บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 เพื่อศึกษาการเสื่อมสภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวของบร็อคโคลี่ต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD)

จากการศึกษาผลของการนำบร็อคโคลีมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง พบว่าบร็อคโคลีมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

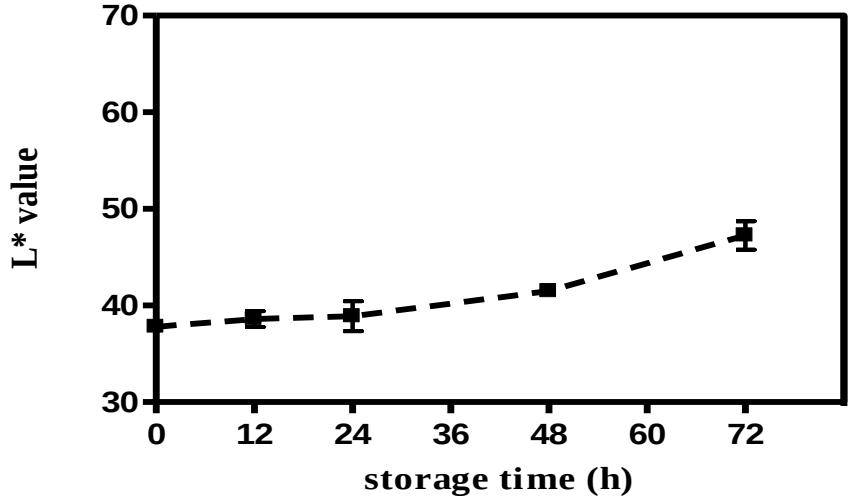
4.1.1 การเหลืองของบร็อคโคลี่

การเสื่อมสภาพของบร็อคโคลี พบว่า บร็อคโคลีจะเริ่มเหลืองในชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นดอกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองบริเวณกว้างอย่างรวดเร็วภายในชั่วโมงที่ 72 ลักษณะการเหลืองของดอกจะเกิดขึ้นเป็นจุดๆ บริเวณดอกย่อยเล็กๆ เริ่มจากส่วนกลางดอก และส่วนกลางก้านดอกย่อยไปเรื่อยๆ จนกลายเป็นสีเหลืองทั้งหัว (รูปที่ 4.1)

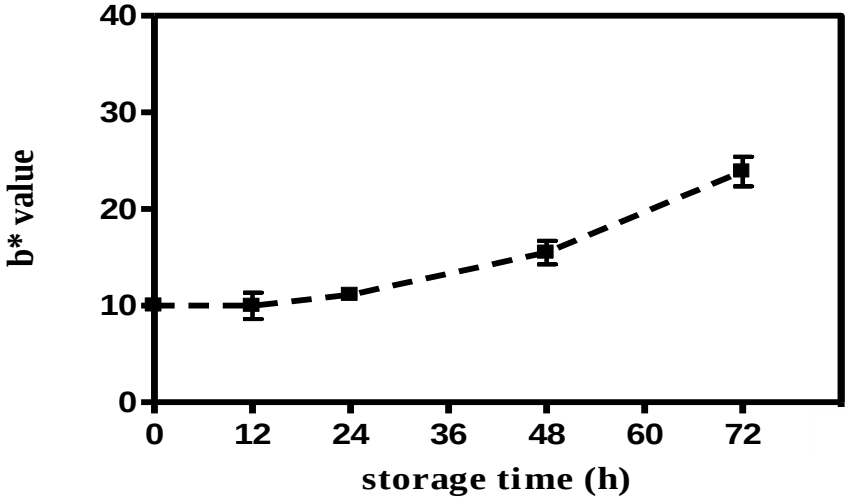
รูปที่ 4.1 ลักษณะของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.1.2 การเปลี่ยนแปลงสี (L*, b* และ H°)

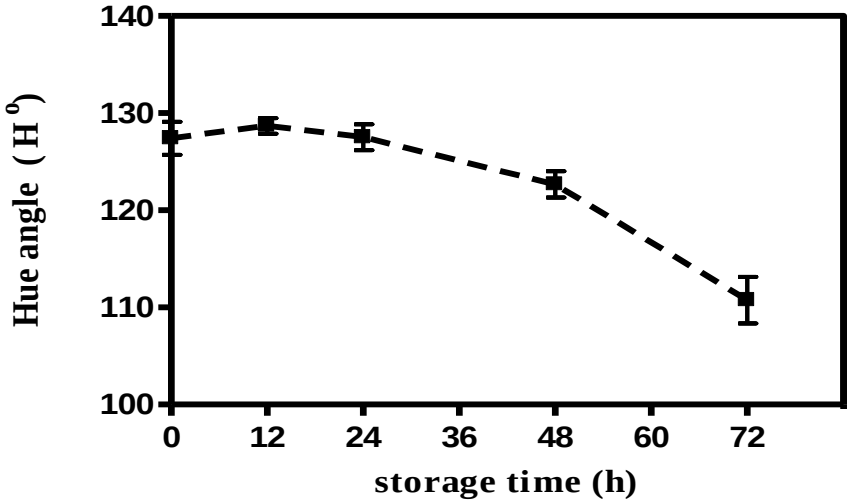
การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสี (L*, b* และ H°) ของบร็อคโคลี โดยใช้ความสว่างของบร็อคโคลีแสดงโดยค่า L* ซึ่งค่า L* ที่เพิ่มขึ้น หมายถึง ดอกบร็อคโคลีเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวเข้มเป็นสีเหลืองมากขึ้น พบว่า มีค่าความสว่างเริ่มต้นที่ 37.8 ในชั่วโมงที่ 12 และ 24 ของระยะเวลาการเก็บรักษา บร็อคโคลียังคงมีสีเขียวเข้มอยู่ โดยมีค่า L* ที่ 38.59 และ 38.89 ตามลำดับ แล้วจึงเริ่มปรากฏสีเหลืองขึ้นในชั่วโมงที่ 48 โดยค่า L* ในชั่วโมงที่ 72 ของการเก็บรักษาเท่ากับ 47.26 จึงทำให้ค่า L* ที่วัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า L* ของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.2) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1) ส่วนการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) ของบร็อคโคลีเริ่มต้นที่ 10.00 เมื่อเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นค่า b* มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น โดยมีค่า b* ที่สิ้นสุดการเก็บรักษาเป็น 23.89 จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า b* ของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.3) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1) และค่า Hue angle เริ่มต้นของบร็อคโคลีมีค่าที่ 127.42 โดยพบว่าค่า Hue angle มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.4) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1)



รูปที่ 4.2 ค่าความสว่าง (ค่า L*) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงสีเหลือง (ค่า b*) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

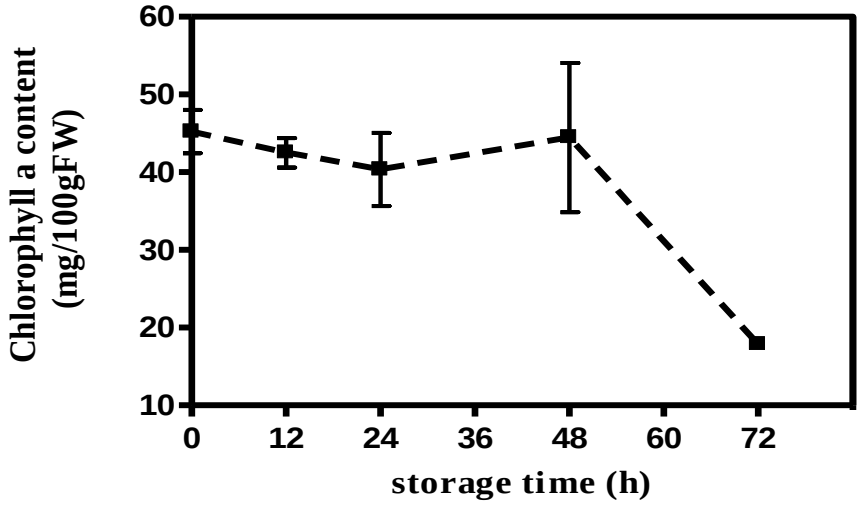


รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าฮิว (Hue angle) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

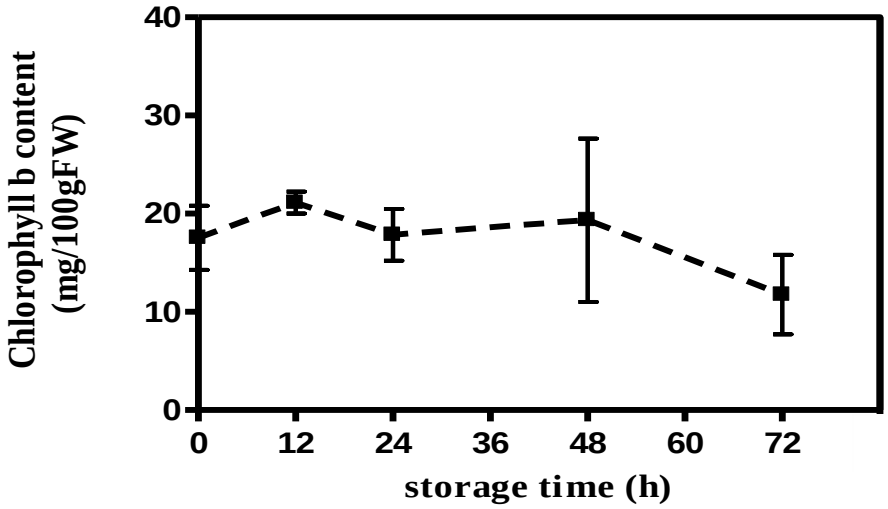
4.1.3 **ปริมาณคลอโรฟิลล์**

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อคโคลีโดยมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 45.23 และ 17.55 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ หลังจากเก็บรักษาบร็อคโคลีที่อุณหภูมิ 20 °C มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดโดยมีแนวโน้มลดลงไปในทิศทางเดียวกัน และ หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่า บร็อคโคลีมีการสูญเสียคลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์ บี ซึ่งมีค่าเท่ากับ เท่ากับ 17.84 และ 11.76 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด โดยจะสังเกตได้จากรูปบร็อคโคลีมีสีเหลืองชัดเจนในชั่วโมงที่ 72 ซึ่งเป็นผลจากการสูญเสียคลอโรฟิลล์ทั้งสอง จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.5) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1) ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ของบร็อคโคลีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 4.6) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1)

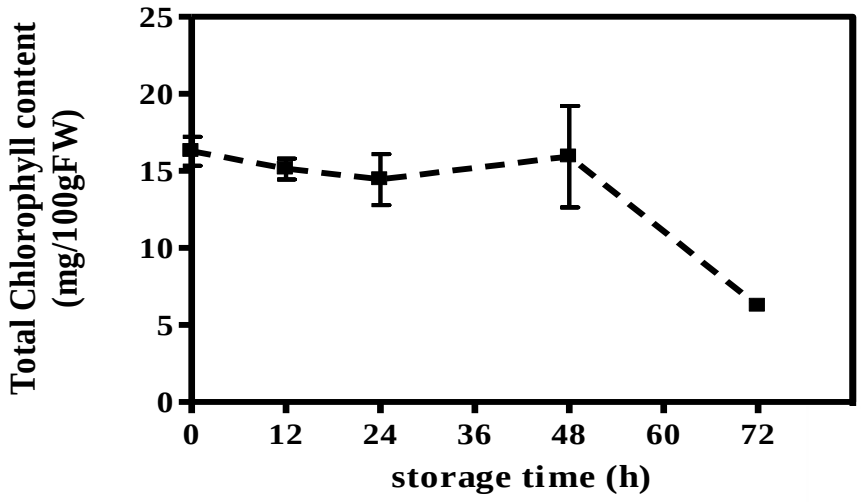
ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total chlorophyll ในบร็อคโคลีมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 16.28 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C มีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยเริ่มมีการสูญเสียคลอโรฟิลล์ในชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าเท่ากับ 14.44 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และมีการสูญเสียมากขึ้นในชั่วโมงที่ 72 โดยมีค่าเท่ากับ 6.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งจะเห็นบร็อคโคลีเป็นสีเหลืองได้ชัดเจน จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.7) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1)



รูปที่ 4.5 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (A) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C ในที่มืดสนิท เป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง



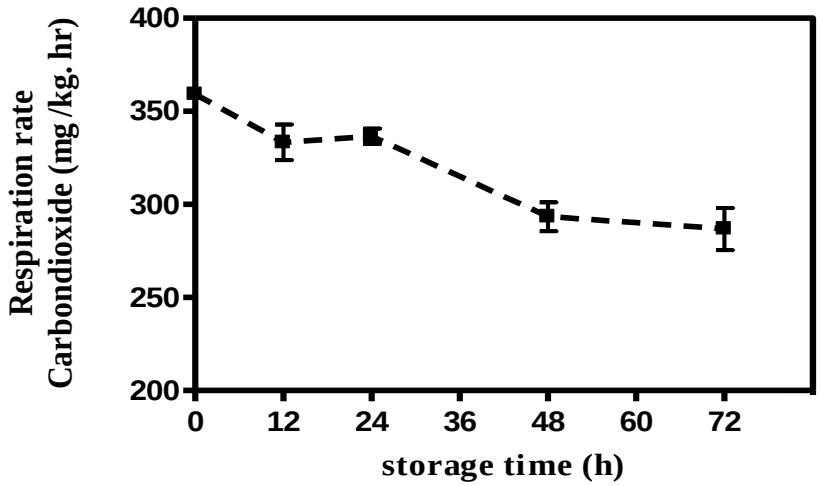
รูปที่ 4.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (B) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิทเป็นเวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง



รูปที่ 4.7ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll content) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิทเป็น เวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.1.4 **อัตราการหายใจ**

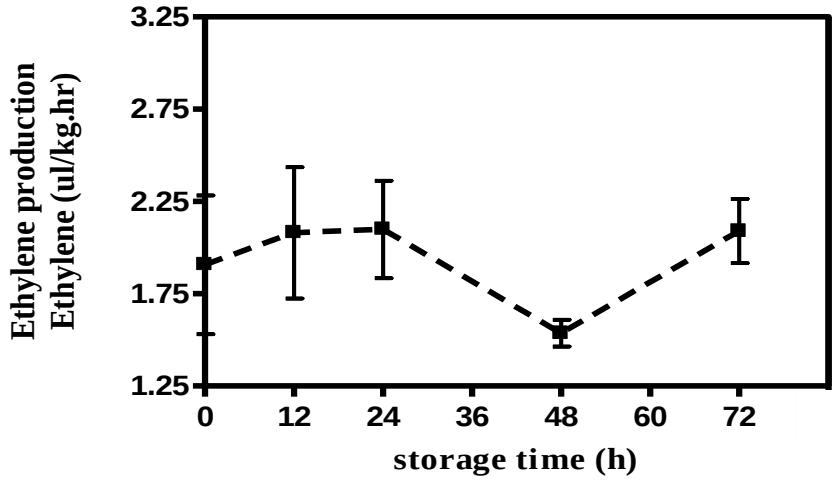
เมื่อเริ่มต้นเก็บรักษาบร็อคโคลีมีอัตราการหายใจเท่ากับ 359.15 $mgCO_2/kg.F.W.hr$ หลังจากนั้นอัตราการหายใจมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการเก็บรักษา โดยมีอัตราการหายใจเท่ากับ 336.61 $mgCO_2/kg.F.W.hr$ จนสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาที่ชั่วโมงที่ 72 พบว่ามีอัตราการหายใจลดลงเหลือเท่ากับ 286.79 $mgCO_2/kg.F.W.hr$ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ตามระยะเวลาการเก็บรักษา (รูปที่ 4.8) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1)



รูปที่ 4.8 อัตราการหายใจของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิทเป็น เวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.1.5 อัตราการผลิตเอทิลีน

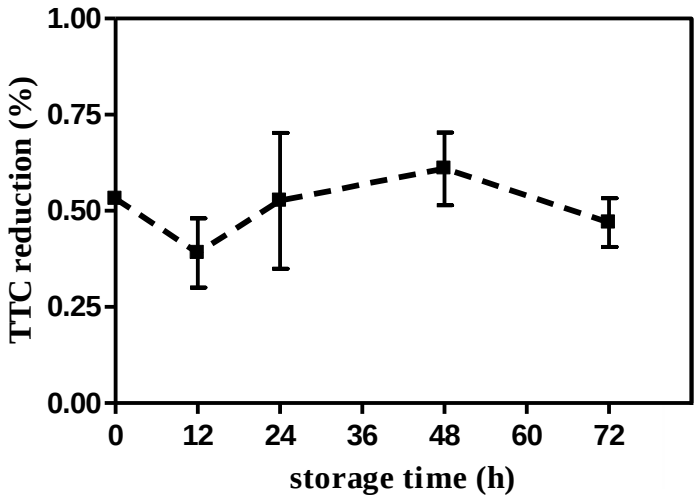
หลังจากเก็บรักษาบร็อคโคลีมีอัตราการผลิตเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 24 และลดลงในชั่วโมงที่ 48 จากนั้นจึงเพิ่มสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 72 ของระยะเวลาการเก็บรักษา จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 4.9) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 1)



รูปที่ 4.9 การผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °C ในที่มืดสนิทเป็น เวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.1.6 Percentage of TTC reduction (rate of activity of dehydrogenase)

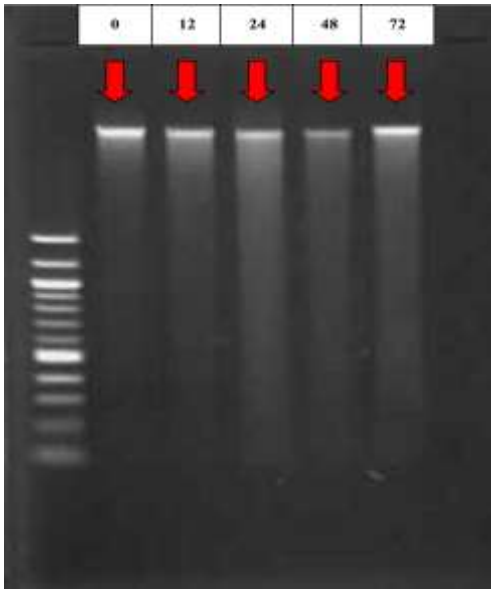
เปอร์เซ็นต์การเกิด TTC reduction เป็นการวัดอัตราการการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase ซึ่งเป็นตัวชี้วัดการเกิดความเสียหายของเซลล์พืชแบบ oxidative damage ที่เกิดจากกระบวนการ respiratory activity หรือเป็นตัวบอกค่าความมีชีวิตของบรอคโคลี่อีกนัยหนึ่ง โดยค่าอัตราการเกิด TTC reduction แสดงถึงกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase สูง บ่งบอกถึงความเสียหายของเซลล์พืชเนื่องจาก oxidative damage ที่เกิดจากกระบวนการหายใจ โดยวิธี Triphenyl tetrazolium chloride assay เป็นการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสาร Triphenyl tetrazolium chloride ไปเป็นสารสีแดงของ formazan โดยกิจกรรมของเอนไซม์ Dehydrogenase และออกซิเจน จากผลการทดลองพบว่าปฏิกิริยาการเกิด TTC reduction เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 จนกระทั่งชั่วโมงที่ 48 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงจนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษาโดยมีค่า TTC reduction ร้อยละ 87 ในชั่วโมงที่ 72 ของการเก็บรักษา (รูปที่ 4.10)



รูปที่ 4.10 อัตราการเกิด Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) reduction (rate of activity of dehydrogenase) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิทเป็น เวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.1.7 **ตรวจสอบ DNA laddering**

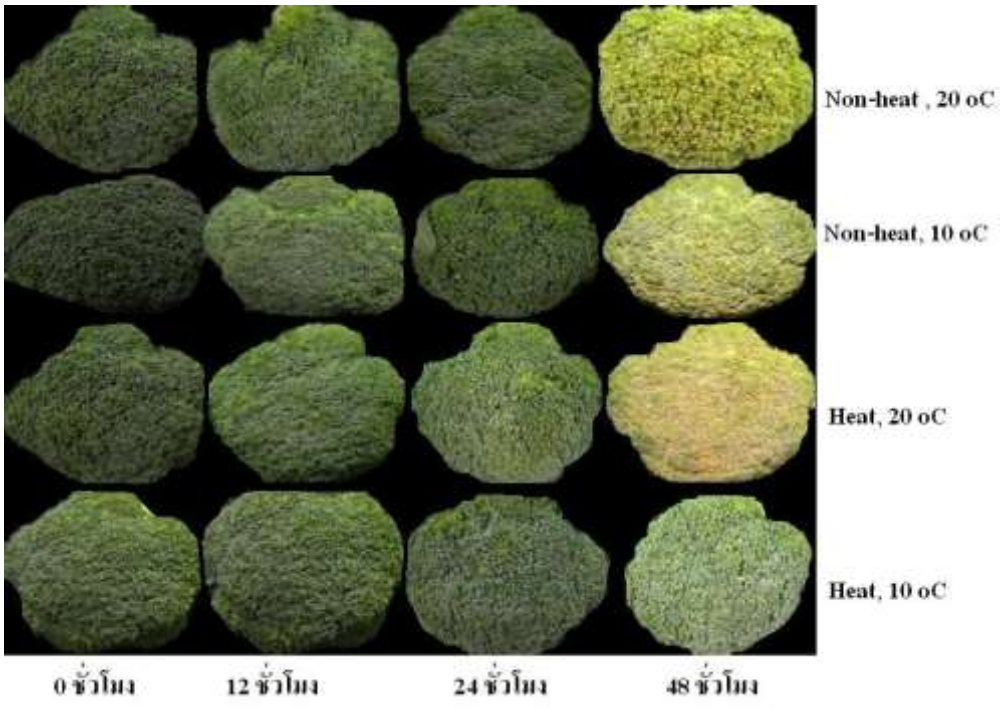
จากการตรวจสอบลักษณะของดีเอนเอของบรอคโคลี่หลังการเก็บเกี่ยว และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่าดีเอนเอของบรอคโคลี่เริ่มมีการสลายตัวหลังจากการเก็บเกี่ยวบรอคโคลี่หลุดออกจากต้นแม่ และพบลักษณะของแถบชิ้นส่วนของดีเอนเอ ตั้งแต่ในชั่วโมงที่ 24 (รูปที่ 4.11) กระบวนการเสื่อมสภาพมีความเกี่ยวข้องกับการตายแบบโปรแกรม (PCD) (Gan and Amasino, 1997) ลักษณะอาการของเซลล์ที่เกิด PCD ได้แก่การเกิด DNA laddering โดย DNA จะถูกย่อยให้ขนาด 180 bp ซึ่งจากการศึกษาการเสื่อมสภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวของบร็อคโคลี่ต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) โดยวิธี gel electrophoresis พบว่า เกิดการเสื่อมสภาพของ DNA โดยเกิดลักษณะที่เป็น smear ตั้งแต่ก่อนการเก็บรักษาทำให้คาดว่า DNA ของเซลล์บร็อคโคลีเริ่มเกิดการเสื่อมสภาพตั้งแต่หลังการเก็บเกี่ยว และจะเห็นว่ามีลักษณะเป็น smear มากขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการเกิด DNA laddering (รูปที่ 4.11)



รูปที่ 4.11 แสดงชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (Fragmentation DNA) ของบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ในที่มืดสนิทเป็น เวลา 0, 12, 24, 48, 72 ชั่วโมง

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของความร้อนต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD)

4.2.1 การเหลืองของบร็อคโคลี่

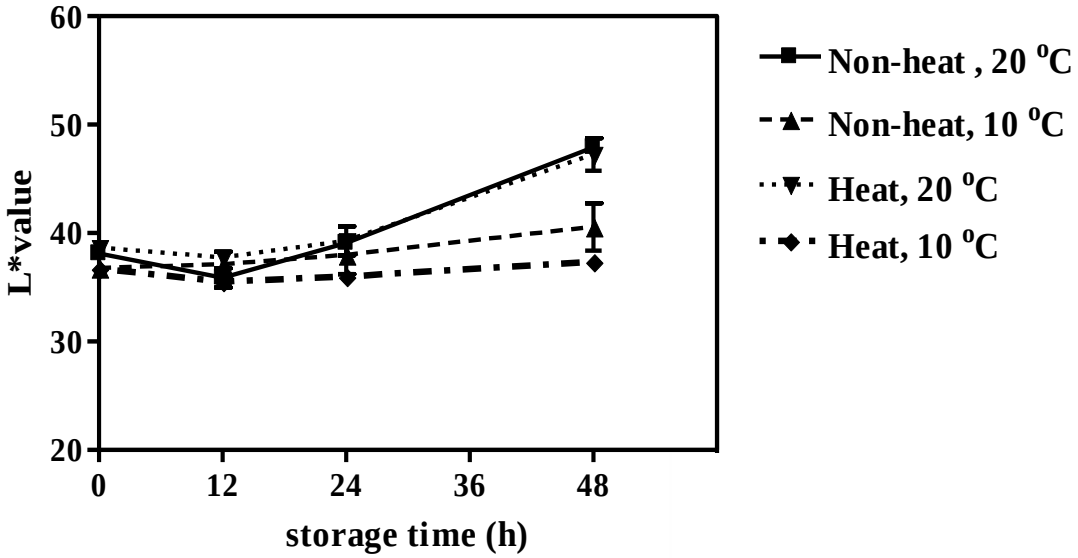


รูปที่ 4.12 ลักษณะของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

การเสื่อมสภาพของบร็อคโคลี พบว่า ในช่วง 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษา บร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองยังไม่พบการเปลี่ยนเป็นสีเหลืองชัดเจนนัก จนเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ยังคงเป็นสีเขียวอยู่ ในขณะที่ชุดการทดลองอื่นจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองใกล้เคียงกัน โดยอาจจะเริ่มเหลืองในชั่วโมงที่ 24 หลังจากนั้นดอกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 48 (รูปที่ 4.12) ดังนั้น การให้บร็อคโคลีได้รับความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ มีผลช่วยชะลอการเหลืองของดอกบร็อคโคลีได้

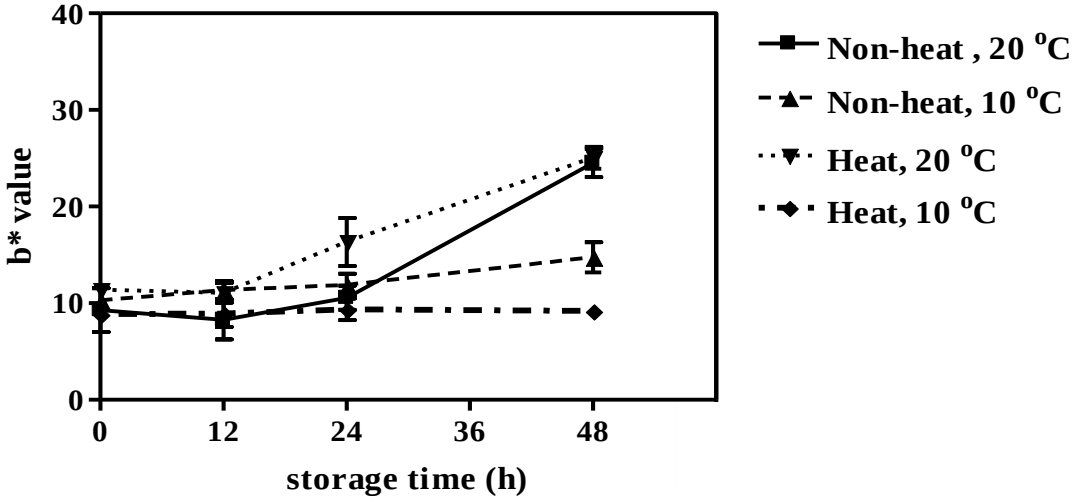
4.2.2 **การเปลี่ยนแปลงสี (L, b และ H°)**

การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (ค่า L*) ของบร็อคโคลี จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (ค่า L*) เริ่มต้นของการเก็บรักษาในทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา ค่าความสว่างมีแนวโน้มคงที่ แต่ในชุดการทดลองที่บร็อคโคลีผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีมีค่าสูงขึ้นในชั่วโมงที่ 48 ซึ่งค่าไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างเท่ากับ 47.25 และ 47.93 ตามลำดับ โดยชุดการทดลองทั้งสองมีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างค่อนข้างสูงที่สุด ส่วนบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที พบว่า สามารถลดการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของบร็อคโคลีได้ดีที่สุด และมีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน นอกจากนี้ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่า ค่าความสว่างของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่ 20 ˚C จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.13) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 2)



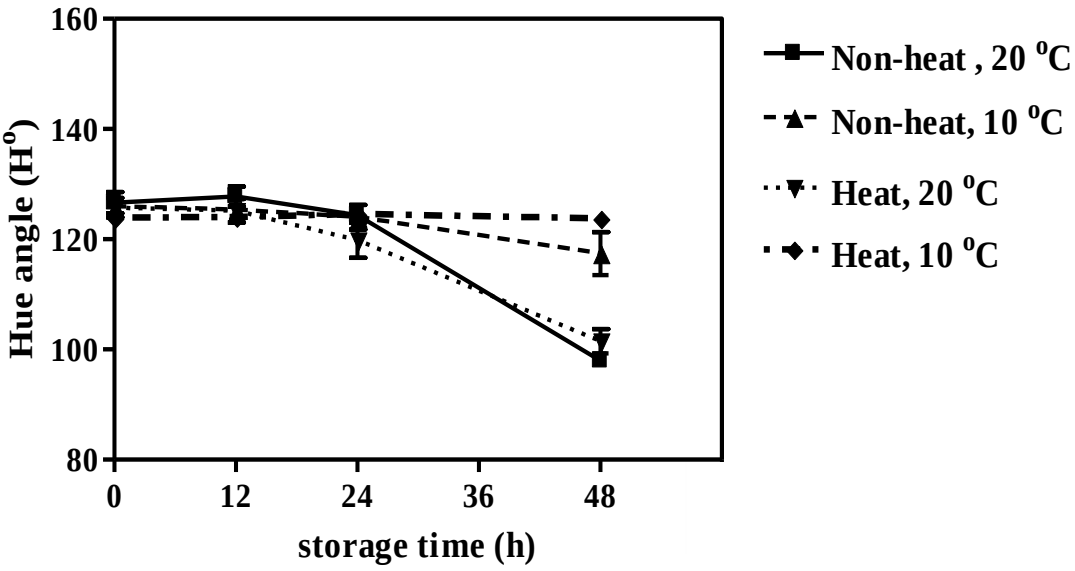
รูปที่ 4.13 ค่าความสว่าง (ค่า L*) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

จากการศึกษาพบว่า ค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) ของบร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มคงที่ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการเก็บรักษาซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ชั่วโมงที่ 48 บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) ต่ำสุด ในขณะที่บร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ทั้งที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านการให้ความร้อนมีค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.14) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 3) นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษายังพบว่า ค่า b* ของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่ 20 ˚C



รูปที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงสีเหลือง (ค่า b*) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

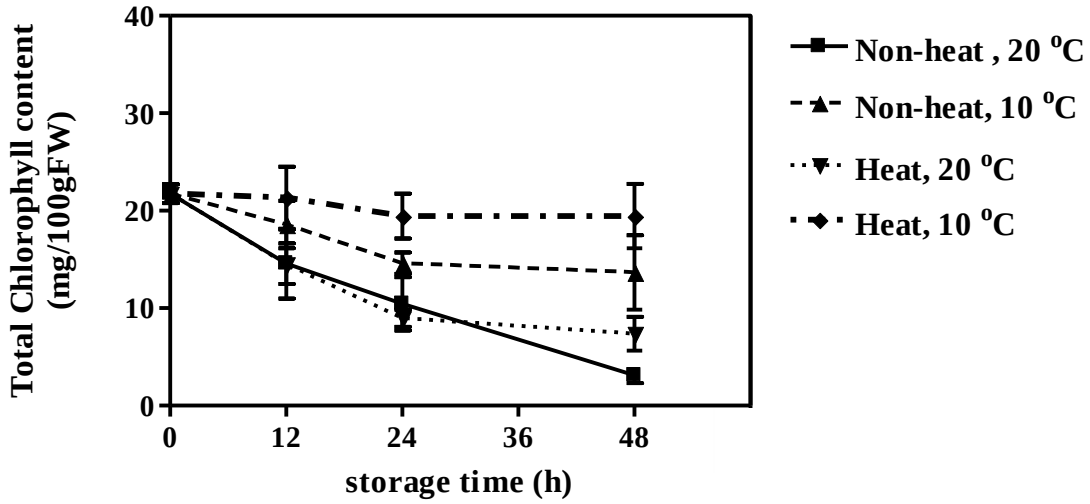
ส่วนค่า hue angle (Hº) คือ ค่าองศาของการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งค่า hue angle ที่ลดลง หมายถึง การเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มคงที่ในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของการเก็บรักษาซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่บร็อค โคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีมีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งมีค่าฮิวลดลงเข้าใกล้ 90° อย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 48 ของการเก็บรักษา โดยมีค่า hue angle ลดลงมากกว่าชุดการทดลองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ซึ่งในชั่วโมงที่ 48 ของการเก็บรักษาบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ยังคงมีค่า hue angle สูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่า hue angle มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.15) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 4) นอกจากนี้ค่า hue angle ของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่ามากกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C



รูปที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงค่าฮิว (Hue angle) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

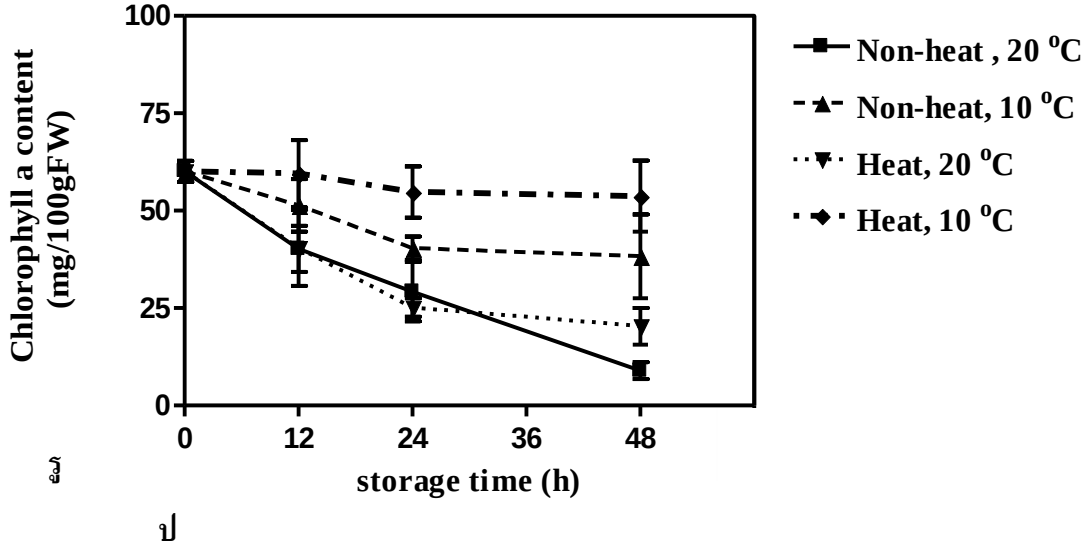
4.2.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total chlorophyll ในบร็อคโคลีทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงลดลง ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยบร็อคโคลีมีปริมาณ Total chlorophyll ในวันเริ่มต้นการทดลอง เท่ากับ 21.74 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด โดยในชั่วโมงที่ 24 ของการเก็บรักษา ในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสีย Total chlorophyll ต่ำที่สุด รองมา คือ บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C คือมีปริมาณ Total chlorophyll เท่ากับ 19.45 และ 14.62 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีการสูญเสีย Total chlorophyll ไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C คือมีปริมาณ Total chlorophyll เท่ากับ 8.98 และ 10.46 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 48 พบว่า ในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ยังคงมีปริมาณ Total chlorophyll สูงกว่าชุดการทดลองอื่น ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.16) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 5) และพบว่าปริมาณ Total chlorophyll ของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าสูงกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C



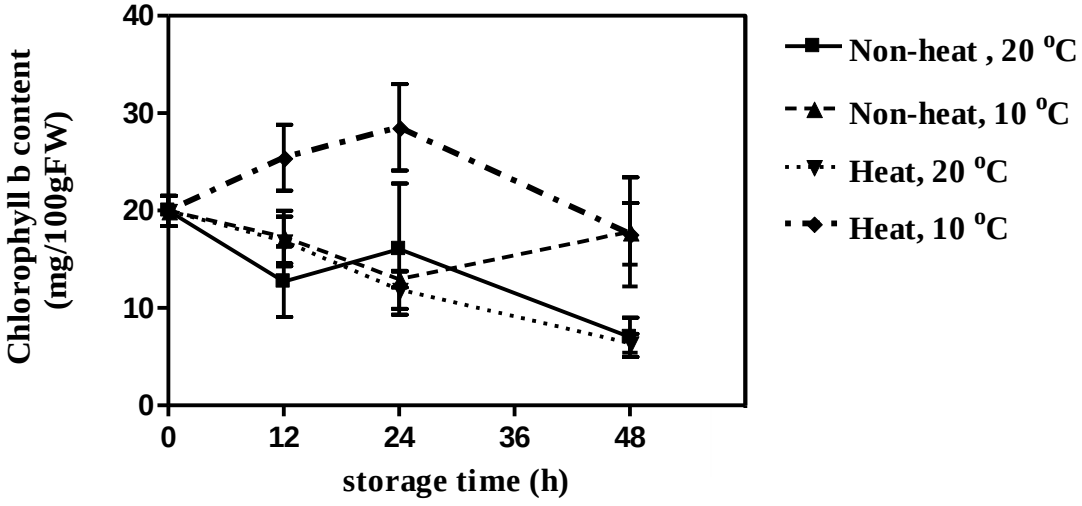
รูปที่ 4.16 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll content) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในบร็อคโคลีมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 60.09 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด มีการเปลี่ยนแปลงลดลงไปในทางเดียวกันทุกชุดการทดลอง ในชั่วโมงที่ 24 ของการเก็บรักษาพบว่า บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างรวดเร็วซึ่งไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิเก็บรักษาเดียวกัน โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 25.16 และ 29.24 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำที่สุด โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 53.74 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ในขณะที่ในบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุดมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 8.97 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 4.17) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 6)



รูปที่ 4.17 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (A) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

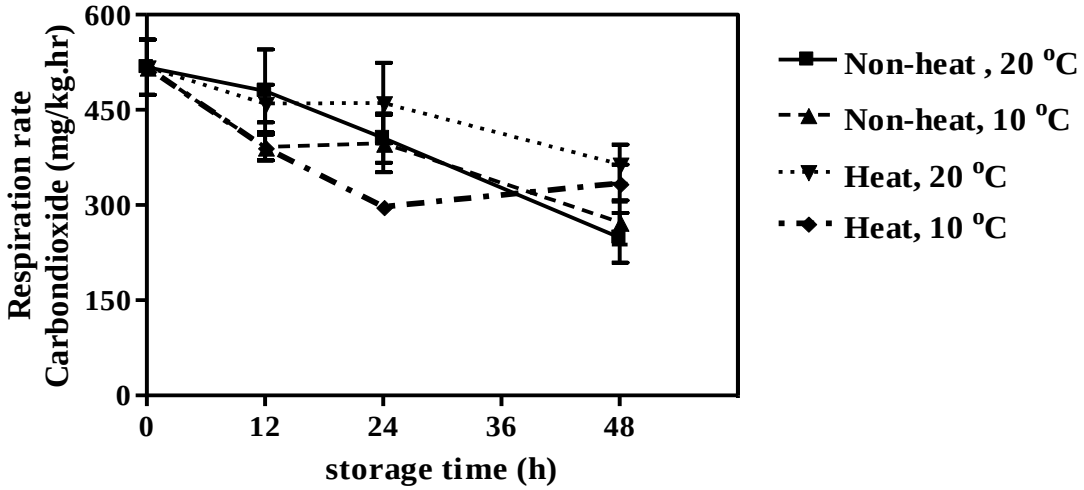
ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อคโคลีมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 19.97 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด มีการเปลี่ยนแปลงลดลงไปในทางเดียวกันทุกชุดการทดลอง เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 6.39 และ 7.00 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ในทำนองเดียวกันการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อค โคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 17.62 และ 17.82 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ (รูปที่ 4.17) นอกจากนี้ ในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ บี น้อยกว่าในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อคโคลีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 4.18) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 7)



รูปที่ 4.18 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (B) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.2.4 อัตราการหายใจ

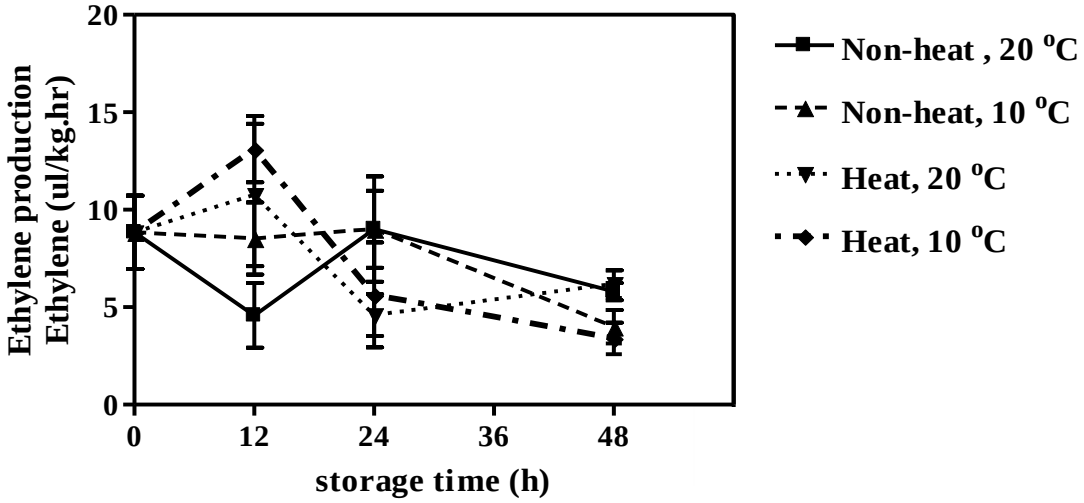
จากการทดลองพบว่า อัตราการหายใจของบร็อคโคลีมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยบร็อคโคลีมีอัตราการหายใจเริ่มต้นเท่ากับ 517.45 $mgCO_2/kg.F.W.hr$ ซึ่งบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C สามารถชะลออัตราการหายใจของบร็อคโคลีได้ โดยในช่วง 24 ชั่วโมงแรกของระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีอัตราการหายใจลดลงอย่างรวดเร็วจนสิ้นสุดการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 48 มีอัตราการหายใจเท่ากับ 334.38 $mgCO_2/kg.F.W.hr$ ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า อัตราการหายใจของบร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 4.19) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 8)



รูปที่ 4.19 อัตราการหายใจของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.2.5 **อัตราการผลิตเอทิลีน**

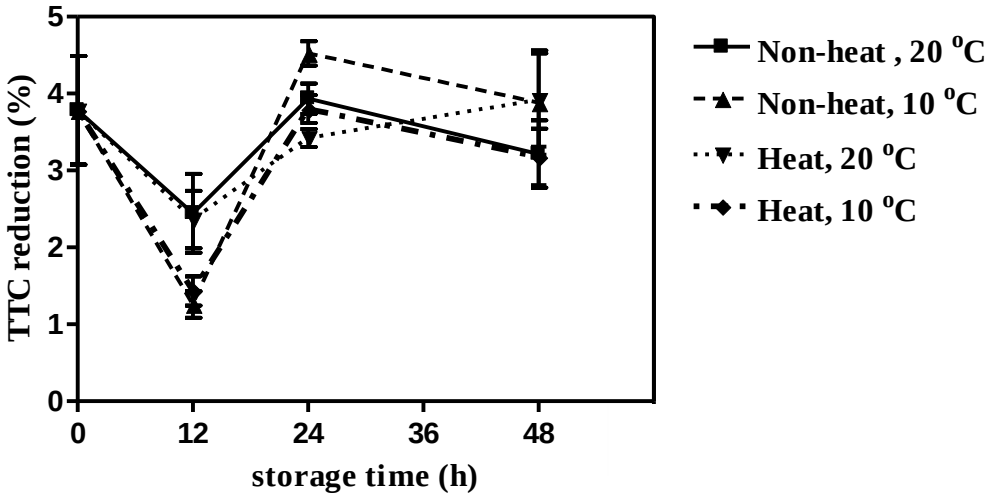
จากการทดลองพบว่า อัตราการผลิตเอทิลีนในชั่วโมงที่ 12 มีอัตราเพิ่มขึ้นในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีของทั้งสองอุณหภูมิที่เก็บรักษา และหลังจากนั้นจึงลดต่ำลง ซึ่งอุณหภูมิที่ 20 ˚C มีค่าต่ำกว่า 10 ˚C แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา พบว่า อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ แต่จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (รูปที่ 4.20) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 9)



รูปที่ 4.20 อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.2.6 Percentage of TTC reduction (rate of activity of dehydrogenase)

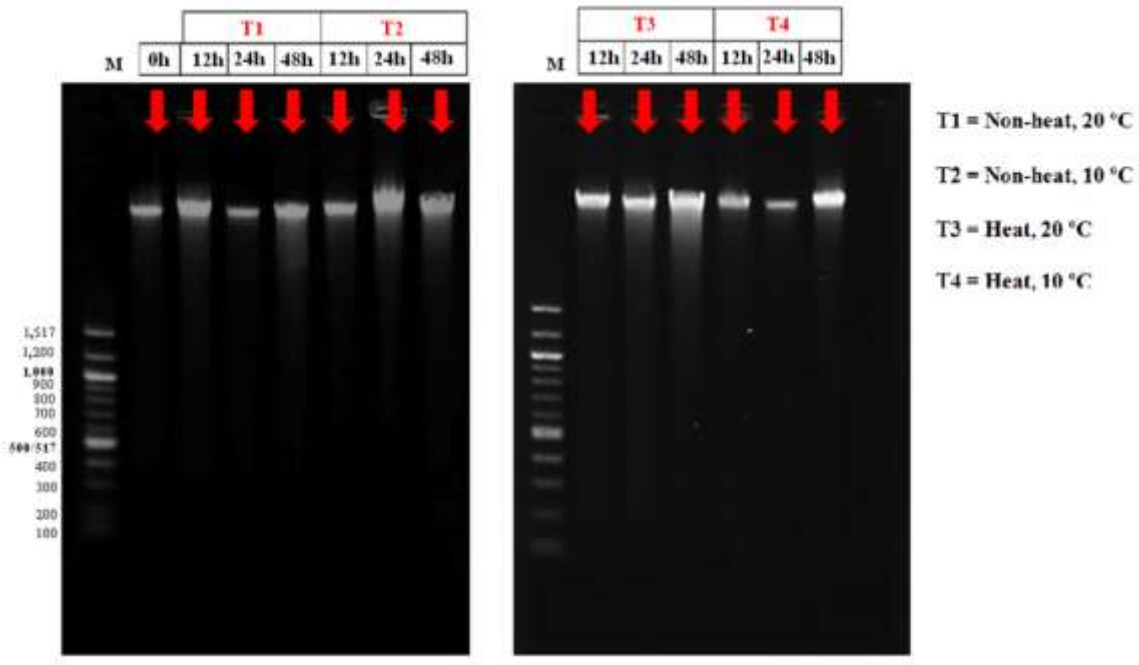
อัตราการการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase เป็นตัวชี้วัดการเกิดความเสียหายของเซลล์พืชแบบ oxidative damage หรือเป็นตัวบอกค่าความมีชีวิตของบรอคโคลี่ โดยค่าอัตราการเกิดกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase สูงบ่งบอกถึงความเสียหายของเซลล์พืชเนื่องจาก oxidative damage โดยใช้วิธี Triphenyl tetrazolium chloride assay ซึ่งเป็นการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสาร Triphenyl tetrazolium chloride ไปเป็นสารสีแดงของ formazan โดยกิจกรรมของเอนไซม์ Dehydrogenase และออกซิเจน จากผลการทดลอง พบว่า การเกิดปฏิกิริยา TTC reduction ของบรอคโคลี่ที่ได้รับและไม่ได้รับความร้อนและเก็บรักษาที่ 20 องศาเซลเซียส สูงกว่าชุดที่ได้รับและไม่ได้รับความร้อนและเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส ในช่วง 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษา แสดงถึงอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสเกิดความเสียหายเนื่องจาก oxidative stress หลังจากนั้นบรอคโคลี่ที่ไม่ได้ความร้อนและเก็บที่ 10 องศาเซลเซียส เริ่มมีกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase เพิ่มสูงกว่าชุดทดลองอื่น ในขณะที่บรอคโคลี่ที่ให้ความร้อนและเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase ต่ำกว่าชุดทดลองอื่นตลอดอายุการเก็บรักษา (รูปที่ 4.21)



รูปที่ 4.21 อัตราการเกิด Triphenyl tetrazolium chloride (TTC) reduction (rate of activity of dehydrogenase) ของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.2.7 ตรวจสอบ DNA laddering

การศึกษาถึงการให้ความร้อนที่ 55°C 10 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 10 และ 20°C ต่อการเปลี่ยนแปลงดีเอนเอของบรอคโคลี่ พบว่า บรอคโคลี่ที่ไม่ได้ให้ความร้อนและเก็บที่ 10 และ 20°C มีการสลายตัวของดีเอนเอเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยเมื่อเก็บรักษานาน 48 ชั่วโมง พบการสลายตัวของดีเอนเอมากกว่าที่ 28 และ 12 ชั่วโมงตามลำดับ โดยชุดที่ไม่ได้ความร้อนและเก็บรักษาที่ 20 องศาเซลเซียส มีการสลายตัวของดีเอนเอมากกว่าชุดที่ไม่ได้ความร้อนและเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียส บรอคโคลี่ที่ให้ความร้อนและเก็บที่ 20 องศาเซลเซียส มีการสลายตัวของดีเอนเอมากกว่าชุดทดลองอื่น ในขณะที่ชุดที่ให้ความร้อนและเก็บที่ 10 องศาเซลเซียส มีการสลายตัวของดีเอนเอน้อยกว่าชุดทดลองอื่น (รูปที่ 4.22)

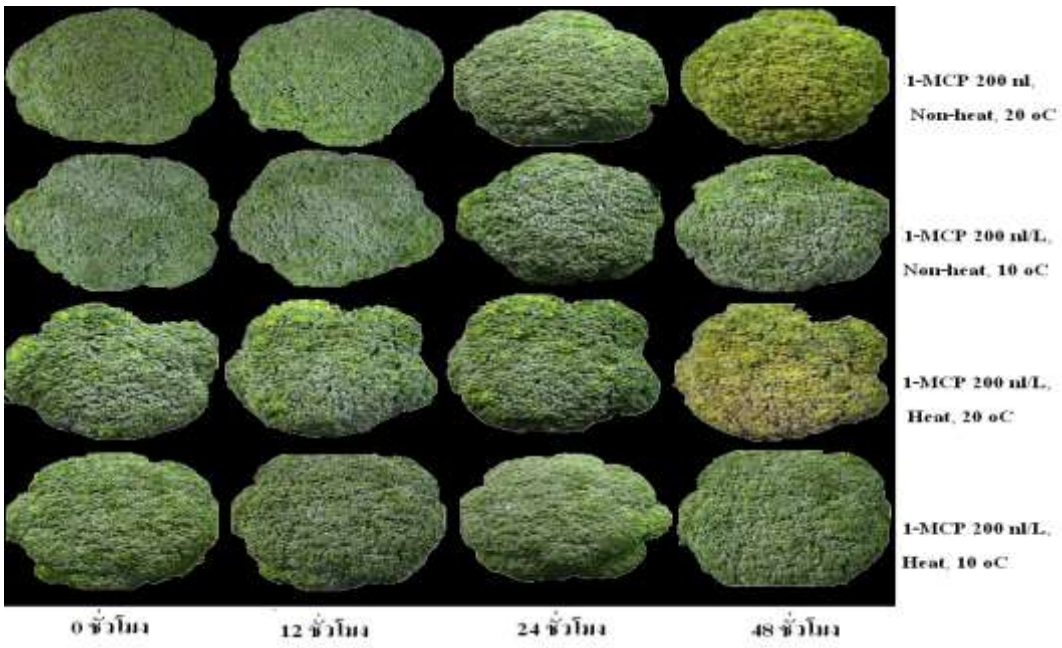


รูปที่ 4.22 ดีเอ็นเอของบร็อคโคลี ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55°C เป็นเวลา 10 นาทีหรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20°C หรือ 10 °C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง นำมาแยกโดย agarose gel electrophoresis

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของ 1- MCP ต่อการเกิดการตายแบบโปรแกรม (PCD) ในบล็อคโคลี่ที่ผ่านการให้ความร้อน

ผลของการรมบร็อคโคลีด้วย 1-MCP ที่ความเข้มข้น 200 nl/l จากนั้นนำไปกระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง พบว่าบร็อคโคลีมีการเปลี่ยนแปลงดังนี้

4.3.1 การเหลืองของบร็อคโคลี่



รูปที่ 4.23 ลักษณะของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

การเสื่อมสภาพของบร็อคโคลี พบว่า ในช่วง 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษา บร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองยังคงมีสีเขียวเข้มอยู่ จนกระทั่งสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ 48 ชั่วโมง พบว่า บร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ทั้งที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที ยังคงมีสีเขียวอยู่ ในขณะที่บร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ทั้งที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเห็นได้ชัดเจน แต่จะสังเกตว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองน้อยกว่าบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน

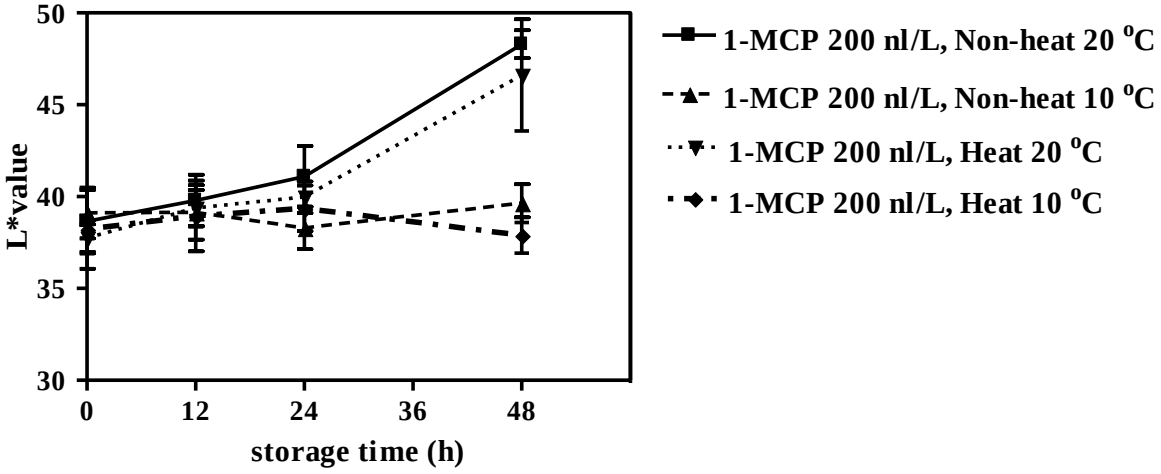
(รูปที่ 4.23) ดังนั้น การรมบร็อคโคลีด้วย 1-MCP และให้ได้รับความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ อาจมีผลช่วยชะลอการเหลืองของดอกบร็อคโคลี

4.3.2 **การเปลี่ยนแปลงสี (L, b และ H°)**

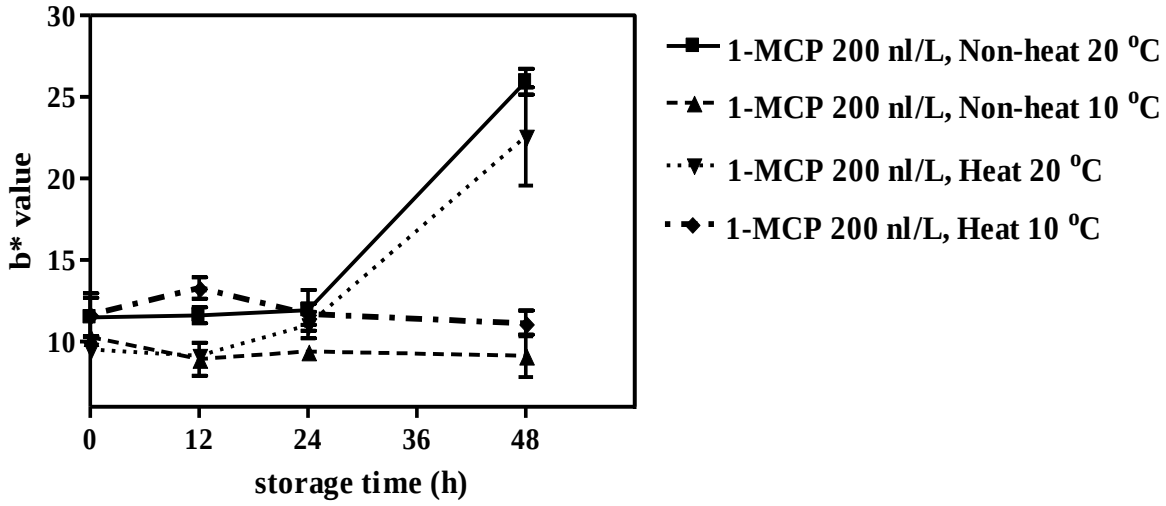
จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (ค่า L*) ในช่วง 24 ชั่วโมงแรก ของการเก็บรักษา ค่าความสว่างมีแนวโน้มคงที่ โดยในแต่ละชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แต่เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 48 โดยชุดการทดลองที่บร็อคโคลีผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีมีค่าสูงขึ้น ซึ่งค่าไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างเท่ากับ 46.61 และ 48.30 ตามลำดับ โดยชุดการทดลองทั้งสองมีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างค่อนข้างสูงที่สุด ส่วนบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที พบว่า สามารถลดการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของบร็อคโคลีได้ดีที่สุด และมีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างเท่ากับ 37.90 และ 39.64 ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่างของบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.24) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 11) นอกจากนี้ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่า ค่าความสว่างของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่ 20 ˚C

จากการศึกษาพบว่า ค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) ของบร็อคโคลีหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า ทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ชั่วโมงที่ 48 บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) ต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิเดียวกัน ในขณะที่บร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ทั้งที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและไม่ผ่านการให้ความร้อนมีค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (b* value) เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่าการเปลี่ยนเป็นสีเหลือง มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.25) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 12) นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษายังพบว่า ค่า b* ของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่เก็บรักษาที่ 20 ˚C

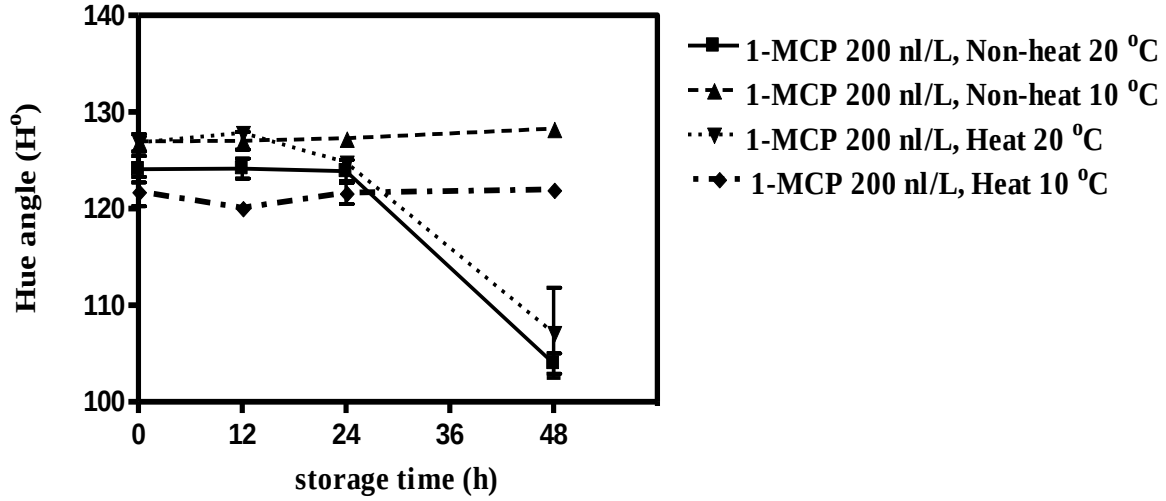
ส่วนค่า hue angle (Hº) คือ ค่าองศาของการเปลี่ยนแปลงสี ซึ่งค่า hue angle ที่ลดลง หมายถึง การเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ภายหลังการม 1-MCP และแบ่งเป็นชุดการทดลองต่างๆ พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่า hue angle ของบร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า ในทุกชุดการทดลองมีค่า hue angle แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ในชั่วโมงที่ 48 ของการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีค่าฮิวลดลงเข้าใกล้ 90° อย่างรวดเร็ว โดยบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าต่ำกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่า hue angle มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.26) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 13) นอกจากนี้ค่า hue angle ของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่ามากกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C



รูปที่ 4.24 ค่าความสว่าง (ค่า L*) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง



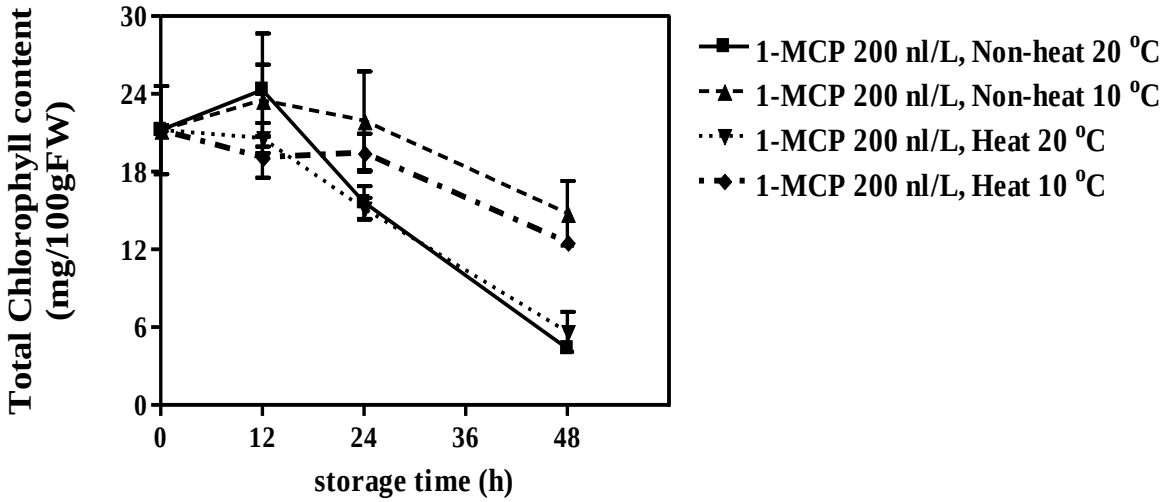
รูปที่ 4.25 การเปลี่ยนแปลงสีเหลือง (ค่า b*) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงค่าฮิว (Hue angle) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.3.3 ปริมาณคลอโรฟิลล์

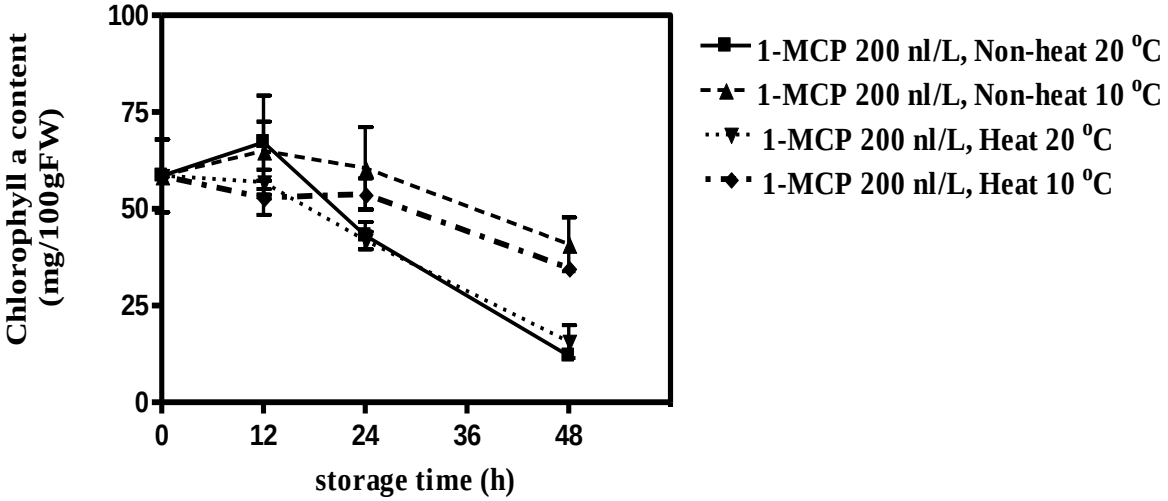
การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Total chlorophyll ในบร็อคโคลีทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยบร็อคโคลีมีปริมาณ Total chlorophyll ในวันเริ่มต้นการทดลอง เท่ากับ 21.21 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสีย Total chlorophyll ไม่แตกต่างกัน คือ มีปริมาณ Total chlorophyll เท่ากับ 19.47 และ 21.93มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C คือ มีปริมาณ Total chlorophyll เท่ากับ 15.15 และ 10.46 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 48 พบว่า บร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C ยังคงมีปริมาณ Total chlorophyll สูงกว่าบร็อคโคลีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.27) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 14) และพบว่าปริมาณ Total chlorophyll ของ บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าสูงกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C



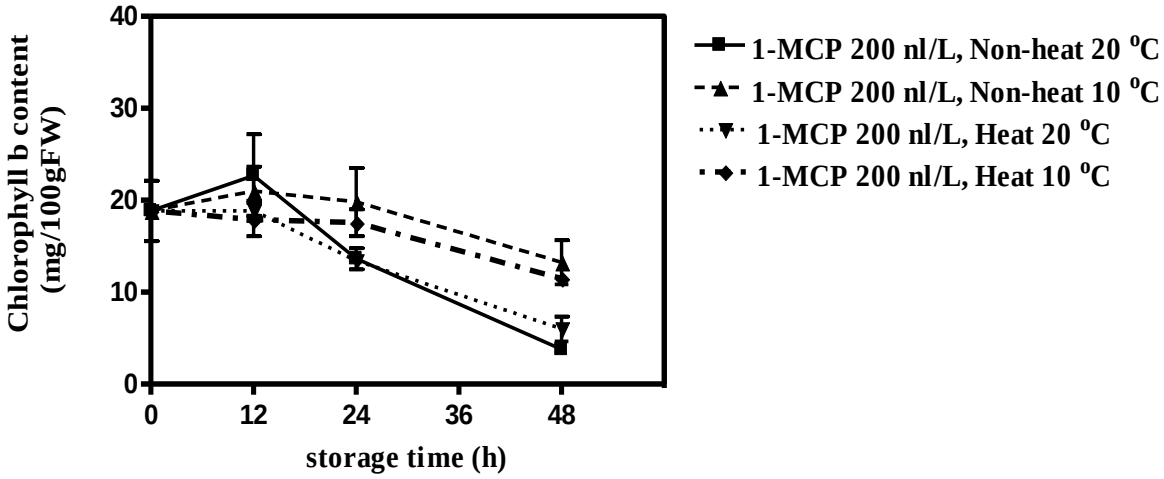
รูปที่ 4.27 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total chlorophyll content) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1-methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในบร็อคโคลีมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 58.57 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด มีการเปลี่ยนแปลงลดลงไปในทางเดียวกันทุกชุดการทดลอง หลังการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 24 พบว่า บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างรวดเร็วซึ่งไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิเก็บรักษาเดียวกัน โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 41.84 และ 43.11 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสด ตามลำดับ ในขณะที่บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ สูงที่สุด แต่จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่ำที่สุด โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 40.85 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ 34.69 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งมีค่ามากกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ เท่ากับ15.68 และ 12.06 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ในบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.28) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 15)

ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อคโคลีมีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 18.84 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด มีการเปลี่ยนแปลงลดลงไปในทางเดียวกันทุกชุดการทดลอง หลังการเก็บรักษาในชั่วโมงที่ 24 พบว่า บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างรวดเร็วซึ่งไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิเก็บรักษาเดียวกัน โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 13.42 และ 13.63 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ ในขณะที่บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี สูงที่สุด โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 19.81 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด แต่จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างชุดการทดลอง และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่ำที่สุด โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 13.26 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งไม่แตกต่างกับบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 11.49 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งมีค่ามากกว่าบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C โดยมีปริมาณคลอโรฟิลล์ บี เท่ากับ 6.00 และ 3.77 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ซึ่งจากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ในบร็อคโคลีมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (รูปที่ 4.29) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 16)



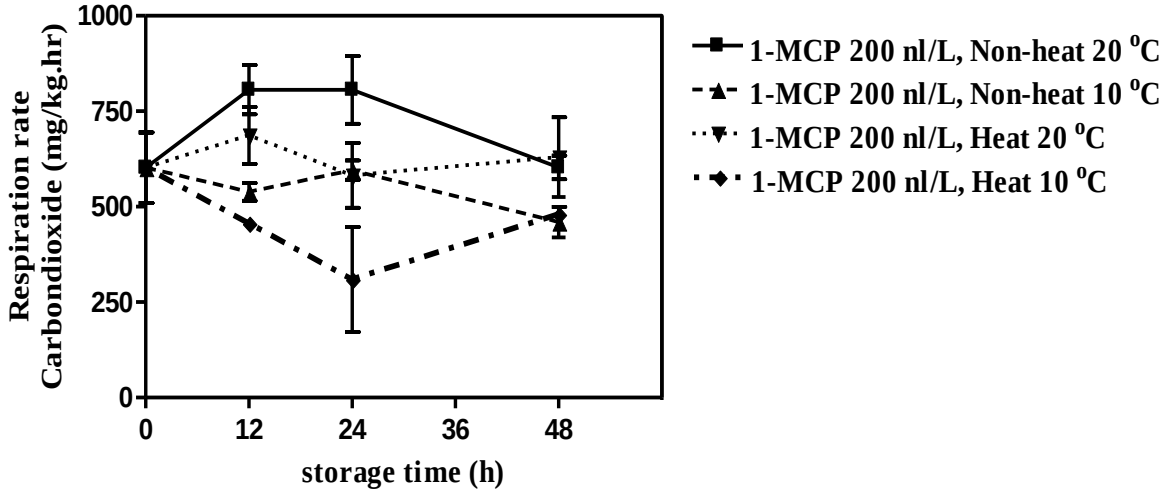
รูปที่ 4.28 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ (A) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง



รูปที่ 4.29 ปริมาณคลอโรฟิลล์บี (B) ของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.3.4 **อัตราการหายใจ**

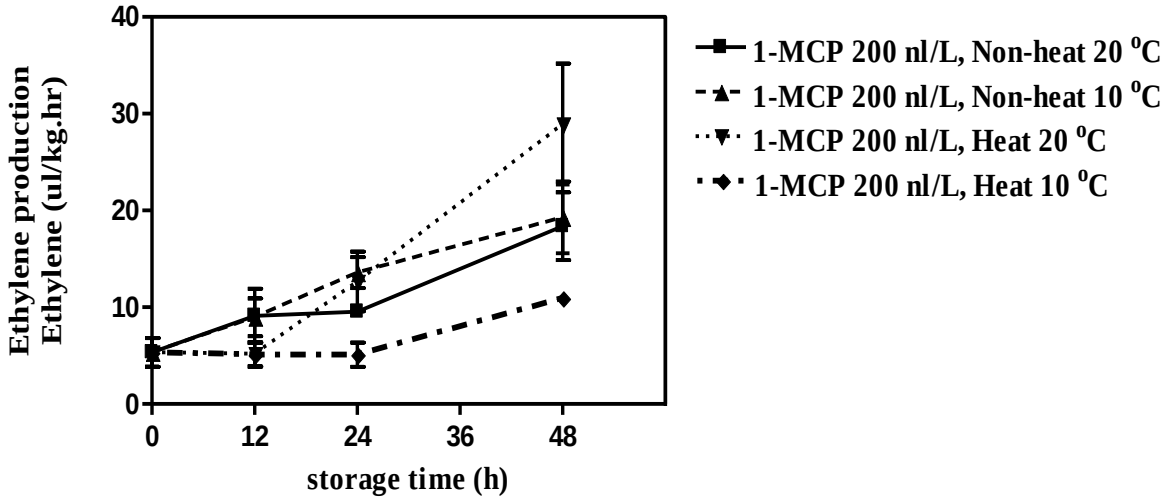
จากการทดลองพบว่า อัตราการหายใจของบร็อคโคลีเริ่มต้นเท่ากับ 602.10 $mgCO_2$/ kg.F.W.hr ภายหลังการเก็บรักษา อัตราการหายใจของบร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่ 20 ˚C มีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับชุดการทดลองอื่นในชั่วโมงที่ 12 และ 24 ของการเก็บรักษา โดยมีอัตราการหายใจเท่ากับ 806.54 และ 805.90 $mgCO_2$/ kg.F.W.hr ตามลำดับ ในขณะที่บร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่ 10 ˚C สามารถชะลออัตราการหายใจของบร็อคโคลีได้โดยหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 12 ชั่วโมงมีอัตราการหายใจลดลงเท่ากับ 456.24 $mgCO_2$/ kg.F.W.hr ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับชุดการทดลองอื่น และเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า อัตราการหายใจของบร็อคโคลีในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (รูปที่ 4.30) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 17)



รูปที่ 4.30 อัตราการหายใจของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.3.5 **อัตราการผลิตเอทิลีน**

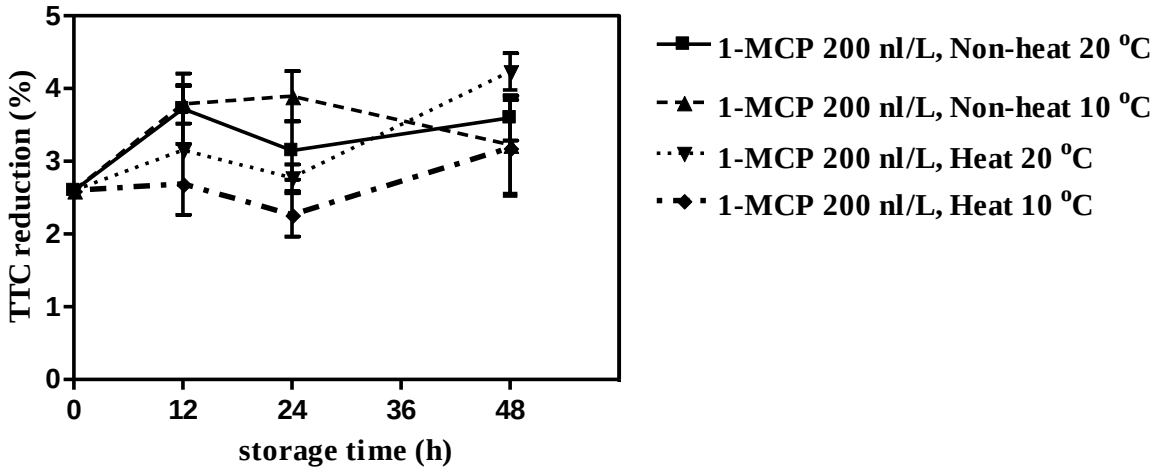
จากการทดลองพบว่า อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาในทุกชุดการทดลอง โดยมีอัตราเพิ่มขึ้นหลังจากชั่วโมงที่ 12 ของการเก็บรักษา บร็อคโคลีที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C มีอัตราการผลิตเอทิลีนสูงกว่าชุดการทดลองอื่นๆแต่อย่างไรก็ตามพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลีที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 ˚C มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับชุดการทดลองอื่นๆ (รูปที่ 4.31) (ตารางภาคผนวก ก ที่ 18)



รูปที่ 4.31 อัตราการผลิตเอทิลีนของบร็อคโคลี ที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.3.6 Percentage of TTC reduction (rate of activity of dehydrogenase)

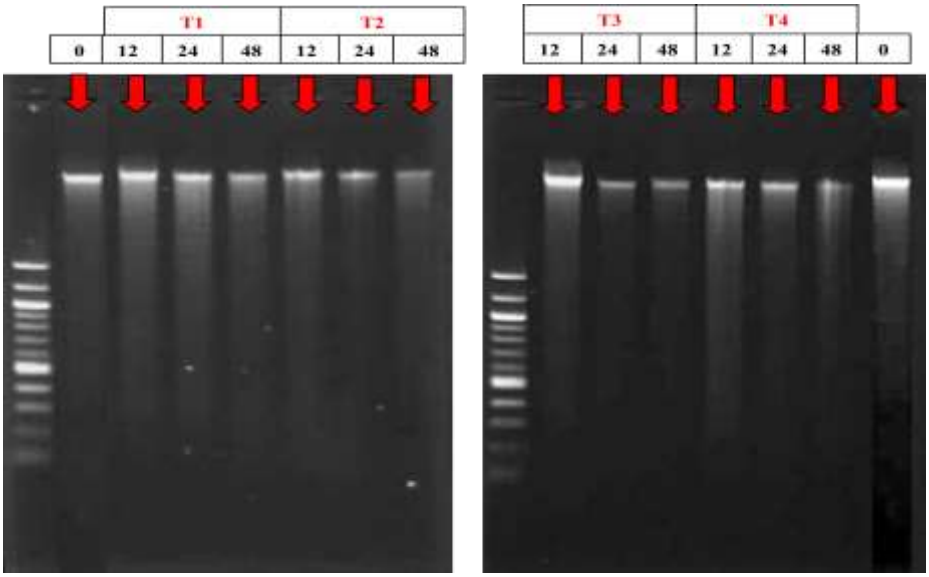
Triphenyl tetrazolium chloride assay เป็นการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสาร Triphenyl tetrazolium chloride ไปเป็นสารสีแดงของ formazan โดยกิจกรรมของเอนไซม์ Dehydrogenase และออกซิเจน จากผลการทดลอง พบว่าการเกิด TTC reduction (ร้อยละ) ของบรอคโคลี่ที่ได้รับ 1-MCP และไม่ได้รับความร้อน เก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส สูงกว่าชุดที่ได้รับความร้อนทั้งที่เก็บรักษาที่ 10 และ 20 องศาเซลเซียส ทั้งนี้บรอคโคลี่ที่ได้รับ 1-MCP และ ได้รับความร้อน 55°C 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีการเกิด TTC reduction (กิจกรรมของเอนไซม์ dehydrogenase) ต่ำกว่าชุดทดลองอื่นๆในระหว่างการเก็บรักษา รองลงมาได้แก่ ชุดที่รมด้วย 1-MCP และได้รับความร้อน 55°C 10 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะบรอคโคลี่ที่เก็บที่ 20 องศาเซลเซียส มีการเกิด TTC reduction สูงขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจาก 24 ชั่วโมงของการเก็บรักษา จน 48 ชั่วโมง มีการเกิด TTC reduction สูงที่สุดเมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่น(รูปที่ 4.32)



รูปที่ 4.32 ค่าความมีชีวิตของบร็อคโคลีที่รมด้วย 1- methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

4.3.7 ตรวจสอบ DNA laddering

จากการตรวจสอบดีเอนเอโดยแยกดีเอนเอบนวุ้น agarose gel electrophoresis พบว่า บรอคโคลี่ที่ให้ (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L และเก็บรักษาที่ 10 และ 20˚C มีการสลายตัวของดีเอนเอเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา โดยบรอคโคลี่ที่เก็บที่ 10 ˚C มีการสลายตัวของดีเอนเอน้อยกว่าชุดที่เก็บที่ 20˚C สำหรับชุดที่ให้ความร้อนก่อนนำไปเก็บที่ 10 และ 20˚C พบการสลายตัวของดีเอนเอในระหว่างการเก็บรักษาเช่นเดียวกัน (รูปที่ 4.33)



รูปที่ 4.33 แสดงชิ้นส่วนดีเอ็นเอ (Fragmentation DNA) ของบร็อคโคลีที่รมด้วย 1-methylcyclopropene (1-MCP) ความเข้มข้น 200 nl/L หลังจากนั้นนำมากระตุ้นโดยผ่านการให้ความร้อนที่ 55 ˚C เป็นเวลา 10 นาที หรือไม่ได้รับความร้อนแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ˚C หรือ 10 ˚C เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 ชั่วโมง

T1 = รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 200 nl/L แล้วไม่ได้ให้ความร้อน นำมาเก็บที่ 20˚C

T2 = รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 200 nl/L แล้วไม่ได้ให้ความร้อน นำมาเก็บที่ 10˚C

T3 = รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 200 nl/L แล้วนำไปให้ความร้อน นำมาเก็บที่ 20˚C

T4 = รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 200 nl/L แล้วนำไปให้ความร้อน นำมาเก็บที่ 10˚C