1.ชื่อชุดโครงการวิจัย การลดความสูญเสียในผลิตผลเกษตรจากศัตรูพืชหลังการเก็บเกี่ยวและสารพิษจากรา

2.ชื่อโครงการวิจัย การลดความสูญเสียในผลิตผลเกษตรจากโรคพืชหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีปลอดภัย

กิจกรรม การควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวด้วยสารกลุ่มปลอดภัยและสารกำจัดราด้วยวิธีปลอดภัย

กิจกรรมย่อย -

3.ชื่อการทดลอง การใช้ Methyl Jasmonateและ Methyl Salicylate เพื่อลดอาการสะท้านหนาวในผลไม้

4. คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง รัมม์พัน โกศลานันท์

ผู้ร่วมงาน วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย[1] และ ชุติมา วิธูรจิตต์[1]

5. บทคัดย่อ

สับปะรดและแก้วมังกรเป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ปัญหาสำคัญของการเก็บรักษาสับปะรดและแก้วมังกรในที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานานคือการสะท้านหนาว ในสับประรดอาการสะท้านหนาวจะเกิดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10°C โดยมีอาการเนื้อช้ำฉ่ำน้ำและเกิดสีน้ำตาล ส่วนแก้วมังกรจะเกิดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5°C โดยมีอาการเนื้อช้ำฉ่ำน้ำและเกิดสีขาวใส อาการบนผิวเปลือกจะเป็นแผ่นปื้นสีน้ำตาล Methyl Jasmonate (MJ) และ Methyl Salicylate (MS) เป็นสารที่ผลิตผลผลิตขึ้นเมื่อเกิดภาวะเครียด เช่นการเกิดโรคและการสะท้านหนาว ส่งผลทำให้ผลิตผลมีการเกิดโรคและสะท้านหนาวลดลง ดังนั้นจึงนำ MJ และ MS มาใช้เพื่อลดการสะท้านหนาวในสับปะรดและแก้วมังกร ดำเนินการทดลองที่กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่าง 2559-2561 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) การทดลองประกอบด้วย 5 กรรมวิธี 10 ซ้ำ กรรมวิธีควบคุม กรรมวิธีที่แช่สับปะรด/แก้วมังกรใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} 10^{-4} และ 10^{-3}M และ MS ความเข้มข้น 10^{-5} M ผลการทดลองพบว่า MJ และ MS ทุกความความเข้มข้นสามารถลดอาการสะท้านหนาวภายในผลทั้งสับปะรดและแก้วมังกรได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่สามารถลดอาการสะท้านหนาวของเปลือกผลแก้วมังกรได้ ส่วนอาการสะท้านหนาวที่เปลือกของสับปะรดไม่ปรากฏให้เห็นในทุกกรรมวิธี นอกจากนี้กรรมวิธีที่แช่ในสาร MJ และ MS ยังทำให้การรั่วไหลของประจุไฟฟ้าและการสูญเสียน้ำหนักของผลิตผลต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและยังช่วยชะลอกาเปลี่ยนแปลงค่าสีเขียวและสีแดง แต่ไม่มีผลต่อค่าความสว่าง ค่าสีเหลือง ความแน่นเนื้อ ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งในสับปะรดและแก้วมังกร MJ และ MS ทำให้แก้วมังกรมีวิตามินซีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมแต่ไม่มีผลต่อวิตามินซีของสับปะรด เมื่อคำนึงถึงค่าใช้จ่ายการแช่สับปะรดและแก้วมังกรในสาร MJ และ MS แนะนำให้แช่สารที่ความเข้มข้น 10^{-5} M เพราะค่าใช้จ่ายต่ำสุด ค่าใช้จ่ายสับปะรดผลละ 3.24 บาท และ 0.68 บาทตามลำดับส่วนแก้วมังกรผลละ 1.30 บาท และ 0.27 บาทตามลำดับ กลไกที่ลดอาการสะท้านหนาวทั้งในสับปะรดและแก้วมังกรคือสาร MJ และ MS ไปลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ PAL

คำหลัก: Methyl Jasmonate, Methyl Salicylate, อาการสะท้านหนาว, สับปะรด, แก้วมังกร

ABSTRACT

Pineapple and dragon fruits are the economic commodities of Thailand and the problems of them are chilling injuries when they are kept at low temperature for a long time. Chilling injury of pineapple occurs at 10 °C with the symptom of flesh water soaked and browning whereas chilling injury of dragon fruit occurs at 5 °C with the symptom of flesh water soaked , and translucent as well as rind patch browning. Methyl Jasmonate (MJ) and Methyl Salicylate (MS) are produced , when commodities are faced with stress condition such as disease and chilling injury, and caused reducing the stress symptoms. Therefore, MJ and MS are used to reduce chilling injury of pineapple and dragon fruits. The research was conducted at Post-harvest and Processing Research and Development Division between 2016 to 2018. The experiment was Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatments and 10 replications consisting of control, 10^{-5}, 10^{-4},10^{-3} M MJ and 10^{-5} M MS. The result showed that every concentration of MJ and MS could reduce internal chilling injury of both pineapple and dragon fruits. However , MJ and MS did not reduce rind patch browning of dragon fruit whereas the external chilling injury of pineapple was not noticed in every treatment. Furthermore, they reduced electrolyte leakage and water loss percentage. In addition, they delayed a* value but had no effect on L* and b* values, firmness, titratable acidity and total soluble solid content of both pineapple and dragon fruits. Dragon fruit treated with MJ and MS had more vitamin C than control but had no effect on pineapple. The proper concentrations of MJ and MS was 10^{-5} M since they were the lowest cost. The cost of MJ and MS treated pineapple was 3.24 and 0.68 Bahts/fruit, respectively whereas the dragon fruit cost was 1.30 and 0.2 Bahts/fruit, respectively. The mechanisms to reduce chilling injury of both pineapple and dragon fruits were to reduce PPO and PAL activities.

Keywords: Methyl Jasmonate, Methyl Salicylate, chilling injury, pineapple, dragon fruit

6.คำนำ สับปะรดและแก้วมังกร เป็นผลไม้ที่สำคัญทางเศรษฐกิจของไทย ปัญหาสำคัญของการเก็บรักษาสับปะรดและแก้วมังกรในที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานานคือการสะท้านหนาว การสะท้านหนาว หมายถึง การที่ผลิตผลแสดงอาการผิดปกติเมื่อสัมผัสอุณหภูมิต่ำแต่สูงกว่าจุดเยือกแข็ง อาการสะท้านหนาวเกิดได้ทั้งในต้นผลิตผลที่ยังเจริญเติบโตอยู่ในธรรมชาติและส่วนของผลิตผลที่เก็บเกี่ยวมาแล้ว มักเกิดขึ้นได้กับผลิตผลในเขตร้อนทุกชนิดหลายชนิดในเขตกึ่งร้อน และบางชนิดในเขตอบอุ่นหรือเขตหนาว ผลิตผลส่วนใหญ่จะแสดงอาการตายของเซลล์ที่ผิว ทำให้มีรอยบุ๋มหรือเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เนื่องจากเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนสภาพจากของเหลวเป็นของแข็งทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แข็งจึงควบคุมการเข้าออกของสารไม่ดีทำให้เกิดการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าและสารประกอบฟินอลสัมผัสกับเอนไซม์ polyphenoloxidase (Paull, 1994) ถ้าเป็นผลไม้อาจทำให้ผลไม้ไม่สุกและเกิดโรคได้ง่าย อาการสะท้านหนาวจะเกิดขึ้นมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาที่ผลิตผลสัมผัสกับอุณหภูมิต่ำ ถ้าอุณหภูมิต่ำ

มากและสัมผัสอยู่นานอาการก็จะเกิดขึ้นมาก แต่ถ้าอุณหภูมิไม่ต่ำมากและสัมผัสไม่นานอาการจะเกิดน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยทั้งภายในและภายนอกยังมีผลต่อการสะท้านหนาว เช่นเนื้อเยื่อต่างชนิดกันภายในต้นผลิตผลเดียวกัน ผลิตผลชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ เนื้อเยื่อชนิดเดียวกันแต่อายุไม่เท่ากัน เป็นต้น นอกจากนี้ความชื้นในอากาศต่ำหรือเกิดการสูญเสียน้ำมาก และสภาพแสงแดดแรงก็ทำให้อาการสะท้านหนาวมากขึ้น (จริงแท้, 2549) การสะท้านหนาวในสับปะรดเกิดเมื่อเก็บรักษาสับปะรดที่อุณหภูมิต่ำกว่า 13 °C (Dull, 1971) ส่วนแก้วมังกรจะเกิดเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5°C (Freitas and Mitcham, 2013) อาการสะท้านหนาวของสับปะรดโดยลักษณะภายนอกจะเป็นปกติแต่เนื้อผลภายในบริเวณใกล้แกนกลางของผลจะเกิดเป็นจุดฉ่ำน้ำก่อนแล้วจึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา หลังจากนั้นจะค่อยๆขยายออกรวมกันเป็นกลุ่มสีน้ำตาลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Dull, 1971) ส่วนอาการสะท้านหนาวของแก้วมังกรอาการภายนอกเปลือกจะเป็นแผ่นปื้นสีน้ำตาลและเนื้อผลจะเกิดเป็นบริเวณฉ่ำน้ำ ขาวใสและขยายขนาดเมื่อเวลานานขึ้น การเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดและแผ่นปื้นสีน้ำตาลของแก้วมังกร เกิดจากเซลล์ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมการเข้าออกของสารเสื่อมสภาพและเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟินอลภายหลังการเก็บเกี่ยวยังมีความสัมพันธ์กับอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรด (Paull and Rohrbach, 1985) โดยระดับของสารประกอบฟีนอลจะลดลงพร้อมกับการพัฒนาไส้สีน้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงของระดับไขมัน (ฤทัยรัตน์ และคณะ, 2555)

Methyl Jasmonate (MJ) เป็น ester ของกรดจัสโมนิคซึ่งเป็นสารประกอบในคลาส cyclopentanone จัดเป็นสารอินทรีย์ที่มีฤทธิ์ในการควบคุมการเจริญเติบโตของพืช และเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความต้านทานให้กับพืชเพื่อตอบสนองต่อสิ่งเร้าภายนอก เช่น บาดแผลการเข้าทำลายของโรคและแมลง ตลอดจนความเครียดต่างๆ (Cheong and Choi, 2003) MJ ช่วยลดอาการสะท้านหนาวในผลิตผลหลายชนิด เช่น ซุชินี (Wang and Buta, 1994), มะม่วง (Gonzalez-Aguilar *et al*., 2000), อาโวกาโด, เกรพฟรุท, พริกหวาน (Meir *et al*., 1996), มังคุด (Kondo *et al*., 2004), สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Nilprapruck *et al.,* 2008) และสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง (ฤทัยรัตน์ และคณะ, 2555) กลไกลของ MJ ในการลดอาการสะท้านหนาวคือ 1) เพิ่มปริมาณ absissic acid และ polyamine (Wang and Buta , 1994) โดย สารทั้งสองตัวนี้ช่วยให้ผลิตผลรักษาเยื่อหุมเซลล์ให้แข็งแรงมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเข้าออกของสาร 2) การชักนำให้สร้างเอนไซม์ต้านการออกซิเดชั่นและเพิ่มสัดส่วนการสร้างไขมันไม่อิ่มตัวต่อไขมันอิ่มตัวมากขึ้น (Cao *et al*., 2009) ซึ่งช่วยในการควบคุมการเข้าออกของสาร 3) มีบทบาทสำคัญในการส่งสัญญาณ (signal transduction cascade) ให้พืชสร้างสารที่ทนทานต่อการสะท้านหนาว (Meir *et al.,*1996) 4) การสะสมของ heat shock protein และ alternate oxidae gene เพื่อให้ผลิตผลทนทานต่อการสะท้านหนาว และ 5) เพิ่มปริมารวิตามินซี (Gonzalez-Aguilar *et al.* 2004) ส่งผลให้ผลิตผลต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น

Methyl Salicylate (MS) เป็น ester ของกรดซาลิกไซลิค กรดซาลิกไซลิคเป็นสารปะกอบฟินอลที่เป็นโมเลกุลที่ส่งสัญญาณ (signal molecule) เกี่ยวข้องกับการควบคุมการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืช และชักนำให้พืชสร้างสารต้านทานทางธรรมชาติ เมื่อพบความเครียดแบบชีวภาพ (biotic) และไม่ใช่ชีวภาพ (abiotic) มีการรายงานว่าช่วยลดอาการสะท้านหนาวในพืช (Wang *et al.,* 2006) มะเขือเทศ (Ding *et al*., 2002) และพริกหวาน (Fung et al., 2004) สารกลุ่มกรดซาลิกไซลิค จะชักนำให้ผลิตผล 1) สร้าง pathogenesis-related

protein (Malamy *et al.,* 1990) และสร้างความต้านทานทั้งระบบ (systemic acquired resistance) (Gaffney *et al.,* 1993) เมื่อได้รับความเครียดจากอุณหภูมิต่ำ และการระบาดของโรค และ 2) สร้างเอนไซม์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น เช่น superoxide dismutase (Wang *et al*., 2004)

นอกจากนี้มีรายงานว่า MJ และ MS ช่วยลดการสะท้านหนาวในพริกหวาน (Fung et al., 2004) มะเขือเทศ (Ding *et al.,* 2001) และทับทิม (Mirdehghan and Ghotbi, 2014) ดังนั้นจึงนำ MJ และ MSมาใช้โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดอาการสะท้านหนาวในสับปะรดและแก้วมังกร

7.วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์ ที่ใช้ในการทดลอง

ผลไม้ (สับปะรด แก้วมังกร) สารเคมี Methyl Salicylate และ Methyl Jasmonate ถังพลาสติก น้ำเปล่า ตะกร้าพลาสติก กระดาษหนังสือพิมพ์ กระดาษรองก้นตะกร้า หม้อนึ่งความดันไอ แท่งแก้ว และ ห้องเย็น

วิธีการ

1. การทดสอบประสิทธิภาพของ MJ และ MS ที่มีผลต่อการสะท้านหนาวของสับประรด

วิธีดำเนินการวิจัย วางแผนการทดลองแบบ (Completely Randomized Design, CRD) มี 5 กรรมวิธี 10 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least significant difference (Lsd) คัดเลือกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่มีขนาดและสีสม่ำเสมอ ทำความสะอาดโดยการเป่าลมด้วยเครื่องเป่าลมและแช่ใน chlorox 150 ppm ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นแช่ใน MJ และ MS ตามความเข้มข้นดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (น้ำ)

กรรมวิธีที่ 2 MJ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} M

กรรมวิธีที่ 3 MJ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-4} M

กรรมวิธีที่ 4 MJ ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-3} M

กรรมวิธีที่ 5 MS ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5} M

(การแช่ในสาร MJ และ MS จะผสม Tween 80 ความเข้มข้น 0.05 % ลงไปด้วยเพื่อช่วยให้การทำละลายดียิ่งขึ้นและช่วยใหสารซึมสู่ผลไม้ได้ง่ายขึ้น) เมื่อครบ 5 นาที นำสับปะรดออกจากสารละลาย MJ และ MS ผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและเก็บไว้ในตะกร้าพลาสติกที่อุณหภูมิ 10°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95% นาน 4 สัปดาห์ ทุกสัปดาห์นำสัปปะรดออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วันเพื่อตรวจเช็คคุณภาพดังต่อไปนี้

1). ดัชนีการสะท้านหนาวโดยการให้คะแนน ดัดแปลงจาก Nilprapruck *et al.* (2008) คะแนนการสะท้านหนาวในในสับปะรด 1=ไม่สะท้านหนาว, 2=1-25% ของพื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาล, 3=26-50% ของพื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาล , 4=51-75% ของพื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาล และ5=76-100% ของพื้นที่ที่เกิดสีน้ำตาล

2).วัดการรั่วไหลของประจุ (electrolyte leakage) ดัดแปลงจาก Nilprapruck *et al.* (2008) โดยใช้คอร์กบอเร่อ เบอร์ 3 เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตรเจาะชิ้นสับประรด จำนวน 12 ชิ้น ยาวชิ้นละ 1 เซนติเมตร หรือประมาณ 3 กรัม แช่ชิ้นสับประรดในฟลาส ที่บรรจุแมนนิทอลความเข้มข้น 0.4 M ปริมาณ 50 มิลลิลิตร บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องสั่นด้วยความเร็วรอบ 125 รอบ/นาที นาน 2.50 ชั่วโมง วัดการนำไฟฟ้าเริ่มแรกด้วยเครื่องวัดการนำไฟฟ้า Eutech Con 700 จากนั้นนำตัวอย่างไปออโต้เคลฟที่ อุณหภูมิ 121° C นาน 30 นาที

ปล่อยให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดการนำไฟฟ้าครั้งที่ 2

$$\text{การรั่วไหลของประจุไฟฟ้า} = \frac{\text{การนำไฟฟ้าเริ่มแรก}}{\text{การนำไฟฟ้าครั้งที่ 2}} \times 100$$

3). เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก

$$\text{การสูญเสียน้ำหนัก (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา - น้ำหนักหลังการเก็บรักษา}}{\text{น้ำหนักก่อนเก็บรักษา}} \times 100$$

4). ความแน่นเนื้อวัดด้วยเครื่อง Chatilon force gauge รุ่น 10 LBF AMETEK ประเทศสหรัฐอเมริกา ใช้หัวสามเหลี่ยม กดลงบนเนื้อผลลึก 2 มิลลิเมตร ในสับประรด ผ่าซีกสับประรดเป็น 2 ส่วนและวัดบริเวณส่วนกลางผล 2 จุด ห่างจากเปลือกข้างละ 1 นิ้ว ในแก้วมังกร หลังปอกเปลือกวัดส่วนกลางผลบริเวณหัว กลาง และท้าย ค่าที่อ่านได้มีหน่วยวัดเป็น นิวตัน

5). การเปลี่ยนแปลงสี วัดสีด้วยเครื่อง MiniScan EZ ประเทศสหรัฐอเมริกา

ค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100

0 = สีดำ 100 = สีขาว ถ้าค่า L ต่ำ แสดงว่าสีเข้ม ถ้า L สูงแสดงว่าสว่างมาก

ค่า a เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงสี ในช่วง สีเขียว - แดง

a เป็น – แสดงว่า เป็นสีเขียว ค่า a เป็น + แสดงว่าเป็นสีแดง

ค่า b เป็นค่าที่รายงานถึงการเปลี่ยนแปลงสีในช่วง สีน้ำเงิน - เหลือง

b เป็น – แสดงว่า เป็นสีน้ำเงิน ค่า b เป็น + แสดงว่าเป็นสีเหลือง

ในสับประรดวัดสีเนื้อด้านในผลโดยผ่าซีกเป็น 2 ส่วนวัดบริเวณตรงจุดกึ่งกลางผล ในแก้วมังกรวัดสีเปลือกด้านนอกผลโดยวัดบริเวณส่วนกลางผล 2 จุดที่ตรงกันข้าม

6). ปริมาณวิตามินซี นำน้ำคั้นผลไม้มาทำการไตเตรทกับ 2, 6 dicholoraindophenol และ $NaHCO_3$ หน่วยวัดเป็น วิตามินซี/100 มิลลิลิตร

$$\text{ปริมาณวิตามินซี} = \frac{\text{ค่าที่ไตเตรทได้}}{\text{ค่า standard}} \times 100$$

7). ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (TA) นำน้ำคั้นผลไม้มาทำการไตเตรท กับ 0.1N NaOH หน่วยวัดที่ได้เป็น กรัม/ลิตร กรดซิตริก

$$\text{ปริมาณกรด} = \frac{\text{ค่าที่ไตเตรทได้} \times 0.3202}{\text{ปริมาณตัวอย่าง}}$$

8). ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยการหยดน้ำคั้นจากผลไม้ลงบนเครื่อง Digital Refractometer ยี่ห้อ Atago รุ่น 10 PAL ประเทศญี่ปุ่น ค่าที่อ่านได้มีหน่วยวัดเป็น องศาบริกซ์

2. ศึกษากลไกลการสะท้านหนาวโดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) **และ phenyl alanine ammonialyase** (PAL) **ของสับประรด**

2.1 วัดกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) วิธีการสกัดตัวอย่างดัดแปลงตามวิธีของ Jiang (1999) 1 กรัมเนื้อผลไม้ปั่นผสมกับ 10 มิลลิลิตร 0.1 M sodium phosphate buffer (pH 6.4) ซึ่ง

ประกอบด้วย 1 % polyvinylpyrrolidone (PVP) เก็บไว้ 1 คืนที่ 4°C แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 4 °C ความเร็ว 4,010 X g นาน 30 นาทีเก็บส่วนบน (supernatant) เพื่อทำเอนไซม์เอกเซย์และเก็บรักษาที่ -80°Cจนกว่าจะนำมาใช้ การทำเอนไซม์เอกเซย์นำ 50 ไมโครลิตรเอนไซม์ ผสมกับ 3 มิลลิลิตร ของสารละลายปฏิกิริยา (reaction mixture) ซึ่งประกอบด้วย 0.1 M pyrocatechol ใน 0.1 M sodium phosphate buffer pH 6.4 อ่านค่าการดูดแสงที่ 400 nm นาน 3 นาที การหาปริมาณโปรตีนทำตามวิธีของ Bradford (1976) 1 ยูนิตกิจกรรมเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงการดูดแสง 0.01 ยูนิตต่อนาทีต่อมิลลิกรัมโปรตีน

2.2. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ phenyl alanine ammonialyase (PAL) วิธีการสกัดตัวอย่างดัดแปลงตามวิธีของ Yao and Tian (2005) 10 กรัมผลไม้ปั่นผสมกับ 25 มิลลิลิตร 0.05 M sodium borate buffer (pH 8.8) ซึ่งประกอบด้วย 0.5 กรัม PVPP 5 Mm β mercaptoethanol แล้วนำมาหมุนเหวี่ยงที่ 4 °C ความเร็ว 27,000 X g นาน 40 นาทีเก็บส่วนบน (supernatant) เพื่อทำเอนไซม์เอกเซย์และเก็บรักษาที่-80°C จนกว่าจะนำมาใช้ การทำเอนไซม์เอกเซย์นำ 1 มิลลิลิตรเอนไซม์ผสมกับ 2 มิลลิลิตร 50 mM sodium borate buffer (pH 8.8)และ 1 มิลลิลิตร 20 mM L-phenylalanine บ่มไว้ 60 นาทีที่ 37 °C เติม 1 มิลลิลิตร 1 M HCl เพื่อหยุดปฏิกิริยา นำไปอ่านค่าการดูดแสงที่ 290 nm การหาปริมาณโปรตีนทำตามวิธีของ Bradford (1976) 1 ยูนิตกิจกรรมเท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้มีการเกิด nmol cinnamic acid ต่อนาทีต่อมก.โปรตีน

3. การทดสอบประสิทธิภาพของ MJ และ MS ที่มีผลต่อการสะท้านหนาวของแก้วมังกร การดำเนินการเหมือนข้อ 1 แต่เก็บรักษาที่ ที่อุณหภูมิ 5°C ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90-95%

ดัชนีการสะท้านหนาวในแก้วมังกรบนสีเปลือกด้านนอกและภายในเนื้อผล 1=ไม่สะท้านหนาว, 2=1-10 %ของพื้นที่ที่เกิดแผ่นปื้นสีน้ำตาลหรือเนื้อขาวใส, 3=11-20% ของพื้นที่ที่เกิดแผ่นปื้นสีน้ำตาลหรือเนื้อขาวใส, 4=21-30% ของพื้นที่ที่เกิดแผ่นปื้นสีน้ำตาลหรือเนื้อขาวใส, 5=31-40% ของพื้นที่ที่เกิดแผ่นปื้นสีน้ำตาลหรือเนื้อขาวใส และ 6=มากกว่า 40 % ของพื้นที่ที่เกิดแผ่นปื้นสีน้ำตาลหรือเนื้อขาวใส

4. ศึกษากลไกลการสะท้านหนาวโดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) **และ phenyl alanine ammonialyase** (PAL) **ของแก้วมังกรการดำเนินการเหมือนข้อ 2**

ระยะเวลา 1 ตุลาคม 2553 - 30 กันยายน 2558

สถานที่ดำเนินการ สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผล เกษตร

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การทดสอบประสิทธิภาพของ MJ และ MS ที่มีผลต่อการสะท้านหนาวของสับปะรด

<u>ดัชนีการสะท้านหนาว</u> อาการสะท้านหนาวภายนอกของสับปะรดไม่ปรากฏให้เห็นในทุกกรรมวิธีแต่อาการสะท้านหนาวภายในผลของสับปะรดเริ่มเกิดเมื่อ 21 วันหลังการเก็บรักษาโดยกรรมวิธีที่แช่ใน MJ ที่ความเข้มข้น 10^{-4} และ 10^{-3} M เกิดอาการสะท้านหนาวต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ลักษณะภายนอกเปลือกมีอาการปกติ แต่เนื้อผลภายในบริเวณใกล้แกนกลางของผลจะเกิดเป็นจุดหรือรอยแผลฉ่ำน้ำ เมื่อ 28 วันหลังการเก็บรักษาอาการสะท้านหนาวเกิดมากขึ้นและแกนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรรมวิธีควบคุมมี

อาการสะท้านหนาวสูงกว่ากรรมวิธีแช่ด้วย MJ และ MS อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 1 และ 13) แสดงว่า MJ และ MS ช่วยลดอาการสะท้านหนาวในสับปะรดได้ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Nilprapruck *et al.*,2008) และตราดสีทอง (ฤทัยรัตน์ และคณะ 2555) พริกหวาน (Fung *et al.*, 2004), มะเขือเทศ (Ding *et al.*, 2001 2002,และ Sheng, 2011) มะม่วง (Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2000, Gonzalez-Aguilar *et al.*, 2001 และ Junmatong *et al.*, 2012) ทับทิม (Sayyari *et al.*,2009., และ Mirdehghan and Ghotbi ,2014) และอาโวกาโด (Glowacz et al., 2017) Nilprapruck *et al.* (2008) รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} 10^{-4}และ 10^{-3} M มีอาการสะท้านหนาวต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม ฤทัยรัตน์ และคณะ (2555) รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-2} M นาน 5 นาที มีอาการสะท้านหนาวต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม Ding *et al.* (2001) รายงานว่าการรมมะเขือเทศด้วย MJ และ MS ด้วยความเข้มข้น 0.01 mM นาน 16 ชั่วโมงสามารถลดอาการสะท้านหนาวเมื่อเก็บรักษาที่ 5°C นาน 4 สัปดาห์ ได้โดยทำให้มีการสะสมของ transcript heat shock protein 70 family ซึ่ง heat shock protein นี้จะทำให้มะเขือเทศทนทานต่อการสะท้านหนาว นอกจากนี้ Ding *et al.* (2002) ยังพบว่า MJ และ MS ความเข้มข้น 0.01 mM ช่วยชักนำให้มะเชือเทศสร้าง pathogenesis related protein ซึ่งโปรตีนชนิดนี้ทำให้มะเขือเทศทนทานต่ออุณหภูมิต่ำของห้องเก็บรักษา นอกจากนี้ Sheng (2011) ยังพบว่ามะเขือเทศเชอร์รี่ทนทานต่ออุณหภูมิต่ำเพราะ MS ชักนำให้เกิดการสะสมของ polyamine ซึ่งมีบทบาททำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสถียรและรักษาเยื่อหุ้มเซลล์ให้แข็งแรง Junmatong *et al.*(2012) พบว่ามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์สี่ที่แช่ในกรดซาลิกไซลิค และ MJ ความเข้มข้น 0.1 และ 1 mM นาน 10 นาทีและเก็บรักษาที่ 5±1°C ความชื้นสัมพัทธ์ 90±2 % มีอาการสะท้านหนาวลดลงเพราะ 1) กรดซาลิกไซลิค และ MJ ลดปฏิกิริยาเพอร์รอกซิเดชั่นของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และรักษาหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์อย่างดี (maintain membrane integrity) ทำให้สามารถควบคุมการเข้าออกของสารได้ 2) ยังกระตุ้นให้ผลิตผลสร้างระบบภูมิคุ้มกันต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (antioxidative defense system) จากอณุมูลอิสระ เช่น การสร้างเอนไซม์ catalase, ascorbate peroxidase, superoxide dismutase, guaiacol peroxidase และ glutathione reductase นอกจากนี้ Mirdehghan and Ghotbi (2014) รายงานว่าทับทิมที่แช่ในกรดจัสโมนิคความเข้มข้น 0.3 และ 0.4 mM และกรดซาลิกไซลิค ความเข้มข้น 1 และ 2 mM นาน 5 นาที มีอาการสะท้านหนาวลดลงเมื่อเก็บรักษาที่ 1.5 ±0.5 °C ความชื้นสัมพัทธ์ 85±5 % นาน 2 เดือน โดยกรดจัสโมนิคและกรดซาลิกไซลิคชักนำให้มีการสะสมของ heat shock protein และ เอนไซม์ที่ต้านการอ็อกซิเดชั่น เช่น catalase และ superoxide dimutase Glowacz *et al.*(2017) พบว่า อาโวกาโดที่รมด้วย MJ และ MS ความเข้มข้น 100 µmol/l มีอาการสะท้านหนาวลดลงเพราะ MJ และ MS 1) เปลียนองค์ประกอบของกรดไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ 2) ลดการแสดงออกของ lipoxygenase ยีน 3) ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ lipoxygenase จึงทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แข็งแรง

<u>การรั่วไหลของประจุไฟฟ้า</u> การรั่วไหลของประจุไฟฟ้าเป็นดัชนีวัดความเสื่อมสภาพของเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อวันที่ 0 และ 7 วัน หลังการเก็บรักษา การรั่วไหลของประจุไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี เมื่อ 14, 21 และ 28 วัน หลังการเก็บรักษา กรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 2) แสดงว่า MJ และ MS ช่วยทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แข็งแรงจึงมีการรั่วไหลของ

ประจุไฟฟ้าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในสับปะรด (Nilprapruck *et al*., 2008) มะม่วง (Gonzalez-Aguilar *et al*., 2001 และ Junmatong *et al*., 2012) พีช (Meng *et al*., 2009) และทับทิม (Sayyari *et al.,*2009) Nilprapruck *et al.* (2008) รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} และ 10^{-3} M นาน 5 นาทีมีการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม Meng *et al*. (2009) พบว่า MJ ช่วยลดการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าในพีช Junmatong *et al*. (2012) รายงานว่ามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้เบอร์ 4 มีการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมเมื่อแช่ในกรดซาลิกไซลิค ที่ความเข้มข้น 0.1 mM และ 1mM และ MJ 0.1 mM นาน 10 นาทีเนื่องจากกรดซาลิกไซลิค และ MJ ลดปฏิกิริยาเพอร์รอกซิเดชั่นของกรดไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เยื่อหุ้มเซสส์แข็งแรงสามารถควบคุมการเข้าออกของสารได้ดี

<u>เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก</u> สอดคล้องกับการรั่วไหลของประจุไฟฟ้า กรรมวิธีที่แช่สับปะรดใน MJ และ MS ทุกความเข้มข้นมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 3) อาจจะเป็นเพราะ MJ และ MS ช่วยให้เยื่อหุ้มเซลล์และเซลล์วอลแข็งแรง จึงควบคุมการเข้าออกของน้ำได้ดีจึงมีการสูญเสียน้ำหนักน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Nilprapruck *et al.,* 2008) และกีวี (Aghdam *et al*.,2011) Nilprapruck *et al.,* (2008) รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} 10^{-4} และ 10^{-3} M มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม Aghdam *et al*.(2011) พบว่ากีวีที่รมด้วย MS ที่ความเข้มข้น 8 16 24 และ 32 µl/l นาน 16 ชั้วโมงมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม เพราะ MS ไปยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลล์วอลดังนั้นจึงทำให้เซลล์วอลแข็งแรงควบคุมการเข้าออกของน้ำได้ดีจึงสูญเสียน้ำน้อย

<u>ความแน่นเนื้อ</u> พบว่าไม่มีความแตต่างทางสถิติ ยกเว้นวันที่ 14 ของการเก็บรักษาโดยกรรมวิธีที่แช่ใน MS ความเข้มข้น 10^{-5} M มีความแน่นเนื้อสูงกว่ากรรมวิธีอื่น (Figure 4)

<u>การวัดสี ค่าความสว่าง (Lightness) ค่า a* และค่า b*</u> พบว่าค่าความสว่าง (L) และค่าสีเหลือง (b*) ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 5 และ7) ส่วนค่า a มีค่าเป็น- แสดงว่าเป็นสีเขียวพบว่าไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ยกเว้นวันที่ 21 หลังเก็บรักษากรรมวิธีที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} 10^{-3} M และ MS 10^{-5} M มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-4} (Figure 6) หมายถึง MJ และ MS ช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีเขียว

<u>วิตามินซี</u> พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 8) ซึ่งสอดคล้องกับการรายที่พบในทับทิม (Mirdehghan and Ghotbi (2014)

<u>ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้</u> พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 9) ซึ่งมีค่าอยู่ที่ 0.38 - 0.56 g/l กรดซิตริค ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย (Nilprapruck *et al*., 2008) มะม่วง (Gonzalez-Aguilar *et al*.,2000) และ ทับทิม (Mirdehghan and Ghotbi (2014)

<u>ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้</u> พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ยกเว้น 21วัน หลังเก็บรักษา พบว่ากรรมวิธีที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-5} M มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 10) สอดคล้องกับการรายงานที่พบในมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins (Gonzalez-Aguilar *et al*., 2000) Gonzalez-Aguilar *et al*.(2000) พบว่ามะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins ที่รม

ด้วย MJ ความเข้มข้น 10^{-4}M ที่อุณหภูมิ 25 °C นาน 24 ชั่วโมงมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม

2. ศึกษากลไกการสะท้านหนาวโดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) **และ phenylalanine ammonialyase** (PAL)**ของสับปะรด**

2.1. <u>กิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase</u> (PPO)

เมื่อ 14 และ 21 วัน หลังการเก็บรักษา พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่เมื่อ 28 วัน หลังการเก็บรักษา พบว่าเกิดอาการสะท้านหนาวรุนแรงขึ้นและพบว่ากรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 11) แสดงว่า MJ และ MS ลดอาการสะท้านหนาวโดยยับยั้งการสร้างเอนไซม์ PPO กรรมวิธีควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ 0.4400 ยูนิต ขณะที่กรรมวิธีที่แช่ใน MJ ที่ความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-4} และ 10^{-3} M และ MS ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M มีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ 0.1748, 0.1296, 0.0915 และ 0.1742 ยูนิต ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง (ฤทัยรัตน์ และคณะ, 2555) พีช (Jin *et al* ., 2009) และลองกอง (คาร์ติคันและมุทิตา , 2555) ฤทัยรัตน์ และคณะ (2555) รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-2} และ 10^{-3} M มีกิจกรรมของเอนไซม์ (PPO) ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

2.2. <u>กิจกรรมของเอนไซม์ phenylalanine ammonialyase</u> (PAL**)**

กิจกรรมของเอนไซม์ PAL สอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เมื่อ 14 และ 21 วัน หลังการเก็บรักษา เอนไซม์ PAL มีกิจกรรมไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่เมื่อ 28 วัน หลังการเก็บรักษา พบว่าอาการสะท้านหนาวเกิดรุนแรงขึ้นและพบว่ากรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 12) แสดงว่า MJ และ MS ลดอาการสะท้านหนาวโดยยับยั้งการสร้าเอนไซม์ PALโดยกรรมวิธีควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์ 87.59 ยูนิต ขณะที่กรรมวิธีที่แช่ MJ ที่ความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-4} และ 10^{-3} M และ MS ที่ความเข้มข้น 10^{-5} M มีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ 46.70, 54.01, 39.00 และ 51.69 ยูนิตซึ่งสอดคล้องกับการรายงานที่พบในลองกอง (คาร์ติคันและมุทิตา , 2555) คาร์ติคันและมุทิตา (2555) รายงานว่าลองกองที่รมด้วย MJ ที่ความเข้มข้น 10 20 และ 30 μM/l นาน 24 ชั่วโมงช่วยลดอาการสะท้านหนาวของลองกองโดยทำให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ PAL ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3. การทดสอบประสิทธิภาพของ MJ และ MS ที่มีผลต่อการสะท้านหนาวของแก้วมังกร

<u>ดัชนีการสะท้านหนาว</u> ดัชนีการสะท้ารหนาวที่เปลือกด้านนอกเริ่มเกิดเมื่อวันที่ 21 หลังเก็บรักษาโดยมีอาการเป็นแผ่นปื้นสีน้ำตาล กระจายอยู่ทั่วผล ผลการทดลองพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 14) แสดงว่า MJ และ MS ไม่สามารถลดการเกิดการสะท้านหนาวที่เปลือกได้ ส่วนดัชนีการสะท้านหนาวที่ในผลพบอาการครั้งแรกเมื่อ 14 วันหลังเก็บรักษาโดยแสดงอาการฉ่ำน้ำเนื้อขาวใส การสะท้านหนาวในเนื้อผลจะอ่อนไหวต่ออุณหภูมิต่ำได้มากกว่าเปลือก ผลการทดลองพบว่ากรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีอาการสะท้านหนาวต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 15 และ 27) แสดงว่า MJ และ MS สามารถลดอาการสะท้านหนาวในเนื้อผลได้เช่นเดียวกับสับปะรด

<u>การรั่วไหลของประจุไฟฟ้า</u> พบว่าสอดคล้องกับอาการสะท้านหนาวที่เนื้อผล โดยกรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวันที่ 14 และ 21 วันหลังเก็บรักษาแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อ 0 7 และ 28 วันหลังเก็บรักษา (Figure 16)

<u>เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนัก</u> สอดคล้องกับดัชนีการสะท้านหนาวภายในผลและการรั่วไหลของประจุไฟฟ้า เมื่อวันที่ 21 และ 28 วันหลังเก็บรักษา กรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ 7 และ 14 วันหลังเก็บรักษาไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 17)

<u>ความแน่นเนื้อ</u> พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี **(Figure 18)**

<u>การวัดสี ค่าความสว่าง (Lightness) ค่า a* และค่า b*</u> ค่าความสว่าง และค่าสีเหลืองไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 19 และ 21) ส่วนค่าสีแดงพบว่าไม่มีความแตต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธียกเว้นวันที่ 21 หลังเก็บรักษา โดยกรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ **(Figure 20)** แสดงว่า MJ และMS สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงสีแดง

<u>วิตามินซี</u> กรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีค่าสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Figure 22) ดังนั้นกรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมส่งผลให้มีการสะท้านหนาวภายในผลต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมสอดคล้องกับการรายงานของฤทัยรัตน์ และคณะ (2555) พบว่าสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-2} M มีวิตามินซีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุม ส่งผลให้เอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) มีกิจกรรมต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมและมีอาการไส้สีน้ำตาลต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุม Gonzalez-Aguilar *et al.* (2004) รายงานว่า MJ ช่วยให้ฝรั่งมีวิตามินซีเพิ่มขึ้นส่งผลให้อาการสะท้านหนาวลดลง Aghdam *et al*.,2011พบว่ากีวีที่รมด้วย MS ที่ความเข้มข้น 8 16 24 และ 32 µl/l นาน 16 ชั่วโมงมีวิตามินซีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมและทำให้มีคุณสมบัติต้านการออกซิเดชั่น

<u>ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้</u> พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธียกเว้น วันเริ่มต้นของการเก็บรักษาพบว่ากรรมวิธีควบคุมและกรรมอื่นที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น 10^{-3} และ 10^{-2} M มีค่าต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น (Figure 23)

<u>ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้</u> ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี (Figure 24) สอดคล้องกับการรายงาน ของ Nilprapruck *et al*. (2008) ที่รายงานว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ไม่แตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีที่แช่ใน MJ และกรรมวิธีควบคุม

4. ศึกษากลไกการสะท้านหนาวโดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) **และ phenylalanine ammonialyase** (PAL)**ของแก้วมังกร**

4.1. <u>กิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase</u> (PPO) เมื่อ วันที่ 14 และ 21 วันหลังเก็บรักษา พบว่า กรรมวิธีที่แช่ใน MJ และ MS มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับอาการสะท้านหนาวแสดงว่า MJ และ MS สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ได้แต่เมื่อ 28 วันหลังเก็บรักษากรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น10^{-5} M มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่น

(Figure 25) อาจจะเป็นเพราะกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่แช่ใน MJ ความเข้มข้น10^{-5} M มีการสลายตัว (turn over) เนื่องจากวันที่ 14 และ 21 มีกิจกรรมสูงแล้ว

4.1. <u>กิจกรรมของเอนไซม์</u> Phenylalanine Amonia Lyase (PAL) วันที่ 14 และ 21 หลังเก็บรักษา พบว่ากรรมวิธีที่แช่ใน MJ 10^{-4} 10^{-5} M และ MS 10^{-5} M มีกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแสดงว่า MJ และ MS สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ได้สอดคล้องกับอาการสะท้านหนาว วันที่ 28 หลังเก็บรักษาพบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกรรมวิธี(Figure 26)

สรุปผลการทดลอง

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของ MJ และ MS ที่ช่วยลดอาการสะท้านหนาวในสับปะรดและแก้วมังกรคือ 10^{-5} M โดยค่าใช้จ่ายในการแช่ MJ และ MS ของสับปะรดผลละ 3.24 บาท และ 0.68 บาทตามลำดับ ส่วนแก้วมังกรมีค่าใช้จ่ายการแช่ MJ และ MS ผลละ 1.30 บาท และ 0.27 บาทตามลำดับ นอกจากนี้ MJ และ MS ยังช่วยให้มีการรั่วไหลของประจุไฟฟ้าและเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่ากรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีเขียวและสีแดงแต่ไม่มีผลต่อค่าความสว่าง สีเหลือง ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ แก้วมังกรที่แช่ใน MJ และ MS มีวิตามินซีสูงกว่ากรรมวิธีควบคุมแต่ไม่มีผลต่อสับปะรด

2. MJ และ MS มีกลไกการลดอาการสะท้านหนาวโดยลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ PALทั้งในสับประรดและแก้วมังกร

3. MJ และ MS ไม่สามารถลดอาการสะท้านหนาวภายนอกของแก้วมังกรได้

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ สามารถแนะนำให้เกษตรกร/ผู้ประกอบการนำไปใช้ได้

11. คำขอบคุณ ขอขอบคุณ นางสาวนุจรี เพลาและนายวรพัฒน์ มงคลกาวิล ที่ช่วยปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการและเตรียมต้นฉบับนี้

12. เอกสารอ้างอิง

จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวายของพืช. พิมพ์ครั้งที่ 1. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนนครปฐม.453 หน้า.

คาร์ติคายัน เวลคาร์ชาลัมและมุทิตา มีนุ่น 2555.ผลของเมทิลจัสโมเนทต่อการลดอาการสะท้านหนาวของผลลองกองระหว่างการเก็บรักษา ว.วิทย.กษ. 43 (3) : 423-426.

ฤทัยรัตน์ ทันตวิวัฒนา ศิริชัย กัลยาณรัตน์ ชัยรัตน์ เตชวุฒิพร เฉลิมชัย วงษ์อารี และพนิดา บุญฤทธิ์ธงไชย 2555 ผลของการใช้เมทิลจัสโมเนทต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและการเกิด อาการไส้น้ำตาลของสับปะรด ว. วิทย.กษ. 43 : 3 (พิเศษ) : 396-399

Aghdam, M.S., A. Motallebiazar, Y. Mostofi, J.F. Moghaddam, and M. Ghasemnezhad.2011. Methyl salicylate affects the quality of Hayward kiwifruits during storage at low temperature. J. Agri. Sci. 3(2) : 149-156

Bradford, M.M. 1976. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quanties of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem. 72 : 248-254

Cao, S., Y. Zheng, K. Wang, P. Jin, and H. Rui. 2009. Methyl jasmonate reduce chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit. Food Chem. 115 : 1458-1463

Cheong, J. and Y.D. Choi. 2003. Methyl jasmonate as a vital substance in plants. Trend in Genetics 19 : 409-413.

Ding, C.K., C.Y. Wang, K.C. Gross, and D.L. Smith. 2001. Reduction of chilling injury and transcript accumulation of heat shock proteins in tomato fruit by methyl jasmonate and methyl salicylate. Plant Sci. 161 : 1153-1159

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

Dull, G.G. 1971. The pineapple pp 303-324. In A.C. Hulme (ed.). The biochemistry of fruits and their products. Vol. 2. Academic Press New York

Fung, R.W.M., C.Y. Wang, D.L. Smith, K.C. Gross, and M. Tian. 2004. MeSA and MeJA increase steady-state transcript levels of alternative oxidase and resistance against chilling injury in sweet peppers (*Capsicum annuum* L.) Plant. Sci. 166 : 711-719

Freitas, S.T., and E.J. Mitcham. 2013. Quality of pitaya fruit (*Hylocereus undatus*) as influenced by storage temperature and packaging Sci. Agric. 70 (4) : 257-262.

Gaffney, T., L. Friedrich, B. Vernooij, D. Negrotto, G. Nye, S. Uknes, E. Ward, H. Kessmann, and J. Ryals. 1993. Requirement of salicylic acid for the induction of system acquired resistance.Sci. 261 : 754-756.

Glowacz, M., M. Bill, P.P. Tinyane and D. Sivakumar. 2017. Maintaining postharvest quality of cold stored Hass avocados by altering the fatty acids content and composition with the use of natural volatile compounds-methyl jasmonate and methyl salicylate. J. Sci.Food Agric. 97(15) ; 5186-5193.

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

Gonzalez-Aguilar, G.A., J.G. Buta and C.Y. Wang. 2001.Methyl jasmonate reduces chilling injury symptoms and enhances colour development of "Kent" mango. J. Sci. Food. Agric 81: 1244-1249

Gonzalez-Aguilar, G.A., M.E.Tiznado-Hernandez, R. Zavaleta-Gatica, and M.A. Martinez-Tellez. 2004. Methyl jasmonate treatments reduce chilling injury and activate the defense response of guava fruits. Biochem. Biophys.Res. Commun. 313 : 694-701

Jiang, Y.M. 1999. Purification and some properties of polyphenol oxidase of longan fruit. Food Chem. 66 : 75-79

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

Junmatong, C., J. Uthaibutra, D. Boonyakiat, B. Faiyue, and K. Saengnil. 2012. reduction of Chilling injury of "Nam Dok Mai No 4" mango fruit by treatments with salicylic acid and methyl jasmonate. J. Agric. Sci. 4 (10) : 126-136.

Kondo, S., A. Jitratham, M. Kittikorn, and S.Kanlayanarat. 2004. Relationships between jasmonates and chilling injury in mangosteens are affected by spermine. Hort. Sci. 39 : 1346-1348

Malamy, J., J.P. Carr, D.F. Klessig, and I. Raskin. 1990.Salicylic acid : a likely endogenous signal in the resistance response of tobacco to viral infection. Sci. 250 : 1002-1004

Meir, S., S. Philosoph-Hadas, S. Lurie, S. Droby, M. Akerman, G. Zauberman, B.Shapiro, E. Cohen, and Y. Fuchs. 1996. Reduction of chilling injury in stored avocado, grapefruit and bell pepper by methyl jasmonate. Can. J. Bot. 74 : 870-874

Meng, X., J. Han, Q. Wang. .and S. Tian. 2009. Changes in physiology and quality of peach fruit treated by methyl jasmonate under low temperature stress. Food Chem. 114 : 1028-1035.

Mirdehghan, S.H. and F. Ghotbi. 2014. Effects of salicylic acid, jasmonic acid and calcium chloride on reducing chilling injury of pomegranate (*Punica granatum* L.) fruit. J. Agr. Sci. Tech. 16 : 163-173

Nilprapruck, P., N. Pradisthakarn, F. Authanithee, and P. Keebjan. 2008. Effect of exogenous Methyl Jasmonate on chilling injury and quality of pineapple (*Ananas comosus* L.) cv. Pattavia Silpakorn U Science & Tech J. 2 (2) : 33-42.

Paull, R.E. 1994. Chilling injury of crops of tropical and subtropical origin. In Chilling Injury of Horticultural Crops (Wang, G.Y., ed) pp17-36. CRC Press, Florida

Paull, R.E. and K.G. Rohrbach. 1985.Symptom development of chilling injury in pineapple fruit. J. Am. Soc. Hort. Sci 110 : 100-105

Sayyari, M., M. Babalar, S. Kalantari, M. Serrano, and D. Valero. 2009. Effect of salicylic acid treatment on reducing chilling injury in stored pomegranates.Postharvest Biol. Technol. 53 : 152-154

Sheng, J.P. 2011 Effect of methyl salicylate on chilling injury and endogenous polyamine in postharvest cherry tomato fruit. Food Sci.32(20) : 286-289

Wang, C.Y. and G. Buta, 1994. Methyl jasmonate reduce chilling injury in *Cucurbita pepo* through its regulation of abscisic acid and polyamine levels. Environ. Exp. Bot. 43 : 427-432

Wang, Y.S., J. Wang, Z.M. Yang, Q.Y. Wang, B. Lu, S.Q. Li, Y.P. Lu, S.H. Wang, and X. Sun. 2004. Salicylic acid modulates aluminum-induced oxidative stress in root of *Cassia tora*. Acta. Bot. Sin. 46 : 819-828

Wang, L., S. Chen, W. Kong, S. Li, and D.D. Archbold. 2006. Salicylic acid pretreatment alleviates chilling injury andaffects the antioxidant system and heat shock protein of peaches during cold storage. Postharvest.Biol. Techol.41 : 244-251

Yao, H and S. Tian. 2005. Effect of pre- and post- harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biol. Tech. 35: 253-262.

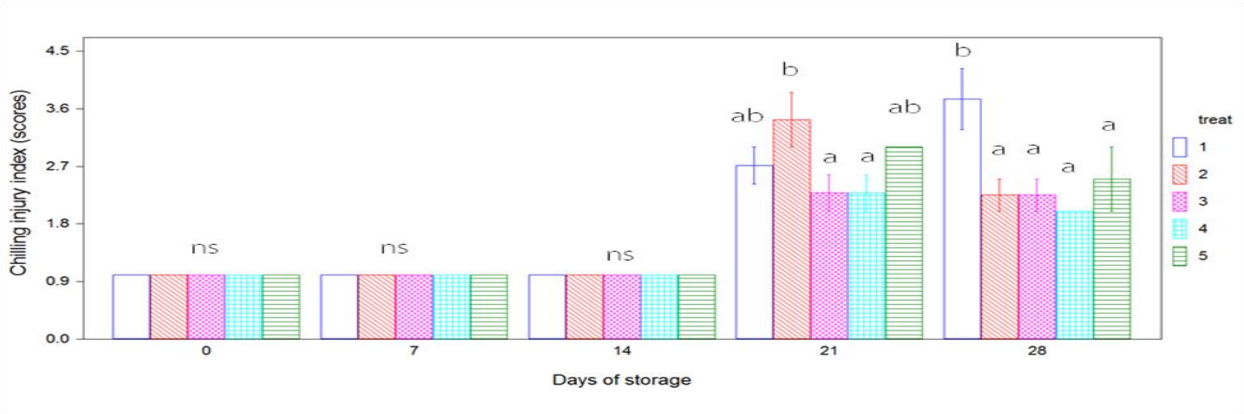

Figure 1. Chilling injury index of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS).The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

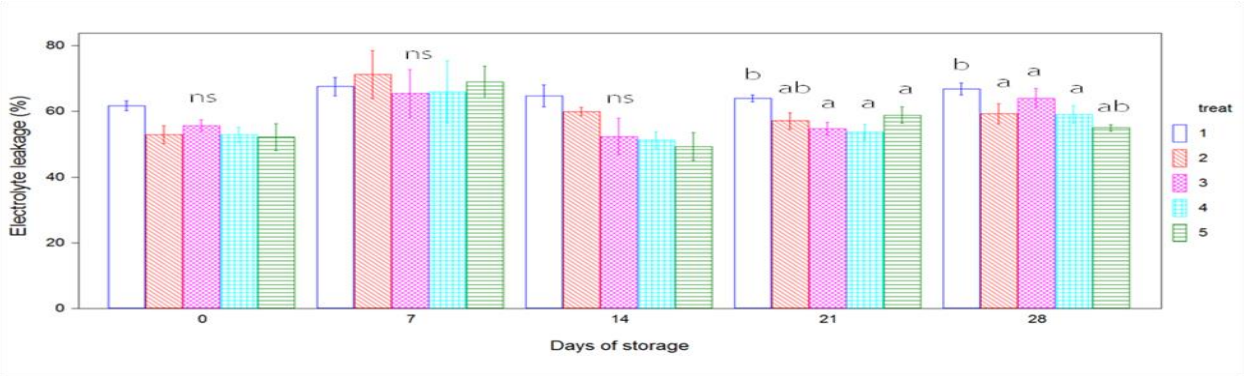

Figure 2. Electrolyte leakage of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

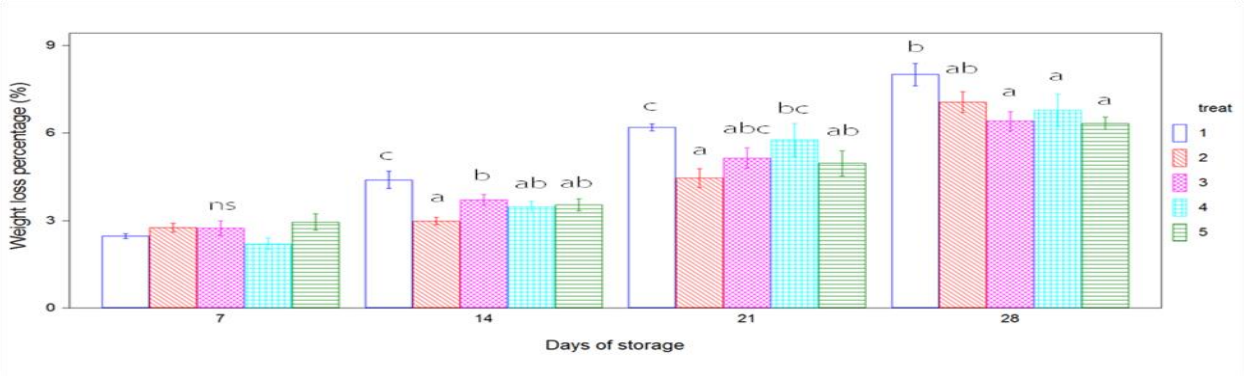

Figure 3. Weight loss percentage of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

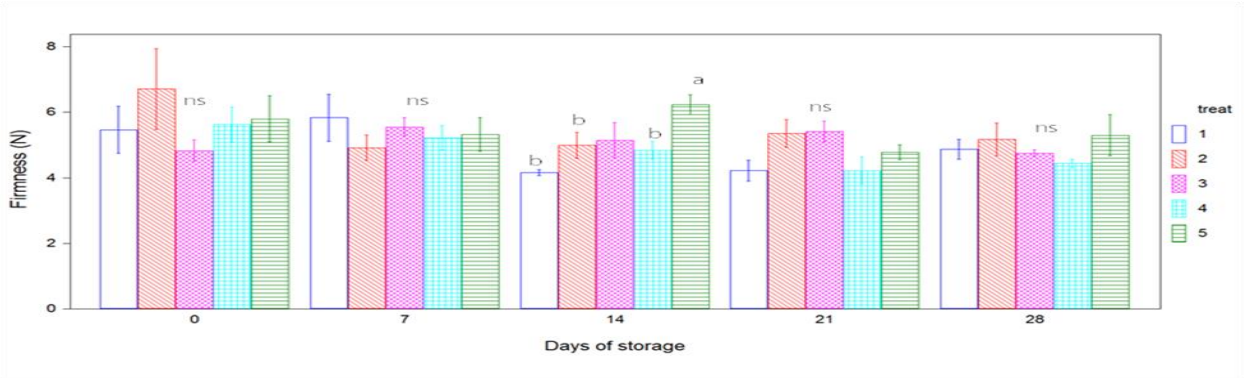

Figure 4. Firmness of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

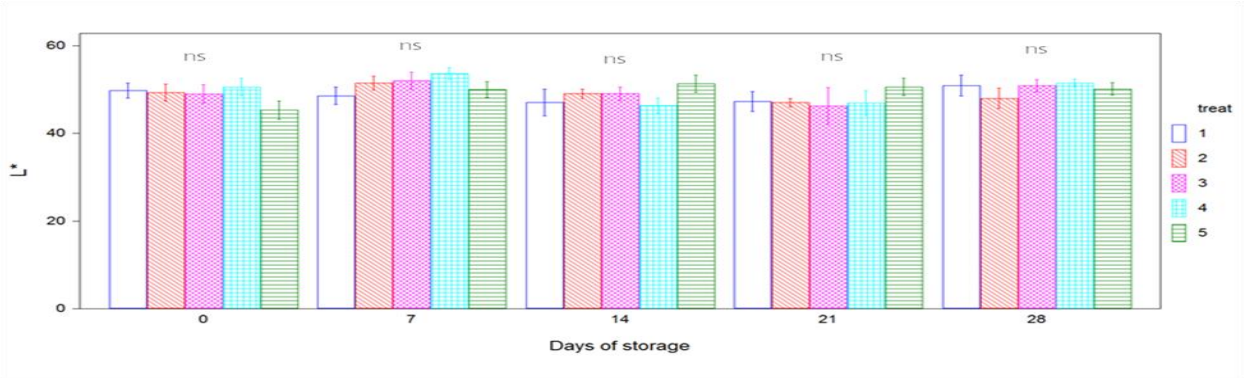

Figure 5. Lightness (L*) of pineapple fresh after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

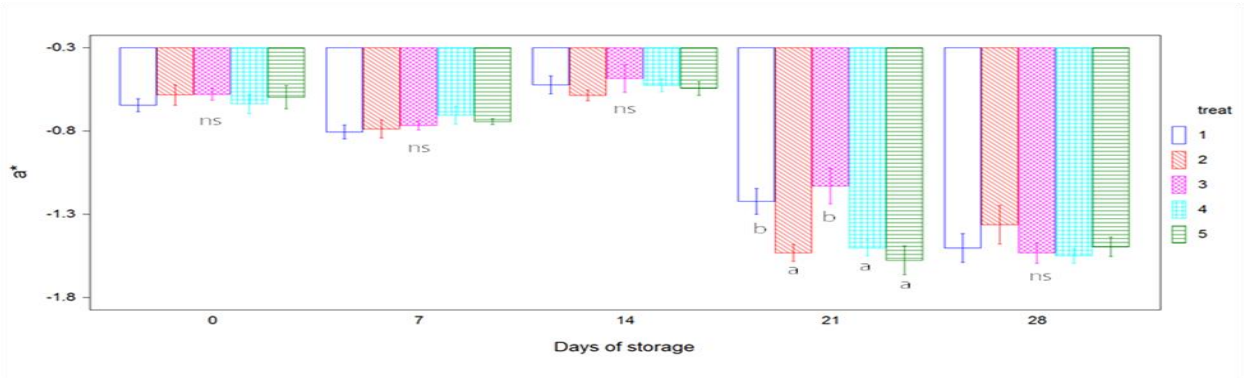

Figure 6. a* value of pineapple fresh after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

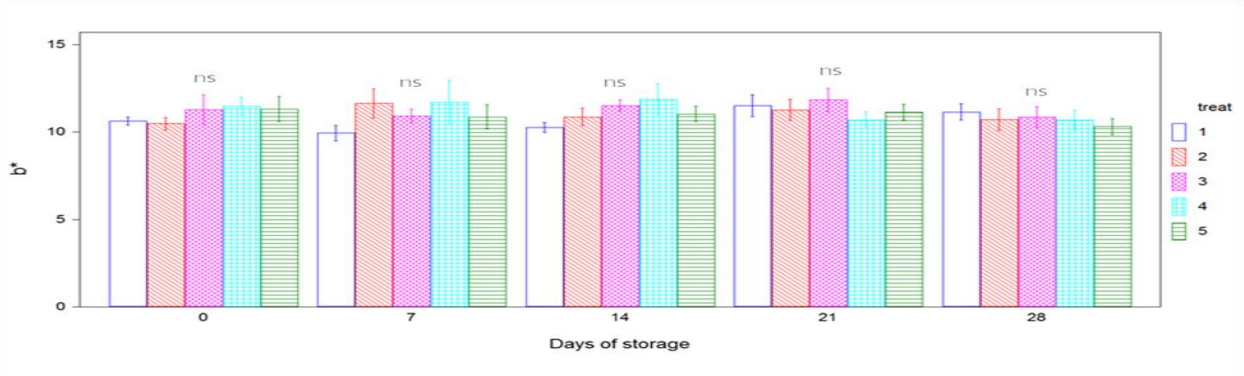

Figure 7. b* value of pineapple fresh after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

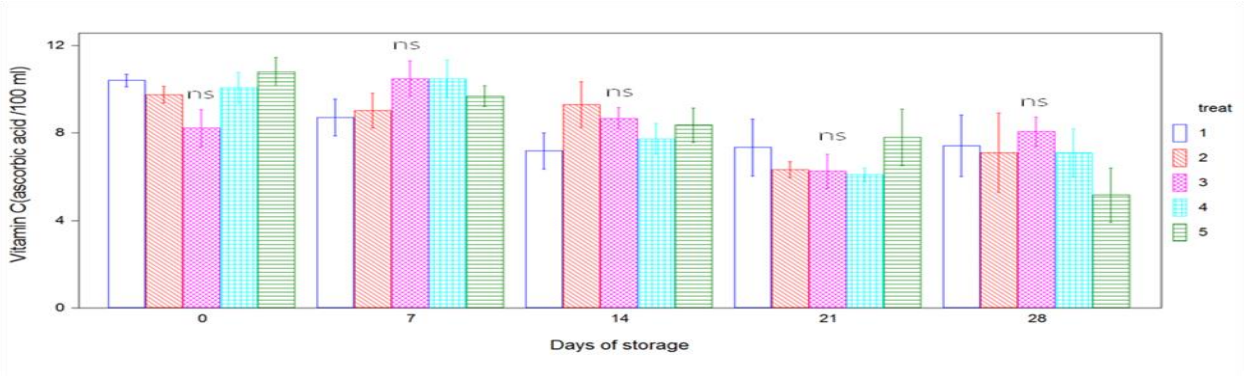

Figure 8. Vitamin C of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

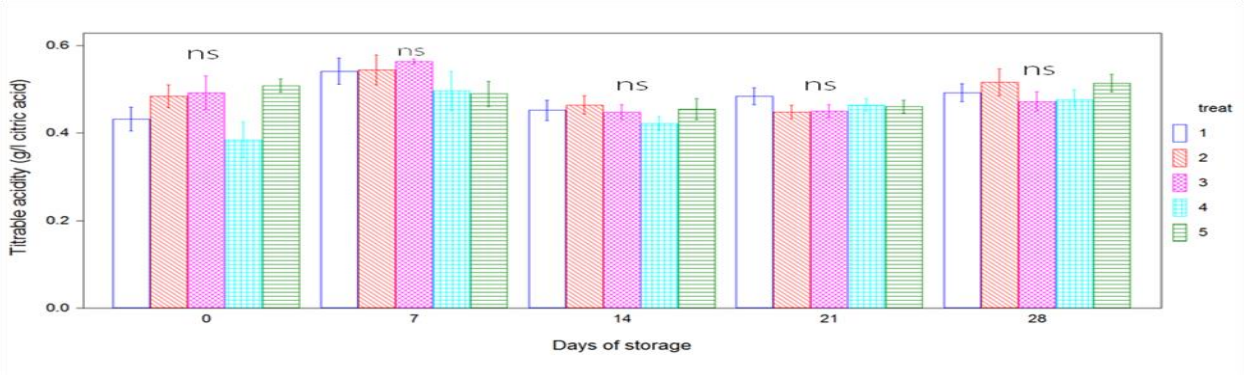

Figure 9. Titrable acidity of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

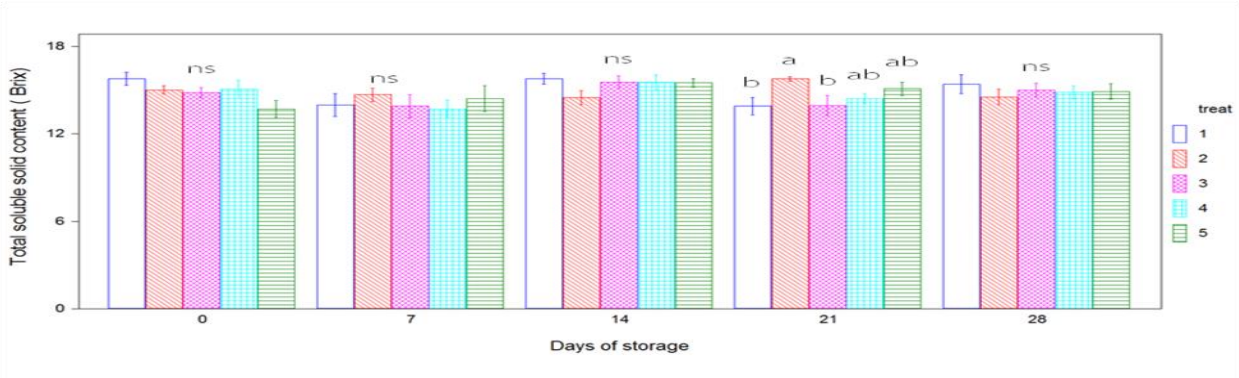

Figure 10. Total soluble solid content of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

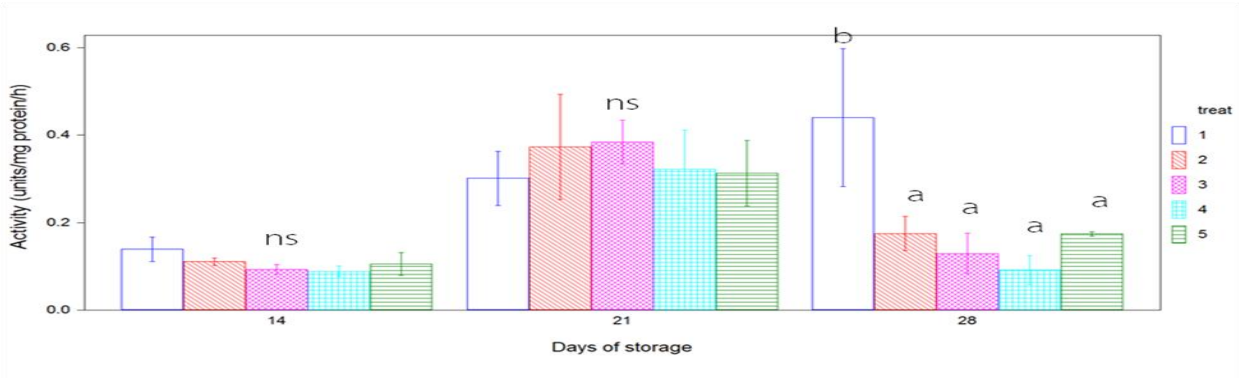

Figure 11. PPO activity of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

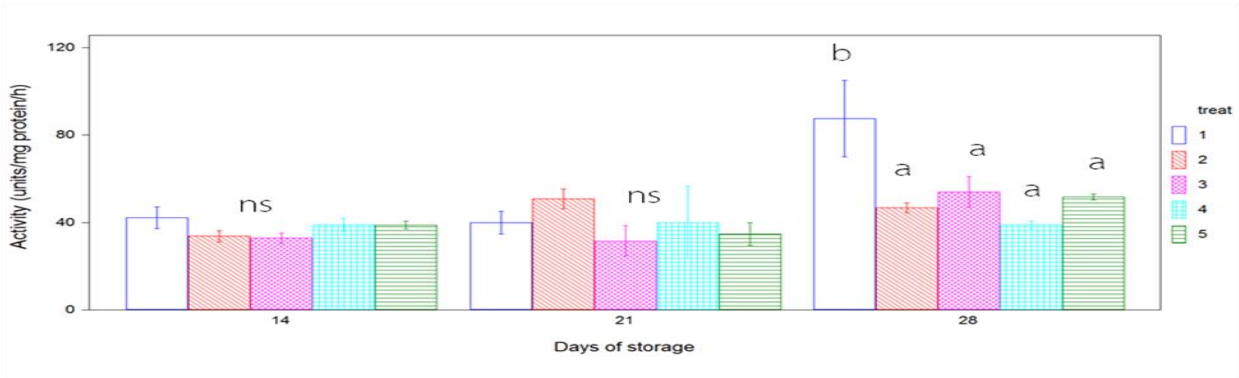

Figure 12. PAL activity of pineapple fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

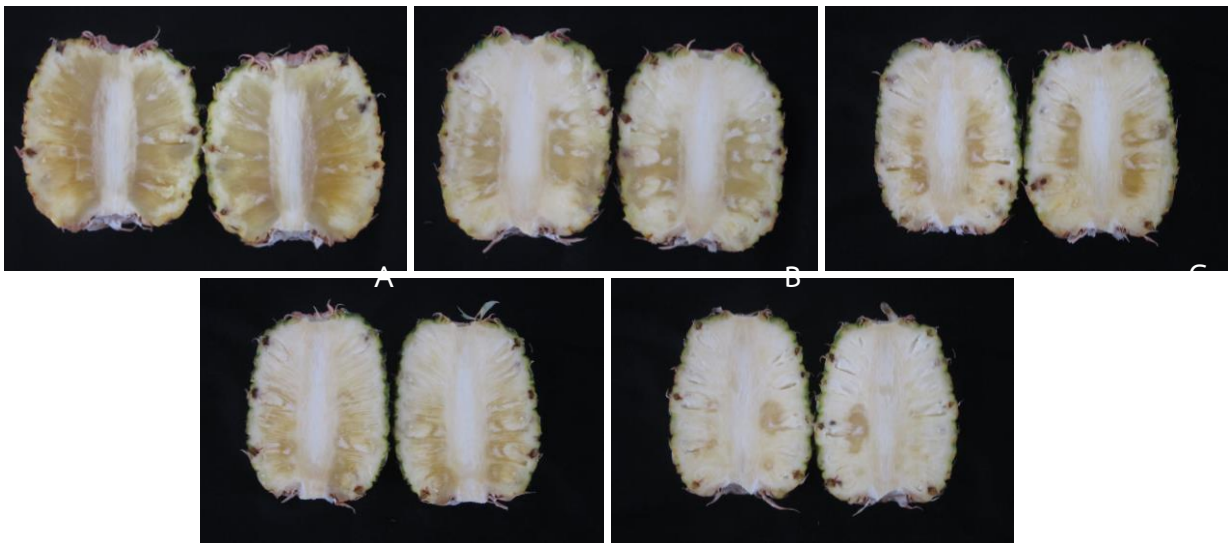

Figure 13. Effect of MJ and MS on pineapple chilling injury at 28 days of storage A. T1 control B. T2 10^{-5} M MJ C. T3 10^{-4} M MJ D. T4 10^{-3} M MJ E. T5 10^{-5} M MS.

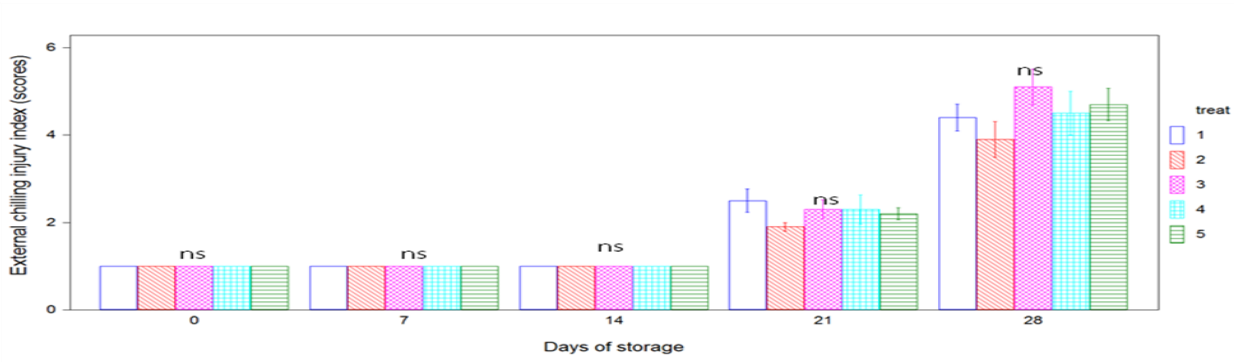

Figure 14. External chilling injury index of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

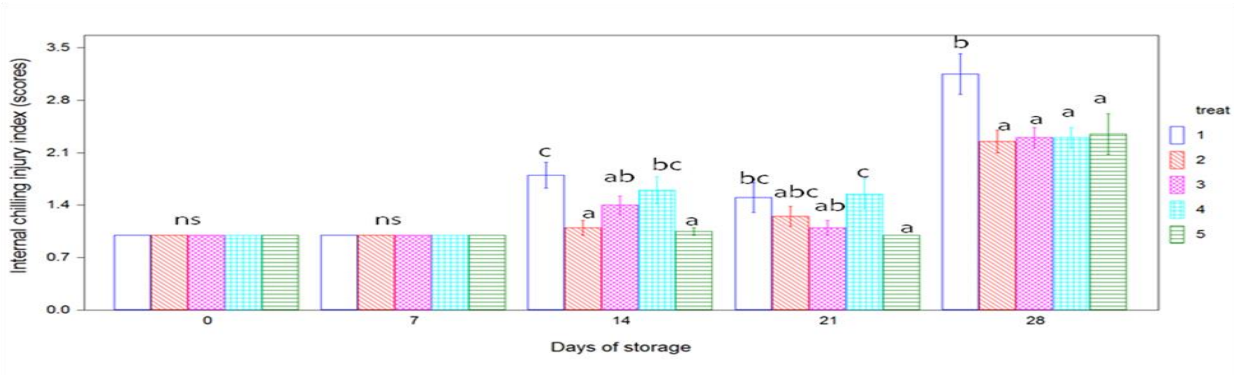

Figure 15. Internal chilling injury index of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

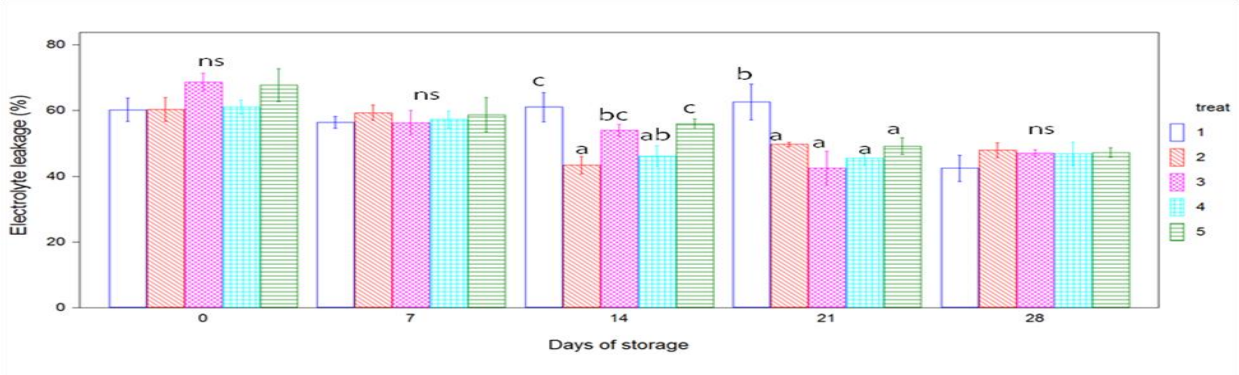

Figure 16. Electrolyte leakage of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

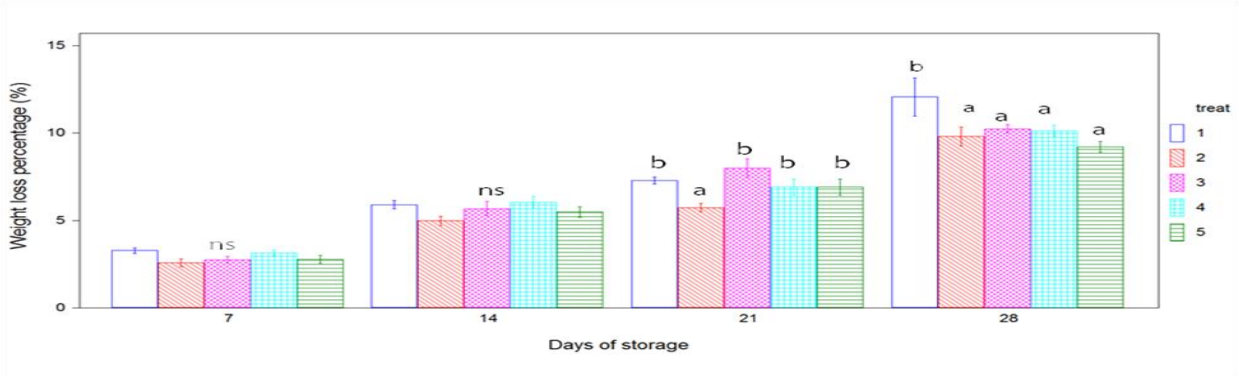

Figure 17. Weight loss percentage of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

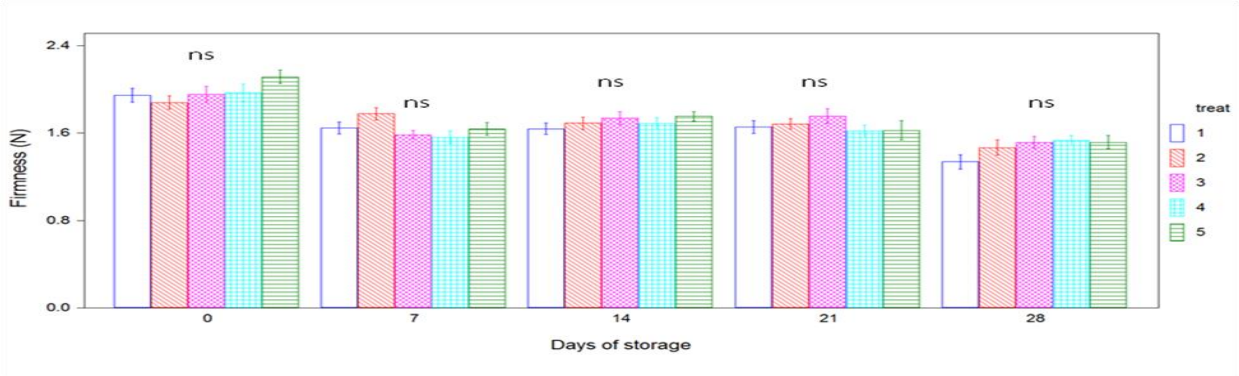

Figure 18. Firmness of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

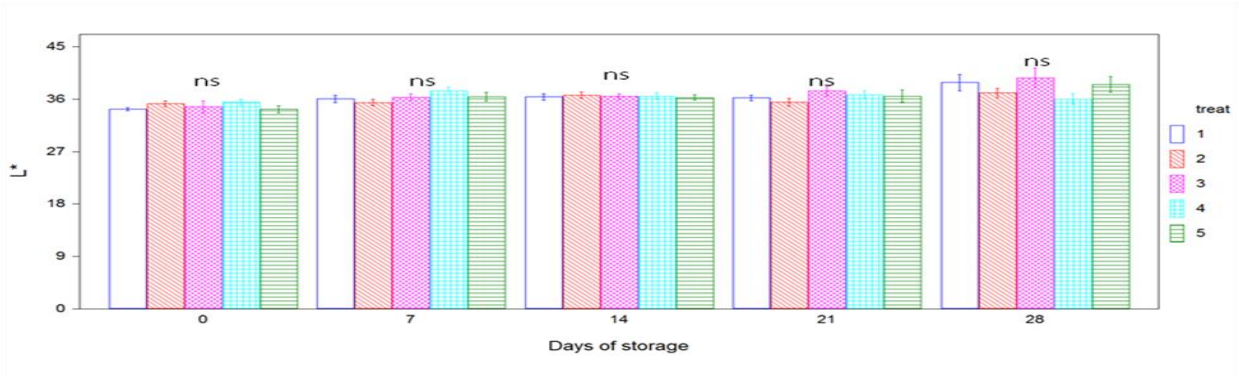

Figure 19. Lightness (L*) of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

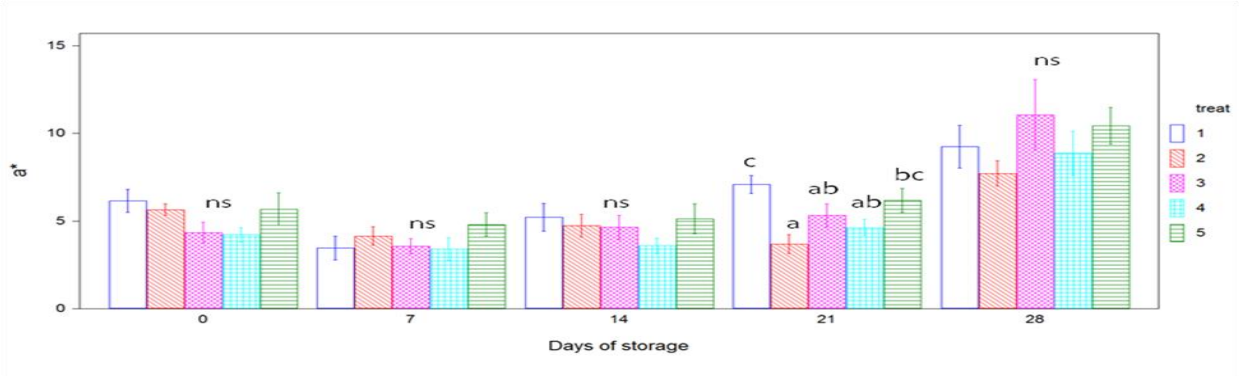

Figure 20. a* value of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

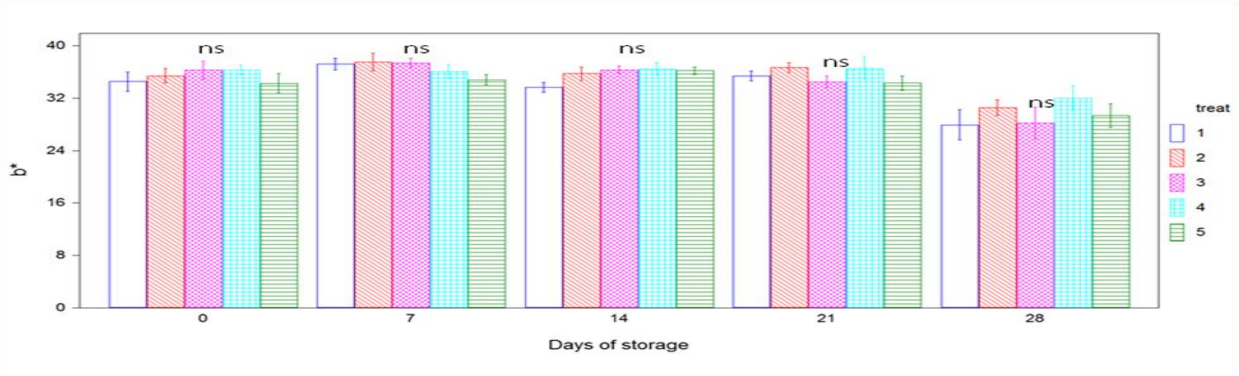

Figure 21. b* value of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

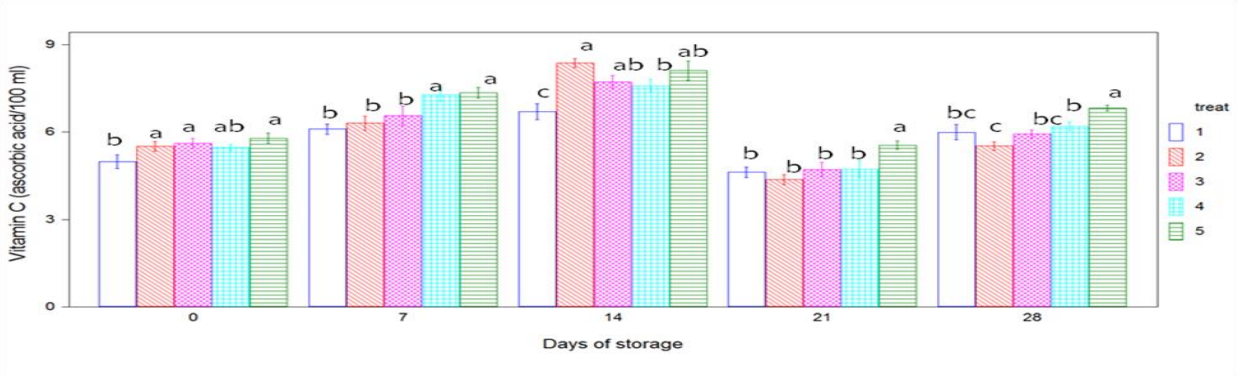

Figure 22. Vitamin C of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

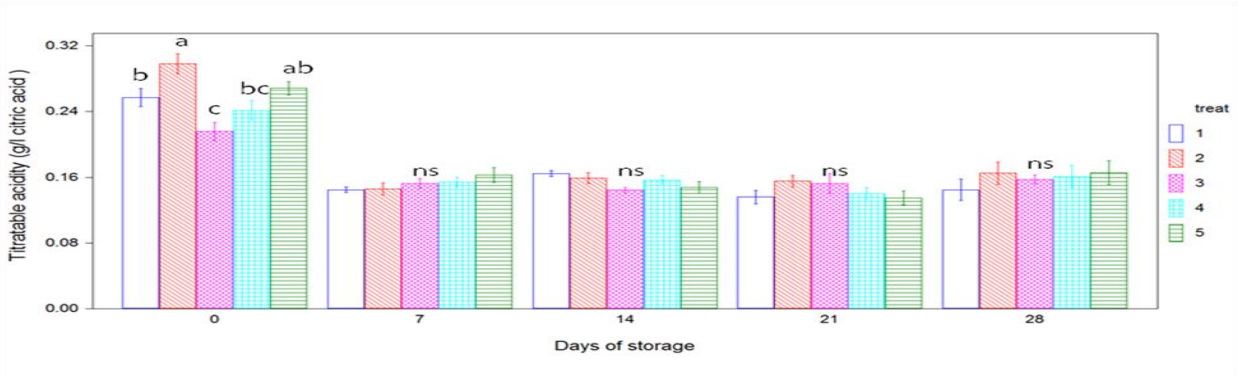

Figure 23. Titrable acidity of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

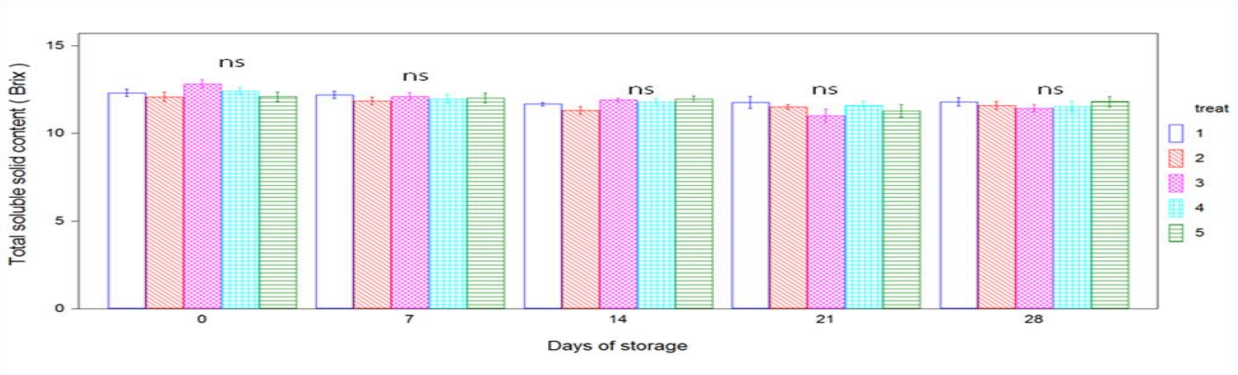

Figure 24. Total soluble solid content of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

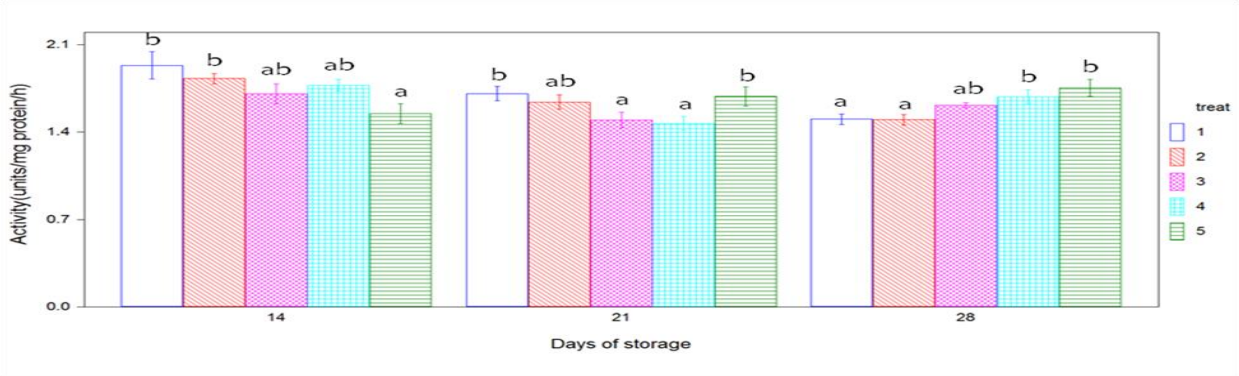

Figure 25. PPO activity of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

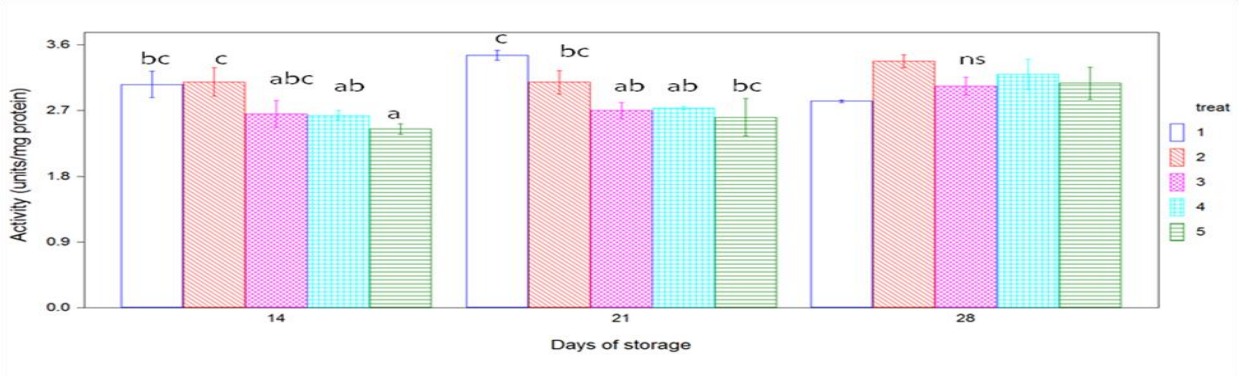

Figure 26 PAL activity of dragon fruit after treatments (T1= control, T2=10^{-5} M MJ, T3=10^{-4} M MJ, T4=10^{-3} M MJ and T5=10^{-5} M MS). The same letter is not significantly different by LSD at P=0.05. Vertical lines represent ±SE of the mean.

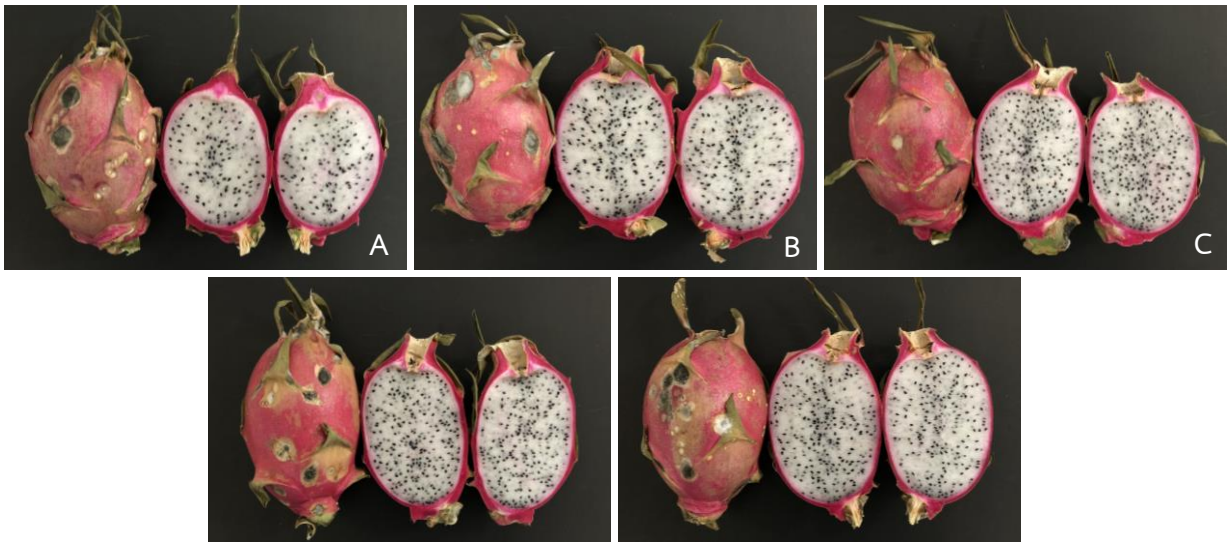

Figure 27. Effect of MJ and MS on dragon fruit chilling injury at 28 days of storage. A.T1 control B. T2 10^{-5} M MJ C. T3 10^{-4} M MJ D. T4 10^{-3} M MJ E. T5 10^{-5} M MS.