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

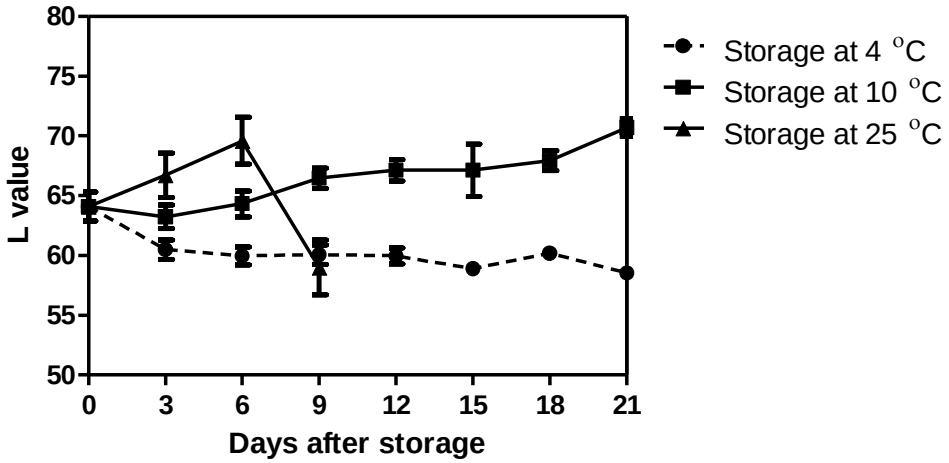
ผลการทดลอง

ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพการเก็บรักษาของผลพุทรา

1.ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

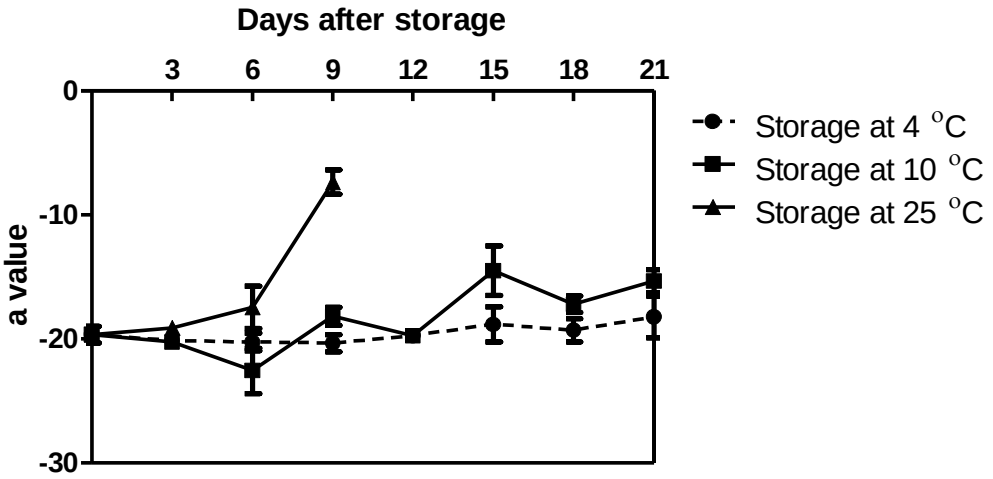
การเปลี่ยนแปลงสีของผลพุทรา โดยการพิจารณาค่า L a b และ Hue angel ซึ่งค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่าง พุทราชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 25 องศาเซลเซียส มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น แต่ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีค่าเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 6 และมีค่าลดลง ในขณะที่ชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีค่าลดลงตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น 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)

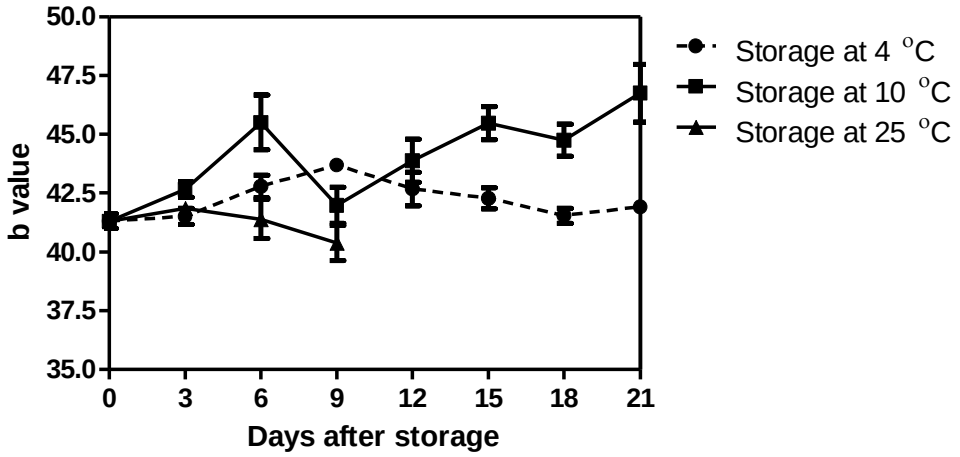


รูปที่ 1.2 การเปลี่ยนแปลงค่า a value ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

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

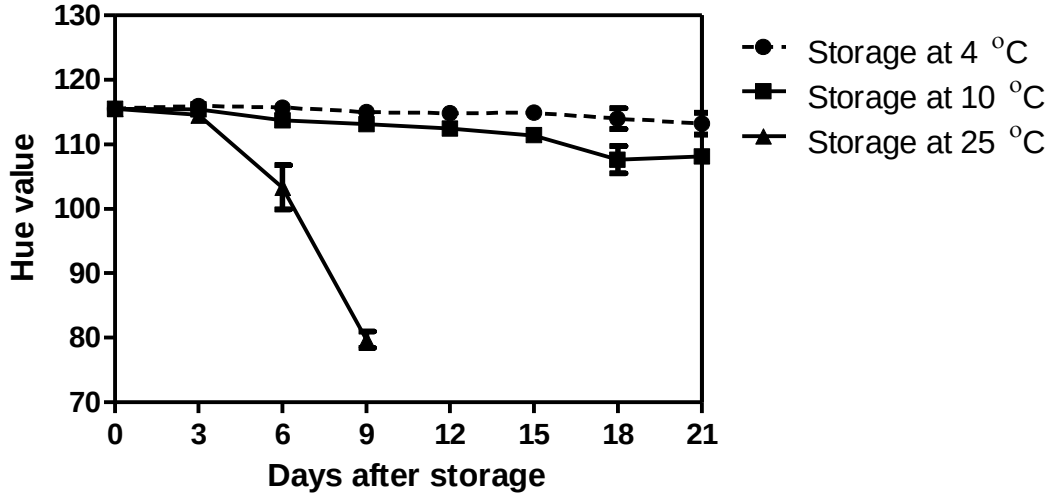
อย่างมีนัยสำคัญ ชุดที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่า b สูงที่สุดในวันที่ 9 และ 6 เท่ากับ 43.70 และ 45.51 ตามลำดับ(รูปที่ 1.3)



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

ค่า Hue angle

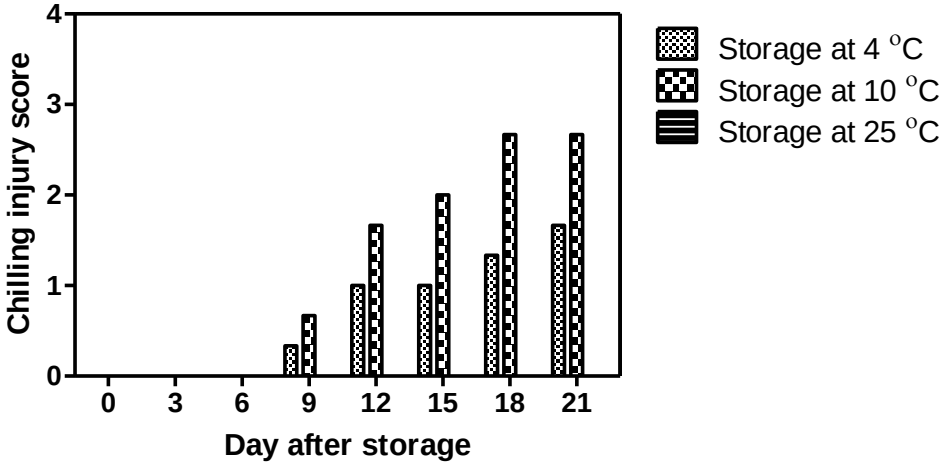
การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle พบว่า ผลพุทราในชุดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พุทรามีค่า Hue เริ่มต้นเท่ากับ 115.45 และพุทราทุกชุดทดลองมีแนวโน้มของค่า Hue ลดลงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาค่า Hue ที่ลดลงหมายถึงผลพุทราเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง 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

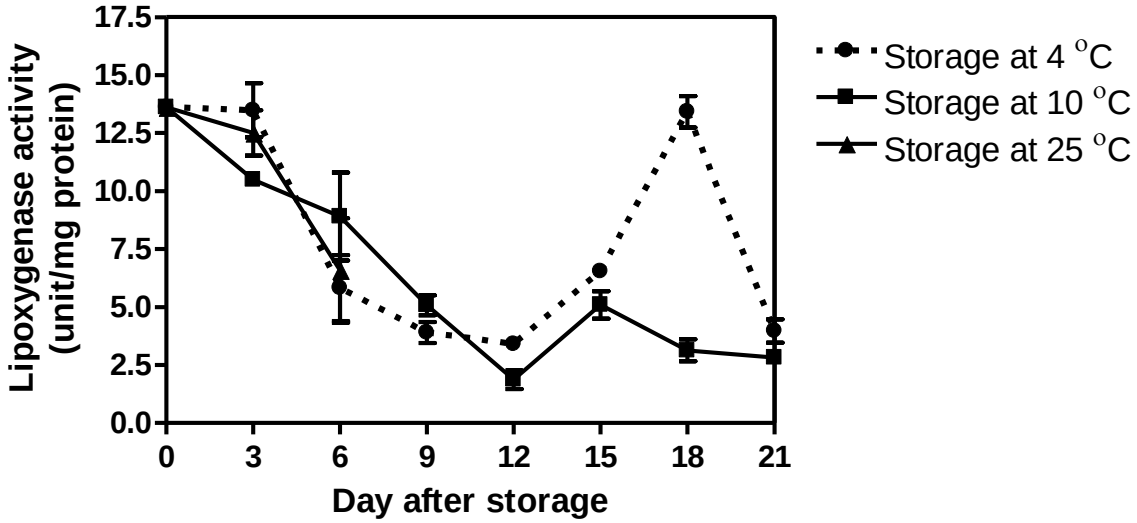
ความเสียหายของพุทราที่เกิดจากอุณหภูมิต่ำ (Chilling injury, CI) โดยสังเกตความเสียหายที่เกิดขึ้นบนผิวเปลือกโดยการให้คะแนน ผลการทดลองพบว่า พุทราที่เก็บที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส เริ่มมีอาการผิดปกติตั้งแต่วันที่ 9 ของการเก็บรักษา โดยผลที่เก็บที่ 10 องศาซาเซลเซียส เริ่มมีจุดสีดำเล็กๆบนผิว ส่วนชุดที่เก็บที่ 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)

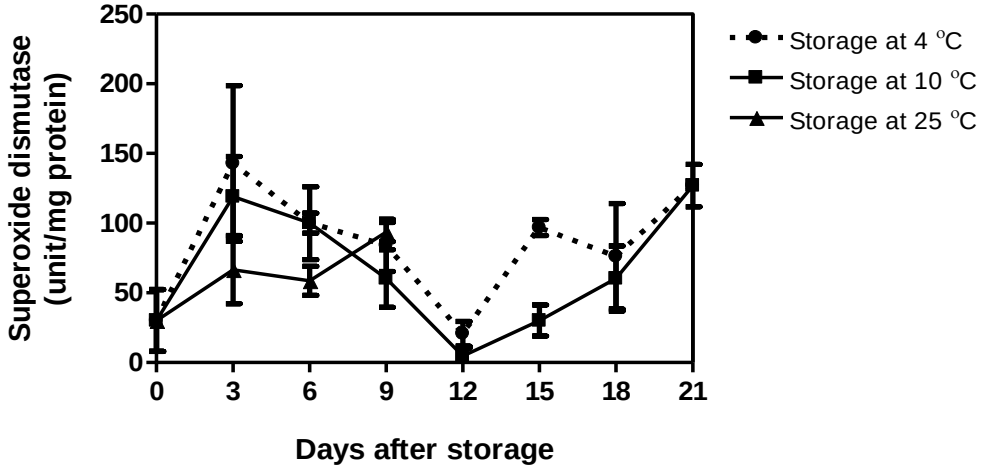
กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ในทุกชุดการทดลองพบว่า ผลพุทรามีกิจกรรมเอนไซม์ LOX วันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่ากับ 13.61 unit/mg protein และพุทราทุกชุดการทดลองมีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา 12 วัน อย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ หลังจากเก็บรักษา 12 วัน พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียสเริ่มมีกิจกรรมของเอนไซม์ 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)



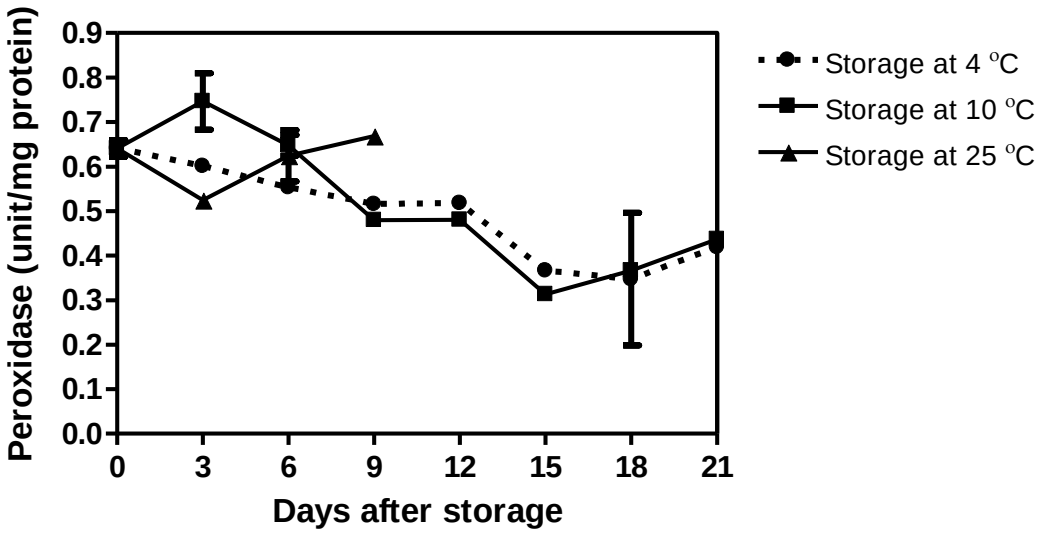
รูปที่ 1.7 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส(superoxide dismutase, SOD) ของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.1.5กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (Peroxidase, POD)

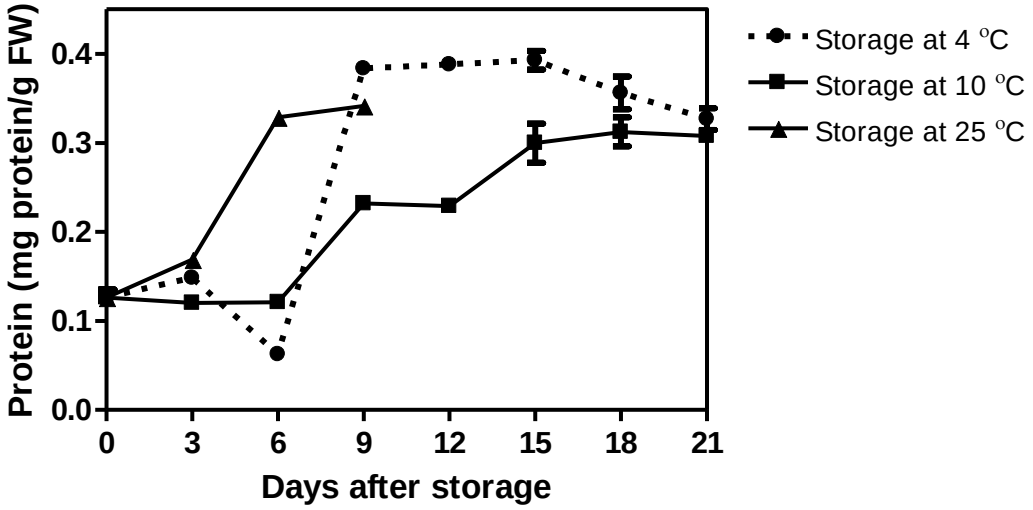
พุทราทุกชุดการเก็บรักษามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ POD เริ่มต้นเท่ากับ 0.64 unit/mg protein โดยทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ POD ลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พุทราที่เก็บที่ 10 องศาเซลเซียสมีกิจกรรมเอนไซม์ POD สูงกว่าชุดทดลองอื่นในช่วง 9 วันของการเก็บรักษา หลังจากนั้น พุทราที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส 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



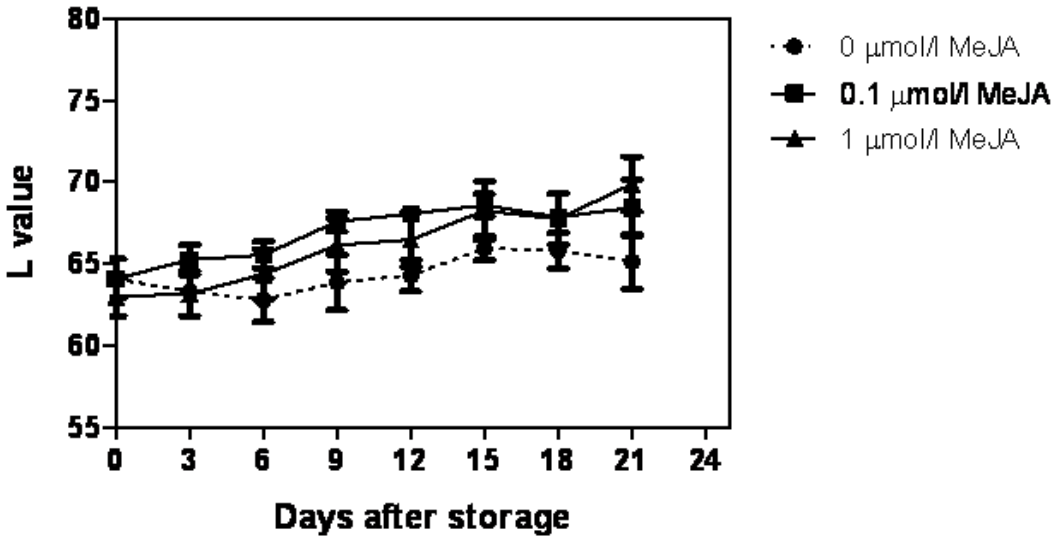
รูปที่ 1.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนของผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 10 และ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน

4.2 ศึกษาผลของเมทิลจัสโมเนท(Methyl jasmonate, MeJA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

4.2.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

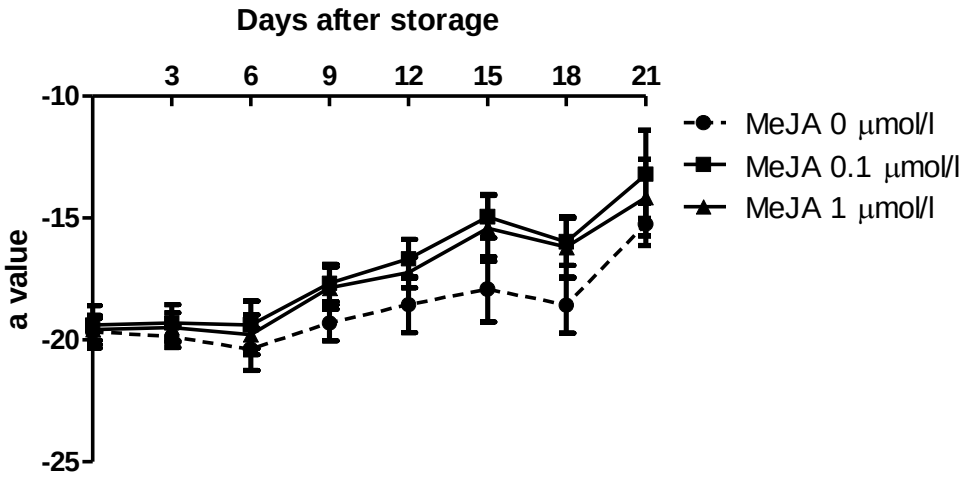
ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างเพิ่มขึ้นตามช่วงอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นมากที่สุดเท่ากับ 69.89 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 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

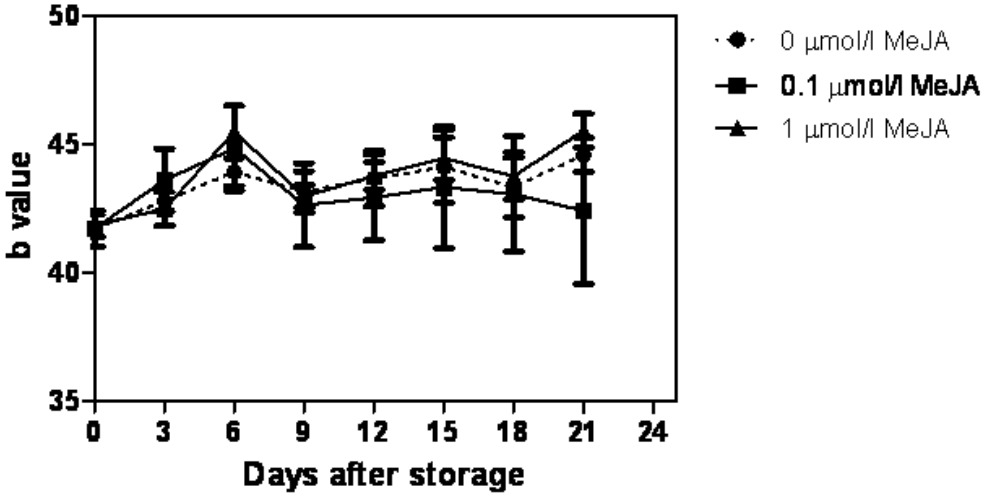
ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า a เพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} โมลาร์ มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นมากที่สุดเท่ากับ -13.23 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 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

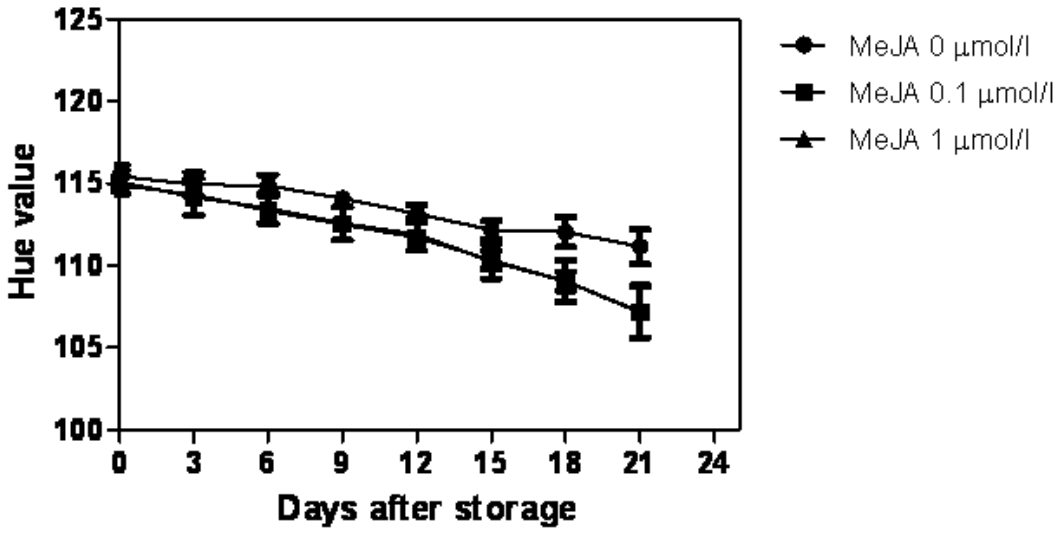
การเปลี่ยนแปลงค่า b หรือสีเหลืองของผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า b เพิ่มขึ้น ลดลงในรูปแบบเดียวกันตลอดอายุการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ มีค่า b มากที่สุดเท่ากับ 45.52 รองลงมาคือ ชุดควบคุม 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

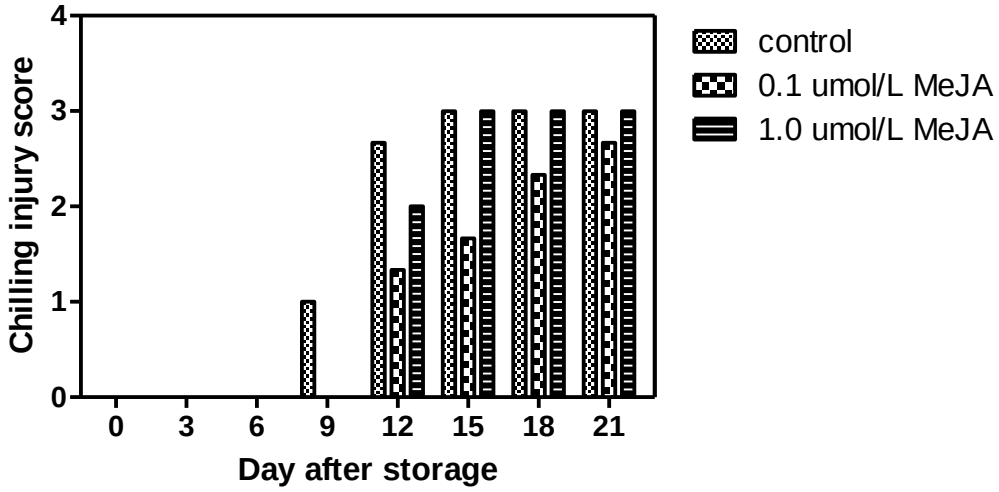
การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle พบว่า ผลพุทราในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ลดลงตลอดช่วงอายุการเก็บรักษา โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา(วันที่ 21)พบว่า ชุดควบคุมมีค่าHue angle มากที่สุดเท่ากับ 111.16 รองลงมาคือ พุทราที่รมด้วยสารเมทิลจัสโมเนทที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2} โมลาร์ และ 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

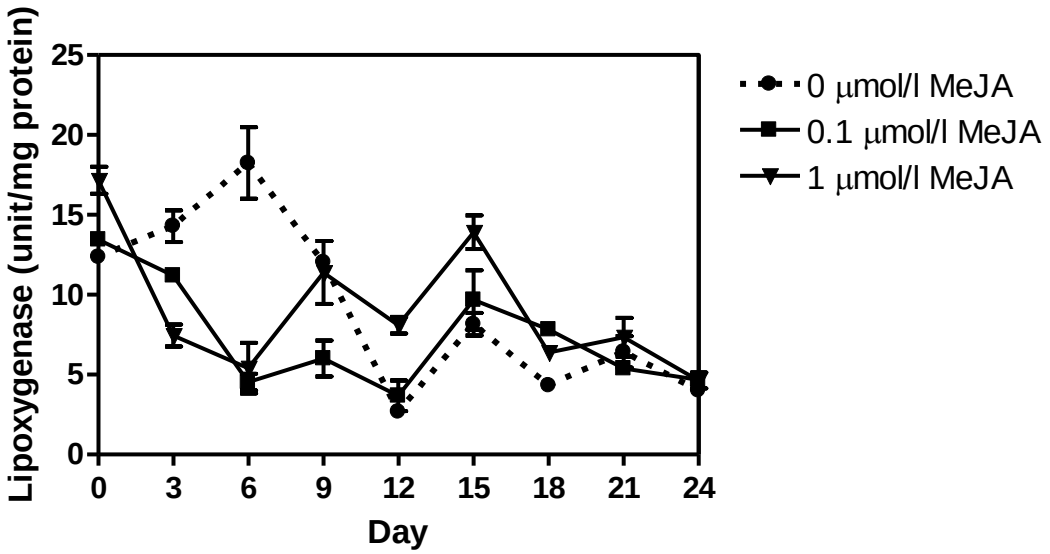
ผลพุทราชุดควบคุมเริ่มเกิดอาการสะท้านหนาว โดยมีจุดสีดำที่ผิว (น้อยกว่าร้อยละ 25 ของพื้นที่ผิว) ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พุทราชุดที่รมด้วยเมทิลจัสโมเนททั้งสองความเข้มข้นเริ่มแสดงอาการสะท้านหนาววันที่ 12 ของการเก็บรักษา โดยชุดที่รมเมทิลจัสโมเนท 1.0 µmol/L มีจุดสีน้ำตาลมากกว่าชุดที่รมด้วย 1.0 µmol/Lพุทราที่ผ่านการรมด้วยเมทิลจัสโมเนท 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)

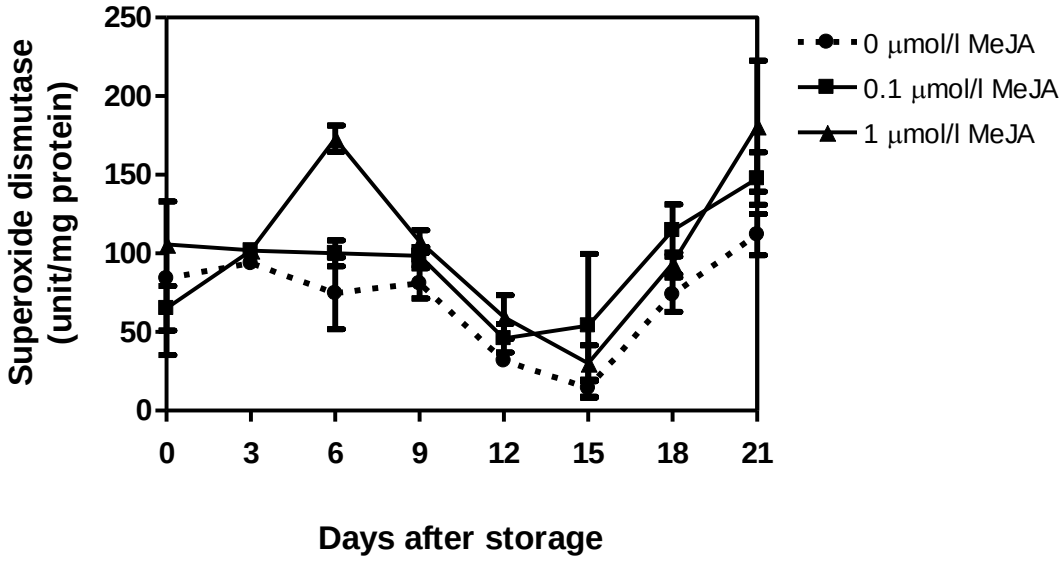
กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ในทุกชุดการทดลองพบว่า ผลพุทราชุดควบคุม ชุดที่รมด้วยMeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมของเอนไซม์ LOX เริ่มต้นเท่ากับ 12.37 13.45 และ 17.16unit/mg protein ตามลำดับ ผลพุทราที่รมด้วย MeJA มีกิจกรรมเอนไซม์ลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างการเก็บรักษา 6 วัน หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น 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)

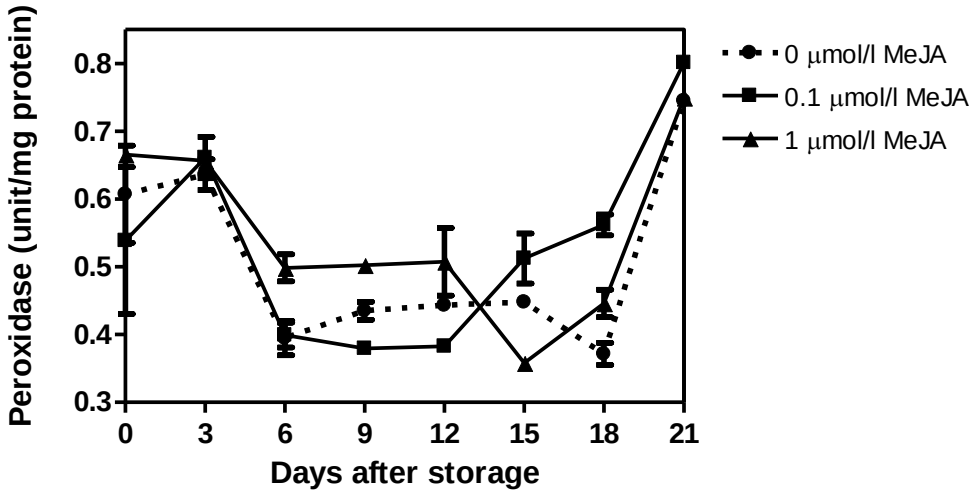
ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรมMeJA 0.1 และ 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เท่ากับ 84.1365.08และ 152.38unit/mg protein ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา ผลพุทราชุดที่ได้รับ MeJA 1.0 μmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ SOD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าสูงที่สุด ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์ SOD 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)

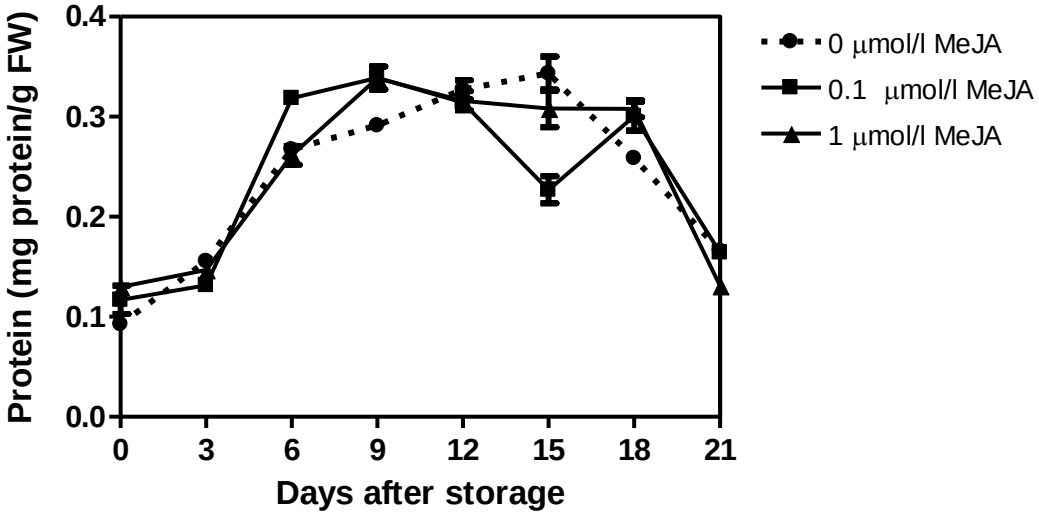
ผลพุทราชุดควบคุม และชุดที่ผ่านการรม MeJA 0.1 และ 1.0 µmol/L มีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ 0.770.540.67 unit/mg protein โดยทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ POD ลดต่ำลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจนวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่กิจกรรมของเอนไซม์ POD มีค่าสูงขึ้นในวันสิ้นสุดการเก็บรักษา ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 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)



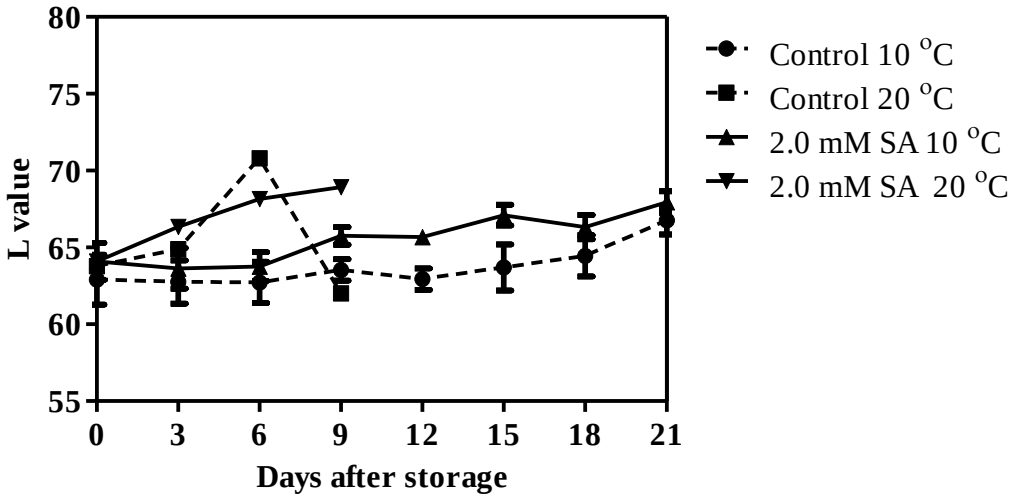
รูปที่ 2.9 ปริมาณโปรตีนของพุทราที่รมด้วยสาร Methyl jasmonate นาน 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส บรรจุตะกร้าแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 เป็นเวลา 21 วัน

4.3 ผลของกรดซาลิคไซลิค(Salicylic acid, SA)ต่ออาการสะท้านหนาวของผลพุทรา

4.3.1 ค่าการเปลี่ยนแปลงสี

ค่า L

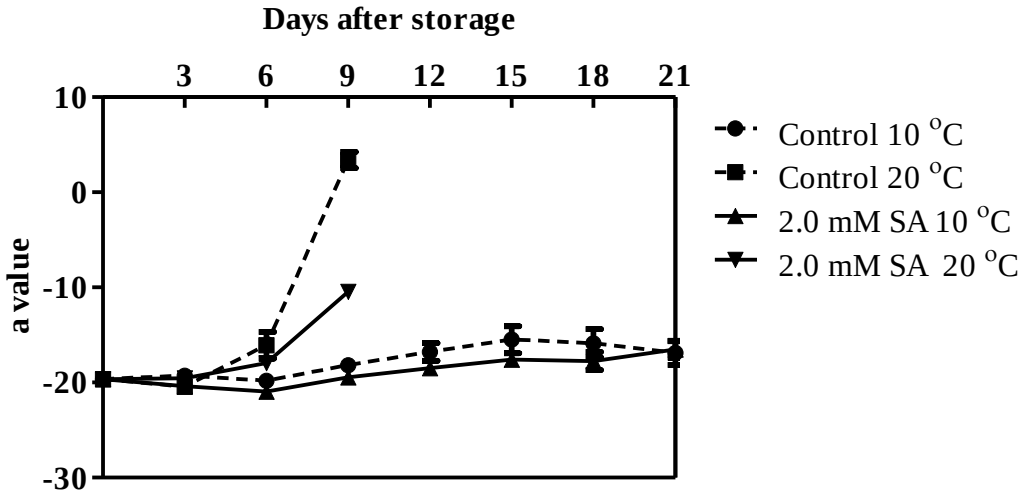
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า L ของสีเปลือก ไม่มีความแตกต่างทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษา ยกเว้นวันที่ 6 9 และ 12 ที่มีการเปลี่ยนแปลงทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยผลพุทราที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้นาน 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

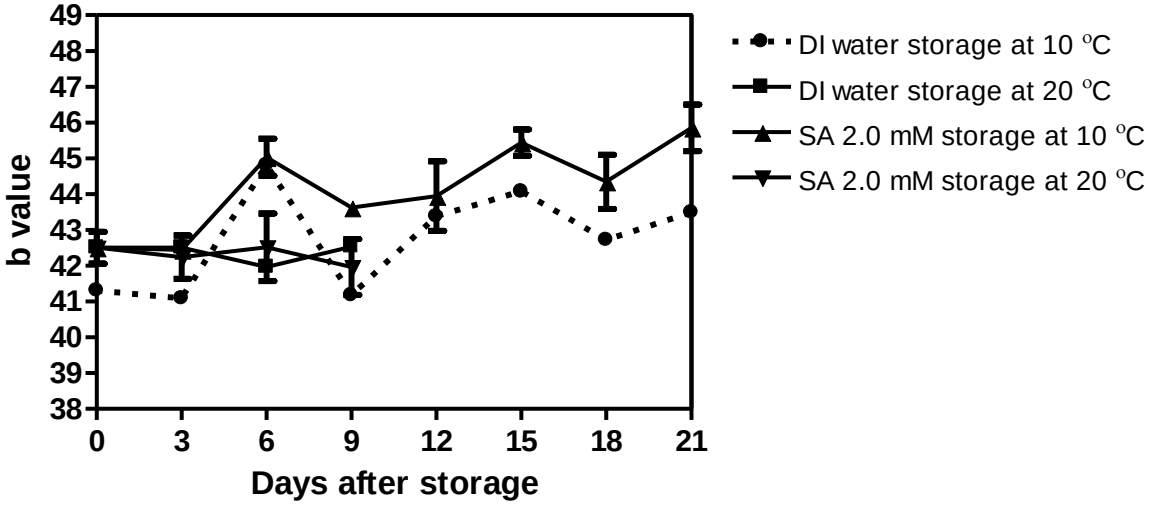
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า a ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติยกเว้นในวันที่ 6 และ 9 ที่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสสามารถเก็บรักษาได้นาน 9 วันโดยที่ค่า a มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตลอดการเก็บรักษาโดยมีค่าอยู่ในช่วง -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)



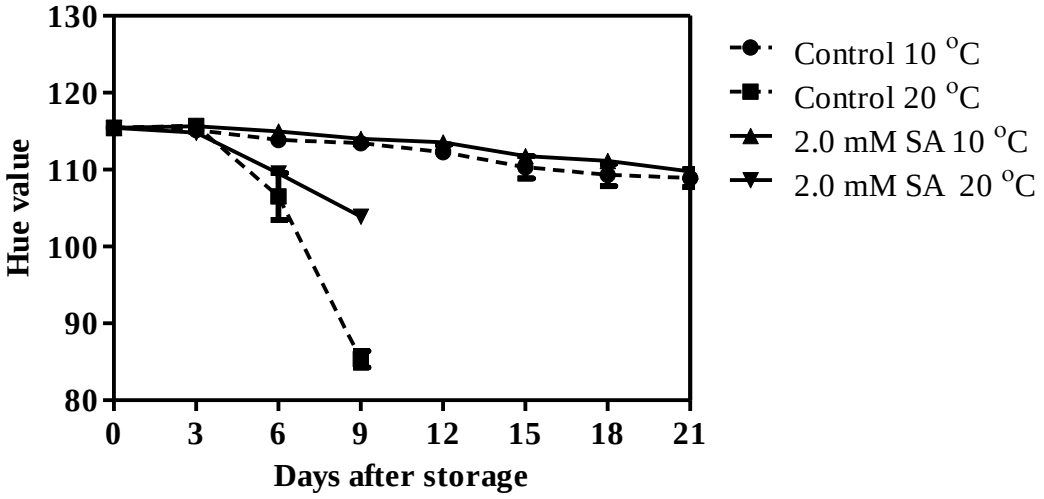
รูปที่ 3.3 การเปลี่ยนแปลงค่า b value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

ค่า Hue angle value

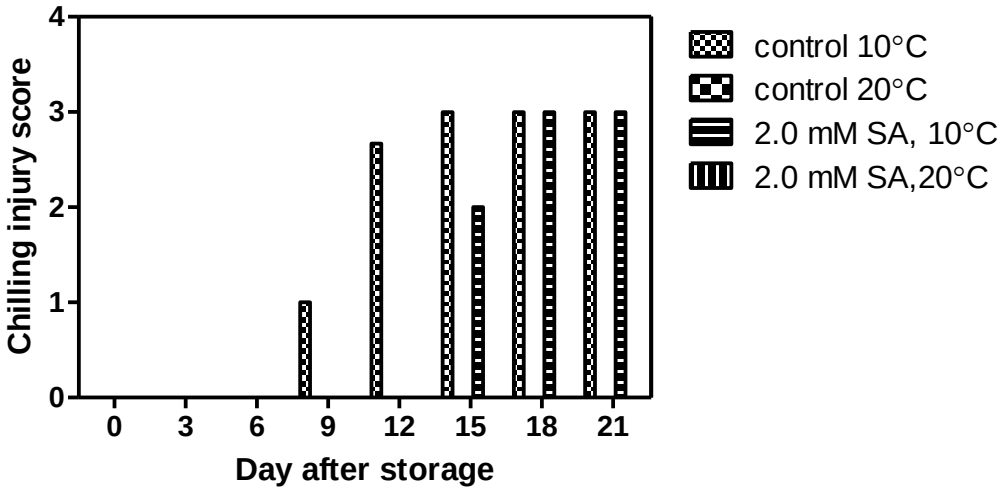
พุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า Hue ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้นในวันที่ 6 และ 9 มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยชุดการทดลองที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสพบว่าค่า Hue มีแนวโน้มลดลงโดยชุดควบคุมลดลงมากที่สุดในวันที่ 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)



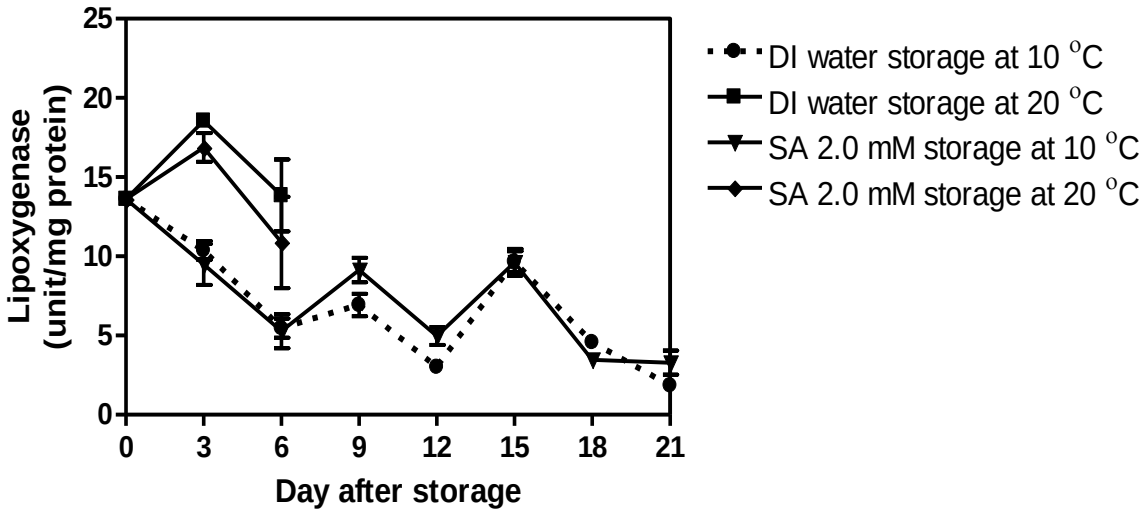
รูปที่ 3.4การเปลี่ยนแปลงค่า Hue value ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส



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

4.3.3กิจกรรมเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (Lipoxygenase, LOX)

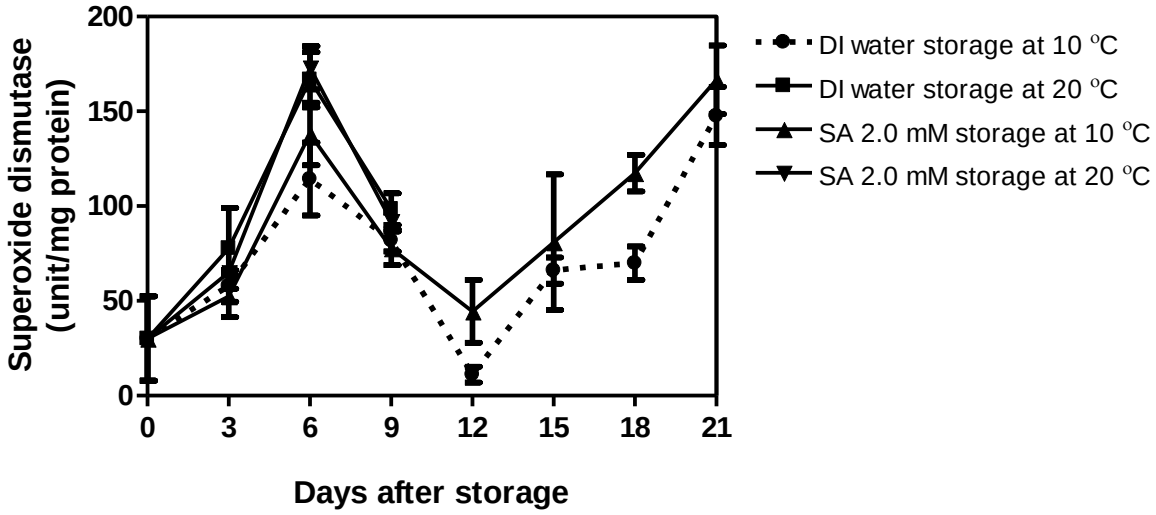
ผลพุทราชุดควบคุม (จุ่มในน้ำกลั่น) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส และพุทราที่จุ่ม SA 2.0 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 และ 20 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ LOX ในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษาเท่ากับ 13.60 unit/ mg protein พุทราที่เก็บรักษาที่ 20 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการจุ่มและไม่จุ่ม SA มีกิจกรรมเอนไซม์ 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)

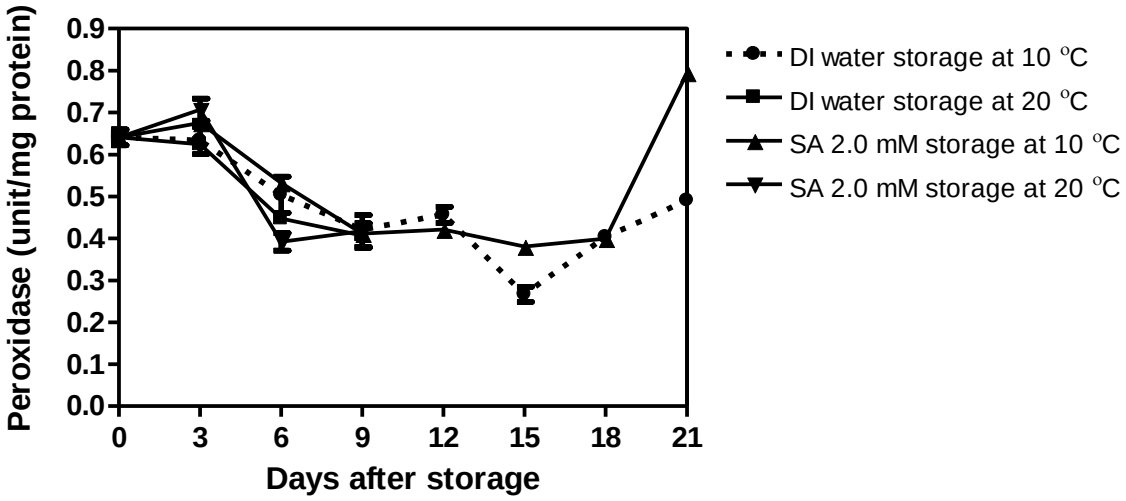


รูปที่ 3.7 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส(Superoxide dismutase, SOD) ของผลพุทราที่ทำการจุ่มด้วยน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) และ Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2 mM เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส และ 20 องศาเซลเซียส

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

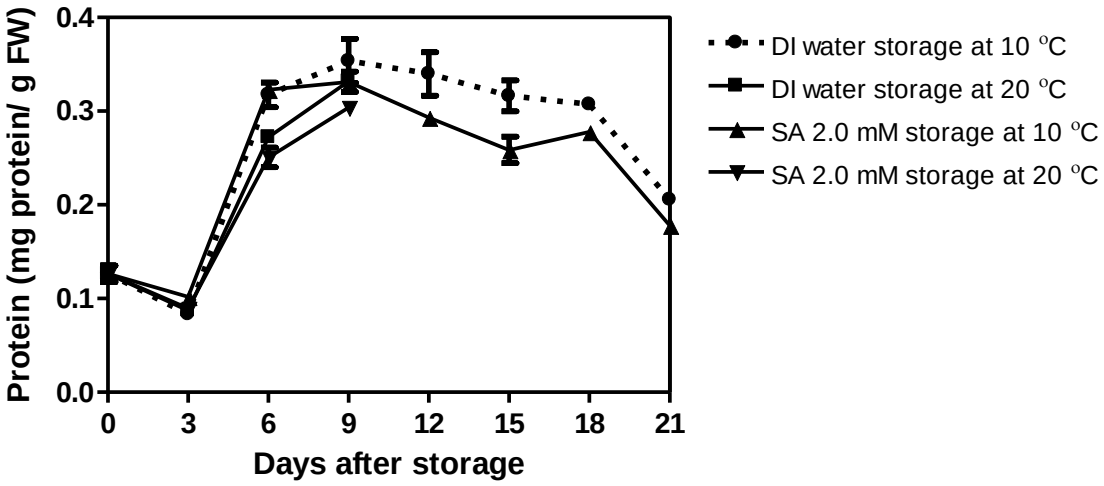
และชุดที่จุ่มด้วย Salicylic acid ที่ความเข้มข้น 2.0 mM มีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase อยู่ในช่วง 0.38-0.79 ซึ่งพบว่ามีปริมาณเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา คือ 0.79(รูปที่ 3.8)



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