิไซลิคเป็นสารประกอบกลุ่ม Phenolic มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช จึงนิยมนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย เช่น นำไปใช้ในข้าวโพด (Janda *et al*., 1999) มะเขือเทศ (Ding *et al*., 2002) และกล้วย (Kang *et al*., 2003) เป็นต้น นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิต่ำและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมจะช่วยชะลอการเข้าทำลายของเชื้อรา ทำให้เกิดเน่าเสียรวมทั้งช่วยป้องกันการคายน้ำ ทำให้ผลเหี่ยวนิ่ม เกิดการสูญเสียน้ำหนัก ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญอย่างหนึ่งที่ผู้บริโภคไม่ยอมรับ ดังนั้นการใช้กรดซาลิไซลิคร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการเกิดอาการสะท้านหนาวและรักษาคุณภาพ ส่งผลให้ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาพุทราได้นานยิ่งขึ้น

สรุป

การลดอาการสะท้านหนาวพุทราด้วยสารละลายกรดซาลิไซลิคที่ความเข้มข้น 2.0 mM และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ที่ร้อยละ 80-90 สามารถลดอาการสะท้านหนาวและรักษาคุณภาพของพุทรา โดยช่วยลดการเกิดรอยบุ๋มสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงสี และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาพุทราได้นาน 21 วัน ในขณะที่พุทรา ที่จุ่มด้วยสารละลายกรดซาลิไซลิคที่ความเข้มข้น 2.0 mM และชุดควบคุม ที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาได้เพียง 9 วันเท่านั้น

เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช,2546,**สรีระวิทยาและเทคโนโลยีการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้**, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม,396 หน้า.

Ding, C.K., Wang, C.Y., Gross, K.C., Smith, D.L., 2002. Jasmonate and salicylate induce the expression of pathogenesis-related protein genes and increase resistance to chilling injury in tomato fruit. Planta 214, 895–901.

Janda, T., Szalai, G., Tari, I., Paldi, E., 1999. Hydroponic treatment with salicylic acid decreases the effects of chilling injury in maize (*Zea mays* L.) plants. Planta 208, 175–180.

Kang, G.Z., Wang, Z.X., Sun, G.C., 2003. Participation of H_2O_2 in enhancement of cold chilling by salicylic acid in banana seedlings.Acta Bot. Sin. 45, 567–573.

ภาคผนวก ก

(วิธีการวิเคราะห์ผลการทดลอง)

การบันทึกผลการทดลอง

1.การเปลี่ยนแปลงสี

ทำการวัดสีของผลพุทราบริเวณกลางผล ใช้เครื่องวัดสี Minolta (Model DP-301) โดยให้หัววัดแนบสัมผัสกับผิวของผลพุทรามากที่สุด และรายงานผลเป็นค่า L* a* และ b* ดังนี้

ค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100 กรณีที่ ค่า L เท่ากับ 100 หมายถึง สีขาว

ค่า L เท่ากับ 0 หมายถึง สีดำ

ค่า a* เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของสีในช่วงสีเขียวถึงสีแดง กรณีที่ ค่า a เป็นลบ หมายถึง สีเขียว

ค่า a เป็นบวก หมายถึง สีแดง

ค่า b* เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงของสีในช่วงสีน้ำเงินถึงสีเหลือง กรณีที่ ค่า b เป็นลบ หมายถึง สี

น้ำเงิน ค่า b เป็นบวก หมายถึง สีเหลือง

°Hue หรือ Hue angle สามารถคำนวณได้จากมุมระหว่างด้านตรงข้ามกับมุมฉาก และ 0°บนแกนของ a (เขียวน้ำเงิน/ม่วงแดง) และ °Hue จะเป็นคำนวณอยู่ในระหว่าง 0° - 360°ของวงสี ดังสมการ

$$\text{Hue angle } (H°) = (\tan^{-1} b/a) \quad \text{เมื่อ } a > 0 \text{ , แล้ว } b \geq 0$$

$$\text{Hue angle } (H°) = 180 + (\tan^{-1} b/a) \quad \text{เมื่อ } a < 0$$

$$\text{Hue angle } (H°) = 360 + (\tan^{-1} b/a) \quad \text{เมื่อ } a > 0 \text{ และ } b < 0$$

2.กิจกรรมเอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)

โดยนำเนื้อเยื่อมา 1 กรัม ปั่นร่วมกับ PVPP จำนวน 0.1 กรัม และ 5 มิลลิลิตรของ 50มิลลิโมล sodium borate buffer (pH 7.8) ที่ 4 องศาเซลเซียส ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000×*g*ที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส นาน 20นาที และของเหลวใสที่ได้ มาเติมสารต่าง ๆ ได้แก่ 50 มิลลิโมล ของ sodium borate buffer (pH 7.8) 0.1 มิลลิโมลของ EDTA 13 มิลลิโมล ของ methionine 2 ไมโครโมล ของ riboflavin และ 75 ไมโครโมล ของ 1-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl-formazan (MTT) ปล่อยให้ผสมกันในแสงฟลูออเรทเซ้น ที่ความเข้มแสง 50 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที นาน 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาให้ผสมกันก่อนนำของเหลวใสสีน้ำเงินไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร

3. กิจกรรมเอนไซม์ Lipoxygenase (LOX)

นำเนื้อเยื่อมา 5 กรัม ปั่นร่วมกับ 20มิลลิลิตรของ 0.1 โมลาร์ phosphate buffer (pH 7) ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 17,400×*g*ที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส นาน 20นาที กิจกรรมเอนไซม์วัดโดยผสม 10 ไมโครลิตร ของ linoleic acid เติมน้ำ 4 มิลลิลิตร เติม 1 มิลลิลิตร ของ NaOH ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล และ 5 ไมโครลิตร ของ Tween 20 ผสมและเขย่าด้วยมือ เจือจางด้วยน้ำดีไอออนไน ให้ได้ 25 มิลลิลิตร ต่อมาวัดกิจกรรมเอนไซม์ด้วยการเติม 1.80 มิลลิลิตร ของ phosphate buffer pH 6.8 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เติม 50 ไมโครลิตร ของ linoleic acid และสารสกัดเอนไซม์ 150 ไมโครลิตร อ่านค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 234 นาโนเมตร หลังผสมทันที

4. กิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase (POD)

โดยนำเนื้อเยื่อมา 5 กรัม ปั่นร่วมกับ PVPP จำนวน 0.5 กรัม และ 20มิลลิลิตรของ 0.05 โมล่าร์ sodium phosphate buffer (pH 7) ต่อมานำมากรองและเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 19,000×*g*ที่อุณหภูมิ4 องศาเซลเซียส นาน 20นาที และของเหลวใสที่ได้ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ผสมกับ 2.78 มิลลิลิตร ที่มี 0.05 โมล่าร์ ของ sodium phosphate buffer (pH 7.0) 0.1มิลลิลิตร ของ1% H_2O_2และ 0.1 มิลลิลิตร ของ 4% guaiacol วัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 470นาโนเมตร บันทึกข้อมูลหลังทำปฏิกิริยา 2 นาที

5. ปริมาณโปรตีน

ดูดสารละลายส่วนใสที่สกัดได้จากการวิเคราะห์หาเอนไซม์ (PAL, SOD, PPO, POD) มา 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลายcoomassie blue 4 มิลลิลิตรตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตรจากนั้นเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างปริมาณโปรตีนมาตรฐาน BSA (bovine serum albumin)กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข

(ตารางวิเคราะห์ทางสถิติผลการทดลอง)

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพการเก็บรักษาของผลพุทรา

ตารางที่ 1.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	L value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	64.10	60.50^{b}	59.96^{b}	60.07^{b}	59.96^{b}	58.88^{b}	60.18^{b}	58.54^{b}
Storage at 10 °C	64.10	63.23^{ab}	64.33^{b}	66.45^{a}	67.13^{a}	67.14^{a}	67.94^{a}	70.72^{a}
Storage at 25 °C	64.10	66.71^{a}	69.60^{a}	58.98^{b}				
F-Test	NS	*	**	*	**	**	**	**
C.V. (%)	3.27	3.58	3.65	4.18	2.12	4.36	1.87	1.40

ตารางที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	a value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	-19.66	-20.17	-20.27	-20.35^{b}	-19.77	-18.83	-19.30	-18.23
Storage at 10 °C	-19.66	-20.26	-22.57	-18.2^{b}	-19.76	-14.51	-17.22	-15.35
Storage at 25 °C	-19.66	-19.10	-17.46	-7.36^{a}				
F-Test	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	-5.93	-2.89	-12.93	-9.23	-4.12	-17.89	-7.72	-14.09

ตารางที่ 1.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	b value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	41.30	41.51^{b}	42.78^{ab}	43.70^{a}	42.68	42.28^{b}	41.54^{b}	41.92^{b}
Storage at 10 °C	41.30	42.66^{a}	45.51^{a}	41.98^{ab}	43.89	45.48^{a}	44.75^{a}	46.75^{a}
Storage at 25 °C	41.30	41.85^{ab}	41.40^{b}	40.38^{b}				
F-Test	NS	NS	*	*	NS	*	*	*
C.V. (%)	1.31	1.15	3.5	2.59	3.28	2.33	2.16	3.43

ตารางที่ 1.4 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Hue value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	115.45	115.91	115.69^{a}	114.97^{a}	114.76	114.89^{a}	113.96	113.17^{a}
Storage at 10 °C	115.45	115.41	113.67^{a}	113.10^{a}	112.41	111.37^{b}	107.60	108.14^{b}
Storage at 25 °C	115.45	114.53	103.34^{b}	79.71^{b}				
F-Test	NS	NS	**	**	NS	*	NS	*
C.V. (%)	1.01	0.64	3.12	1.51	0.95	1.07	2.95	1.99

ตารางที่ 1.5 กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Peroxidase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	0.64	0.60[b]	0.55	0.52[b]	0.52[a]	0.37[a]	0.35	0.42[b]
Storage at 10 °C	0.64	0.75[a]	0.65	0.48[b]	0.48[b]	0.31[b]	0.37	0.44[a]
Storage at 25 °C	0.64	0.52[b]	0.62	0.67[a]				
F-Test	NS	*	NS	**	*	**	NS	*
C.V. (%)	5.08	10.57	10.22	3.76	2.72	3.58	51.41	1.73

ตารางที่ 1.6 กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Superoxide dismutase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	30.16	142.86	100.00	84.13	20.63	96.83[a]	76.19	126.98
Storage at 10 °C	30.16	119.05	100.00	60.32	4.76	30.16[b]	60.32	126.98
Storage at 25 °C	30.16	66.67	58.73	93.65				
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS	NS
C.V. (%)	127.62	61.49	33.79	36.17	100.40	24.12	79.75	14.92

ตารางที่ 1.7 กิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase ของพุทราที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90-95 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Lipoxygenase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
Storage at 4 °C	13.65	14.46	6.02	3.55	3.32	6.65[a]	13.58[a]	2.11
Storage at 10 °C	13.65	10.59	8.81	4.66	2.04	4.54[b]	2.81[b]	2.53
Storage at 25 °C	13.65	13.40	7.07	3.19	-	-	-	
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	**	**	NS
C.V. (%)	2.37	8.41	62.63	12.83	24.71	7.89	15.87	53.18

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของสารเมทิลจัสโมเนทต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพการเก็บรักษาของผลพุทรา

ตารางที่ 2.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	L value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	64.10	63.31	62.80	63.87	64.28	65.95	65.80	65.17
MeJA 0.1 µmol/l	64.10	65.26	65.56	67.59	68.07	68.59	67.87	68.45
MeJA 1 µmol/l	63.00	63.17	64.37	66.16	66.49	68.25	67.75	69.89
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	3.27	2.66	3.42	3.67	2.94	3.04	2.87	4.34

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	a value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	-19.66	-19.87	-20.38	-19.30	-18.55	-17.92	-18.57	-15.26
MeJA 0.1 µmol/l	-19.39	-19.30	-19.38	-17.66	-16.67	-14.95	-15.97	-13.20
MeJA 1 µmol/l	-19.57	-19.49	-19.78	-17.87	-17.23	-15.40	-16.20	-14.16
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	-5.79	-5.42	-7.73	-7.51	-8.80	-13.03	-11.58	-17.90

ตารางที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	b value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	41.70	42.77	43.91	43.14	43.66	44.11	43.30	44.57
MeJA 0.1 µmol/l	41.70	43.60	44.83	42.62	42.91	43.31	43.05	42.40
MeJA 1 µmol/l	41.83	42.48	45.48	42.96	43.76	44.44	43.74	45.52
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	2.61	3.27	3.89	4.37	4.75	6.60	6.20	6.82

ตารางที่ 2.4 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Hue value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	115.45	114.95	114.87	114.09	113.15	112.17	112.05	111.16
MeJA 0.1 µmol/l	114.92	114.33	113.35	112.50	111.72	110.35	109.04	107.16
MeJA 1 µmol/l	115.09	114.18	113.49	112.57	111.90	110.26	109.06	107.21
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	0.97	1.21	1.04	0.99	1.08	1.20	1.52	2.28

ตารางที่ 2.5 กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Peroxidase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	0.77^{a}	0.64	0.39^{b}	0.43^{b}	0.44^{ab}	0.45^{a}	0.37^{c}	0.74^{b}
MeJA 0.1 µmol/l	0.54^{b}	0.66	0.40^{b}	0.38^{c}	0.38^{b}	0.51^{a}	0.56^{a}	0.80^{a}
MeJA 1 µmol/l	0.67^{ab}	0.66	0.50^{a}	0.50^{a}	0.51^{a}	0.36^{b}	0.45^{b}	0.75^{b}
F-Test	NS	NS	*	**	NS	**	**	**
C.V. (%)	16.67	5.89	8.64	3.81	11.53	8.79	6.56	1.81

ตารางที่ 2.6กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Superoxide dismutase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	84.13	98.41	74.60^{b}	80.95	31.75^{a}	14.29	90.48	147.62
MeJA 0.1 µmol/l	65.08	98.41	100.00^{b}	98.41	3.17^{a}	53.97	76.19	147.62
MeJA 1 µmol/l	152.38	95.24	173.02^{a}	76.19	-42.86^{b}	30.16	93.65	180.95
F-Test	NS	NS	**	NS	*	NS	NS	NS
C.V. (%)	57.73	8.78	22.22	18.35	-848.44	144.83	78.59	28.46

ตารางที่ 2.7 กิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase ของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Lipoxygenase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
MeJA 0 µmol/l	12.49[b]	14.70[a]	16.28[a]	12.12	2.61[b]	8.51	4.52[c]	227779
MeJA 0.1 µmol/l	13.44[b]	11.18[b]	4.53[b]	6.01	3.68[b]	9.67	7.83[a]	5
MeJA 1 µmol/l	17.16[a]	7.44[c]	5.41[b]	11.39	8.09[a]	13.91	6.37[b]	81485
F-Test	**	**	**	NS	**	NS	**	NS
C.V. (%)	6.84	12.29	27.96	25.99	23.62	22.12	9.59	193.67

การทดลองที่ 3ศึกษาผลของกรดซาลิคไซลิกต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

ตารางที่ 3.1 การเปลี่ยนแปลงค่า L ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	L value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	62.90	62.75	62.73^{c}	63.54^{b}	62.94^{b}	63.71	64.45	66.76
DI water storage at 20 °C	63.78	64.88	70.80^{a}	62.01^{b}				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	64.10	63.64	63.76^{bc}	65.75^{ab}	65.68^{a}	67.10	66.31	67.95
SA 2.0 mM storage at 20 °C	64.10	66.34	68.16^{ab}	68.92^{a}				
F-Test	NS	NS	*	*	*	NS	NS	NS
C.V. (%)	4.78	5.23	3.91	3.45	1.62	3.08	2.93	2.11

ตารางที่ 3.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	a value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	-19.66	-19.29	-19.81	-18.20	-16.78	-15.50	-15.88	-16.88
DI water storage at 20 °C	-19.66	-20.43	-16.09	3.39				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	-19.66	-20.37	-20.96	-19.44	-18.49	-17.59	-17.74	-16.52
SA 2.0 mM storage at 20 °C	-19.66	-19.55	-17.93	-10.46				
F-Test	NS	NS	*	**	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	-5.93	-4.67	-7.82	-38.51	-8.19	-11.50	-12.86	-11.33

ตารางที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	b value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	41.30	41.08	44.80	41.18[b]	43.37	44.08	42.72	43.49
DI water storage at 20 °C	42.50	42.50	41.97	42.54[ab]				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	42.50	42.44	45.03	43.62[a]	43.94	45.44	44.34	45.85
SA 2.0 mM storage at 20 °C	42.50	42.24	42.52	41.97[ab]				
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	1.70	2.89	3.93	2.80	4.44	2.11	3.17	3.63

ตารางที่ 3.4 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Hue value							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	115.45	115.14	113.84[a]	113.42[a]	112.28	110.32	109.32	108.91
DI water storage at 20 °C	115.45	115.68	106.50[b]	85.33[b]				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	115.45	115.64	114.96[a]	114.02[a]	113.57	111.78	111.14	109.79
SA 2.0 mM storage at 20 °C	115.45	114.82	109.50[ab]	103.91[a]				
F-Test	NS	NS	*	**	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	1.01	0.78	2.92	5.44	1.13	1.81	1.73	1.53

ตารางที่ 3.5 กิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Peroxidase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	0.64	0.63	0.50[ab]	0.42	0.46	0.27	0.40	0.49[b]
DI water storage at 20 °C	0.64	0.62	0.45[bc]	0.41				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	0.64	0.68	0.53[a]	0.41	0.42	0.38	0.40	0.79[a]
SA 2.0 mM storage at 20 °C	0.64	0.71	0.39[c]	0.42				
F-Test	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	**
C.V. (%)	5.08	7.45	8.86	10.26	5.41	104.03	2.88	1.90

ตารางที่ 3.6 กิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Superoxide dismutase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	30.16	74.60	114.29[b]	95.24	11.11	112.70	69.84[b]	147.62
DI water storage at 20 °C	30.16	77.78	166.67[ab]	98.41				
SA 2.0 mM storage at 10 °C	30.16	52.38	138.10[ab]	77.78	44.44	80.95	117.46[a]	166.67
SA 2.0 mM storage at 20 °C	30.16	65.08	173.02[a]	92.06				
F-Test	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS
C.V. (%)	127.62	39.62	18.37	13.61	75.37	51.50	17.12	18.43

ตารางที่ 3.7 กิจกรรมของเอนไซม์ Lipoxygenase ของพุทราที่จุ่มด้วยสาร Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM นาน 3 นาที บรรจุตะกร้าพลาสติก แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 80-90 เป็นเวลา 21 วัน

วิธีการ	Lipoxygenase							
	วันที่เก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
DI water storage at 10 °C	13.65	10.21b	5.62b	6.4b	2.63	9.08a	4.74a	1.69
DI water storage at 20 °C	13.60	18.54a	13.84a	13.37a	-	-	-	-
SA 2.0 mM storage at 10 °C	13.60	9.48b	5.27b	9.13ab	4.97	9.62a	3.47a	3.28
SA 2.0 mM storage at 20 °C	13.44	17.72a	13.84a	10.34ab	-	-	-	-
F-Test	NS	**	*	*	NS	**	**	NS
C.V. (%)	2.10	10.87	29.89	20.35	22.22	13.57	16.52	45.95