การตรวจเอกสาร

1. พริก

พริกมีถิ่นกำเนิดอยู่ในเขตร้อนของทวีปอเมริกา จัดอยู่ในวงศ์ Solanaceae สกุล Capsicum มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x =24 แต่มีบาง species ที่มีจำนวนโครโมโซม 2n = 2x =32 (Wang and Bosland, 2006) พริกจำแนกออกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ *Capsicum annuum* L. ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศเม็กซิโก ส่วน *C. frutescens* L., *C. chinense* Jacquin., *C. baccatum* L., และ *C. pubescens* Ruiz and Pavon. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในอเมริกาใต้ (Greenleaf, 1986)

1.1 ประเภทของพริกที่ปลูกในประเทศไทย

1.1.1 จำแนกตามกลุ่ม พริกที่นิยมปลูกมากมี 2 กลุ่ม (พยนต์ และคณะ, 2526; กรมวิชาการเกษตร, 2550) ได้แก่

ก. *Capsicum annuum* L. เป็นกลุ่มที่มีการปลูกมากที่สุด มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และมีการศึกษาทางพันธุศาสตร์มาก ในด้านตำแหน่งของยีนและลักษณะภายนอก (Wang and Bosland, 2006) เป็นไม้ล้มลุกหรือไม้พุ่ม มีความสูงประมาณ 0.5-1.5 เมตร ดอกมีสีขาว กลีบดอกเชื่อมติดกัน ขอบกลีบเกลี้ยงเป็นรอยหยัก อับละอองเกสรตัวผู้มีสีม่วง ก้านชูเกสรตัวผู้มีสีม่วงและเกสรตัวเมียมีสีเหลืองหรือม่วง ออกดอกตามข้อ ในแต่ละข้อมีดอกเพียงดอกเดียว ก้านดอกสั้น อาจชี้ขึ้นหรือห้อยลง ผลมีขนาดรูปร่างและสีแตกต่างกันไปตามพันธุ์ ขนาดของผลยาวตั้งแต่ 1-30 เซนติเมตร ผลอาจเรียวเล็กจนถึงมีความกว้างผลมากกว่า 10 เซนติเมตร ผลอ่อนมีสีเขียว เหลือง หรือม่วง ผลแก่มีสีแดง ส้ม เหลืองหรือน้ำตาล เมล็ดมีสีเหลืองอ่อน เส้นผ่าศูนย์กลาง 3-5 มิลลิเมตร พริกในกลุ่มนี้มีทั้งที่มีรสเผ็ดและไม่เผ็ด ได้แก่ พริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกหยวก และพริกหวาน

ข. *C. frutescens* L. เป็นพริกที่ปลูกกันอย่างแพร่หลายทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นทั่วโลก ต้นมีความสูงประมาณ 45 เซนติเมตร แต่ในเขตร้อนพริกกลุ่มนี้อาจเป็นไม้ยืนต้นมีอายุหลายปี บางพันธุ์มีความสูง 1.2-1.5 เมตร ดอกมีสีเขียวหรือเขียวอมเหลือง เป็นมันสะท้อนแสง ดอกเรียวยาวกลีบเลี้ยงกุดสั้น ก้านดอกอาจตั้งชี้ขึ้นหรือห้อยลง ออกดอก 2-5 ดอกต่อข้อ ผลมีทั้ง

ทรงกลมและรูปกรวย ปลายผลมีทั้งแหลมและทู่ ผลกว้าง 0.6-3 เซนติเมตร ยาว 1-8 เซนติเมตร มีรสเผ็ดจัด ผลอ่อนมีสีเขียว หรือเหลือง ผลแก่ มีสีแดง เหลืองหรือน้ำตาล เมล็ดมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกิน 2.5-3.0 มิลลิเมตร เช่น พริกขี้หนูสวน และพริกซ่อ

1.1.2 จำแนกออกตามความเผ็ดและ ขนาดของผล โดยการแบ่งตามความเผ็ดแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ประเภทที่มีรสเผ็ด ได้แก่ พริกชี้ฟ้าและ พริกขี้หนู และ ประเภทที่ไม่มีรสเผ็ด ได้แก่ พริกหวาน และ พริกหยวก ส่วนการแบ่งตามขนาดของผล สามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ พริกขนาดใหญ่กับพริกขนาดเล็ก (ธนวัฒน์, 2549; สุชีลา, 2549)

ก. พริกขนาดใหญ่ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม

1. พริกชี้ฟ้า พริกในกลุ่มนี้ได้แก่ พริกมัน พริกหนุ่ม และพริกเหลือง ผลมีลักษณะยาว 5-20 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผล 1-2 เซนติเมตร ผลอ่อนผิวเป็นมัน สีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีแดงสด หรือสีเหลือง สีส้ม แล้วแต่พันธุ์ รสชาติค่อนข้างเผ็ด

2. พริกหยวก ผลมีขนาดความยาว 4-20 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผล 1-4 เซนติเมตร ผลรูปทรงกรวย ปลายผลแหลมตรง ผิวมันและเรียบ เนื้อหนา ผลอ่อน มีสีเขียวอมเหลือง ผลแก่มีสีเหลืองอ่อน เหลือง เขียวอ่อน ผลสุกแก่สีแดง หรือส้ม รสชาติเผ็ดน้อย มีกลิ่นฉุน

3. พริกหวาน เป็นพริกที่มีขนาดผลยาว 5-20 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผล 5-12 เซนติเมตร รูปร่างผลทรงกระบอก ผิวมัน ผลแก่มีสีเขียว ผลสุกมีทั้งสีเหลือง ส้ม แดง น้ำตาล และม่วง เนื้อหนา รสชาติไม่เผ็ด

ข. พริกขนาดเล็ก แบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ

1. พริกขี้หนูผลใหญ่ ผลมีขนาดปานกลาง ความยาวผล ตั้งแต่ 3-12 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางผล 0.3-1.0 เซนติเมตร ผลเรียวปลายแหลม ผลอ่อนมีสีเขียว ผลแก่มีสีเขียวเข้ม ผลสุกแก่สีแดงสด รสชาติเผ็ด

2. พริกขี้หนูผลเล็ก เป็นพริกที่มีผลขนาดเล็ก ความยาวผลน้อยกว่า 3 เซนติเมตร ผลมีสีเขียวอ่อนจนถึงสีเขียวเข้ม ผลสุกแก่สีแดงสด รสชาติเผ็ด

พริกเป็นพืชเขตร้อน โดยอุณหภูมิกลางวันและกลางคืนที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโต คือ 20-25 องศาเซลเซียส และ 18-20 องศาเซลเซียส ตามลำดับ อุณหภูมิต่ำจะมีผลต่อการพัฒนากลิ่น สี ของผล อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส จะยับยั้งการผสมเกสรและส่งเสริมการพัฒนาผลเทียม (parthenocarpic fruit) (Wien, 1997)

พริกเป็นพืชหลายฤดู แต่มักปลูกแบบพืชฤดูเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องจากต้นจะทรุดโทรม และมีปัญหาเนื่องจากโรคและแมลง พริกโดยทั่วไปแล้วจัดอยู่ในกลุ่มพืชผสมตัวเอง แต่พบว่ามีพริกพันธุ์ป่าหลายพันธุ์ ที่มีลักษณะปลายยอดเกสรตัวเมียยื่นโผล่พ้นเหนือปลายยอดเกสรตัวผู้ เป็นผลให้มีการผสมข้ามดอกเกิดขึ้นค่อนข้างสูงถึง 12 - 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากพริกพันธุ์ปลูก ซึ่งปลายยอดเกสรตัวเมียจะอยู่ในระดับใกล้เคียงกับปลายยอดเกสรตัวผู้จึงทำให้มีอัตราการผสมข้ามที่ต่ำกว่าพริกพันธุ์ป่ามาก เนื่องจากการที่พริกมีอัตราการผสมข้ามที่สูง จึงมีการเสนอให้พริกอยู่ในกลุ่ม พืชกึ่งผสมข้าม (facultative cross pollinating species) (Tanksley, 1984) แต่ในการปรับปรุงพันธุ์พริกยังนิยมใช้หลักการและวิธีการเดียวกับพืชผสมตัวเองทั่วไป (สุชีลา, 2549)

1.2 การเก็บเกี่ยวพริก

การเก็บเกี่ยวพริกจะทยอยเป็นรุ่นๆ เนื่องจากภายในต้นมีการออกดอกและติดผลหลายรุ่นด้วยกัน และผลแก่จะไปลดการเจริญเติบโตของผลอ่อน แต่ถ้ามีการบำรุงต้นให้แข็งแรงและให้ธาตุอาหารอย่างเพียงพอก็จะสามารถลดปัญหานี้ได้ (Ali and Kelly, 1992) การพิจารณาความแก่ของผลพริกทำได้ยาก แต่โดยทั่วไปมักประเมินด้วยสายตาจากขนาดผล และสีผล เป็นดัชนีการเก็บเกี่ยวโดยผลแก่ผิวผลจะแข็งแรง มีความมันวาวมากกว่าผลอ่อน (Rubatzky and Yamaguchi, 1997) วิธีการเก็บเกี่ยวนิยมใช้มือเนื่องจากทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลและต้นน้อยกว่าการใช้เครื่องจักรในพริกหวาน (Bosland and Votava, 1999) สำหรับพริกในประเทศไทยคาดว่าเนื่องจากผลผลิตมีหลายรุ่นต้องทยอยเก็บและค่าแรงงานถูกจึงต้องเก็บเกี่ยวด้วยมือ ในพริกหวานสามารถใช้เอทิฟอนเร่งการเปลี่ยนสีผลได้ แต่พบว่าจะทำให้ผลนิ่มเร็วและทำให้ต้นโทรม จึงนิยมใช้เอทิฟอนในการเก็บเกี่ยวเพื่อทำพริกแห้งของพริก chile และ paprika (Rubatzky and Yamaguchi, 1997)

ผลพริกหลังจากเก็บเกี่ยวแล้วมักไม่มีการผลิตคาร์บอนไดออกไซด์และเอทิลีนเพิ่มขึ้นเมื่อผลสุก จึงจัดเป็นผลแบบ non-climacteric fruit (Saltveit, 1977) โดยพบว่าอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นหลังจากติดผลแล้วหลังจากนั้นลดลง ส่วนการผลิตเอทิลีนและปริมาณ

1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) มีปริมาณต่ำตลอดการพัฒนาของผลจนกระทั่งผลแก่ ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ ACC oxidase ค่อยๆลดลงตามระยะการพัฒนาของผล (Pretel *et al*.,1995) แต่มีงานทดลองที่พบว่ามีพริกบางพันธุ์เป็นผลแบบ climacteric โดยผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อผลสุก เช่น พันธุ์ Chooraehong (Gross *et al*., 1986) และ Domino (Tadesse *et al*., 2002) ในการศึกษาอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีนขณะผลสุกหลังจากเก็บเกี่ยวเปรียบเทียบกับขณะที่มีพัฒนาการสุกบนต้น พบว่ามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์โดยบางพันธุ์มีรูปแบบการหายใจและการผลิตเอทิลีนที่เหมือนกันทั้งอยู่บนต้นและหลังเก็บเกี่ยว เช่น C. *annuum* var. annuum TF 68 เป็น non-climacteric ทั้งอยู่บนต้นและหลังเก็บเกี่ยว ส่วน C. *annuum* var. annuum HN 11 เป็น non-climacteric เมื่ออยู่บนต้น และเป็น climacteric หลังเก็บเกี่ยว (Park, 2004) นอกจากนั้นยังพบว่าพริกหลายพันธุ์สามารถกระตุ้นให้เปลี่ยนสีอย่างรวดเร็วด้วยเอทิฟอนเมื่อการพัฒนาสีเริ่มแล้ว (Cantliffe and Goodwin, 1975; Worku *et al*., 1975)

2. การสะท้านหนาว

การสะท้านหนาว (chilling injury, low temperature injury, cold injury) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาเมื่อพืชสัมผัสกับอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิวิกฤตแต่สูงกว่าจุดเยือกแข็ง โดยทั่วไปมักเกิดขึ้นกับพืชที่มีถิ่นกำเนิดในเขตร้อนและกึ่งร้อน อาการสะท้านหนาวสามารถเกิดได้ตั้งแต่ในแปลงปลูก ระหว่างการขนส่ง การเก็บรักษา ร้านขาย หรือแม้แต่เก็บในตู้เย็นที่บ้าน (Morris, 1982)

อุณหภูมิวิกฤต (threshold temperature) เป็นอุณหภูมิต่ำสุดที่เมื่อเก็บรักษาพืชนั้นแล้วจะไม่เกิดอาการสะท้านหนาว ซึ่งอุณหภูมิวิกฤตนี้จะมาใช้เป็นพื้นฐานเพื่อบอกถึงอุณหภูมิที่เหมาะสม หรืออุณหภูมิที่แนะนำในการเก็บรักษาพืชที่ไว (sensitive) ต่ออุณหภูมิต่ำ การเก็บรักษาพืชในอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิวิกฤตเป็นระยะเวลานาน ทำให้อาการสะท้านหนาวปรากฏขึ้น นอกจากนั้นอุณหภูมิวิกฤตของพืชแต่ละชนิดยังแตกต่างไปขึ้นอยู่กับพันธ์และวัย โดยทั่วไปแล้วผลิตผลที่อายุน้อยจะไวต่ออุณหภูมิต่ำ มากกว่าผลผลิตอายุมาก (Paull, 1990)

2.1 อาการสะท้านหนาว

อาการสะท้านหนาวแสดงออกมาของพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช เนื้อเยื่อของพืช อายุ อุณหภูมิ ระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ (Lyons and Breidenbach, 1987) อาการสะท้าน

หนาวจะแสดงออกชัดเจนขึ้น หลังจากย้ายผลิตผลมาที่อุณหภูมิห้อง (Whitaker, 1995) การประเมินความรุนแรงของความเสียหายเนื่องจากอุณหภูมิต่ำหรือการประเมินอาการสะท้านหนาว มักประเมินโดยใช้สายตาแล้วนำมาคำนวณค่าดัชนีอาการสะท้านหนาว (chilling injury index)

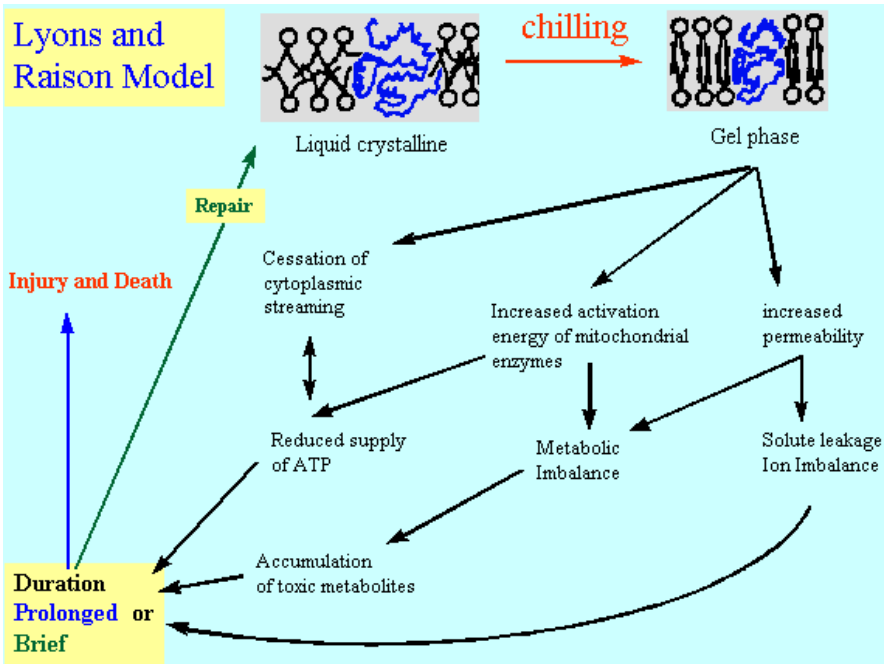
Morris (1982) ได้สรุปอาการสะท้านหนาวในพืชทั่วไป ดังนี้

1. มีการเปลี่ยนแปลงที่ผิวผล โดยผิวมีรอยบุ๋ม และยุบตัวเป็นพื้นที่กว้าง และเปลี่ยนสี
2. อาการฉ่ำน้ำของเนื้อเยื่อ เกิดจากสลายตัวของโครงสร้างเซลล์ ทำให้สารบางอย่างเคลื่อนที่ออกจากเซลล์ ส่งผลให้เกิดความเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการเน่าเสียต่อมา อาการนี้สามารถเกิดที่ใบ ผลและดอก ทำให้เกิดการสูญเสียน้ำ
3. การเกิดสีน้ำตาลภายในผล ท่อลำเลียง และเมล็ด
4. การเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อ
5. การสุกที่ผิดปกติ
6. เร่งการเสื่อมสภาพ ขณะที่ภายนอกไม่มีการเปลี่ยนแปลงปรากฏให้เห็น
7. อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์
8. มีอายุการเก็บรักษาและการวางขายสั้นลง
9. องค์ประกอบเคมีเปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะกลิ่นและรสชาติ
10. ชะงักการเจริญเฉพาะส่วนยอดของพืช

2.2 ทฤษฎีการเกิดอาการสะท้านหนาว

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงสถานะทางกายภาพของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อได้สัมผัสกับอุณหภูมิต่ำ ทฤษฎีนี้มีแนวคิดมาจากโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ที่เสนอโดย Singer and Nicolson (1972) ที่เรียกว่า fluid mosaic model โดยเยื่อหุ้มเซลล์ประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันหรือลิพิดเรียงตัวเป็น 2 ชั้น หันด้านปลายที่ไม่ดูดน้ำเข้าด้านใน และปลายด้านที่ชอบน้ำออกด้านนอก โมเลกุลของโปรตีนจะฝังแทรกอยู่ในชั้นของไขมัน กรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลสั้นและเป็นกรดชนิดไม่อิ่มตัวเป็นปัจจัยที่ช่วยให้เยื่อหุ้มมีสมบัติของการเป็นของเหลวดีขึ้นและทำให้เซลล์ไม่แข็งตัวในอุณหภูมิต่ำ (Alberts *et al*., 1994) แนวคิดนี้เสนอโดย Lyons (1973) ว่าเมื่ออุณหภูมิลดต่ำลง ทำให้ไขมันที่เยื่อหุ้มเปลี่ยนสถานะจากผลึกของเหลวที่ยืดหยุ่นได้ (liquid crystalline) เป็นสารที่มีลักษณะคล้ายเจลที่แข็งตัว การเป็นของแข็งของไขมันที่เยื่อหุ้มทำให้เกิดการแตกแยก หรือช่องผ่านเข้าออกของสารต่างๆ ที่เยื่อหุ้ม (cracks or channels) ส่งผลให้ความสามารถในการเป็น

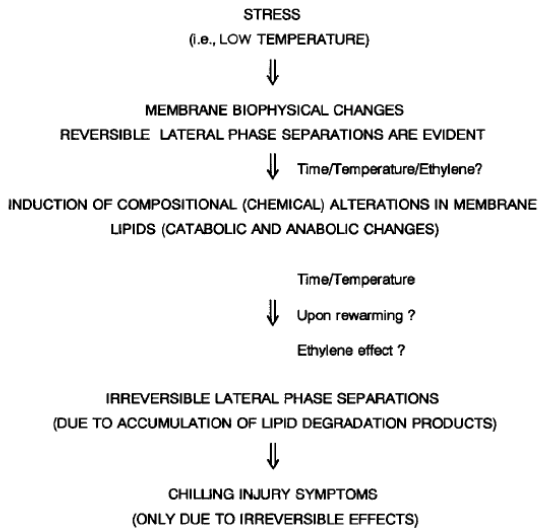
เยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลง เกิดความไม่สมดุลของอิออนในเซลล์หรือมีการรั่วออกของอิออน รายละเอียดแสดงภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงการเปลี่ยนแปลงที่ทำให้เกิดอาการสะท้านหนาวในเนื้อเยื่อพืช
ที่มา: Lyons (1973)

การเปลี่ยนแปลงสถานะของไขมันเนื่องจากอุณหภูมิต่ำนี้สามารถเปลี่ยนกลับคืน ถ้าได้รับอุณหภูมิต่ำในระยะเวลาสั้น ๆ แล้วนำกลับมาสู่อุณหภูมิปกติ และอัตราการหายใจที่สูงก็ลดลงเป็นปกติ แต่ถ้ายังคงได้รับอุณหภูมิต่ำระยะเวลานาน เยื่อหุ้มไม่สามารถกลับสู่สภาพเดิมได้ อัตราการหายใจก็คงอยู่ในระดับที่สูง แสดงว่าขบวนการเมทาบอลิซึมถูกรบกวน Lyons (1973) เสนอว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเยื่อหุ้มของเนื้อเยื่อที่ต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำนั้นจะสูงกว่าในเนื้อเยื่อที่อ่อนแอต่ออุณหภูมิต่ำ แต่มีหลายรายงานที่พบว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวไม่สัมพันธ์การเปลี่ยนสถานะของเยื่อหุ้มและความไวต่อการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำ เนื่องจากการเปลี่ยนสถานะของเยื่อหุ้มไม่ได้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของกรดไขมันเพียงอย่างเดียว แต่ยังอาจขึ้นอยู่กับ สเตรอยด์ คลอเรสเตอรอล และ lipid-protein complex (Wang, 1982) Nishida and Murata (1996) รายงานว่าระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีความสัมพันธ์กับความไวต่อการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำในพืช แต่ไขมันที่เยื่อหุ้มไม่ได้เป็นปัจจัยเดียวที่ควบคุมความไวต่อการตอบสนองต่ออุณหภูมิต่ำในพืช สถานะในการเป็นของเหลวของเยื่อหุ้มนอกจากจะขึ้นอยู่กับ

อุณหภูมิแล้ว ยังขึ้นอยู่กับความยาวของโมเลกุลกรดไขมัน จุดหลอมเหลวของกรดไขมันแปรผันตรงกับความยาวของสายไฮโดรคาร์บอนและความไม่อิ่มตัว กรดไขมันที่มีขนาดใหญ่มีจุดหลอมเหลวสูงกว่ากรดไขมันที่มีขนาดเล็ก และในกรดไขมันที่มีขนาดเท่ากันกรดไขมันไม่อิ่มตัวมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่ากรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันอิ่มตัวที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ มีจุดหลอมเหลวสูงกว่าพวกที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคี่ ในพวกกรดไขมันที่มีจำนวนคาร์บอนอะตอมเป็นเลขคู่ การมีพันธะแบบ cis จะให้ความสามารถในการเป็นของไหลมีมากขึ้น (ธีรวรรธน์, 2543) การเปรียบเทียบระหว่างพืชที่ไวกับพืชที่ไม่ไวต่ออาการสะท้านหนาว พบว่าพืชที่ไม่ไวต่ออาการสะท้านหนาวมีไขมันไม่อิ่มตัวในสัดส่วนที่มากกว่าพืชที่ไวต่อการสะท้านหนาว (จริงแท้, 2549) นอกจากนั้นสภาพอุณหภูมิต่ำกระตุ้นให้มีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงกรดไขมันอิ่มตัว (gene for fatty acid desaturases) ทำให้มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สถานะการเป็นของเหลวของเยื่อหุ้มคงเดิม เยื่อหุ้มสามารถควบคุมการเคลื่อนย้ายอิออนเข้าออกเซลล์ และควบคุมกิจกรรมของเอนไซม์ที่เยื่อหุ้มได้ (Murata and Los, 1997) Marangoni *et al.* (1996) ได้เสนอแผนผังแสดงเหตุการณ์ที่อาจเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อเมื่อสัมผัสกับอุณหภูมิต่ำ ทำให้เกิดอาการสะท้านหนาวดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนผังแสดงลำดับการเปลี่ยนแปลงที่เยื่อหุ้มเซลล์จนกระทั่งทำให้เกิดอาการสะท้านหนาว

ที่มา: Marangoni *et al*. (1996)

โดยสรุปการสะท้านหนาวขึ้นอยู่กับการเป็นของเหลวของเยื่อหุ้ม สัดส่วนของกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และ การเกิด lipid peroxidation ซึ่งมีผลต่อการเป็นของเหลวของเยื่อหุ้มเซลล์

2.2.2 การผลิตอนุมูลอิสระมากเกินไป

อนุมูลอิสระ (free radical) คือโมเลกุล หรืออิออนที่มีอิเลคตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมาก จึงเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวในการทำปฏิกริยาเคมี เนื่องจากต้องการจับคู่กับอิเลคตรอนอื่นเพื่อเข้าสู่สถานะเสถียร อิเลคตรอนที่อยู่นอกสุดนี้มีพลังงานสูงที่จะทำลายโมเลกุล หรือเคลื่อนที่ไปยังโมเลกุลเสถียรที่อยู่ใกล้เคียง ทำให้โมเลกุลเสถียรนั้นเกิดอนุมูลอิสระได้ และโมเลกุลที่ให้อิเลคตรอนเกิดความเสถียรได้ ในกรณีที่เกิด lipid peroxidation เป็นปฏิกริยาลูกโซ่เกิดทั้งการทำลายและการส่งผ่านอนุมูลอิสระ สารโมเลกุลใหญ่ในเซลล์ที่อ่อนแอและเกิดอนุมูลอิสระได้ง่าย ได้แก่ ไขมัน โปรตีน และ กรดนิวคลีอิค อนุมูลอิสระที่มีความสามารถสูงในการทำลายองค์ประกอบต่างๆของเยื่อหุ้มได้มักมาจากอะตอมของออกซิเจน หรือที่เรียกว่า active oxygen species (AOS) หรือ reactive oxygen species (ROS) ซึ่งอนุมูลอิสระที่สำคัญได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์($O_2^{\cdot}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และอนุมูลไฮดรอกซิล (HO •) (Hodges, 2003)

ก. แหล่งสร้างอนุมูลอิสระในเซลล์ เนื้อเยื่อพืชสามารถสร้างอนุมูลอิสระได้จาก 3 แหล่ง (Tivonen, 2004) ดังนี้

1. apoplastic region เป็นบริเวณช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มและผนังเซลล์ ส่วนประกอบของบริเวณนี้ได้แก่ ผนังเซลล์ apoplastic space และ บริเวณด้านนอกของเยื่อหุ้ม อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในส่วนนี้ เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ NADPH oxidase และ wall bound peroxidase (Vreeburg and Fry, 2005)

2. ไซโตพลาสซึม

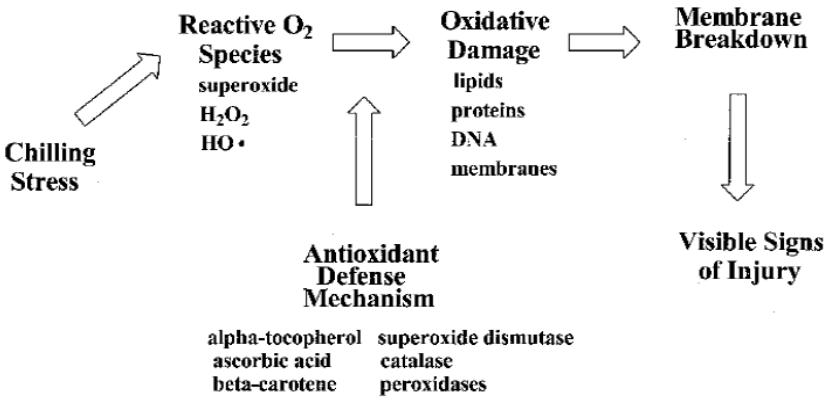
3. ออร์แกเนลล์ในเซลล์ ในสภาวะปกติอนุมูลอิสระเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ ดังนั้นออร์แกเนลล์ซึ่งมีกิจกรรมของเมตาบอลิสซึมที่เกี่ยวกับการถ่ายเทอิเลคตรอนมาก เช่น คลอโรพลาสต์ ไมโตคอนเดรีย และไมโครบอดี ออร์แกเนลล์เหล่านี้เป็นแหล่งผลิตอนุมูลอิสระในเซลล์ (Mittler *et al*., 2004) นอกจากนั้นอนุมูลอิสระยังเกิดขึ้นในเพอร์ออกซิโซมในกระบวนการ photorespiration (Mittler, 2002)

ข. ลำดับการเกิดอนุมูลอิสระ ในกระบวนการถ่ายทอดอิเล็คตรอน ถ้ามีการรับอิเล็คตรอนในปฏิกริยารีดักชันของออกซิเจนไปเป็นน้ำ จะเกิดอนุมูล superoxide radical หรือ superoxide anion ($O_2^{\cdot -}$) เมื่อ $O_2^{\cdot -}$ รับ H^+ จะได้อนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HO_2^{\cdot}$) ซึ่งทำปฏิกริยากับ $HO_2^{\cdot}$ อีกหนึ่งอนุมูลเกิดเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งสามารถเกิด dismutation โดยมี Fe^{3+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเกิดเป็น hydroxyl radical ($HO^{\cdot}$) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีปฏิกิริยาที่ว่องไวสูงมาก (Desikan *et al*., 2005) ดังภาพที่ 3

$$O_2 \xrightarrow{\bar{e}} \underset{\text{(superoxide)}}{O_2^{\cdot -}} \xrightarrow[2H^+]{\bar{e}} \underset{\text{(hydrogen peroxide)}}{H_2O_2} \xrightarrow{\bar{e}} \underset{\text{(hydroxyl radical)}}{HO^{\cdot}}$$

ภาพที่ 3 ลำดับการเกิดอนุมูลอิสระ
ที่มา : ดัดแปลงจาก Desikan *et a*l. (2005)

ในสภาพปกติการผลิตอนุมูลอิสระภายในเซลล์เกิดขึ้นในระดับต่ำ แต่สภาวะเครียดจากภายนอกจะรบกวนสมดุลย์ภายในเซลล์ พร้อมทั้งกระตุ้นให้สร้างอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น (Mittler, 2002) สภาพที่มีความเครียดเกิดขึ้น ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น การขาดน้ำ การลดลงของอุณหภูมิ หรือเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคจะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ plasma-membrane-bound NADPH oxidases, amine oxidases และ cell-wall bound peroxidases (Feierabend, 2005) ทำให้สร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น อนุมูลอิสระที่เพิ่มมากขึ้นภายในเซลล์พืชไปออกซิไดซ์โมเลกุลต่างๆภายในเซลล์ รวมทั้งไขมันบนเยื่อหุ้มต่างๆ จนส่งผลให้กระบวนการทางสรีรวิทยาผิดปกติไป (Shewfelt and del Rosario, 2000) ดังภาพที่ 4 มีการทดลองที่พิสูจน์ถึงการสร้างอนุมูลอิสระจาก oxidative stress ใน cell culture ของ Arabidopsis ทำให้เกิด oxidative stress โดยได้รับ H_2O_2 เป็นระยะเวลาสั้นๆ หรือได้รับต่อเนื่องเป็นเวลานาน พบว่าทำให้การขนถ่ายอิเล็คตรอนผิดปกติ มีการสร้าง ATP ลดลง แต่สร้าง H_2O_2 เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เซลล์ตาย (Tiwari *et al*., 2002)



ภาพที่ 4 แนวความคิดที่อธิบายบทบาทของ lipid peroxidationในอาการสะท้านหนาวทำให้เกิดความเสียหายที่เยื่อหุ้มเซลล์

ที่มา: Shewfelt and del Rosario (2000)

ง. การกำจัดอนุมูลอิสระ ในธรรมชาติเซลล์พืชจะมีระบบควบคุมไม่ให้อนุมูลอิสระมีมากจนทำให้เกิดความเสียหาย กลไกการควบคุมโดยเอนไซม์ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase: SOD) , เพอร์ออกซิเดส (peroxidase: POD) , คะตะเลส (catalase: CAT) (Toivonen, 2004) โดยเอนไซม์ SOD เปลี่ยนซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anions) ไปเป็น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) สามารถพบเอนไซม์นี้ในไซโตซอล (cytosol) คลอโรพลาสต์ ไมโตคอนเดรีย และ apoplast (Mittler, 2002) ส่วนเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่กำจัด H_2O_2 คือ CAT และ POD โดยเปลี่ยน 2 H_2O_2 ให้เป็น 2 H_2O และ O_2 (ภาพที่ 5) เอนไซม์ทั้งสองชนิดนี้ทำหน้าที่กำจัด H_2O_2 เหมือนกัน แต่ปฏิกิริยาเกิดแตกต่างกัน และตำแหน่งที่เกิดปฏิกิริยาในเซลล์แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ CAT จะพบใน เพอร์ออกซิโซม (peroxisome) ส่วน POD จะพบใน คลอโรพลาสต์ และไซโตซอล (Mach and Greenberg, 2004) นอกจาก CAT จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระแล้วยังคาดว่า CAT ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณของการป้องกันตัวในพืชด้วย (Breusegem *et al*., 2001)

$$O_2^{\cdot} \xrightarrow{\text{SOD}} H_2O_2 \xrightarrow[\text{POD}]{\text{CAT}} H_2O + O_2$$

ภาพที่ 5 การควบคุมอนุมูลอิสระโดยเอนไซม์ SOD CAT และ POD

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mach and Greenberg (2004)

นอกจากนั้นยังมีสารที่ไม่ใช่เอนไซม์แล้วทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระด้วย เช่น กลูตาไธโอน (glutathione) แล้วยังพบสารที่ทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระ (antioxidant) ได้แก่ อัลฟาโทโคฟีรอล (α-tocopherol) หรือวิตามินอี , เบต้าแคโรทีน (β-carotene) (Shewfelt and del Rosario, 2000) ดังภาพที่ 4 ปริมาณเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) มักเพิ่มสูงขึ้น เมื่ออยู่ในสภาพ abiotic stress ดังนั้นจึงคาดว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป ในส้มแมนดารินพบว่าเอนไซม์ที่ต้านอนุมูลอิสระในพันธุ์ที่ต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำนั้นมีประสิทธิภาพมากกว่าพันธุ์อ่อนแอ (Sala, 1998) งานทดลองดัดแปลงพืชให้มี กิจกรรมของ SOD เพิ่มขึ้นในเซลล์ พบว่าสามารถป้องกันเซลล์จาก oxidative stress ได้ (Allen *et al*., 1997) ต้นยาสูบที่ดัดแปลงให้มีการแสดงออกของ Cu/Zn SOD มากในคลอโรพลาสต์ จะสามารถทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ แต่ต้นที่ได้มีลักษณะใบด่าง (chimera) (Gupta *et al*., 1993) Zambounis *et al*. (2002) ได้ดัดแปลงให้ต้นพริกมีการแสดงออกของยีน Cu/Zn SOD เพิ่มขึ้น พบว่าสามารถทนต่อ oxidative damage ได้ ต้นมะเขือเทศดัดแปลงพันธุ์ที่มี antisense catalase gene ทำให้มีกิจกรรมของ CAT ลดลง 2- 8 เท่า พบว่ามีปริมาณ H_2O_2 ในต้นเพิ่มขึ้น ทำให้ต้นอ่อนแอต่ออุณหภูมิต่ำเมื่อเทียบกับต้นปกติ ขณะที่ต้นมะเขือเทศที่ได้รับการถ่าย ยีน *katE* ทำให้มีกิจกรรมของ CAT เพิ่มขึ้น 3 เท่า พบว่าต้นมีความทนต่อสภาพแห้งแล้งและอุณหภูมิต่ำ (Mohamed *et al*., 2003) แต่อ้อมอรุณ (2547) พบว่าเอนไซม์ SOD และ CAT ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรด และ สุทิน (2548) ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และตัวต้านออกซิเดชัน ในผลมะม่วงที่เกิดอาการสะท้านหนาว

ทั้งสองทฤษฎีของอาการสะท้านหนาวเป็นเหตุการณ์ที่คาดว่าเป็นเหตุการณ์แรก (primary injury) ซึ่งเป็นการตอบสนองของพืชที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความเสียหายที่เยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลให้เกิดเหตุการณ์ที่สอง (secondary injury) แต่ถ้าพืชได้รับอุณหภูมิไม่ต่ำมากหรือ ระยะเวลาที่ได้รับไม่นานเกินไป แล้วกลับมาอยู่ที่อุณหภูมิปกติ (non-chilling conditions) พืชสามารถกลับสู่สภาพปกติได้ (Shewfelt, 1992)

เหตุการณ์ที่สอง เป็นความผิดปกติที่เกิดขึ้นต่อเนื่องจากเหตุการณ์แรก และอาจไม่สามารถกลับสู่สภาพปกติได้ ซึ่งได้แก่ การผลิตเอทิลีน อัตราการหายใจเพิ่มขึ้น อัตราการสังเคราะห์แสงลดลง มีการรบกวนการผลิตพลังงาน สะสมสารพิษ เช่น เอทานอล อะเซทัลดีไฮด์ และเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์ ในพืชที่อ่อนแอ ทำให้เกิดความเสียหายและความสามารถที่ซ่อมแซมเนื้อเยื่อ (Raison and Orr, 1990) ความรุนแรงของอาการสะท้านหนาวขึ้นอยู่กับ ระดับอุณหภูมิ และระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ ถ้าพืชได้รับอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิวิกฤตเป็น

ระยะเวลาสั้นๆพืชสามารถซ่อมแซมและกลับสู่สภาพเดิมได้ แต่ถ้ายังคงเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำต่อไป เซลล์ไม่สามารถซ่อมแซม จากความเสียหายได้ ทำให้อาการสะท้านหนาวปรากฏขึ้น โดยทั่วไปการตรวจและวินิจฉัยอาการสะท้านหนาวทำได้ยาก เนื่องจากผลิตผลมักมีสภาพภายนอกที่ดีเมื่อนำออกมาจากอุณหภูมิต่ำ แต่อาการผิดปกติจะปรากฏให้เห็นเมื่อย้ายผลิตผลมาไว้ในที่อุณหภูมิสูง อาการที่ปรากฏอาจเกิดขึ้นทันทีหรือต้องการระยะเวลาเพื่อพัฒนาอาการ (Saltveit and Morris, 1990)

3. การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีระหว่างการเกิดอาการสะท้านหนาว

3.1 การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเนื้อเยื่อและองค์ประกอบของเซลล์

เนื่องจากอาการสะท้านหนาวทำให้เกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อ ดังนั้นจึงมีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อและองค์ประกอบของเซลล์เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำ ในผิวผลที่เกิดอาการบุ๋ม พบว่าการบุ๋มของเนื้อเยื่อไม่เกี่ยวข้องกับการสูญเสียน้ำ เนื้อเยื่อบริเวณที่บุ๋มในมะเขือยาวและแตงกวาพบว่ามีการยุบตัวของเซลล์พาเรนไคมาภายใต้ผิว (Abe, 1990) เมื่อศึกษาองค์ประกอบภายในเซลล์พบว่า ไซโตพลาสซึมมีขนาดเล็กลง สารประกอบฟีนอลรวมตัวเป็นก้อนอยู่ภายในแวคิวโอล บางครั้งพบมีการแตกของเยื่อหุ้มแวคิวโอล แสดงว่ามีการรวมของแวคิวโอลกับไซโตพลาสซึม (Burzo *et al*., 2001)

ในเซลล์ของ *Cornus stolonifera* ที่เลี้ยงในอาหารเหลว เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำ 48 ชั่วโมง พบว่ามีการเสื่อมสภาพของโปรพลาสติด (proplastids) ร่างแหเอนโดพลาซึม และเยื่อหุ้มแวคิวโอล (Niki *et al*., 1978) ส่วนเซลล์ของถั่วเขียวในอาหารเหลว เมื่อได้รับอุณหภูมิต่ำ พบว่า เซลล์โป่งออก เยื่อหุ้มแวคิวโอลฉีกขาด โครงสร้างของเซลล์เสียสภาพโดยเยื่อหุ้มย่น ในระยะแรกของการสะท้านหนาวพบการขยายตัวและพองของเซลล์ (Ishikawa, 1996)

3.2 การเกิดสีน้ำตาล

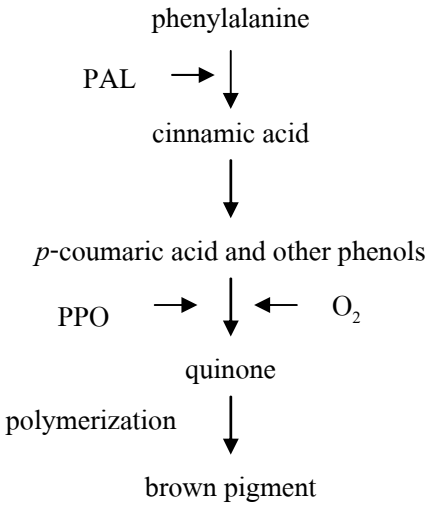
อาการสีน้ำตาลเป็นอาการหนึ่งที่มักพบในเนื้อเยื่อที่เกิดการสะท้านหนาว โดยทั่วไปการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้อาจเกิดได้ 2 แบบได้แก่ การไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์ (Maillard reaction) และการมีกิจกรรมของเอนไซม์ การไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เป็นการรวมตัวของน้ำตาลกับ amines ของกรดอะมิโนหรือโปรตีน ส่วนการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ เป็นการ

ออกซิเดชัน ของสารประกอบฟีนอลิกโดยเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO ; 1,2 benzenediol : oxygen oxidoreductase E.C 1.10.3.1) เป็นเอนไซม์ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ และมีชื่อหลายชื่อตามสารตั้งต้น เช่น catechol oxidase, catecholase , diphenol oxidase, *o*-diphenolase , phenolase และ tyrosinase (Martinez and Whitaker, 1995 ; Walker, 1995)

PPO สามารถพบได้ทั้งในรูป soluble และ membrane bound ในคลอโรพลาสต์ โดย PPO ยีนสร้างขึ้นในนิวเคลียสและแปลรหัสในไซโตพลาสซึม หลังจากนั้นจะสร้าง pro PPO และเคลื่อนย้ายไปในคลอโรพลาสต์ ซึ่งถูกย่อยโดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนเพื่อให้อยู่ในรูปที่ active (Sommer *et al*., 1994) สารฟีนอลิกที่เป็นสับสเตรทของ PPO อยู่ในแวคิวโอล ดังนั้นการเกิดสีน้ำตาล จะเกิดเมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายและเซลล์สูญเสียสภาพ (Vamos-Vigyazo, 1981)

ในกลไกการเกิดสารสีน้ำตาล เอนไซม์ PPO คะตะไลซ์ monophenols เป็น *o*-diphenols และ ออกซิไดซ์สารประกอบ *o*-diphenols ได้เป็น *o*-quinone ทั้งสองปฏิกิริยาใช้ออกซิเจนเป็น co-substrate ส่วน *o*- quinone เป็นสารที่ไม่เสถียรและทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนหรือโปรตีนอย่างรวดเร็วทำให้เกิดสารสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำ (melanin) โดยการ polymerization (Whitaker, 1994) ดังภาพที่ 6 PPOในแต่ละพืชมีสับสเตรทที่จำเพาะแตกต่างกัน สับสเตรทธรรมชาติที่พบง่ายในพืชหลายชนิด คือ chlorogenic acid ที่พบรองลงมาได้แก่ catechin และ dihydroxyphenylalanine (Walker, 1995)

การศึกษาการแสดงออกของยีน PPO ในพืชหลายชนิด (Cary *et al*., 1992; Chevalier *et al*., 1999; Gooding *et al*., 2001) พบว่ายีน PPO มีการแสดงออกในเนื้อเยื่อที่กำลังพัฒนาและบริเวณเมอริสเต็ม (meristem) แล้วลดลงระหว่างเนื้อเยื่อแก่ ส่วนผลที่กำลังพัฒนาก็มีกิจกรรมของ PPO สูงและลดลงเมื่อผลแก่ (Vamos-Vigyazo, 1981) แต่ในกล้วยที่เปลือกมีสีคล้ำเมื่อผลงอม เกิดจากเมื่อผลสุกมีการเสื่อมสภาพของเซลล์ทำให้เอนไซม์ PPO รั่วออกจากเซลล์ (Gooding *et al*., 2001)



ภาพที่ 6 กลไกการเกิดสารสีน้ำตาล
ที่มา: จริงแท้ (2542)

การเกิดสีน้ำตาลเป็นอาการหนึ่งของอาการสะท้านหนาวที่เห็นได้ชัดเจนและคาดว่าเป็นเหตุการณ์ที่สอง (secondary event) ของอาการสะท้านหนาว สับปะรดที่รักษาในอุณหภูมิต่ำพบว่ามีการสังเคราะห์เอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้น เมื่อเกิดอาการไส้สีน้ำตาล (Stewart *et al*., 2001; Zhou *et al*., 2003) ในมะม่วงที่มีแสดงอาการสะท้านหนาวอย่างรุนแรงโดยเปลือกเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูงด้วย (Vela *et al*., 2003) ผลกล้วยที่เกิดอาการสะท้านหนาว สีเปลือกเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล ก็มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มสูงขึ้นด้วย (Nguyen *et al*., 2003) ส่วนการเกิดสีน้ำตาลของเมล็ดพริกหวานที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ คาดว่าเกิดจาก chlorogenic acid เป็นสับสเตรท และเอนไซม์ chlorogenic acid oxidase (Li *et al*., 1987) โดยพบว่าปริมาณ total polyphenol และ chlorogenic acid สูงเมื่อเริ่มต้นเก็บรักษาและลดลงหลังจากเมล็ดเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล (Lee, 1971)

เอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL : EC 4.3.1.5) เป็นเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลและอาการสะท้านหนาวด้วย โดยเอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์เริ่มต้นการสังเคราะห์สารฟีนอล (phenylpropanoid pathway) และเป็นเอนไซม์สำคัญใน phenolic metabolism ซึ่งเป็นการช่วยป้องกันอันตรายของพืชจากสภาวะเครียด (Hahlbrock and Scheel, 1989) เอนไซม์ PAL มีบทบาทสำคัญในการป้องกันอาการสะท้านหนาวในผลส้ม (Lafuente *et al*., 2001; 2003) ในผลกล้วยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อกระตุ้นให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ PAL สูงขึ้น พบว่าสามารถลดอาการสะท้านหนาวได้ (Wang *et al*., 2007) นอกจากนั้นยังเป็นเอนไซม์ที่

เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลในผักกาดหอม iceberg lettuce ที่ตัดเป็นชิ้นเล็กจะสร้างเอนไซม์ PAL เพิ่มมากขึ้นและมีกิจกรรมสูงขึ้น 6-12 เท่า ใน 24 ชั่วโมง และมีปริมาณฟีนอลลิคเพิ่มสูงขึ้นด้วย (Ke and Saltveit, 1989) และมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษา (Kazuhiro *et al*., 1999) การใช้สารยับยั้งการทำงานของ PAL สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลในผักกาดหอมได้ (Peiser *et al*., 1998)

วิธีควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมี ได้แก่ กรดเบนโซอิค กรดโคจิค tropolone และ 4-hexylresorcinol การปรับ pH ให้ต่ำกว่า 4 ด้วยกรดซิตริก กรดมาลิค กรดแอสคอบิค และการลดปริมาณออกซิเจนก็สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ (Martinez and Whitaker, 1995 ; Vamos-Vigyazo, 1995) นอกจากนั้นยังสามารถใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรมมาควบคุมการแสดงออกของยีน โดยการถ่าย antisense ของเอนไซม์ PPO ทำให้กิจกรรมของ PPO ในหัวมันฝรั่งและแอปเปิลลดลง ส่งผลให้การเกิดสีน้ำตาลน้อยลง (Murata *et al*., 2000; Coetzer *et al*., 2001)

3.3 การเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์

อาการสะท้านหนาวที่แสดงออกหลายๆ อาการมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงหรือการเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น การบุ๋ม การเปลี่ยนแปลงสี การเกิดสีน้ำตาล และการฉ่ำน้ำ ดังนั้นการคงสภาพที่ดีของเยื่อหุ้มเซลล์ มักนำมาใช้อธิบายถึงการทนต่อสภาวะเครียดของพืช และการต้านทานของเยื่อหุ้มจะมีความสัมพันธ์กับความสามารถทนต่อความเครียดของพืชได้ (Premachandra *et al*., 1992)

การประเมินความผิดปกติที่สัมพันธ์กับการสูญเสียสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์ และการสะท้านหนาวสามารถบอกได้จากค่าการรั่วไหลของประจุ (electrolyte leakage) (Tatsumi *et al*., 1981; King and Lundford, 1983; Marangoni *et al*., 1996) โดยอุณหภูมิต่ำ ชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของไขมันที่ผนังเซลล์ และเมื่อเซลล์ไม่สามารถซ่อมแซมตัวเองได้ เนื่องจากการสะสมของผลผลิตที่เกิดจากการเสื่อมสภาพของไขมัน อาการสะท้านหนาวก็จะปรากฏให้เห็น การประเมินความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยค่าการรั่วไหลของประจุ เป็นวิธีที่ง่ายและนิยมใช้ ถึงแม้บ้างครั้งมีรายงานว่า มะเขือเทศที่เกิดอาการสะท้านหนาวที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ค่าการรั่วไหลของประจุไม่เพิ่มขึ้นเมื่อวัดทันที แต่จะเพิ่มขึ้นหลังจากวางไว้ที่

อุณหภูมิห้องอีก 4 และ 10 วัน (Sharom *et al*., 1994) นอกจากนั้นวิธี chlorophyll fluorescence (DeEll *et al*., 1999) ก็เป็นอีกวิธีที่นำมาใช้ประเมินความเสียหายของเยื่อหุ้ม

เอนไซม์และสารที่ศึกษาเพื่อใช้อธิบายการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มมีดังนี้

3.3.1 Lipoxygenase (LOX) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกริยาออกซิเดชันของกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่ง polyunsaturated fatty acid (PUFA) ที่มีพันธะ cis, cis-1,4 pentadiene เช่น linoleic acid และ linolenic acid ซึ่งพบมากในเยื่อหุ้มของพืช ผลผลิตที่ได้นั้นจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบอื่นๆ อีกมาก ซึ่งสารเหล่านี้มีบทบาทเกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเอง การวาย (senescence) และอนุมูลอิสระ (Siedow, 1991) เอนไซม์ phospholipase D และ LOX เป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายไขมันและเกี่ยวข้องกับการเกิดอาการสะท้านหนาวในผลแตงกวา (Mao *et al*., 2007) แต่ LOX ยังมีบทบาทเกี่ยวข้องกับกระบวนการอื่นๆ พืชอีกด้วย เช่น ย่อยกรดไขมันเพื่อใช้ในการงอกของเมล็ด ช่วยในการพัฒนาหัวของมันฝรั่ง สะสมธาตุไนโตรเจน การสุกของผลไม้ ส่งสัญญาณเพื่อช่วยในการป้องอันตรายของพืชจากเชื้อโรคและแมลง (Porta and Rocha-Sosa, 2002) นอกจากนั้นเอนไซม์ LOX มีหลาย isoform (Siedow, 1991) ซึ่งมี pH ที่เหมาะสมในการทำงานแตกต่างกัน และให้ผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน LOX1 และ LOX2 เป็นไอโซไซม์ที่มีการศึกษามาก โดยมีรายงานว่า LOX1 ทำงานใน pH ที่เป็นด่าง ส่วน LOX2 มีกิจกรรมมากใน pH ที่เป็นกลาง (Baysal and Demirdöven, 2007) ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำงานของ 2 ไอโซไซม์นี้คือ 9-hydroperoxide-octadecadienoic acid (9-HPOD) เกิดจากการทำงานของ LOX1 ขณะที่ 13-hydroperoxide-octadecadienoic acid (13-HPOD) ได้รับจากการทำงานของ LOX2 (Liavonchanka and Feussner, 2006) สำหรับบทบาทของ LOX ในเมล็ด นอกจากเป็นโปรตีนสะสม (storage protein) ในเมล็ดแล้ว ยังเกี่ยวข้องกับพัฒนาการของเมล็ด ตลอดจนถึงการงอกและการเจริญของต้นกล้า (Loiseau *et al*., 2001) กิจกรรมของเอนไซม์ LOX ในเมล็ดที่กำลังพัฒนาพบว่าแตกต่างกันในแต่ละพืช โดยในเมล็ดถั่วเหลือง (Funk *et al*., 1986) และ ข้าวบาร์เลย์ (Schmitt and Mechelen, 1997) ที่กำลังพัฒนาพบว่าปริมาณของ LOX1 น้อยในเมล็ดอ่อนและมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อเมล็ดอายุมากขึ้นใน ทั้งนี้อาจเนื่องจาก LOX1 มีการสะสมมากในเอมบริโอ (Rouster *et al*., 1998) Hildebrand *et al*.(1991) แยกวิเคราะห์กิจกรรมของ LOX ในเมล็ด พบว่า กิจกรรมของ LOX1 LOX2 และLOX3 ในต้นอ่อนและใบเลี้ยง เพิ่มขึ้นเมื่อเมล็ดอายุมากขึ้น แต่ในเมล็ด almond และ hazelnut พบว่ามีการแสดงออกของยีน LOX1 มากในเมล็ดอายุน้อย เฉพาะระยะแรกของการพัฒนาเอมบริโอเท่านั้น (Mita *et al*., 2001; Santino *et al*., 2003)

3.3.2 Malondialdehyde (MDA) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการ peroxidation ของกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากกว่าหนึ่ง (Janero, 1990) นักวิจัยนิยมวิเคราะห์ปริมาณของสารนี้เพื่อบอกถึงสถานะของเยื่อหุ้ม (Campos *et al*., 2003) การวิเคราะห์สาร MDA ไม่ได้วัดปริมาณสารนี้โดยตรงจะวัดผลิตภัณฑ์ของ MDA ที่ทำปฏิกริยากับ thiobarbituric acid (TBA) ได้เป็น thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ซึ่งเป็นสารสีแดงอมชมพู มีค่าการดูดกลืนช่วงแสง 532 นาโนเมตร (Wheatley, 2000)

3.4 Antioxidant enzymes กลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระแล้วมีรายงานว่ามีการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมที่สัมพันธ์กับอาการสะท้านหนาวที่เกิดขึ้น ได้แก่ คะตะเลส กลูตาไธโอนรีดักเตส (glutathione reductase, GR) แอสคอเบสเพอร์ออกซิเดส (ascorbate peroxidase, APX) และ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Apel and Hirt, 2004) ผลส้มพันธุ์ Clemenules และ Clementine ที่ไม่เกิดอาการสะท้านหนาวจะมีกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส และ กลูตาไธโอนรีดักเตสสูงกว่าพันธุ์ Nova และ Fortune ที่แสดงอาการสะท้านหนาวขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (Sala, 1998) ในผลมะเขือเทศเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะมีกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส และกลูตาไธโอนรีดักเตสเพิ่มขึ้น (Malacrida *et al*., 2006)

3.5 Alternative oxidase (AOX) Alternative oxidase pathway เป็นการส่งผ่านอิเล็คตรอนในกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจน เกิดขึ้นในไมโตคอนเดรีย ในการส่งผ่านอิเล็คตรอนในการหายใจแบบใช้ออกซิเจนต้องผ่านกลุ่มของตัวรับอิเล็คตรอน 4 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 NADHCoQ reductase รับอิเล็คตรอนจาก NADH ที่ได้จากวัฏจักรเคร็บส์แล้วส่งให้ ubiquinone ซึ่งเปลี่ยนเป็น ubiquinol กลุ่มที่ 2 succinate CoQ reductase จะออกซิไดซ์ succinate ไปเป็น fumarate และส่งอิเล็คตรอนไปให้ ubiquinone ซึ่งเปลี่ยนเป็น ubiquinol และ ubiquinol จะทำหน้าที่ส่งผ่านอิเล็คตรอนต่อไปยังกลุ่ม 3 กลุ่มที่ 3 CoQ H_2-Cytochrome reductase ถ่ายทอดอิเล็คตรอนจากรีดิวซ์โคเอนไซม์คิว (CoQ H_2)ไปยังไซโตโครมซี และกลุ่มที่ 4 cytochrome oxidase ถ่ายทอดอิเล็คตรอนจากไซโตโครมซีที่อยู่ในรูปรีดิวซ์ไปยังออกซิเจน (มิ่งขวัญ, 2546) สำหรับ alternative oxidase pathway จะรับอิเล็คตรอนจาก ubiquinone แล้วส่งต่อให้ออกซิเจนโดยไม่ก่อให้เกิดการเคลื่อนย้ายโปรตอนหรือสร้าง ATP ในการศึกษาช่วงแรกคาดว่าพืชมีการส่งอิเล็คตรอนแบบนี้ เมื่อเซลล์ได้รับพลังงานจากการหายใจแบบปกติเพียงพอแล้ว ในการศึกษาต่อมาพบว่าเซลล์พืชเกิดการส่งอิเล็คตรอนแบบปกติ และ แบบ AOX ได้ แต่การส่งอิเล็คตรอนแบบ AOX เกิดขึ้นน้อย โดย AOX ถูกกระตุ้นให้เพิ่มขึ้นมากขึ้น เมื่อพืชอยู่ในสภาวะเครียด เช่น อุณหภูมิต่ำ แห้งแล้ง การมี

อนุมูลอิสระ (Siedow and Day, 2000) ดังนั้น Arnholdt-Schmitt *et al*. (2006) เสนอ ให้ AOX เป็นตัวชี้บ่งถึงความสามารถของเซลล์ที่จะปรับตัวให้อยู่รอดได้ในสภาวะเครียด

Purvis and Shewfelt (1993) เสนอว่า การส่งผ่านอิเล็คตรอนโดย alternative pathway เป็นวิธีการลดการผลิตอนุมูลอิสระจากการหายใจในการสะท้านหนาว ต่อมา Purvis (1997) พบว่า AOX ทำให้มีการผลิตอนุมูลอิสระลดลงในไมโตคอนเดรียของเนื้อ (pericarp) ของพริกหวาน นอกจากนั้นยังพบว่า AOX ทำงานร่วมกับเอนไซม์ SOD และ CAT ในการปกป้องเนื้อเยื่อจากการสะท้านหนาวในพริกหวาน (Purvis, 2001)

3.6 Aquaporin

Aquaporin เป็นกลุ่มของโปรตีนที่ integral membrane รวมกันเป็นช่องว่าง ทำหน้าที่เป็นช่องผ่านของน้ำ (Maurel, 1997) นอกจากนั้นยังเป็นทางเข้าออกของสารพวก small non-electrolytes เช่น โบรอน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ กลีเซอรอล (glycerol) และ ยูเรีย (Tyerman *et al*., 2002) ยีน aquaporin เป็นกลุ่มใหญ่ มีหลาย isoform ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มย่อยได้ 4 กลุ่มตามตำแหน่งในเซลล์ (Luu and Maurel, 2005) กลุ่มแรกพบที่เยื่อหุ้มแวคิวโอล (tonoplast intrinsic proteins,TIPs) กลุ่มที่สอง พบที่เยื่อหุ้ม (plasma membrane intrinsic proteins, PIPs) กลุ่มที่สาม nodulin-26-like intrinsic proteins (NIPs) พบในเนื้อเยื่อปมรากของ peribacteroid ที่ตรึงไนโตรเจน นอกจากนั้นยังพบในพืชอื่นที่ไม่ใช่พืชตระกูลถั่วด้วย แต่ยังไม่สามารถระบุตำแหน่งในเซลล์ กลุ่มสุดท้าย the small basic intrinsic proteins (SIPs) ยังไม่ทราบหน้าที่และตำแหน่งในเซลล์ อนุมูลอิสระเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน aquaporin (Luu and Maurel, 2005) โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระและเป็นตัวส่งสัญญาณในพืช ซึ่งสามารถแพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียงได้อย่างรวดเร็ว (Henzler and Steudle, 2000) โดยผ่านเยื่อหุ้มทางช่อง aquaporin (Bienert *et al*., 2006, 2007) Lee *et al.* (2004) พบว่ารากแตงกวาที่ได้รับอุณหภูมิต่ำ มีการเคลื่อนย้ายน้ำลดลงและมีการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ Ye and Steudle (2006) พบว่าเมื่อมีการสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเนื้อเยื่อรากข้าวโพด ทำให้ยับยั้งการเคลื่อนที่ของน้ำเข้าในเซลล์ ทำให้กิจกรรมของ aquaporin ลดลง

4. การสะท้านหนาวในพริก

อุณหภูมิวิกฤติของการเก็บรักษาพริกอยู่ที่ 7 องศาเซลเซียส ดังนั้นพริกทั่วไปสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8-9 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90% อายุการเก็บรักษา 2-3 สัปดาห์ พริกหวาน 7-13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% สามารถเก็บรักษาได้นาน 2-3 สัปดาห์ (จริงแท้, 2542) อาการสะท้านหนาวของพริกหวานจะเกิดรอยบุ๋มเป็นจุดเล็กๆ ก่อน แล้วแผ่กว้างออก เนื้อเยื่อฉ่ำน้ำ การเน่าจากเชื้อ *Alternaria alternata* ที่ผิวผลและขั้วผล (Paull, 1990; Meir *et al*., 1995) และการย่นของผลเนื่องจากการสูญเสียความชื้น และชั้นของกลีบเลี้ยง (calyx) เป็นส่วนที่อ่อนแอต่ออาการสะท้านหนาวมากที่สุด (Yao *et al*., 1986) นอกจากนั้นยังเกิดสีน้ำตาลที่เมล็ด ซึ่งการเกิดสีน้ำตาลที่เมล็ดน่าจะเป็นข้อบ่งชี้ถึงอาการสะท้านหนาวในพริกได้ดี (Kozukue and Ogata,1972; Miller and Risse, 1986) โดย Kozukue and Ogata (1972) พบว่าเมล็ดเกิดสีน้ำตาลในช่วงแรกของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เช่นเดียวกับ ศิริลักษณ์ (2538) รายงานว่า เมล็ดพริกยักษ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส จะเกิดสีน้ำตาลขึ้นในวันที่ 8 ของการเก็บรักษา แต่ Fung *et al*. (2004) พบว่า การเกิดสีน้ำตาลของเมล็ดจะเกิดขึ้นภายหลังการเกิดรอยบุ๋ม โดยเกิดในวันที่ 23 ของการเก็บรักษา หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 14 วันแล้วนำมาไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พริกหวานระยะผลสีเขียว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส จะแสดงอาการผิวบุ๋มในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา แต่ผลในระยะสีแดง เมื่อเก็บที่อุณหภูมิเดียวกันนาน 2 อาทิตย์ ไม่แสดงอาการสะท้านหนาว (Lin *et al*., 1993)

5. การป้องกันและลดอาการสะท้านหนาว

5.1 การปรับสภาพแวดล้อมก่อนการเก็บรักษา

5.1.1 การใช้อุณหภูมิสูง (heat treatment) การเก็บรักษาผลผลิตไว้ที่สภาพอุณหภูมิสูงก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เพื่อให้ผลิตผลปรับตัวได้ทัน สันนิษฐานว่าในช่วงเวลาของการปรับสภาพแวดล้อม พืชอาจมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของไขมันในเยื่อหุ้มและอาจมีการสร้างสารที่ทำให้มีความต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำ (Wang, 1993) นอกจากนั้นการได้รับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลาสั้นๆ (heat shock) ก็สามารถช่วยทำให้ผลิตผลคงสภาพดีในอุณหภูมิต่ำได้เช่นกัน ผลอะโวคาโดเก็บที่อุณหภูมิ 6 หรือ 8 องศาเซลเซียส นาน 3-5 วัน (Hofman *et al*., 2003) หรือ จุ่มในน้ำร้อน 38 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง (Woolf, 1997) จะสามารถลดอาการสะท้านหนาวเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำได้ ผลมะเขือเทศที่แช่ในน้ำอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที สามารถลดอาการสะท้านหนาวได้เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส (นันทวุฒิและดนัย,

2546) โดยทั่วไปการให้อากาศร้อนหรือการได้รับความร้อนในระยะเวลาสั้นๆ จะกระตุ้นให้มีการสร้าง heat shock protein ซึ่งจะช่วยให้โปรตีนยังคงสภาพเดิมไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้สามารถทำงานได้อย่างปกติ จึงทำให้พืชสามารถทนต่อสภาวะเครียดต่างๆได้ (Sabehatal *et al*, 1998; Wang *et al*., 2004)

5.1.2 การใช้อุณหภูมิสลับ (intermittent warming) โดยการเพิ่มอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาผลิตผลชั่วคราวแล้วลดอุณหภูมิลงต่ำอีกครั้ง สามารถลดอาการสะท้านหนาวได้ในพืชหลายชนิด คาดว่าอาจมีการกำจัดสารพิษหรือ ยับยั้งการสะสมของสารพิษที่เกิดในอุณหภูมิต่ำ (Wang, 1993) อุณหภูมิสูงที่ได้รับนี้ต้องได้รับก่อนเกิดอาการสะท้านหนาวที่ไม่สามารถทำให้กลับคืนได้ ถ้าได้รับอุณหภูมิสูงหลังจากเกิดอาการสะท้านหนาวแล้ว อุณหภูมิสูงจะไปเร่งให้เกิดความผิดปกติได้เร็วขึ้น นอกจากนั้นถ้าได้รับอุณหภูมิสูงเร็วเกิน และ บ่อยมากไป ทำให้เนื้อเยื่ออ่อนแอ จะง่ายต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรค

วีรินทร์ (2535) พบว่า การให้อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สลับกับอุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส หรืออุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส สลับกับอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสทุก 4 วัน สามารถลดอาการสะท้านหนาวในมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

5.2 การปรับองค์ประกอบของบรรยากาศในระหว่างการเก็บรักษาผลิตผล การลดปริมาณออกซิเจนลงและ/หรือเพิ่มปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ขึ้น วิธีการนี้จะไปลดการหายใจและการผลิตเอทิลีน รวมทั้งลดการสูญเสียความแน่นเนื้อของผลิตผล และยังสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ด้วย การเก็บรักษาในสภาพควบคุมบรรยากาศ โดยเก็บรักษาในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์สูง และออกซิเจนต่ำ สามารถลดการเกิดอาการสะท้านหนาวได้ (Ali *et al*., 2004) คาดว่าสภาพที่ออกซิเจนต่ำไปลดอัตราการหายใจและลดการผลิตเอทิลีน ซึ่งวิธีการปรับองค์ประกอบของบรรยากาศในการเก็บรักษา สามารถทำได้หลายวิธี เช่น การเคลือบผิว ผลอะโวคาโดที่เคลือบด้วยสารเคลือบผิว (6%) แล้วบรรจุถุงพลาสติก จะชะลอการเกิดการสะท้านหนาวได้ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส (Baskaran *et al*., 2002) การห่อหุ้มผลิตผลด้วยฟิล์มพลาสติก การห่อหุ้มผลพริกหวานด้วยฟิล์มยืด polyvinyl chloride (PVC) และ linear low density polyethylene (LLDPE) สามารถชะลอการเกิดอาการสะท้านหนาวได้ (ศิริลักษณ์, 2538) และการใช้ low density polyethylene (LDP) ห่อผลสามารถชะลออาการสะท้านหนาวของพริกหวานได้ด้วย (Gonzalez-Aguilar *et al*., 2000) ส่วนการบรรจุถุงพลาสติกสามารถลดอาการสะท้านหนาวได้ พริกหวานเก็บรักษาในถุงพลาสติกมีอาการสะท้านหนาวน้อยลง (Meir *et al*.,

1995) มะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เก็บรักษาในถุง polypropylene (PP) ที่เจาะรูเข็มหมุด 8 และ 12 รู เกิดอาการสะท้านหนาวได้น้อยลง (มาโนชญ์, 2534)

5.3 การใช้สารเคมี มีสารเคมีหลายชนิดที่สามารถลดอาการสะท้านหนาว ได้แก่

5.3.1 Diphenylamine ลดอาการสะท้านหนาวในพริกหวาน (Purvis, 2002) โดยคาดว่าสารนี้มีคุณสมบัติเป็น antioxidant ที่กำจัดอนุมูลอิสระ และยับยั้งกระบวนการหายใจในขั้นตอนการส่งผ่านอิเล็คตรอน (Purvis and Gegogeine, 2003)

5.3.2 Methyl jasmonate เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่พบในพืช ควบคุมพัฒนาการในพืชและตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป โดยเป็นโมเลกุลส่งสัญญาณภายในพืชที่เกี่ยวกับการตอบสนองต่อสภาวะเครียด (Wasternack, 2004) methyl jasmonate เป็นสารที่เกิดจากการออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวโดยเอนไซม์ lipoxygenase (González-Aguilar *et al*., 2006) และกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ควบคุม alternative oxidase ทำให้ลดปริมาณอนุมูลอิสระส่งผลให้อาการสะท้านหนาวลดลง (Meir *et al*., 1996 ; Diang *et al*., 2001; Fung *et al*., 2004)

5.3.3 1-Methylcyclopropene (1-MCP) เป็นสารยับยั้งการตอบสนองของเนื้อเยื่อต่อเอทิลีนโดยเข้าจับกับตัวรับเอทิลีนอย่างถาวร ในบางพืชพบว่าเมื่อเกิดอาการสะท้านหนาวจะมีการผลิตเอทิลีนเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงสามารถใช้ 1-MCP ลดอาการสะท้านหนาวได้ (Watkins, 2006) โดย Selvarajah *et al*. (2001) พบว่า การใช้ 1-MCP ลดอาการสีน้ำตาลในสับปะรดได้

5.3.4 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) แคลเซียมช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ (จริงแท้, 2542) การให้อากาศร้อนที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 12 ชั่วโมงแล้วแช่ผลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที สามารถลดการเกิดอาการสะท้านหนาวในผลละมุดได้ (อนันต์ และคณะ, 2545) การให้สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 1.3 กรัมต่อผลทุก 2 สัปดาห์ สามารถลดอาการสะท้านหนาวในสับปะรดพันธุ์ Mauritius ได้ (Hewajulige *et al*., 2006) แต่สารละลายแคลเซียมไม่สามารถลดอาการสะท้านหนาวในพริกหวานได้ (เพชรดา และ ดนัย, 2540)