รายงานแผนงานวิจัย
การควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

The Control of Internal Browning in Fresh-Pineapple cv. 'Trad-See-Thong'

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัย
นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ
MRS. SUPATTRA LERTWATANAKIAT

ปี พ.ศ. 2560

รายงานแผนงานวิจัย
การควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

The Control of Internal Browning in Fresh-Pineapple cv. 'Trad-See-Thong'

ชื่อหัวหน้าแผนงานวิจัย
นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ
MRS.SUPATTRA LERTWATANAKIAT

ปี พ.ศ. 2560

คำปรารภ

แผนงานวิจัยการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสด และเพื่อหาวิธีควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง ประกอบด้วยกิจกรรมหลักคือ การวิจัยการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางเคมี และการศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown มีคณะนักวิจัยที่ร่วมโครงการทั้งสิ้น 7 คน ได้รับงบประมาณจากกรมวิชาการเกษตร และได้รับความร่วมมือจากคณะนักวิจัย พนักงาน ลูกจ้าง ตามสถานที่ดำเนินงานวิจัยทุกแห่ง การจัดทำรายงานฉบับนี้ส่งผลให้เกิดประสิทธิภาพและประสิทธิผลอย่างแท้จริงต่อในภาครัฐ เอกชน ตลอดทั้งเกษตรกร

สารบัญ **หน้า**

กิตติกรรมประกาศ 1

ผู้วิจัย 2

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ 3

บทนำ 4

1. โครงการสารเคมีชนิดต่างๆต่อการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาล ในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง 7

2. โครงการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาล ในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ 16

3. โครงการศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง โดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown 45

บทสรุปและข้อเสนอแนะ 67

บรรณานุกรม 69

ภาคผนวก

ผนวกภาพที่ 1.1 : แสดงผลของกรรมวิธีต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาล ในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน 73

ผนวกภาพที่ 1.2 : แสดงผลของกรรมวิธีต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาล ในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน 74

ผนวกภาพที่ 2.1 : ผลของการใช้สารเคลือบผิวต่างๆ ต่อการเกิดไส้สีน้ำตาล ในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน 75

ผนวกภาพที่ 2.2 : ผลของการใช้สารเคลือบผิวต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาล ในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน 76

ผนวกภาพที่ 2.3 : ผลของบรรจุภัณฑ์ต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลใน ผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน 77

ผนวกภาพที่ 2.4 : ผลของบรรจุภัณฑ์ต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลใน ผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน 78

กิตติกรรมประกาศ

แผนงานวิจัยการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง ประกอบด้วย โครงการวิจัยการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ โครงการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางเคมี และโครงการศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown ซึ่งผลของการศึกษาสามารถทราบปัจจัยบางประการที่ส่งเสริมการทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง และวิธีการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง ส่งผลให้สามารถส่งออกสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองไปต่างประเทศ เช่น ประเทศจีนได้ทางเรือ (14 วันเดินทาง และ 7 วันในการวางชั้น รวม 21 วัน) เนื่องจากทราบวิธีในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสด ส่งผลให้ส่งออกที่มีประสิทธิภาพและเพิ่มศักยภาพการส่งออกให้ขยายตัวเพิ่มขึ้น

การดำเนินการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีด้วยตลอดระยะเวลาดำเนินงานโดยได้รับความร่วมมือของนักวิชาการเกษตรและเจ้าหน้าที่จากสถาบันวิจัยพืชสวน ศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพ และเกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดตราดสีทองในจังหวัดตราด ซึ่งเป็นผู้ร่วมวิจัยและผู้สนับสนุนข้อมูล รวมทั้งผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องในการจัดทำแผนงานวิจัยครั้งนี้ทุกท่านที่ได้กรุณาให้ความช่วยเหลือและสนับสนุนจนทำให้แผนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า แผนงานวิจัยการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองนี้จะเป็นประโยชน์แก่นักวิชาการเกษตร เจ้าหน้าที่และบุคลากรทางการเกษตร และผู้สนใจทั่วไป

คณะผู้วิจัย

มีนาคม 2561

ผู้วิจัย

ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย

สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ

หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 1

วรางคณา มากกำไร

หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 2

วรางคณา มากกำไร

หัวหน้าโครงการวิจัยที่ 3

พงศกร สรรค์วิทยากุล

ผู้ร่วมวิจัย

หยกทิพย์ สุดารีย์ วีรา คล้ายพุก อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว และดารากร เผ่าชู

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

PPO	=	polyphenol oxidase
PE	=	polyethylene
PP	=	Polypropylene
LDPE	=	low density polyethylene
PVC	=	polyvinyl chloride
LLDPE	=	Linear lowdensity polyethylene
IB	=	internal browning
V.C	=	vitamin c
SS	=	soluble solids
TA	=	titratable acidity
CS	=	Cellophane sheet

บทนำ

สับปะรดนับเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย จากการรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2560) ปี 2561 คาดว่า เนื้อที่เก็บเกี่ยวรวม 581,646 ไร่ ผลผลิต 2,462 ล้านต้น ผลผลิตต่อไร่ 4,233 กิโลกรัม เพิ่มขึ้นจากปี 2560 ร้อยละ 10.43 ร้อยละ 13.22 และร้อยละ 2.52 เนื่องจาก ต้นปลูกสับปะรดในปี 2559 และ 2560 เริ่มให้ผลผลิต และต้นสับปะรดให้ผลผลิตต่อไร่ในปีแรกสูงมากขึ้น ในปี 2560 มีปริมาณการส่งออกสับปะรดประมาณ 534,739 ตัน มีมูลค่าเพียง 19,466 ล้านบาท โดยตลาดสับปะรดผลสดได้แก่ แคนนาดา อินโดนีเซีย จีน มีปริมาณการส่งออกไปจีนมากที่สุด คือ 1,066 ตัน และจากการวิเคราะห์ศักยภาพการแข่งขันของสินค้าเกษตรที่สำคัญของไทยในอาเซียนด้วยวิธี Thailand Competitiveness Matrix (TCM) ของกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ในส่วนของสับปะรดผลสดประเทศไทย จัดอยู่ในกลุ่มเป็นคลื่นลูกใหม่ซึ่งกลุ่มนี้จะเป็นสินค้าที่ตลาดมีความต้องการสูง แต่มีขีดความสามารถในการแข่งขันอยู่ในระดับต่ำในทุกๆด้านของห่วงโซ่ ดังนั้นการเร่งพัฒนาและปรับปรุงแก้ปัญหาคุณภาพของสับปะรดเพื่อการส่งออกแบบผลสดของไทยจึงเป็นสิ่งที่ควรเร่งทำเพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันหลังจากการเข้าสู่ประชาคมอาเซี่ยนอีกด้วย

ปัญหาสำคัญของการส่งออกสับปะรดผลสด คือ การเกิดอาการผิดปกติทางสรีระวิทยาที่เรียกว่าอาการไส้สีน้ำตาล (Internal browning) เนื่องจากการขนส่งเพื่อการส่งออกมักจะเดินทางไปโดยเรือซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน โดยเฉพาะการขนส่งไปยังประเทศที่อยู่ไกล เช่น ประเทศทางยุโรป หรือ อเมริกา อาจจะต้องใช้เวลาเดินทางถึง 30 วัน และประเทศจีนใช้เวลา 14 วันเดินทาง และ 7 วันในการวางชั้น รวม 21 วัน ซึ่งการเก็บรักษาผลสดให้ยังคงคุณภาพอยู่ได้นานนั้นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นประมาณ 8-13 °C แต่เนื่องจากสับปะรดเป็นไม้ผลเขตร้อน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นเป็นเวลานานทำให้เกิดอาการสะท้านหนาว(Chilling injury) คือเกิดแถบสีน้ำตาลบริเวณเนื้อใกล้กับแกนผล หรือเรียกว่า อาการไส้สีน้ำตาล (Collins, 1960) ดังนั้นจึงเป็นปัญหาที่ทำให้ประเทศไทยไม่สามารถส่งออกสับปะรดผลสดไปยังประเทศที่อยู่ไกลได้

สับปะรดในกลุ่มพันธุ์ควีน (Queen) ของไทย พันธุ์ตราดสีทอง เป็นพันธุ์ที่มีความต้องการมากในต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีเนื้อผลกรอบ รสชาติหวานอมเปรี้ยว แตกต่างจากสับปะรดในกลุ่มพันธุ์คาเยน (Cayenne) และขนาดของผลก็เล็กตรงตามความต้องการซึ่งสะดวกต่อการขนส่ง นอกจากนี้เรายังมีกำลังการผลิตสับปะรดสายพันธุ์นี้เป็นอย่างมากในแถบภาคตะวันออกของประเทศโดยเฉพาะจังหวัดตราด ในปี 2560 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตรวม 19,758 ไร่ และผลผลิตรวมประมาณ 70,305 ตัน (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560)

อย่างไรก็ตามกลับพบว่าสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองเป็นพันธุ์ที่ประสบปัญหาการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลมากที่สุดในกลุ่มพันธุ์ควีน ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวและการนำเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าว เพื่อการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง จึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออกสับปะรดผลสดของไทย ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้งก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวหลายประการ เช่น อายุการเก็บเกี่ยว ธาตุอาหาร พันธุกรรม สภาพแวดล้อม และอุณหภูมิที่เก็บรักษา ซึ่งปัจจัยที่สำคัญหลังการเก็บเกี่ยวคืออุณหภูมิต่ำที่ใช้เก็บรักษา สารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในผลสับปะรดนั้นเป็นประเภทสารประกอบฟีนอล ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของเอ็นไซม์หลักๆ 2 ชนิด คือ Phenylalanine ammonia lyase (PAL) และ Polyphenol oxidase (PPO) อุณหภูมิต่ำเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลในการกระตุ้นอนุมูลอิสระชนิด reactive O_2 ให้เพิ่มขึ้น ซึ่งจะไปมีผลทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Shewfelt and Ericson, 1991) ทำให้สารต่างๆภายในเซลล์รวมถึงสารประกอบฟีนอลที่ถูกสร้างโดยเอ็นไซม์ PAL ไหลออกมาอย่างอิสระ และสามารถถูกเอ็นไซม์ PPO ออกซิไดส์เป็น quinone รวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่และมีสี

น้ำตาลเกิดขึ้น (จริงแท้ และอ้อมอรุณ, 2548) ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลเหล่านี้น่าจะเป็นแนวทางที่ช่วยควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดได้

การวิจัยครั้งนี้จึงวิจัยและพัฒนาด้านวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมที่สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาและลดอาการไส้สีน้ำตาลได้ ไม่ว่าจะเป็นวิธีทางเคมี เช่น การใช้สาร Antioxidants หรือ การใช้ Inhibitors เพื่อยับยั้งหรือลดการทำงานของกลุ่มเอ็นไซม์ที่ทำให้เกิดสารสีน้ำตาล หรือวิธีทางกายภาพ เช่น การใช้สารเคลือบผิวหรือห่อผล การควบคุมสภาพบรรยากาศในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม และด้านเทคโนโลยีทางพันธุวิศวกรรม โดยใช้เทคโนโลยีการ silencing ยีน PPO ซึ่งเป็นสาเหตุหลักในการเกิดไส้สีน้ำตาล ด้วยเทคนิค Antisense Gene Knockdown ถือเป็นเทคโนโลยีที่มีความสำคัญมากสามารถให้ข้อมูลในเบื้องลึกถึงระดับการทำงานภายในเซลล์ การควบคุมของดีเอ็นเอ เพื่อยับยั้งการทำงานของกลุ่มเอ็นไซม์ที่ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลได้ ดังนั้นวิทยาการต่างๆที่กล่าวมานี้ทำให้เราทราบสาเหตุที่แท้จริง และช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองได้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งเสริมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสด
2. เพื่อหาวิธีควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

วิธีการวิจัย

แผนงานวิจัยประกอบด้วย 3 โครงการวิจัยแต่ละโครงการจะมีขั้นตอนและระยะเวลาการดำเนินงานแตกต่างกันไป สำหรับระยะเวลาของแต่ละโครงการวิจัยมีรายละเอียดดังนี้

1. การศึกษาการศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี (ตุลาคม 2557-กันยายน 2560)
2. การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางเคมี ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี (ตุลาคม 2557-กันยายน 2560)
3. การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ ระยะเวลาดำเนินการ 3 ปี (ตุลาคม 2557-กันยายน 2560)

โดยคณะทำงานแผนงานวิจัยการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง ได้จัดระดมความคิดเห็นของผู้เกี่ยวข้องทุกๆฝ่ายเพื่อนำประเด็นปัญหามาเป็นโจทย์วิจัยที่ตรงกับความต้องการของผู้ใช้ ทำการสรุปประเด็นปัญหาและวิเคราะห์ข้อมูล เพื่อจัดทำเป็นโครงการวิจัยตามประเด็นปัญหา เพื่อนำไปสู่การพัฒนาการผลิตสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในการส่งออกต่างประเทศให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพได้มาตรฐาน

หัวหน้าชุดโครงการวิจัย จะทำหน้าที่

1. ร่วมกับคณะที่ปรึกษาแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัยจัดทำยกร่างโครงการ วิจัยและรวบรวมเป็นแผนงานวิจัย
2. นำเสนอแผนงานวิจัยตามแบบฟอร์ม ว-1ช เข้ารับการพิจารณากลั่นกรองตามระบบงานวิจัยของกรมวิชาการเกษตร
3. ดำเนินการประสานงาน/กำกับ/ติดตามการปฏิบัติตามแผนงานวิจัยของโครงการวิจัยที่ผ่านการอนุมัติ

4. รายงานผลและจัดทำแผนงานวิจัยต่อเนื่อง เพื่อเสนอของบประมาณประจำปีในปีต่อๆไป

หัวหน้าโครงการวิจัย จะทำหน้าที่

1. ประสานงานกับหัวหน้าชุดโครงการวิจัย และดำเนินการยกร่างโครงการวิจัยตามแบบฟอร์ม ว-1ด โดยพิจารณาจากกรอบแผนงานวิจัย ที่ได้จากการดำเนินงานของหัวหน้าชุดโครงการวิจัย

2. จัดทำแผนปฏิบัติงานโครงการวิจัย โดยให้มีความชัดเจนตามรายละเอียดการเขียนโครงการวิจัย

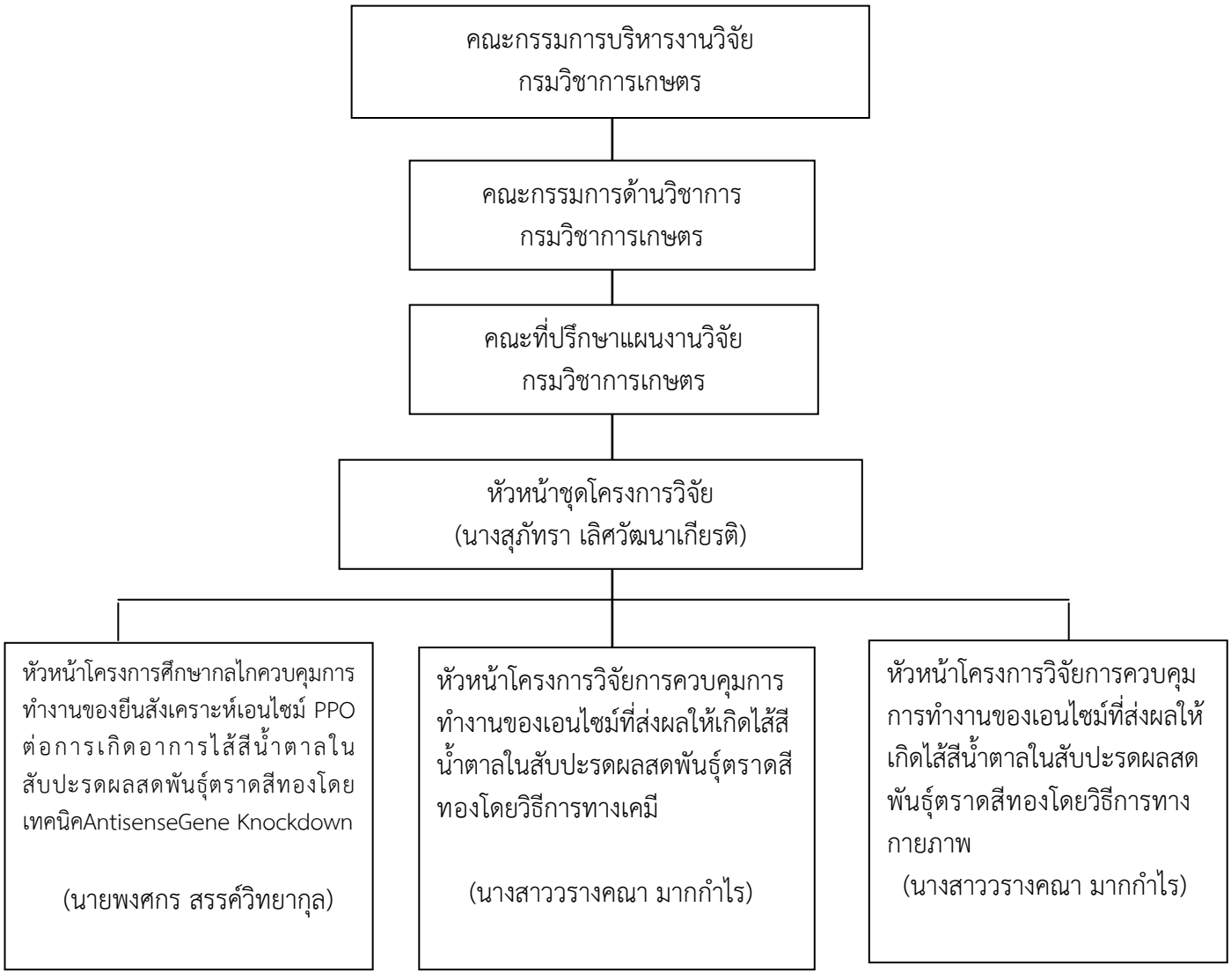
3. ดำเนินการตามแผนงานวิจัย เมื่อโครงการวิจัยได้รับอนุมัติ

4. จัดทำรายงานผลการดำเนินงานโครงการวิจัย เสนอต่อหัวหน้าชุดโครงการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงานในแผนงานวิจัยและพัฒนาสับปะรดประกอบด้วยขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

1. วางรูปแบบและกำหนดพื้นที่วิจัย
2. ขั้นตอนการดำเนินการทดลอง
3. การบันทึกข้อมูล/การวิเคราะห์ข้อมูล
4. การวิเคราะห์ข้อมูล
5. การสรุปและรายงานผลการวิจัย
6. การถ่ายทอดผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย
7. ดำเนินการทดลองเทคโนโลยีในแหล่งปลูกอื่นๆ
8. รายงานผลและจัดองค์ความรู้ ในแต่ละปีจะมีการรายงานผลความก้าวหน้า และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการทดสอบ จัดทำองค์ความรู้เพื่อเป็นคำแนะนำต่อไป

แผนภูมิโครงสร้างการบริหารแผนงานวิจัย : การควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง



โครงการที่ 1 สารเคมีชนิดต่างๆ ต่อการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสด พันธุ์ตราดสีทอง

The Chemical Control of Internal Browning in Fresh-pineapple cv. 'Trad-See-Thong'

ผู้วิจัย

วรางคณา มากกำไร หยกทิพย์ สุดารีย์ วีรา คล้ายพุก อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว ดารากร เผ่าชู

บทคัดย่อ

ประเทศไทยนั้นเป็นผู้ส่งออกสับปะรดแปรรูปเป็นอันดับ 1 ของโลก ส่วนการส่งออกในรูปผลสดนับว่ายังมีปริมาณน้อยมาก เนื่องจากการขนส่งไปยังตลาดต่างประเทศเป็นระยะทางไกลต้องเก็บรักษาผลสับปะรดไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 8-10 องศาเซลเซียส ทำให้ผลสับปะรดเกิดอาการสะท้านหนาว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อช่วยให้เก็บรักษาผลผลิตที่อุณหภูมิต่ำโดยไม่เกิดอาการสะท้านหนาว ดังนั้นจึงดำเนินการทดลองโดยใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ต่อการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ1 กล่อง (6 ผล/กล่อง) เก็บผลสับปะรดตราดสีทองจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ระยะแก่เขียว (หลังบังคับดอก 139 วัน) ในเดือนเมษายน และมิถุนายน ปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวโดย กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) กรรมวิธีที่ 2 รมด้วย 1-MCP ความเข้มข้น 0.2 ppm 18 ชั่วโมงกรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร กรรมวิธีที่ 6 จุ่มก้านลงในกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร กรรมวิธีที่ 7 จุ่มก้านลงในโซเดียมอีริทอร์เบต ความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร กรรมวิธีที่ 8 จุ่มก้านลงในโซเดียมแอสคอร์เบต ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร และกรรมวิธีที่ 9 จุ่มก้านลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำผลมาตรวจประเมินอาการไส้สีน้ำตาลและคุณภาพด้านต่างๆ พบว่า การใช้สารเคมีชนิดต่างๆเพื่อลดการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า การใช้สารละลาย $CaCl_2$ และ$SrCl_2$ มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลายในชุดควบคุม (ไม่ใช้สารเคมี) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ยอมรับได้ (คะแนน 1 และ 2) เพียง 60 และ 50% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าเกณฑ์ คือ > 70 % นอกจากนี้ พบว่า การใช้สารละลาย $SrCl_2$ มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO (Polyphenol oxidase activity) ต่ำสุด ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า การใช้สารละลายกรดอีริทอร์บิก มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลายในชุดควบคุม (ไม่ใช้สารเคมี) แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (คะแนน 1 และ2) อยู่ในระดับต่ำเพียง 22% (<70%) การไม่ให้สารละลายในชุดควบคุม (ไม่ใช้สารเคมี) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด รองลงมา คือ สารละลาย $SrCl_2$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และกรรมวิธีต่างๆที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลกระทบต่อ ความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาล กรด และวิตามินซี รวมถึงกลิ่นและรสชาติ อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลาย $CaCl_2$, $SrCl_2$ และกรดอีริทอร์บิก ในช่วงเวลาดังกล่าวนั้น ถึงแม้ว่าจะให้ผลของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสารละลายตัวอื่น แต่ไม่สามารถควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้ในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ หากได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการ เช่น ระยะเวลาในการจุ่มสาร ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม รวมถึงควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาล

เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลให้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นการใช้สารเคมีดังกล่าว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่อาจนำไปใช้เป็นกรรมวิธีในการปฏิบัติเพื่อควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในระดับหนึ่งได้

บทนำ

สับปะรดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2560) มีรายงานว่าผลผลิตในปี 2560 มีปริมาณถึง 2.17 ล้านตัน โดยประเทศไทยถือเป็นผู้ผลิตอันดับ 2 ของอาเซียน และเป็นผู้ผลิตอันดับ 3 ของโลก โดยที่ไทยนั้นเป็นผู้ส่งออกสับปะรดแปรรูปเป็นอันดับ 1 ของโลก ซึ่งผลผลิตสับปะรดประมาณร้อยละ 10 ของผลผลิตทั้งหมด จะบริโภคสดในประเทศในรูปผลสด ส่วนผลิตภัณฑ์สับปะรดแปรรูปที่ผลิตได้จะส่งออกประมาณร้อยละ 90 ทั้งนี้เนื่องจากการขนส่งไปยังตลาดต่างประเทศเป็นระยะทางไกล ต้องเก็บรักษาผลสับปะรดไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 8-10 องศาเซลเซียส และทำให้ผลสับปะรดเกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury) หรือไส้สีน้ำตาล (Internal browning) อย่างไรก็ตามปัจจุบันกลไกการเกิดไส้สีน้ำตาลยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัด การควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดจึงยังไม่ประสบความสำเร็จเท่าที่ควร (จริงแท้ และอ้อมอรุณ, 2548) ปัญหาการเกิดไส้สีน้ำตาลนั้น นอกจากจะเกิดจากอุณหภูมิต่ำแล้ว คาดว่าอาการดังกล่าวนี้ต้องเกี่ยวข้องกับสภาพแวดล้อมระหว่างการเจริญเติบโต (Akamine *et. al*.,1975) พันธุ์ แหล่งปลูก และฤดูกาลในการปลูกต่างกันทำให้องค์ประกอบทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลต่างกันที่เกิดขึ้นนั้น (จักรพงษ์ และจริงแท้, 2536) โดยลักษณะภายนอกของผลสับปะรดจะเป็นปกติแต่เนื้อผลภายในบริเวณใกล้แกนกลางของผลจะเกิดเป็นจุดหรือบริเวณฉ่ำน้ำก่อน แล้วจึงเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา หลังจากนั้นค่อยๆขยายออกรวมกันเป็นกลุ่มสีน้ำตาลคล้ำที่มีขนาดใหญ่ขึ้น (Dull, 1971) เกิดจากเซลล์ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมสารผ่านเข้าออกเกิดการเสื่อมสภาพ และเกิดจากการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) (ฤทัยรัตน์ และคณะ, 2555) ในปัจจุบันการใช้สารเคมี กลุ่ม GRAS (Generally recognized as safe) เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถลดอาการสะท้านหนาวได้ เช่น 1-MCP $CaCl_2$ $SrCl_2$ กลุ่มกรดแอสคอร์บิก (กรดอีริทอร์บิก กรดแอสคอร์บิก โซเดียมอีริทอร์เบต และโซเดียมแอสคอร์เบต) (มณฑาทิพย์, 2539) และกลุ่มของ jasmonate จัดเป็นสารที่ช่วยลดการรวมตัวของสาร quinone ได้ทำให้ไม่มี quinone ที่จะรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่เกิดเป็นสารสีน้ำตาล และเข้าขัดขวาง free radicals ไม่ให้เกิดปฏิกิริยา liquid peroxidation ซึ่งมีผลต่อการเสื่อมสภาพของเมมเบรน และแสดงอาการไส้สีน้ำตาล (จริงแท้ และอ้อมอรุณ, 2548) ซึ่งส่งผลเสียหายต่อการส่งออกและการบริโภคสับปะรดผลสด

ดังนั้นการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวเพื่อควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ PPO เพื่อช่วยให้เก็บรักษาผลผลิตที่อุณหภูมิต่ำโดยไม่เกิดอาการสะท้านหนาว โดยการใช้สารเคมีดังกล่าว ก็อาจนำไปสู่การควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลได้ดีขึ้นในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ดังนั้น วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย คือ เพื่อศึกษาชนิดของสารเคมีที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาล

ระเบียบและวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง
2. สารเคมีในการทดลอง เช่น 1-MCP $CaCl_2$ $SrCl_2$ อีริทอร์บิก แอสคอร์บิก โซเดียมอีริทอร์เบต โซเดียมแอสคอร์เบต เมทิลจัสโมเนท
3. อุปกรณ์เครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ เช่น ขวดแก้วใส่สารเคมี บีกเกอร์ขนาดต่างๆ ปิเปต แท่งแก้ว
4. อุปกรณ์บันทึกข้อมูล เช่น เครื่องชั่งน้ำหนัก ตาชั่ง
5. กล่องกระดาษบรรจุผลสับปะรด
6. อุปกรณ์เครื่องมือด้านวิทยาศาสตร์ เช่น เครื่องมือวัดความหนาแน่น วัดความหวาน

วิธีการ

<u>แบบและวิธีการทดลอง</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 9 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ1 กล่อง (6 ผล/ กล่อง)

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี)

กรรมวิธีที่ 2 รมด้วย 1-MCPความเข้มข้น 0.2 ppm 18 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

กรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์

กรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 6 จุ่มก้านลงในกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 7 จุ่มก้านลงในโซเดียมอีริทอร์เบต ความเข้มข้น 1.5 โมลต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 8 จุ่มก้านลงในโซเดียมแอสคอร์เบต ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 9 จุ่มก้านลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลต่อลิตร

<u>วิธีปฏิบัติการทดลอง</u>

1. เก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน และมิถุนายน ระยะแก่เขียว (หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก) และสุ่มวิเคราะห์คุณภาพก่อนการเก็บรักษา
2. นำผลสับปะรดมาทดสอบตามกรรมวิธี โดยจุ่มก้านสับปะรดลงในสารละลายแต่ละชนิดใช้เวลาประมาณ 3 นาที
3. นำผลสับปะรดบรรจุใส่กล่องกระดาษและเก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส
4. หลังการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ นำผลมาผ่าครึ่งตามยาวตรวจดูการเกิดไส้สีน้ำตาล รวมถึงตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆของผล

<u>การบันทึกข้อมูล</u>

- คุณภาพก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ ปริมาณ soluble solid content (% SSC) ปริมาณกรด (%TA) ความแน่นเนื้อ ปริมาณวิตามินซี กลิ่นและรสชาติผลสับปะรด
- วัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO
- การให้คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลโดยการประเมินทางสายตาโดยแบ่งระดับการเกิดสีน้ำตาลออกเป็น 5 ระดับ

  1 = ไม่พบสีน้ำตาล

  2 = มีสีน้ำตาล 1-25% ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  3 = มีสีน้ำตาล 26-50% ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  4 = มีสีน้ำตาล 51-75% ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  5 = มีสีน้ำตาล 76-100% ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

<u>เวลาและสถานที่</u>

เวลา ตุลาคม 2557 สิ้นสุด กันยายน 2558

สถานที่ สถาบันวิจัยพืชสวน และศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ดำเนินการเก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในช่วงฤดูร้อน 2 ครั้ง ในเดือนเมษายน และเดือนมิถุนายน เก็บเกี่ยวระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก สุ่มวัดคุณภาพผลก่อนการเก็บรักษา ผลคือไม่พบอาการไส้สีน้ำตาลในการทดลองทั้งสองครั้ง และปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำผลมาตรวจประเมินอาการไส้สีน้ำตาล และวัดคุณภาพผลด้านต่างๆ

ผลการประเมินการเกิดไส้สีน้ำตาล โดยพิจารณาค่าคะแนนเฉลี่ย ในช่วงเดือนเมษายน คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในช่วงระดับคะแนนเฉลี่ยที่ 2.33-3.17 โดยกรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 2.33 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยเท่ากับ 2.50 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลเท่ากับ 1-25% ส่วนกรรมวิธีที่9 จุ่มก้านลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 3.17 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลเท่ากับ 26-50% (Table 1) ซึ่งคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในเกณฑ์ที่ผลสับปะรดยังยอมรับได้ คือ คะแนนไม่เกิน 2 (น้อยกว่า 25% ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในช่วงระดับคะแนนเฉลี่ยที่ 3.56-4.44 ซึ่งสูงกว่าการทดลองครั้งที่ 1 เดือนเมษายน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายนเข้าใกล้ฤดูฝน ปริมาณน้ำฝนสูงกว่าอันเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดไส้สีน้ำตาลได้ง่ายกว่า เมื่อพิจารณาในแต่ละกรรมวิธี พบว่า กรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 3.56 รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยเท่ากับ 3.83 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลเท่ากับ 26-50% ส่วนกรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 4.44 คิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลเท่ากับ 51-75% (Table 2)

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในระดับต่างๆ ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า ค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มทุกกรรมวิธีมีค่าคะแนนเฉลี่ยสูงกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และเมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่คะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลระดับต่างๆ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรรมวิธี ที่ 4 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ยอมรับได้สูงสุดรวมกัน (คะแนน 1 และ 2) คือ 60 และ 50% ตามลำดับ (Figure 1) แต่อย่างไรก็ตามเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ยอมรับได้มีค่าน้อยกว่า 70% ดังนั้นจึงยังไม่มีกรรมวิธีใดให้ผลในการควบคุมไส้สีน้ำตาลในระดับที่ยอมรับได้ ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า กรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และกรรมวิธีที่ 9 จุ่มก้านสับปะรดลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้รวมกัน (คะแนน 1 และ 2) สูงสุด คือ 22% รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรรมวิธีควบคุม ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ยอมรับได้คือ 15% (Figure 2) ซึ่งจะเห็นได้ว่ากรรมวิธีที่ 4 มีแนวโน้มในการควบคุมไส้สีน้ำตาลได้ดีอันดับต้นๆ เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆในการทดลองทั้ง 2 ครั้ง แต่อย่างไรก็ตามทุกกรรมวิธีมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ต่ำ (<70%) จึงพิจารณาว่าไม่มีกรรมวิธีไหนสามารถควบคุมไส้สีน้ำตาลที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แต่การเกิดไส้สีน้ำตาลในครั้งที่ 2 มีความรุนแรงกว่าครั้งที่ 1 อันอาจเนื่องมาจากในเดือนมิถุนายนได้รับปริมาณน้ำฝนมากกว่าเดือนเมษายน (ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย ณ อ.คลองใหญ่ จ.ตราด ในเดือนเมษายนและมิถุนายน คือ 180 และ 860 มิลลิเมตร ตามลำดับ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2558)) ทำ

ให้ผลสับปะรดง่ายต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลมากกว่า สอดคล้องกับ จักรพงษ์ และจริงแท้ (2536) ซึ่งพบว่า หากระหว่างการเจริญเติบโตจากแหล่งปลูกมีแสงน้อย ฝนตกชุก สับปะรดจะมีโอกาสเกิดไส้สีน้ำตาลสูง

สำหรับผลในด้านคุณภาพอื่นๆ พบว่า ค่าความแน่นเนื้อพบความแตกต่างทางสถิติในช่วงเดือนเมษายน โดยกรรมวิธีที่ 8 จุ่มก้านสับปะรดลงในโซเดียมแอสคอร์เบต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์และกรรมวิธีที่ 9 จุ่มก้านสับปะรดลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ มีค่าความแน่นเนื้อสูงสุดเท่ากับ 1.56 กิโลกรัมต่างจากกรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงถึงสับปะรดใน 2 กรรมวิธีนี้มีการสุกแก่ช้ากว่ากรรมวิธีอื่น (Table 1) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า แต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงถึงแต่ละกรรมวิธีไม่มีผลต่อความสุกแก่ของผลสับปะรดที่แตกต่างกัน (Table 2)

เปอร์เซ็นต์ความหวาน (% TSS) ในช่วงเดือนเมษายนพบว่า แต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่ให้ความหวานเฉลี่ยมากที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) มีค่าเท่ากับ 13.74 องศาบริกซ์ กรรมวิธีที่ 6 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ให้ความหวานเฉลี่ยเท่ากับ 13.73 องศาบริกซ์ และกรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านสับปะรดลงในแคลเซียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ มีค่า 13.72 องศาบริกซ์ ส่วนการใช้สารเคมีในกรรมวิธีที่ 9 จุ่มก้านสับปะรดลงในเมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ และกรรมวิธีที่ 2 รมด้วย1-MCP ความเข้มข้น 0.2 ppm 18 ชั่วโมง ให้ความหวานเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 12.86 และ 12.99 องศาบริกซ์ ตามลำดับ (Table 1) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน เปอร์เซ็นต์ความหวาน พบว่า แต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่ให้ความหวานเฉลี่ยมากที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 7 จุ่มก้านสับปะรดลงในโซเดียมอีริทอร์เบต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์มีค่าเท่ากับ 13.62 องศาบริกซ์ และกรรมวิธีที่ 8 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ให้ความหวานเฉลี่ยเท่ากับ 13.54 องศาบริกซ์ ส่วนการใช้สารเคมีในกรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ให้ความหวานเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 12.37 องศาบริกซ์ (Table 2) ซึ่งการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน 21 วัน ปริมาณ TSS ของทุกกรรมวิธีจะลดลง (ทวีศักดิ์ และคณะ, 2544)

เปอร์เซ็นต์กรด (% TA) ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า แต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่มีเปอร์เซ็นต์กรดเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์มีค่าเท่ากับ 1.11 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4จุ่มก้านลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์กรดเฉลี่ยเท่ากับ 1.13 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สารเคมีในกรรมวิธีที่ 2 รมด้วย1-MCPความเข้มข้น 0.2 ppm 18 ชั่วโมง มีเปอร์เซ็นต์กรดเฉลี่ยมากที่สุด เท่ากับ 1.30 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน เปอร์เซ็นต์กรด (% TA) พบว่า แต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์กรดเฉลี่ยจะอยู่ในช่วง 0.95-1.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแสดงว่าแต่ละกรรมวิธีมีผลต่อปริมาณกรดไม่แตกต่างกัน (Table 2)

เปอร์เซ็นต์วิตามินซี (% V.C) ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยเปอร์เซ็นต์วิตามินซีเฉลี่ยจะอยู่ในช่วง 23.58-29.70 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน เปอร์เซ็นต์วิตามินซี พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งกรรมวิธีที่ให้เปอร์เซ็นต์วิตามินซีเฉลี่ยมากที่สุดคือ กรรมวิธีที่ 8 จุ่มก้านสับปะรดลงในโซเดียมแอสคอร์เบต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ มีค่าเท่ากับ 30.14 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 5 จุ่มก้านสับปะรดลงในกรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร มีเปอร์เซ็นต์วิตามินซีเฉลี่ยเท่ากับ 29.52 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการใช้สารเคมีในกรรมวิธีที่ 3 จุ่มก้านลงในสาร $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ และกรรมวิธีที่ 4 จุ่มก้านสับปะรดลงในสาร $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีเปอร์เซ็นต์วิตามินซีเฉลี่ยน้อยที่สุดเท่ากับ 18.39 และ 19.86 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งปริมาณวิตามินซี มีการศึกษา พบว่าสับปะรดที่มีปริมาณวิตามินซีสูง จะมีโอกาสเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่มีวิตามินซีต่ำ (Teisson *et al*, 1979) ดังนั้นการเก็บรักษานานขึ้นปริมาณวิตามินซีจะลดลงการเกิดไส้สีน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นด้วย (ทวีศักดิ์ และคณะ, 2544)

กิจกรรมของเอนไซม์ PPO วัดจากส่วนแกนผล ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า อายุการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของกิจกรรมของเอนไซม์เห็นได้จากกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในแต่ละกรรมวิธี ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติ โดยสับปะรดที่ให้สารละลายโซเดียมอีริทอร์เบต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์เฉลี่ยสูงที่สุด 275.974 μmol/min/mg protein ส่วนสับปะรดที่ให้สารละลาย 1-MCP ความเข้มข้น 0.2 ppm 18 ชั่วโมง $CaCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กรดอีริทอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ กรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ โซเดียมแอสคอร์เบต ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เมทิลจัสโมเนท ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ และชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO เฉลี่ยใกล้เคียงกันอยู่ระหว่าง 209.274-252.773 μmol/min/mg protein และสับปะรดที่ให้สารละลาย $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีกิจกรรมของเอนไซม์เฉลี่ยต่ำที่สุด 184.084 μmol/min/mg protein (Table 1) ซึ่งบทบาทของเอนไซม์ PPO จะไปกระตุ้นให้สารฟีนอลรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่และเกิดไส้สีน้ำตาล (ทวีศักดิ์ และคณะ, 2544) ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า ในแต่ละกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทุกกรรมวิธี มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO เฉลี่ย 364.118-520.900 μmol/min/mg protein และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น โดยสารละลายโซเดียมอีริทอร์เบต ความเข้มข้น 1.5 โมลาร์ จะมีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดของการเก็บรักษา และสับปะรดที่ไม่ให้สารละลายในชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) กลับมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด รองลงมา คือสารละลาย $SrCl_2$ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO เฉลี่ย 430.327 μmol/min/mg protein (Table 2)

Table 1 Quality of pineapple picked in April dipped in different kinds of chemical after stored at 13±2°C for 3 weeks. IB = internal browning, TSS = total soluble solids, TA = titratable acidity, V.C = vitamin c., and PPO = polyphenol oxidase

Treatment	IB score	Firmness (Kg.)	% TSS	% TA	% V.C	PPO activity µmol/min/mg protein
1. Control	3.11	1.13b	13.74a	1.16ab	27.48	229.004ab
2. 0.2ppm 1-MCP	3.00	1.12b	12.99b	1.30b	26.06	209.239ab
3. 0.2M $CaCl_2$	2.50	1.08b	13.72a	1.21ab	24.05	224.162ab
4. 0.2M $SrCl_2$	2.33	1.18b	13.37ab	1.13ab	26.20	184.084a
5. 0.1M Erythorbate	2.67	1.22b	13.36ab	1.11a	27.41	252.773ab
6. 0.1M Ascorbate	2.67	1.10b	13.73a	1.14ab	25.80	209.274ab
7. 1.5 M Sodium Erythorbate	2.83	1.08b	13.19ab	1.14ab	29.70	275.974b
8. 0.1M Sodium Ascorbate	3.06	1.56a	13.27ab	1.14ab	24.34	213.999ab
9. 0.01M Methyl Jasmonate	3.17	1.56a	12.86b	1.15ab	23.58	247.333ab
Average	2.81	1.23	13.36	1.16	26.07	227.316
C.V. (%)	16.27	8.91	2.15	7.71	13.22	16.5

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

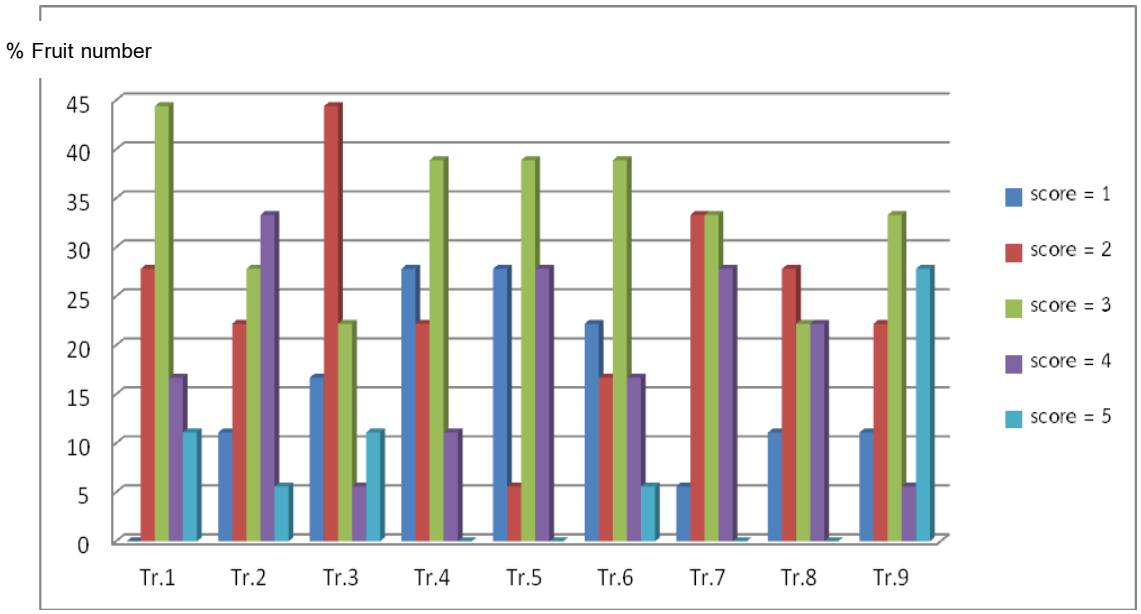


Figure 1 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of chemical (in April).

Table 2 Quality of pineapple picked in June dipped in different kinds of chemical after stored at 13±2°C for 3 weeks. IB = internal browning, TSS = total soluble solids, TA = titratable acidity, V.C = vitamin c., and PPO = polyphenol oxidase

Treatment	IB score	Firmness (Kg.)	% TSS	% TA	% V.C	PPO activity µmol/min/mg protein
1. Control	3.83	1.22	13.30ab	0.96	24.27ab	364.118
2. 0.2ppm 1-MCP	3.94	1.15	13.22ab	1.15	27.95ab	478.006
3. 0.2M $CaCl_2$	4.44	1.12	13.27ab	0.95	18.39b	479.122
4. 0.2M $SrCl_2$	3.94	1.17	12.37b	1.04	19.86ab	430.327
5. 0.1M Erythorbate	3.56	1.29	13.22ab	1.03	29.52a	454.640
6. 0.1M Ascorbate	4.06	1.27	13.13ab	1.01	24.95ab	520.900
7. 1.5 M Sodium Erythorbate	4.11	1.21	13.62a	1.02	21.83ab	498.278
8. 0.1M Sodium Ascorbate	3.94	1.35	13.54a	1.05	30.14a	443.140
9. 0.01M Methyl Jasmonate	4.17	1.21	13.03ab	0.96	20.30ab	444.547
Average	4.00	1.22	13.19	1.02	24.13	457.009
C.V. (%)	12.67	10.04	3.70	5.37	2.25	24.2

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

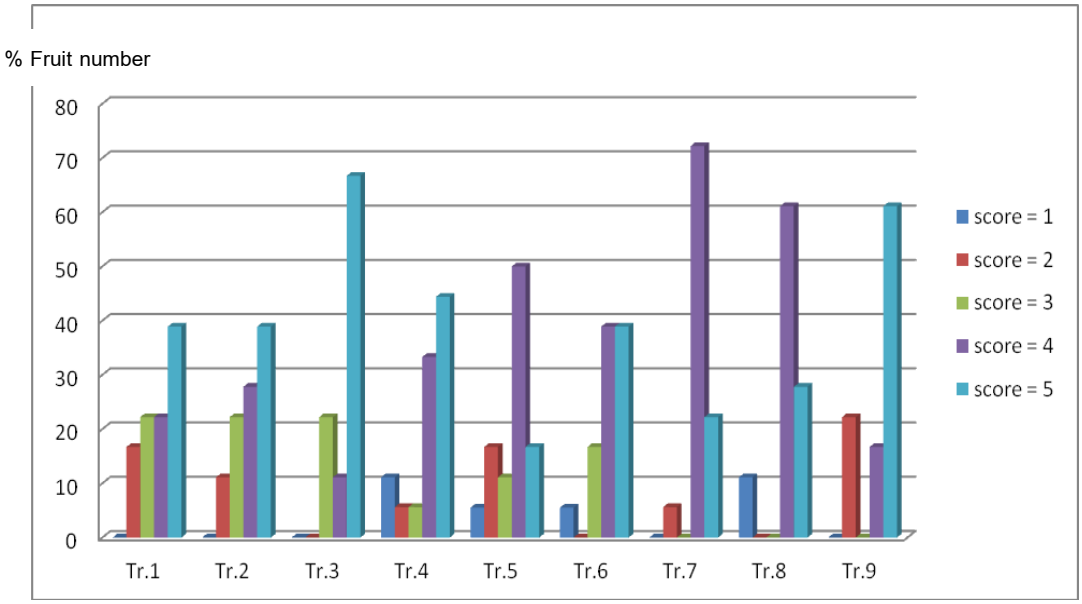


Figure 2 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of chemical (in June).

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เพื่อลดการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า การใช้สารละลาย $CaCl_2$ และ $SrCl_2$ มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลายในชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และการใช้สารละลาย $SrCl_2$ มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด ซึ่งบทบาทของเอนไซม์ PPO จะไปกระตุ้นให้สารฟีนอลรวมตัวเป็นโมเลกุลใหญ่และเกิดไส้สีน้ำตาล ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า การใช้สารละลายกรดอีริทอร์บิก มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลายในชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แต่มีปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ถึง 29.52 เปอร์เซ็นต์ และการไม่ให้สารละลายในชุดควบคุมที่ 1 (ไม่ใช้สารเคมี) มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด รองลงมา คือ สารละลาย $SrCl_2$ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และกรรมวิธีต่างๆที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลกระทบต่อ ความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาล กรด และวิตามินซี รวมถึงกลิ่นและรสชาติ อย่างไรก็ตาม การใช้สารละลาย $CaCl_2$, $SrCl_2$ และกรดอีริทอร์บิก ในช่วงเวลาดังกล่าวนั้น ถึงแม้ว่าจะให้ผลของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสารละลายตัวอื่น และไม่สามารถควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้ในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้หรือยอมรับได้ต่ำ หากได้มีการปรับเปลี่ยนวิธีการ เช่น ระยะเวลาในการจุ่มสาร ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม รวมถึงควบคุมปัจจัยสภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลให้มากยิ่งขึ้น ดังนั้นการใช้สารเคมีดังกล่าว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่อาจนำไปใช้เป็นกรรมวิธีในการปฏิบัติเพื่อควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในระดับหนึ่งได้

โครงการวิจัย 2 การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสด พันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ

The Physical Control of Enzyme Activities Regulating Internal Browning in Pineapple cv. Trad-See-Thong

ผู้วิจัย

วรางคณา มากกำไร วีรา คล้ายพุก อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว หยกทิพย์ สุดารีย์ ดารากร เผ่าชู

บทคัดย่อ

ปัญหาไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดเพื่อการส่งออกเป็นปัญหาสำคัญของไทย โดยเฉพาะพันธุ์ตราดสีทอง ซึ่งมีลักษณะเหมาะสมต่อการส่งออกผลสดแต่มีความอ่อนแอต่อไส้สีน้ำตาลมาก การศึกษาการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ส่งผลให้เกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยวิธีการทางกายภาพ ดำเนินการที่สถาบันวิจัยพืชสวน ระหว่างปี 2558-2559 เพื่อศึกษาการใช้สารเคลือบชนิดต่างๆ การใช้บรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ และการใช้สารเคลือบร่วมกับบรรจุภัณฑ์ ในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง โดยเก็บผลสับปะรดตราดสีทองจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ระยะแก่เขียว (หลังบังคับดอก 139 วัน) ในเดือนเมษายนและมิถุนายน ปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวตามกรรมวิธี และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำผลมาตรวจประเมินอาการไส้สีน้ำตาลและคุณภาพด้านต่างๆ โดย

การศึกษาการใช้สารเคลือบชนิดต่างๆ ดำเนินการในปี 2558 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/กล่อง) กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล) กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวผลด้วย Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet ผลการทดลอง พบว่า การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet มีแนวโน้มควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet โดยในครั้งที่ 1 เดือนเมษายน พบคะแนนเฉลี่ยการเกิดไส้สีน้ำตาลต่ำกว่า 2 (< 25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดผิว) คือ 1.72 และ 1.94 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ (ไม่เป็นไส้สีน้ำตาลรวมกับผลที่เป็นไส้สีน้ำตาล < 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดผิว) > 70 เปอร์เซ็นต์ (85 เปอร์เซ็นต์และ 82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) ในขณะที่ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน มีเพียงการเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet สามารถควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล 1.94 และเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ 82 เปอร์เซ็นต์ โดยที่กรรมวิธีนี้ไม่มีผลต่อคุณภาพด้านอื่นๆ ได้แก่ ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก %SS %TA รวมถึงกลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างจากชุดควบคุม แต่อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์สถิติของค่าคะแนนไส้สีน้ำตาลไม่แตกต่างกันระหว่างกรรมวิธี รวมทั้งการเกิดปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ PPO (Polyphenol oxidase activity) และปริมาณวิตามินซีไม่มีความแตกต่างทางสถิติเช่นกัน แต่มีความแตกต่างและสอดคล้องกับการเกิดไส้สีน้ำตาลระหว่างการทดลองในเดือนเมษายนและเดือนมิถุนายน กล่าวคือในเดือนมิถุนายนซึ่งมีปริมาณ

น้ำฝนสูงกว่ามีค่าการเกิดไส้สีน้ำตาลสูง ปฏิกิริยาของเอ็นไซม์ PPO สูง ในขณะที่ปริมาณวิตามินซีต่ำ ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปัจจัยทางสภาพอากาศมีอิทธิพลต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลมากกกว่าผลของการใช้สารเคลือบต่างๆ

การศึกษาการใช้บรรจุภัณฑ์ (MAPs) ชนิดต่างๆ ดำเนินการในปี 2558 วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ1 กล่อง (6 ผล/ กล่อง) กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่มีการใช้บรรจุภัณฑ์) กรรมวิธีที่ 2 บรรจุผลในถุงพลาสติก PP (polypropylene) กรรมวิธีที่ 3 บรรจุผลในถุงพลาสติก LDPE (low density polyethylene) และกรรมวิธีที่ 4 บรรจุผลด้วยฟิล์มพลาสติก PVC (polyvinyl chloride) ผลการทดลอง พบว่าการบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีแนวโน้มควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก PP (polypropylene) โดยการบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีคะแนนเฉลี่ยการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลต่ำที่สุดในการทดลองครั้งที่ 1 เดือนเมษายน และครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน คือ 2.00 และ 2.67 ตามลำดับ และมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ในการทดลองครั้งที่ 1 เท่ากับ 75 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีในการทดลองทั้งสองครั้ง แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีค่า PPO ต่ำสุด 375.424 µmol/min/mg protein และพบว่าในเดือนเมษายนมีการเกิด ปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO น้อยกว่าในเดือนมิถุนายน สำหรับผลด้านคุณภาพอื่นๆ ในการทดลองครั้งที่ 1 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE ส่งผลต่อการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด ค่าความแน่นเนื้อ และ %SS สูงสุด สำหรับ %TA ปริมาณวิตามินซี กลิ่นและรสชาติไม่แตกต่างจากกรรมวิธีอื่นๆ

การศึกษาการใช้สารเคลือบร่วมกับบรรจุภัณฑ์ ดำเนินการในปี 2559 โดยนำชนิดของสารเคลือบและบรรจุภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดที่ได้จากงานวิจัยที่ในปี 2558 มาทดสอบร่วมกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดตราดสีทอง โดยทำการทดลอง 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 ในเดือนเมษายน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/กล่อง) กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวหรือบรรจุภัณฑ์ใดๆ) กรรมวิธีที่ 2 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE กรรมวิธีที่ 7 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE กรรมวิธีที่ 8 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE ผลการทดลอง พบว่า การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet และการเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK สามารถควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยมีค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลไม่เกิน 2 (สีน้ำตาล <25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แกน) คือ 1.7 (12.1 เปอร์เซ็นต์), 1.8 (12.8 เปอร์เซ็นต์) และ 1.8 (17.1 เปอร์เซ็นต์) ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ไม่เป็นไส้สีน้ำตาลรวมกับผลทีเป็นไส้สีน้ำตาล < 25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดผิว) > 70 เปอร์เซ็นต์ คือ 83 89 และ 73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO น้อยที่สุด คือ 20.701 19.542 และ 20.494 µmol/min/mg protein ตามลำดับ และมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ 21.09 22.98 และ 19.30 mg/100 ml ตามลำดับ ดังนั้น ในการทดลองครั้งที่ 2 จึงนำกรรมวิธีทั้ง 3 มาทดสอบเปรียบเทียบกันอีกครั้ง โดยเก็บผลสับปะรดตราดสีทองจากแหล่ง

เดิมในเดือนมิถุนายน วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/กล่อง) กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวหรือใช้บรรจุภัณฑ์ใดๆ) กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK พบว่า ทุกกรรมวิธีมีคะแนนไส้สีน้ำตาลไม่เกิน 2 และไม่แตกต่างทางสถิติ และมีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ >70 เปอร์เซ็นต์ทุกกรรมวิธี นอกจากนี้ พบว่ากรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด จากการทดลองทั้ง 2 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่มีประสิทธิภาพดีสม่ำเสมอในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลทั้ง 2 ครั้ง คือ การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล 1.7 คะแนน เปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่มีค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ 83 เปอร์เซ็นต์ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่ำ กิจกรรมของแอนตีออกซิแดนท์ค่อนข้างสูง ปริมาณวิตามินซีสูง การสูญเสียน้ำหนักน้อย ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณน้ำตาล กรด กลิ่นและรสชาติใดๆ ดังนั้น การเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK ร่วมกับ Cellophane sheet จึงมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดตราดสีทอง

บทนำ

สับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) เป็นพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ ไทยส่งออกสับปะรดส่วนใหญ่เป็นในรูปการแปรรูปไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา เยอรมนี และสเปน และมีการส่งออกสับปะรดผลสดบ้างไปยังประเทศ อินโดนีเซีย และจีน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2561) ซึ่งมูลค่าในการส่งออกผลสดยังมีน้อยมาก ปัญหาสำคัญของการส่งออกสับปะรดผลสด คือ การเกิดอาการผิดปกติทางสรีระวิทยาที่เรียกว่า อาการไส้สีน้ำตาล (Internal browning) เนื่องจากการขนส่งเพื่อการส่งออกมักจะเดินทางไปโดยเรือซึ่งต้องใช้ระยะเวลานาน โดยเฉพาะการขนส่งไปยังประเทศที่อยู่ไกล เช่น ประเทศทางยุโรป หรือ อเมริกา อาจจะต้องใช้เวลาเดินทางถึง 30 วัน และประเทศจีนใช้เวลา 14 วันเดินทาง และ 7 วันในการวางชั้น รวม 21 วัน ซึ่งการเก็บรักษาผลสดให้ยังคงคุณภาพอยู่ได้นานนั้นต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นประมาณ 8-13 °C แต่เนื่องจากสับปะรดเป็นไม้ผลเขตร้อน การเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็นเป็นเวลานานทำให้เกิดอาการสะท้านหนาว (Chilling injury) คือ เกิดแถบสีน้ำตาลบริเวณเนื้อใกล้กับแกนผล หรือเรียกว่า อาการไส้สีน้ำตาล ดังนั้นจึงเป็นปัญหาที่ทำให้ประเทศไทยไม่สามารถส่งออกสับปะรดผลสดไปยังประเทศที่อยู่ไกลได้

พันธุ์สับปะรดแต่ละพันธุ์มีอาการไส้สีน้ำตาลมากน้อยต่างกัน (Teisson *et al*., 1978) ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียไม่ปรากฏอาการไส้สีน้ำตาลตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส นาน 3 สัปดาห์ แตกต่างจากพันธุ์ภูเก็ตที่ปรากฏอาการไส้สีน้ำตาลอย่างชัดเจนตั้งแต่สัปดาห์แรกของการเก็บรักษา (จริงแท้ และอ้อมอรุณ, 2548) สับปะรดพันธุ์ตราดสีทองเป็นพันธุ์ที่มีความอ่อนแอต่ออาการไส้สีน้ำตาลเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ มากที่สุด รองลงมาได้แก่ พันธุ์ภูแล และพันธุ์ที่มีความทนทานมาก ได้แก่ พันธุ์สวี และพันธุ์ภูเก็ต (จริงแท้, 2554)

สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง เป็นสับปะรดในกลุ่มพันธุ์ควีน (Queen) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความต้องการมากในต่างประเทศโดยเฉพาะประเทศญี่ปุ่น เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีเนื้อผลกรอบ รสชาติหวานอมเปรี้ยว แตกต่างจาก

สับปะรดในกลุ่มพันธุ์คาเยน (Cayenne) และขนาดของผลก็เล็กตรงตามความต้องการซึ่งสะดวกต่อการขนส่ง นอกจากนี้เรายังมีกำลังการผลิตสับปะรดสายพันธุ์นี้เป็นอย่างมากในแถบภาคตะวันออกของประเทศโดยเฉพาะจังหวัดตราด ในปี 2560 มีเนื้อที่เก็บเกี่ยวผลผลิตรวม 19,758 ไร่ และผลผลิตรวมประมาณ 70,305 ตัน (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2560) แต่อย่างไรก็ตามสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองเป็นพันธุ์ที่ประสบปัญหาการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลมากที่สุดในกลุ่มพันธุ์ควีน ดังนั้นการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวมาใช้ในการแก้ปัญหาดังกล่าว เพื่อการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง จึงเป็นสิ่งจำเป็นเพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออกสับปะรดผลสดของไทย

อาการไส้สีน้ำตาลหรืออาการสะท้านหนาว (Chilling injury) เกิดจากอุณหภูมิเย็นกระตุ้นการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radicals) ชนิด reactive O_2 เช่น H_2O_2 เพิ่มมากขึ้น ซึ่งสามารถทำลาย Polyunsaturated lipid ทำให้เยื่อหุ้มเสื่อมสภาพ (Shewfelt and Erickson, 1991) ส่งผลให้สารต่างๆรวมถึงสารประกอบฟีนอลเคลื่อนที่ผ่านเข้าออกจากเซลล์ได้อย่างอิสระ (Murata, 1990) และทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ Polyphenol oxidase (PPO) จนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลขึ้น (จรัญญา, 2549)

ดังนั้น แนวทางหนึ่งในการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำโดยทางกายภาพ คือ การควบคุมปริมาณก๊าซออกซิเจน ซึ่งมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ PPO ซึ่งเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวที่สามารถช่วยควบคุมปริมาณก๊าซออกซิเจนได้ ได้แก่ การใช้สารเคลือบผิว (Coating) และการใช้บรรจุภัณฑ์ในสภาพบรรยากาศดัดแปลง (Modified atmosphere packaging: MAPs)

การใช้สารเคลือบผิว (Coating) เป็นอีกเทคโนโลยีหนึ่งที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาและยังพบว่าช่วยลดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดได้ มีการพบว่าการใช้สารเคลือบผิวประเภท paraffin-polyethylene ความเข้มข้นร้อยละ 20 สามารถช่วยลดการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียได้ เพราะสารเคลือบผิวไปจำกัดปริมาณออกซิเจน ที่เข้าสู่ภายในผลทำให้ PPO ทำงานได้น้อยลง การออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลเกิดได้น้อยลง (Paull and Rohrbach,1985) เช่นเดียวกันกับ ฐิติรัตน์ (2547) พบว่า Sta-fresh 7055 (paraffin-polyethylene wax) ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 สามารถชะลอการเกิดอาการสะท้านหนาว ลดการสูญเสียปริมาณกรดแอสคอร์บิก และรักษาคุณภาพผลิตผลได้ดีในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

Pitadeniya *et al.* (2005) รายงานว่าการใช้ wax 5 เปอร์เซ็นต์และ Benlate (1 g/L) เคลือบผลสับปะรดช่วยลดการเกิดไส้สีน้ำตาล โดยมีเปอร์เซ็นต์การเกิดอาการ 87.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอาการ 100 เปอร์เซ็นต์ ที่ 20 วัน หลังการเก็บรักษา 10 °C และเขายังพบว่าการห่อผลด้วย Cellophane sheet ยังช่วยลดการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ถึง 18 วัน อีกด้วย

นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการศึกษาการนำไคโตซานมาใช้เคลือบผิวผักและผลไม้เพื่อยืดอายุและรักษาคุณภาพผลผลิตเป็นอย่างมาก Shahida *et al*. (1999) ได้ทำการทดลองใช้แผ่นฟิล์มไคโตซานเคลือบลิ้นจี่ เพื่อป้องกันการเกิด enzymatic browning และพบว่าการเคลือบด้วยไคโตซานทำให้การเปลี่ยนแปลงปริมาณของ anthocyanin, flavonoids และ phenolics ช้าลง และยังทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ลดลงอีกด้วย การทดลองในสับปะรด Suntipabvivattana and Somboonkaew (2005) พบว่าการใช้ไคโตซานความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์เคลือบผิวสับปะรดพันธุ์ภูแลในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 °C สามารถยืดอายุเก็บรักษาได้นาน 21 วัน และยังลดการสูญเสียน้ำหนัก ลดอัตรา

การหายใจ และลดการสูญเสียปริมาณวิตามินซีของผล ซึ่งการที่ผลยังมีปริมาณวิตามินซีสูงอยู่น่าจะมีผลต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลน้อยลง

สำหรับการเก็บรักษาผลผลิตในสภาพบรรยากาศดัดแปลง (Modified atmosphere packaging: MAPs) สามารถควบคุมปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และออกซิเจน สร้างความสมดุลระหว่างการหายใจของผลิตผลกับคุณสมบัติการซึมผ่านของก๊าซผ่านบรรจุภัณฑ์ในสภาพบรรยากาศดัดแปลง โดยต้องมีคุณสมบัติในการควบคุมและลดอัตราการซึมผ่านของก๊าซผ่านบรรจุภัณฑ์ที่เลือกใช้ ยอมให้ก๊าซออกซิเจนเข้ามาภายในบรรจุภัณฑ์ในอัตราที่สามารถชดเชยกับการใช้ก๊าซออกซิเจนของผลิตผลได้ เช่นเดียวกับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ จะสามารถออกจากภาชนะบรรจุและสารเคลือบผิวได้พอเหมาะกับการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ของผลิตผล นอกจากนี้สภาพบรรยากาศที่ต้องการต้องเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วโดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายหรืออาการผิดปกติเนื่องจากระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สูงเกินไป (Zagory and Kader, 1988; งามทิพย์ ภู่วโรดม, 2537) ในปัจจุบันได้มีการนำวัสดุต่างๆ มาทำการห่อหุ้มหรือบรรจุผลิตผลสดทางการเกษตรมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งพลาสติกในรูปของถุงพลาสติกและฟิล์มพลาสติก ซึ่งพลาสติกจะช่วยลดการสูญเสียทางกายภาพและเคมีของผลิตผลได้ เนื่องจากการทำให้เกิดสภาพแวดล้อมรอบๆ ผลิตผล (microclimate) ที่มีความเหมาะสมต่อการเก็บรักษา (Hardenburg, 1971) การสะสมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นและแก๊สออกซิเจนลดลง มีผลทำให้อัตราการหายใจและปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ภายในผลิตผลลดลง (Varoquaux *et al.*, 1996) ดังนั้นจึงสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของผลิตผลได้ ถุงพลาสติกที่นิยมนำมาบรรจุผลิตผลหลังการเก็บ ได้แก่ Polyethylene (PE) Polypropylene (PP) ถุงพลาสติกทั้งสองชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน โดยถุงพลาสติก PP จะมีความใสและยอมให้ไอน้ำผ่านเข้าออกมากกว่าถุงพลาสติก PE และถุงพลาสติกชนิดที่ยอมให้มีการแลกเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สออกซิเจน คือ LDPE (low density polyethylene)

Ben-Yehoshua *et al.* (1983) ได้ทำการศึกษาผลของการหุ้มผลส้มและมะนาวด้วยถุงพลาสติกชนิด PE พบว่าสามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ ต่อมา Paul และ Chen (1987) ศึกษาผลของการใช้ถุงพลาสติก PE ห่อหุ้มลิ้นจี่ ซึ่งพบว่าสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลในลิ้นจี่ได้ จากการที่ถุงพลาสติก PE ได้รับความนิยมแพร่หลายและเป็นพลาสติกที่มีการใช้กันในปริมาณมากที่สุด ไม่ว่าสินค้าจะเป็นผลิตผลสดผลิตภัณฑ์อาหาร และผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆ เนื่องจากมีชนิดและชั้นคุณภาพหลายระดับ คุณสมบัติของ PE มีดังนี้ คือ มีความโปร่งแสงความหนาแน่นเพิ่มจะมีความใสลดลง นิ่มและยืดหยุ่นมีความเหนียวสูง ทนทานต่อสารเคมีจำพวกกรดด่างได้ดี ดูดซึมน้ำได้ต่ำมาก ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี และปิดผนึกด้วยความร้อนได้ดี จากการนำฟิล์ม PE ดังกล่าวมาใช้ในการเก็บรักษาพริก ซึ่งพบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาพริก naranjilla ไว้ได้มากกว่า 50 วัน ที่อุณหภูมิ 7.5 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นประโยชน์อีกด้านหนึ่งของการใช้ฟิล์มพลาสติกคือทำให้เกิดสภาวะอากาศมีการอิ่มตัวของไอน้ำซึ่งช่วยบรรเทาการเกิด water stress ส่งผลทำให้ผลพริกหวานเสื่อมสภาพช้าลง (Ben-yohoshua *et al.*,1983)

ฟิล์มพลาสติกที่ใช้ในการบรรจุหีบห่อสำหรับการขายปลีกนั้นทำจาก ฟิล์มที่เป็น Linear lowdensity polyethylene (LLDPE) PVC (polyvinyl chloride) ซึ่งฟิล์มพลาสติกแต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกัน การเลือกใช้ของผู้ผลิตขึ้นอยู่กับการหดตัว การยืด การปิดผนึก และการยอมให้อากาศและไอน้ำผ่าน ความใส ความ

เป็นมันเงา และความสะดวกในการจัดพิมพ์ข้อความ ฟิล์มยืดที่มีคุณสมบัติยืดหยุ่นและเกาะติดกันเองได้ดี (จริงแท้, 2538)

ฟิล์มยืด PVC เป็นชนิดที่นิยมใช้ในการค้ามากที่สุดในปัจจุบัน เนื่องจาก PVC สามารถยืดและหดตัวได้ทุกทาง ก๊าซและไอน้ำสามารถระเหยผ่านได้ มีคุณสมบัติดีกว่า LDPE แผ่นฟิล์มชนิดนี้ใช้กันมากในการปิดด้านบนของถาดโฟมที่ใส่ผลิตผลสด แผ่นฟิล์มชนิดนี้ไม่เหมาะสมในการทำถุง ฟิล์ม PVC บางชนิดสามารถขึงให้ตึงได้ ทำให้ผลิตผลมีลักษณะดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคเพราะมีผิวดูเป็นมันฟิล์ม PVC บางชนิดจะหดตัวประมาณร้อยละ 30 – 50 เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที ทำให้แนบสนิทกับผลิตผลได้ดี อีกทั้งยังมีคุณสมบัติโปร่งใส ไม่เกิดลักษณะฝ้ามัว หรือเกิดหยดน้ำขึ้นระหว่างเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ มีความเหนียว ทนทานสารเคมีทั้งกรดและด่าง ป้องกันการซึมผ่านของไขมันและน้ำมันได้ดี (มยุรี และ อมรรัตน์, 2533)

ดังนั้นจึงได้ศึกษาชนิดของสารเคลือบผิว และชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาล และนำสารเคลือบและบรรจุภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดมาทดสอบร่วมกันในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง เพื่อเพิ่มศักยภาพในการส่งออกสับปะรดผลสดของไทย

ระเบียบวิธีการวิจัย

ประกอบด้วย 3 การทดลอง

1. ผลของการใช้สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

<u>อุปกรณ์</u>

1. ผลสับปะรดตราดสีทอง ระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก
2. Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์
3. Wax GLK (WAXES 18% w/v Shellac, wax)
4. Cellophane sheet
5. กล่องบรรจุสับปะรด 6 ผลในแนวนอน มีช่องเจาะทรงรีในแนวตั้งตามด้านยาวของกล่อง ด้านละ 2 ช่อง
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์คุณภาพผล
7. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์อัตราปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO

<u>วิธีการ</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 6 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ1 กล่อง (6 ผล/ กล่อง)

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่เคลือบผิวผล)

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax)

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวผลด้วย Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน และมิถุนายน ระยะแก่เขียว (หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก) และสุ่มวิเคราะห์คุณภาพก่อนการเก็บรักษา

2. นำผลสับปะรดมาทดสอบตามกรรมวิธี

3. นำผลสับปะรดบรรจุใส่กล่องกระดาษและเก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส

4. หลังการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ นำผลมาผ่าครึ่งตามยาวตรวจดูการเกิดไส้สีน้ำตาล รวมถึงตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆของผล

การบันทึกข้อมูล

- คุณภาพก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ ปริมาณ Soluble solids (%SS) ปริมาณกรด (%TA) ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณวิตามินซี กลิ่นและรสชาติผลสับปะรด
- วัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO
- การให้คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล (Internal browning score: IB score) โดยการประเมินทางสายตาโดยแบ่งระดับการเกิดสีน้ำตาลออกเป็น 5 ระดับ

  1 = ไม่พบสีน้ำตาล

  2 = มีสีน้ำตาล 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  3 = มีสีน้ำตาล 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  4 = มีสีน้ำตาล 51-75 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

  5 = มีสีน้ำตาล 76-100 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

เวลาและสถานที่

ดำเนินการในปี ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558 ณ สถาบันวิจัยพืชสวน และศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

2. ผลของบรรจุภัณฑ์ (MAPs) ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

อุปกรณ์

1. ผลสับปะรดตราดสีทอง ระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก
2. ถุงพลาสติก PP (polypropylene)
3. ถุงพลาสติก LDPE (low density polyethylene)
4. ฟิล์มพลาสติก PVC (polyvinyl chloride)
5. กล่องบรรจุสับปะรด 6 ผลในแนวนอน มีช่องเจาะทรงรีในแนวตั้งตามด้านยาวของกล่อง ด้านละ 2 ช่อง
6. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์คุณภาพผล
7. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์อัตราปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/ กล่อง)

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (บรรจุผลสับปะรดในกล่องกระดาษ)

กรรมวิธีที่ 2 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก PP (polypropylene)

กรรมวิธีที่ 3 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE (low density polyethylene)

กรรมวิธีที่ 4 บรรจุผลสับปะรดฟิล์มพลาสติก PVC (polyvinyl chloride)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน และมิถุนายน ระยะแก่เขียว (หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก) และสุ่มวิเคราะห์คุณภาพก่อนการเก็บรักษา
2. นำผลสับปะรดมาทดสอบตามกรรมวิธี
3. นำผลสับปะรดบรรจุใส่กล่องกระดาษและเก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส
4. หลังการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ นำผลมาผ่าครึ่งตามยาวตรวจดูการเกิดไส้สีน้ำตาล รวมถึงตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆ ของผล

การบันทึกข้อมูล

1. คุณภาพก่อนและหลังการเก็บรักษา คือ ปริมาณ Soluble solids (%SS) ปริมาณกรด (%TA) ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก ปริมาณวิตามินซี กลิ่นและรสชาติผลสับปะรด
2. วัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO
3. การให้คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล (Internal browning score: IB score) โดยการประเมินทางสายตา โดยแบ่งระดับการเกิดสีน้ำตาลออกเป็น 5 ระดับ

    1 = ไม่พบสีน้ำตาล

    2 = มีสีน้ำตาล 1-25 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

    3 = มีสีน้ำตาล 26-50 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

    4 = มีสีน้ำตาล 51-75 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

    5 = มีสีน้ำตาล 76-100 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

เวลาและสถานที่

ดำเนินการในปี ตุลาคม 2557 – กันยายน 2558 ณ สถาบันวิจัยพืชสวน และศูนย์วิจัยพืชสวนจันทบุรี

3. ชนิดสารเคลือบร่วมกับถุงบรรจุภัณฑ์ต่อการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

อุปกรณ์

1. ผลสับปะรดตราดสีทอง ระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก
2. Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์
3. Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax)
4. Cellophane sheet

5. ถุงพลาสติก LDPE (low density polyethylene)
6. กล่องบรรจุสับปะรด 6 ผลในแนวนอน มีช่องเจาะทรงรีในแนวตั้งตามด้านยาวของกล่อง ด้านละ 2 ช่อง
7. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์คุณภาพผล
8. อุปกรณ์และสารเคมีในการวิเคราะห์อัตราปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO

<u>วิธีการ</u> ดำเนินการทดลอง 2 ครั้ง

<u>ครั้งที่ 1</u>

วางแผนการทดลองแบบ RCB มี 8 กรรมวิธี 3 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/ กล่อง)

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่มีการใช้สารเคลือบหรือถุงบรรจุใดๆ)

กรรมวิธีที่ 2 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax)

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax) และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE

กรรมวิธีที่ 7 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE

กรรมวิธีที่ 8 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน ระยะแก่เขียว (หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก) และสุ่มวิเคราะห์คุณภาพก่อนการเก็บรักษา
2. นำผลสับปะรดมาทดสอบตามกรรมวิธี
3. นำผลสับปะรดบรรจุใส่กล่องกระดาษและเก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส
4. หลังการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ นำผลมาผ่าครึ่งตามยาวตรวจดูการเกิดไส้สีน้ำตาล รวมถึงตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆของผล

การบันทึกข้อมูล

1. คุณภาพผล ได้แก่ ปริมาณ Soluble solids (%SS) ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (%TA) ความแน่นเนื้อ สีเปลือกและสีเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสีผิว ปริมาณวิตามินซี ปริมาณสารประกอบฟีโนลิก antioxidant activity และรสชาติผลสับปะรด
2. วัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO

3. การให้คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล (Internal browning score: IB score) โดยการประเมินทางสายตาโดยแบ่งระดับการเกิดสีน้ำตาลออกเป็น 5 ระดับ

1 = ไม่พบสีน้ำตาล

2 = มีสีน้ำตาล 1-25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

3 = มีสีน้ำตาล 26-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

4 = มีสีน้ำตาล 51-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

5 = มีสีน้ำตาล 76-100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

<u>ครั้งที่ 2</u>

คัดเลือกกรรมวิธีที่ได้ผลดีที่สุดจากการทดลองครั้งที่ 1 มาทดลองซ้ำอีกครั้ง โดยวางแผนการทดลองแบบ RCB มี 4 กรรมวิธี 5 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กล่อง (6 ผล/กล่อง)

กรรมวิธีที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่มีการใช้สารเคลือบหรือถุงบรรจุใดๆ)

กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 3 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet

กรรมวิธีที่ 4 เคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v Shellac, wax)

วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. เก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนมิถุนายน ระยะแก่เขียว (หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก) และสุ่มวิเคราะห์คุณภาพก่อนการเก็บรักษา
2. นำผลสับปะรดมาทดสอบตามกรรมวิธี
3. นำผลสับปะรดบรรจุใส่กล่องกระดาษและเก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส
4. หลังการเก็บรักษา 3 สัปดาห์ นำผลมาผ่าครึ่งตามยาวตรวจดูการเกิดไส้สีน้ำตาล และตรวจวัดคุณภาพด้านต่างๆของผล

การบันทึกข้อมูล

1. คุณภาพผล ได้แก่ ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนัก เปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสีผิว และรสชาติผลสับปะรด
2. การให้คะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล (Internal browning score: IB score) โดยการประเมินทางสายตาโดยแบ่งระดับการเกิดสีน้ำตาลออกเป็น 5 ระดับ

1 = ไม่พบสีน้ำตาล

2 = มีสีน้ำตาล 1-25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

3 = มีสีน้ำตาล 26-50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

4 = มีสีน้ำตาล 51-75 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

5 = มีสีน้ำตาล 76-100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผล

เวลาและสถานที่

ดำเนินการในเดือนตุลาคม 2558 – กันยายน 2559 รวม 1 ปี ณ สถาบันวิจัยพืชสวน

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลของการใช้สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

ดำเนินการทดลอง 2 ครั้ง โดยเก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน และเดือนมิถุนายน เก็บเกี่ยวระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก สุ่มวัดคุณภาพผลก่อนการเก็บรักษา ผลคือไม่พบอาการไส้สีน้ำตาลในการทดลองทั้งสองครั้ง และปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำผลมาตรวจประเมินอาการไส้สีน้ำตาล และวัดคุณภาพผลด้านต่างๆ

ผลการประเมินการเกิดไส้สีน้ำตาลโดยพิจารณาค่าคะแนนเฉลี่ย พบว่า ค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในทุกกรรมวิธีไม่แตกต่างทางสถิติ แต่มีแนวโน้มที่กรรมวิธีที่ 6 คือการเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ให้ผลในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด คือ มีค่าคะแนนต่ำสุดในการทดลองทั้งสองครั้ง และค่าคะแนนเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์คะแนนที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน 2 (1.72 และ 1.94 ตามลำดับ) รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet ซึ่งมีค่าคะแนนเฉลี่ยในครั้งที่ 1 น้อยกว่า 2 (1.94) แต่ในครั้งที่ 2 มากกว่า 2 (2.39) ในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆมีคะแนนเฉลี่ยมากกว่า 2 ทั้งหมดในการทดลองทั้งสองครั้ง ซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป (Table 1 and 2)

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในระดับต่างๆ ในการทดลองครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 6 คือการเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet มีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คือ คะแนน 1 และ 2 รวมกันสูงสุดและมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (85 และ 82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) โดยกรรมวิธีที่ 6 มีจำนวนผลที่ไม่เกิดไส้สีน้ำตาลสูงสุด (Figure 1) ส่วนการทดลองครั้งที่ 2 ผลเป็นในทางเดียวกันกับการทดลองครั้งที่ 1 คือ กรรมวิธีที่ 6 และ 5 มีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้สูงสุด คือ 81 เปอร์เซ็นต์และ 65 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (Figure 2) แต่การเกิดไส้สีน้ำตาลในครั้งที่ 2 มีความรุนแรงกว่าครั้งที่ 1 อันอาจเนื่องมาจากในเดือนมิถุนายนได้รับปริมาณน้ำฝนมากกว่าเดือนเมษายน (ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย ณ อ.คลองใหญ่ จ.ตราด ในเดือนมิถุนายนและเมษายน คือ 860 มม. และ 180 มม. ตามลำดับ (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2558) ทำให้ผลสับปะรดง่ายต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลมากกว่า สอดคล้องกับ จักรพงษ์ และจริงแท้ (2536) ซึ่งพบว่า หากระหว่างการเจริญเติบโตจากแหล่งปลูกมีแสงน้อย ฝนตกชุก สับปะรดจะมีโอกาสเกิดไส้สีน้ำตาลสูง ดังนั้นในการทดลองครั้งที่ 2 มีเพียงกรรมวิธีที่ 6 คือการเคลือบผิวผลด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ที่สามารถควบคุมไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้

ผลการวัดการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO (Polyphenol oxidase activity) พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีในการทดลองทั้งสองครั้ง แต่มีแนวโน้มที่กรรมวิธีควบคุมมีค่าปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO สูงสุดทั้ง 2 ครั้ง และเมื่อพิจารณาร่วมกับปริมาณวิตามินซีซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่มีแนวโน้มที่กรรมวิธีควบคุมมีปริมาณวิตามินซีต่ำสุดในการทดลองทั้งสองครั้งเช่นกัน (Table 1 and 2) จากรายงานของ จักรพงษ์ และจริงแท้ (2536) ผลสับปะรดที่มีปริมาณวิตามินซีสูงมีโอกาสเกิดไส้สีน้ำตาลต่ำ เนื่องจากวิตามินซีไปยับยั้งการรวมตัวของสารควิโนน (quinone) เป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีสีน้ำตาล (Abdullah *et al*., 1987) แสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีควบคุมมีแนวโน้มเกิดไส้สีน้ำตาลสูงสุด แต่อย่างไรก็ตามผลของค่าคะแนนไส้สีน้ำตาลไม่สอดคล้องกับแนวโน้มดังกล่าว ทั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่นๆเข้ามาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO ในการทดลองครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 พบว่าในเดือนเมษายนมีค่าเฉลี่ยการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO 172.628 µmol/min/mg protein น้อยกว่าในเดือนมิถุนายน ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 359.873 µmol/min/mg protein สอดคล้องกับคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลเปรียบเทียบในการทดลองทั้งสองครั้ง คือเมื่อมีการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO สูงการเกิดไส้สีน้ำตาลสูง ทั้งนี้ผลของปัจจัยทางสภาพอากาศมีอิทธิพลมากกกว่าผลของการใช้สารเคลือบต่างๆ (Table 1 and 2)

สำหรับผลในด้านคุณภาพอื่นๆ พบว่า ค่าสูญเสียน้ำหนักมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี โดยครั้งที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 2 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์มีค่าการสูญเสียน้ำหนักสูงสุด ในขณะที่การทดลองครั้งที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet มีค่าสูงสุด ในขณะที่กรรมวิธีอื่นๆมีค่าการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าและไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนค่าความแน่นเนื้อพบความแตกต่างทางสถิติในครั้งที่ 1 โดยกรรมวิธีที่ 5 เคลือบผิวผลด้วย Chitosan 2 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับ Cellophane sheet มีค่าสูงสุด แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี และสำหรับ %SS %TA และปริมาณวิตามินซีไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีในการทดลองทั้งสองครั้ง (Table 1 and 2) นอกจากนี้ยังไม่พบความผิดปกติด้านกลิ่นและรสชาติในทุกกรรมวิธี แสดงว่าแต่ละกรรมวิธีไม่มีผลต่อคุณภาพด้านปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด กลิ่นและรสชาติ

Table 1 Quality of pineapple picked in April and coated with different coating after stored at 13±2°C for 3 weeks**.** IB = internal browning, PPO = polyphenol oxidase, V.C = vitamin c, SS = soluble solids, and TA = titratable acidity.

Treatment	IB score	PPO activity (μmol/min/ mg protein)	V.C (mg/ 100ml)	Weight loss (Kg.)	Firmness (Kg.)	%SS	% TA
1. Control	2.11	184.190	35.10	0.07a*	1.25c	11.72	0.91
2. 2% Chitosan	2.56	169.750	38.43	0.12b	1.52ab	12.64	0.97
3. GLK Wax 18% w/v	2.44	172.041	35.21	0.08a	1.24c	11.43	0.93
4. Cellophane sheet	2.56	164.438	37.54	0.09a	1.36ab	11.74	0.96
5. 2% Chitosan + Cellophane sheet	1.94	178.314	37.39	0.08a	1.64a	11.36	0.95
6. GLK Wax 18% w/v + Cellophane sheet	1.72	167.027	38.90	0.08a	1.27c	11.76	1.01
Average	2.22	172.628	37.09	0.09	1.38	11.78	0.95
C.V.	23.14%	19.50%	13.25%	18.90%	7.60%	5.86%	11.04%

*Different letter indicates significantly difference within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

Table 2 Quality of pineapple picked in June and coated with different coating after stored at 13±2°C for 3 weeks. IB = internal browning, PPO = polyphenol oxidase, V.C = vitamin c, SS = soluble solids, and TA = titratable acidity.

Treatment	IB score	PPO activity (µmol/min/ mg protein)	V.C (mg/ 100ml)	Weight loss (Kg.)	Firmness (Kg.)	%SS	% TA
1. Control	2.39ab*	426.007	30.76	0.07a	1.20	12.88	0.97
2. 2% Chitosan	2.72ab	323.633	34.06	0.07a	1.36	12.91	1.09
3. GLK Wax 18% w/v	2.83b	330.018	31.71	0.08ab	1.30	13.40	1.06
4. Cellophane sheet	2.56ab	330.487	37.65	0.09ab	1.25	12.31	1.05
5. 2% Chitosan + Cellophane sheet	2.39ab	407.337	34.00	0.10b	1.20	12.80	1.02
6. GLK Wax 18% w/v + Cellophane sheet	1.94a	341.758	34.82	0.07a	1.26	12.91	1.04
Average	2.47	359.873	33.83	0.08	1.26	12.87	1.04
C.V.	17.37%	24.00%	17.10%	16.50%	9.72%	4.65%	10.08%

*Different letter indicates significantly difference within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

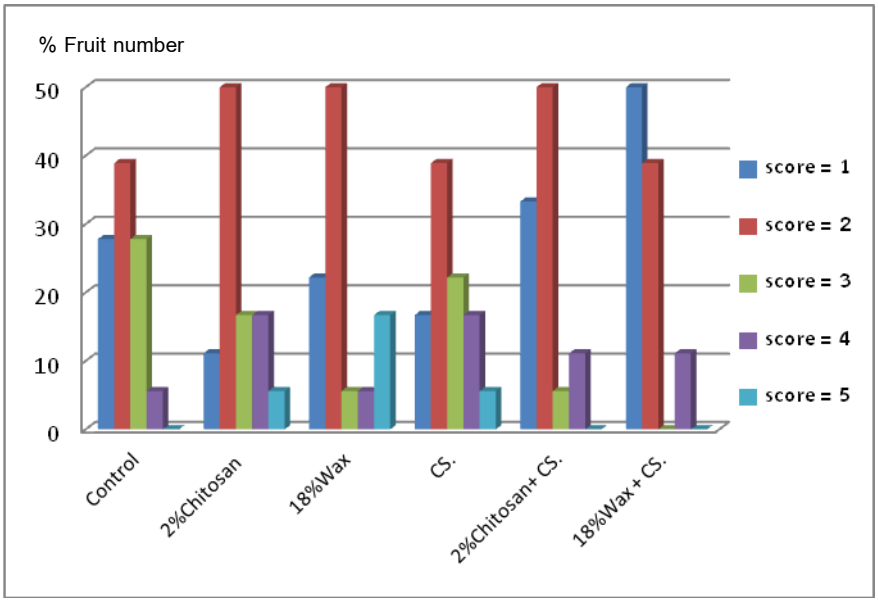


Figure 1 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of coating (in April). CS. is cellophane sheet.

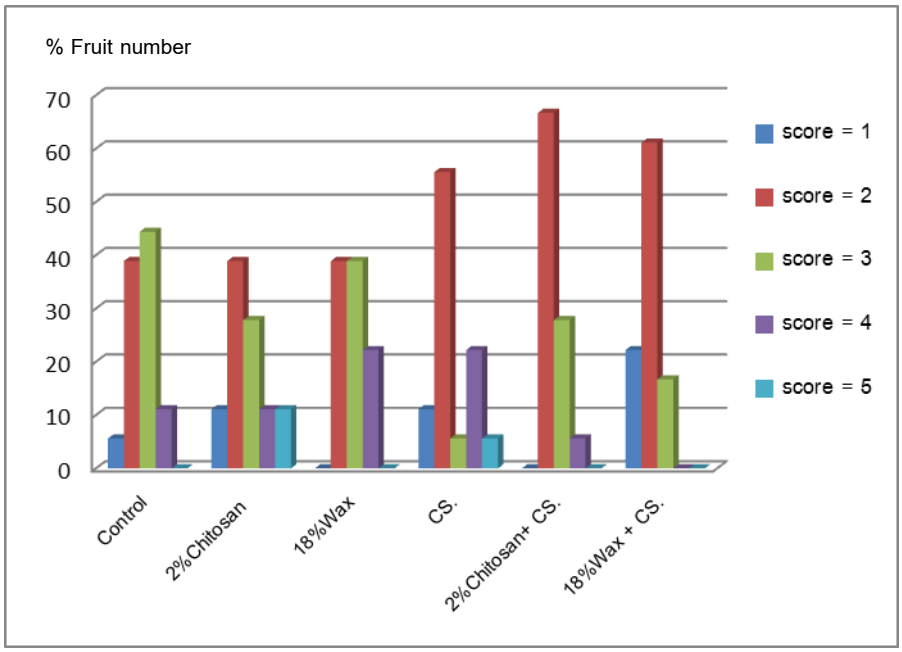


Figure 2 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of coating (in June). CS. is cellophane sheet.

2. ผลของบรรจุภัณฑ์ (MAPs) ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

ดำเนินการทดลอง 2 ครั้ง โดยเก็บผลสับปะรดสดจากแปลงเกษตรกร จ.ตราด ในเดือนเมษายน และเดือนมิถุนายน เก็บเกี่ยวระยะแก่เขียว หรือ 139 วันหลังบังคับการออกดอก สุ่มวัดคุณภาพผลก่อนการเก็บรักษา ผลคือไม่พบอาการไส้สีน้ำตาลในการทดลองทั้งสองครั้ง และปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวตามกรรมวิธีที่กำหนด เก็บรักษาในอุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำผลมาตรวจประเมินอาการไส้สีน้ำตาล และวัดคุณภาพผลด้านต่างๆ

ผลการประเมินการเกิดไส้สีน้ำตาลโดยพิจารณาค่าคะแนนเฉลี่ย พบว่า ค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่มีแนวโน้มที่กรรมวิธีที่ 3 คือบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE สามารถควบคุมไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยมีคะแนนเฉลี่ยต่ำที่สุดในการทดลองทั้งสองครั้ง คือ 2.00 และ 2.67 ซึ่งในการทดลองครั้งที่ 1 ค่าคะแนนเฉลี่ยยังอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน 2 ซึ่งคิดเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลของพื้นที่หน้าตัดเนื้อผลมากกว่า 25 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นไป เมื่อดูค่าเฉลี่ยคะแนนไส้สีน้ำตาลโดยรวม พบว่าการทดลองครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน มีการเกิดไส้สีน้ำตาลสูงกว่าการทดลองครั้งที่ 1 เดือนเมษายน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเดือนมิถุนายนเข้าใกล้ฤดูฝน ปริมาณน้ำฝนสูงกว่าอันเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดไส้สีน้ำตาลได้ง่ายกว่า ส่วนการวัดการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO (Polyphenol oxidase activity) พบว่าในการทดลองทั้งสองครั้งไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ซึ่งในการทดลองครั้งที่ 1 บรรจุผลสับปะรดฟิล์มพลาสติก PVC มีค่าการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO ต่ำสุด 214.988 μmol/min/mg protein แต่สำหรับในการทดลองครั้งที่ 2 บรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีค่าการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO ต่ำสุด 375.424 μmol/min/mg protein ซึ่งสอดคล้องกับคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลที่ต่ำสุดนั่นเอง และเมื่อเปรียบเทียบค่าการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO ในการทดลองทั้งสองครั้ง พบว่าในเดือนเมษายนมีการเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO น้อยกว่าในเดือนมิถุนายน ซึ่งสอดคล้องกับคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลเปรียบเทียบในการทดลองทั้งสองครั้งเช่นกัน (Table 1 and 2)

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ค่าคะแนนการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลระดับต่างๆ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 คือบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีเปอร์เซ็นต์จำนวนผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (คะแนน 1 และ 2) สูงสุด รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 คือ บรรจุผลสับปะรดฟิล์มพลาสติก PVC โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์จำนวนผลครั้งที่ 1 คือ 75 เปอร์เซ็นต์ และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และครั้งที่ 2 คือ 60 เปอร์เซ็นต์ และ 39 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับซึ่งมีเพียงกรรมวิธีที่ 3 ในการทดลองครั้งที่ 1 ที่ถือว่ามีค่าเปอร์เซ็นต์อยู่ในปริมาณที่สูงพอยอมรับได้ (>70%) (Figure 1 and 2)

สำหรับผลด้านคุณภาพอื่นๆ พบว่า ค่าสูญเสียน้ำหนักมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี ซึ่งกรรมวิธีที่ 3 คือบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีค่าสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ในการทดลองครั้งที่ 1 แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 ไม่แตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธีทดสอบ แต่ทุกกรรมวิธีมีค่าสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่ากรรมวิธีควบคุม ส่วนค่าความแน่นเนื้อ และ %SS พบว่าในการทดลองครั้งที่ 1 กรรมวิธีที่ 3 คือบรรจุผลสับปะรดในถุงพลาสติก LDPE มีค่าสูงสุดแตกต่างกันทางสถิติ แต่ในการทดลองครั้งที่ 2 ไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี และสำหรับ %SS, %TA และปริมาณวิตามินซี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีใน

การทดลองทั้ง 2 ครั้ง (Table 1 and 2) นอกจากนี้ยังไม่พบความผิดปกติด้านกลิ่นและรสชาติในทุกกรรมวิธี แสดงว่าแต่ละกรรมวิธีไม่มีผลต่อคุณภาพด้านปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด ปริมาณวิตามินซี กลิ่นและรสชาติ

จากการทดลองจึงพบว่า กรรมวิธีที่ใช้ถุงพลาสติก LDPE ส่งผลในการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด การเกิดปฏิกิริยาของเอมไซม์ PPO ต่ำสุด ซึ่งสอดคล้องกับการสูญเสียน้ำหนักที่น้อยสุด รวมทั้งความแน่นเนื้อที่มากสุด ทั้งนี้เนื่องจากถุงพลาสติก LDPE นั้นสามารถยอมให้มีการแลกเปลี่ยนแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแก๊สออกซิเจน จึงแสดงให้เห็นว่า พลาสติกชนิดดังกล่าวจะช่วยลดการสูญเสียทางกายภาพและเคมีของผลิตผลได้ เนื่องจากการทำให้เกิดสภาพแวดล้อมรอบๆ ผลิตผล (microclimate) ที่มีความเหมาะสมต่อการเก็บรักษา (Hardenburg, 1971) การสะสมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้นและแก๊สออกซิเจนลดลง มีผลทำให้อัตราการหายใจและปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ภายในผลิตผลลดลง (Varoquaux *et al.*, 1996) ดังนั้นจึงสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ของผลิตผลได้

Table 1 Quality of pineapple picked in April packed in different kind of packages after stored at 13±2°C for 3 weeks. IB = internal browning, SS = soluble solids, TA = titratable acidity, V.C = vitamin c., and PPO = polyphenol oxidase

Treatment	IB score	Weight loss (Kg.)	Firmness (Kg.)	%SS	% TA	V.C (mg/ 100ml)	PPO activity (μmol/min/mg protein)
1. Control	2.67	0.13c	1.12b	10.69ab	1.06	26.42	232.038
2. PP bag	2.33	0.03b	1.23ab	10.85ab	0.97	23.73	250.205
3. LDPE bag	2.00	0.01a	1.39a	11.11a	1.03	22.41	277.369
4. PVC film	2.67	0.05b	1.32ab	10.21b	1.00	24.34	214.988
เฉลี่ย	2.43	0.05	1.32	10.72	1.01	24.23	243.650
C.V.	25.83%	13.50%	7.04%	3.97%	8.28%	16.86%	13.2%

Different letter indicates significantly difference within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

Table 2 Quality of pineapple picked in June packed in different kind of packages after stored at 13±2°C for 3 weeks. IB = internal browning, SS = soluble solids, TA = titratable acidity, V.C = vitamin c., and PPO = polyphenol oxidase

Treatment	IB score	Weight loss (Kg.)	Firmness (Kg.)	%SS	% TA	V.C (mg/ 100ml)	PPO activity (μmol/min/mg protein)
1. Control	3.33	0.09b	1.19	12.39	0.99	29.99	393.231
2. PP bag	3.33	0.01a	1.11	11.85	0.92	22.19	466.732
3. LDPE bag	2.67	0.01a	1.18	11.82	1.00	26.31	375.424
4. PVC film	3.11	0.02a	1.03	12.41	1.04	24.29	495.378
เฉลี่ย	3.11	0.03	1.13	12.12	0.99	25.69	432.691
C.V.	20.63%	23.80%	8.90%	2.63%	5.53%	15.88%	24.1%

Different letter indicates significantly difference within columns by Duncan's Multiple Range test at P< 0.05

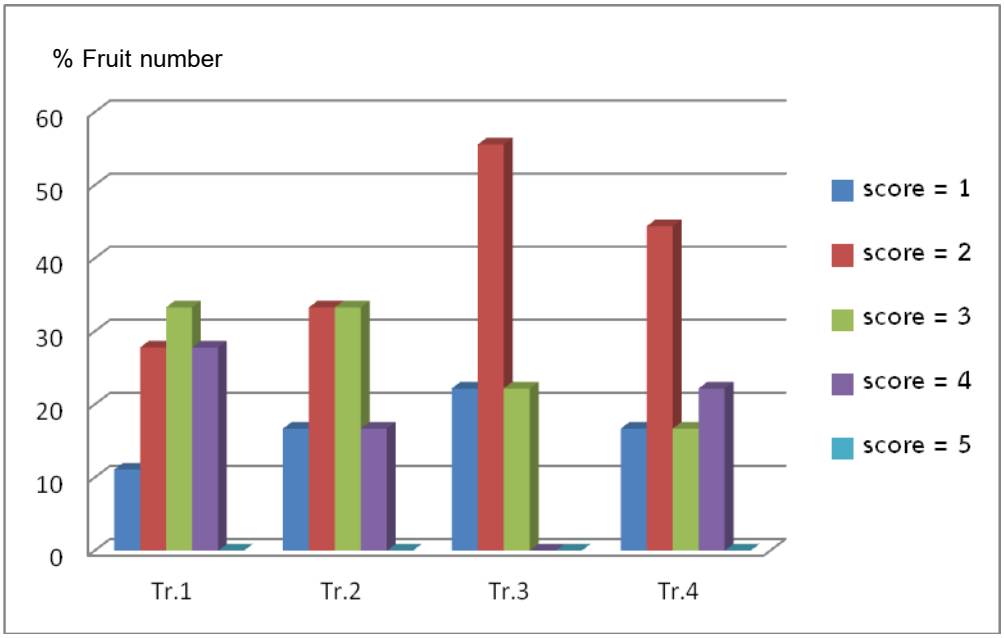


Figure 1 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of package (in April).

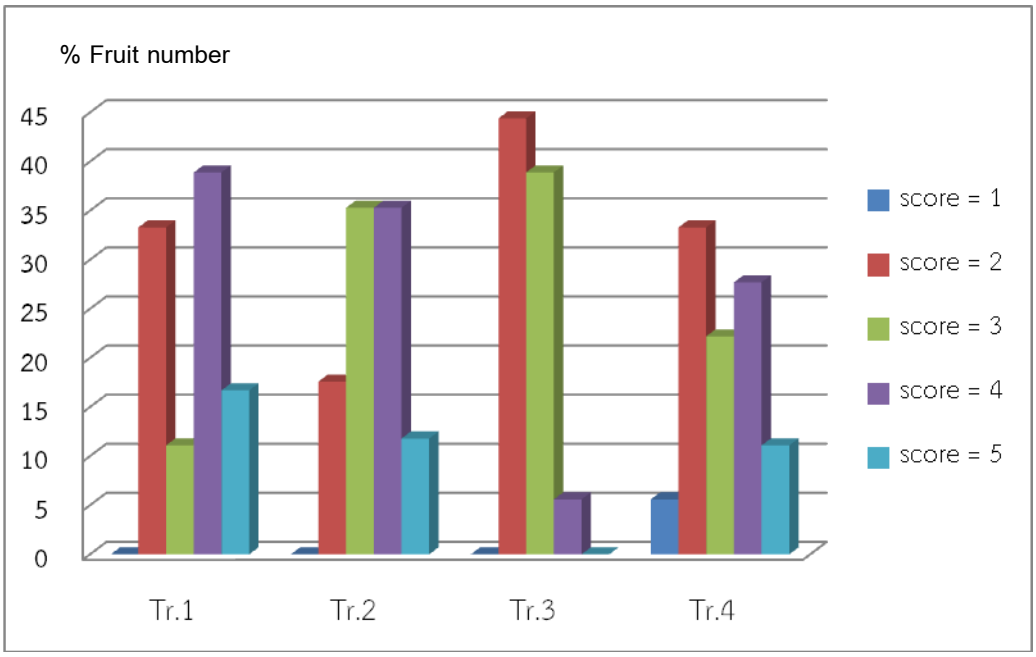


Figure 2 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of package (in June).

3. ชนิดสารเคลือบร่วมกับถุงบรรจุภัณฑ์ต่อการควบคุมการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1

ผลการประเมินการเกิดไส้สีน้ำตาลโดยพิจารณาค่าคะแนนเฉลี่ย พบว่า ค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลและเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลบนพื้นที่หน้าตัดแกนมีความแตกต่างทางสถิติ โดยกรรมวิธีที่เกิดไส้สีน้ำตาลน้อยที่สุดมีค่าคะแนนเฉลี่ยอยู่ในเกณฑ์คะแนนที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน 2 และเปอร์เซ็นต์การเกิดไส้สีน้ำตาลบนพื้นที่หน้าตัดแกนไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 8 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE แต่อย่างไรก็ตามค่าดังกล่าวของกรรมวิธีเหล่านี้ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม (Table 1)

เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่ค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลในระดับต่างๆ โดยพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คือ คะแนน 1 และ 2 รวมกันมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่า มีกรรมวิธีที่อยู่ในเกณฑ์เรียงตามลำดับเปอร์เซ็นต์จากมากไปน้อย ดังนี้ กรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet 89 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 1 ควบคุม 83 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 8 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE 78 เปอร์เซ็นต์ และ กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax 72 เปอร์เซ็นต์ (Figure 1)

สำหรับผลในด้านคุณภาพอื่นๆ พบว่า สีเนื้อมีความแตกต่างทางสถิติและสอดคล้องกับการเกิดไส้สีน้ำตาล โดยค่า hue ที่ใกล้ 90 องศา หมายถึง มีความใกล้ไปทางสีเหลืองมากกว่าสีแดง และค่า L* สูงหมายถึงมีความสว่างมาก ซึ่งกรรมวิธีที่เป็นไส้สีน้ำตาลน้อยจะมีค่า hue ใกล้ 90 องศามากกว่า และมีค่า L* สูงกว่า ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 3 4 5 7 และ 8 ซึ่งมากกว่าและแตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 2 บรรจุในถุง LDPE และกรรมวิธีที่ 6 เคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับบรรจุในถุง LDPE ซึ่งมีค่าคะแนนไส้สีน้ำตาลสูงกว่ากรรมวิธีดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ยกเว้นกรรมวิธีที่ 7) (Table 1) สำหรับการเปลี่ยนแปลงสีผิวเปลือก ทั้งจากการวัดโดยเครื่องมือแสดงด้วยค่า Hue และ L* และจากการประเมินด้วยสายตาแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์การลดลงของสีเขียว (%Degreening) แสดงให้เห็นว่า กรรมวิธีทีมีการบรรจุผลลงในถุง LDPE (กรรมวิธีที่ 2 6 7 8) ช่วยชะลอการเปลี่ยนสีผิวจากสีเขียวเป็นสีเหลืองได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่น โดยเฉพาะเมื่อร่วมกับการเคลือบผิวผล (กรรมวิธีที่ 6 7 และ 8) แต่อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนสีผิวของทุกกรรมวิธีไม่เกิน 70 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ซึ่งสามารถวางจำหน่ายได้ประมาณ 1 สัปดาห์ ส่วนค่าความแน่นเนื้อ พบว่า กรรมวิธีที่ 2 บรรจุในถุง LDPE มีความแน่นเนื้อน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับค่าการสูญเสียน้ำหนักและปริมาณของแข็งที่มีความหวานทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างกรรมวิธี แต่จะพบว่ากรรมวิธีที่บรรจุในถุง LDPE ไม่มีการสูญเสียน้ำหนักหรือสูญเสียเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่นๆ สำหรับปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ พบว่ากรรมวิธีที่ 8 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE มีค่าน้อยที่สุด (Table 1) นอกจากนี้ในทุกกรรมวิธีไม่พบความผิดปกติในกลิ่นและรสชาติ

ส่วนการวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO (Polyphenol oxidase activity) พบว่า กรรมวิธีที่มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่ำที่สุดและแตกต่างทางสถิติ ได้แก่ กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet กรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 7 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE โดยมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเฉลี่ยอยู่ในช่วง 19.542-20.761 μmol/min/mg protein (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลสำหรับกรรมวิธีที่ 3 4 และ 5 ซึ่งมีคะแนนต่ำสุด (Table 1) และจะเห็นว่ากรรมวิธีที่ 3 นั้นไม่พบผลสับปะรดที่มีคะแนนไส้สีน้ำตาลรุนแรงระดับ 4 และ 5 ส่วนกรรมวิธีที่ 4 และ 5 พบผลสับปะรดที่มีคะแนนไส้สีน้ำตาลรุนแรงระดับ 5 แต่อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO ต่ำกว่ากรรมวิธีอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมพบอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO เฉลี่ยสูงสุด โดยผลสับปะรดที่มีคะแนนไส้สีน้ำตาลรุนแรงระดับ 4 และ 5 มีปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงสุดอีกด้วย (Table 2 และ Figure 2) แสดงถึงความรุนแรงของการเกิดไส้สีน้ำตาลของกรรมวิธีควบคุมที่มากกว่ากรรมวิธีทดลอง

สำหรับปริมาณสารประกอบฟีโนลิก (Total phenolic content) (Table 3 และ Figure 3) ซึงเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO ที่จะเปลี่ยนให้เป็นสารควิโนน (quinone) แล้วสารควิโนนจะรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ที่มีสีน้ำตาล (จรัญญา, 2549) และกิจกรรมของแอนตีออกซิเดนท์ ซึ่งจะลดปริมาณ free radical ที่ไปทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสื่อมสภาพ และทำให้สารประกอบฟีโนลิกไหลออกมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ PPO ได้ โดยกิจกรรมของแอนตี้ออกซิเดนท์วัดจากเปอร์เซ็นต์ DPPH free radical scarvenging activity (Table 4 และ Figure 4) ซึ่งการพิจารณาทั้ง 2 ค่านี้ ต้องพิจารณาประกอบกันและร่วมกับอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO ด้วย พบว่ากรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet มีปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเฉลี่ยสูงสุด รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 8 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE (Table 4) ส่วนกิจกรรมของ

แอนตี้ออกซิแดนท์ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax และกรรมวิธีควบคุม มีกิจกรรมของแอนตี้ออกซิแดนท์เฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet (Table 4) แสดงว่ากรรมวิธีที่ 3 4 และกรรมวิธีควบคุม มีความเป็นไปได้ที่สารประกอบฟีโนลิกจะมาทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ PPO น้อย ส่งผลต่อโอกาสเกิดสารสีน้ำตาลน้อยกว่ากรรมวิธีอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO ของ 3 กรรมวิธีนี้ร่วมด้วย จะพบว่ามีเพียงกรรมวิธีที่ 3 และ 4 ที่มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ต่ำ ส่งผลให้อาจเกิดสารสีน้ำตาลน้อยกว่า ในขณะที่กรรมวิธีควบคุมกลับมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์สูงสุด นอกจากนี้ วิตามินซียังเป็นตัวที่มีบทบาทสำคัญในลำดับสุดท้ายของปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล โดยวิตามินซีเป็น reducing agent ของ quinone ทำให้ไม่รวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ (Abdullah *et al*., 1987) จึงไม่เกิดสีน้ำตาลขึ้น ซึ่งจะเห็นว่ากรรมวิธีที่มีปริมาณวิตามินซีสูงสุด คือ กรรมวิธีที่ 5 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet รองลงมาคือ กรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับการเกิดไส้สีน้ำตาล

ดังนั้น จากผลการทดลองทั้งหมดสรุปได้ว่า การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และการเคลือบผิวผลด้วย Wax ให้ผลในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยมีคะแนนเฉลี่ยการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่เกิน 2 (<25 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่แกนผล) และจำนวนผลที่อยู่ในเกณฑ์ดังกล่าวมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ สีเนื้อผลมีความใกล้สีเหลืองและมีความสว่าง อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด มีปริมาณวิตามินซีสูงสุด และไม่พบความผิดปกติใดๆในกลิ่นและรสชาติ ในขณะที่กรรมวิธีที่ใช้สารเคลือบร่วมกับบรรจุภัณฑ์ ดังเช่น กรรมวิธีที่ 8 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet และบรรจุในถุง LDPE สามารถควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีเช่นกัน แต่อย่างไรก็ตาม ไม่แตกต่างจากกรรมวิธีที่ใช้เพียงสารเคลือบ 3 กรรมวิธีดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นจึงเลือกเพียง 3 กรรมวิธีดังกล่าว เพื่อทดลองต่อไปในครั้งที่ 2

Table 1 Quality of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks**.** IB = internal browning, SS = soluble solids, TA = titratable acidity and V.C = vitamin c**.**

Treatment	IB score	IB (%)	Flesh color		Peel color			Firmness (Kg)	Weight loss (Kg)	SS (%)	TA (%)	V.C (mg/ 100ml)
			Hue	L*	Hue	L*	Degreening (%)					
1. Control	2.1 a	16.0 a	83.18 a	67.10 a	69.91 c	42.58 b	56.4 cd	1.21 bc	0.12	14.6	1.03 bc	16.69 cd
2. LDPE	2.9 b	35.7 bc	77.12 b	54.43 b	75.62 bc	42.50 b	45.5 bcd	0.88 d	0.00	13.9	1.02 ab	14.89 de
3. Wax	1.8 a	17.1 ab	82.97 a	66.77 a	70.65 c	44.53 b	65.6 d	1.14 bc	0.11	14.8	1.14 c	19.30 bc
4. Wax+CS[1/]	1.7 a	12.1 a	84.14 a	69.31 a	71.06 c	43.37 b	54.3 cd	1.28 ab	0.10	13.9	1.14 c	21.09 ab
5. Chitosan+CS	1.8 a	12.8 a	84.20 a	66.56 a	71.56 c	42.75 b	59.6 d	1.38 a	0.15	13.5	1.01 ab	22.98 a
6. Wax+LDPE	3.0 b	36.7 c	77.33 b	54.76 b	81.35 ab	37.46 a	24.5 abc	1.18 bc	0.00	13.8	1.01 ab	11.31 f
7. Wax+CS+LDPE	2.3 ab	27.7 abc	81.73 a	64.48 a	87.42 a	36.40 a	8.8 a	1.26 abc	0.00	14.0	1.04 bc	12.29 ef
8. Chitosan+CS+LDPE	1.8 a	13.7 a	81.74 a	65.06 a	81.96 ab	37.03 a	18.8 ab	1.10 c	0.05	13.2	0.91 a	14.26 de
F-test	**	*	**	**	**	**	**	**	ns	ns	*	**
CV (%)	17.9	48.1	2.0	5.2	5.0	9.94	41.3	7.3	43.1	5.2	6.1	9.0

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test. * =significant at p<0.05, ** =significant at p<0.01, ns=non significant

[1/] CS = Cellophane sheet

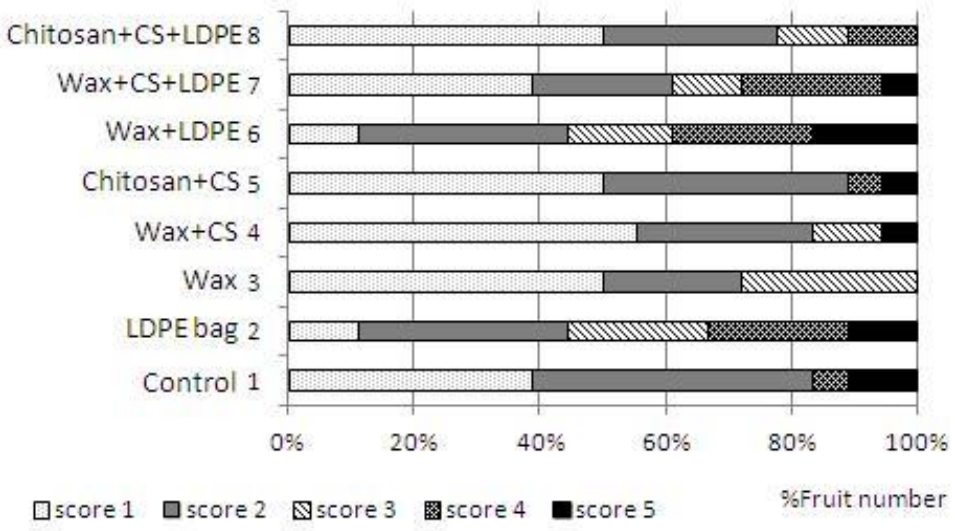


Figure 1 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of packaging. CS is cellophane sheet.

Table 2 PPO activity of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks classified in to each internal browning score and average of the activity.

Treatment	PPO activity (μmol/min/mg protein)					
	Score 1	Score 2	Score 3	Score 4	Score 5	Average
1. Control	16.919 a	17.969	-	24.063 bc	57.379 c	29.082 d
2. LDPE	21.775 abc	19.189	21.171	29.306 d	31.518 b	24.592 c
3. Wax	19.687 abc	20.366	21.430	-	-	20.494 a
4. Wax+CS[1/]	17.693 ab	20.355	25.465	-	19.530 a	20.761 a
5. Chitosan+CS	19.768 abc	17.927	-	20.692 ab	19.778 a	19.542 a
6. Wax+LDPE	24.930 c	18.745	24.346	27.945 cd	28.353 b	24.864 c
7. Wax+CS+LDPE	18.385 ab	18.420	23.827	18.466 a	21.463 a	20.112 a
8. Chitosan+CS+LDPE	22.957 bc	22.306	21.844	22.511 ab	-	22.404 b
F-test	*	ns	ns	**	**	**
CV (%)	13.6	11.2	13.4	9.6	11.4	2.9

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test. * =significant at p<0.05, ** =significant at p<0.01, ns=non significant

[1/] CS = Cellophane sheet

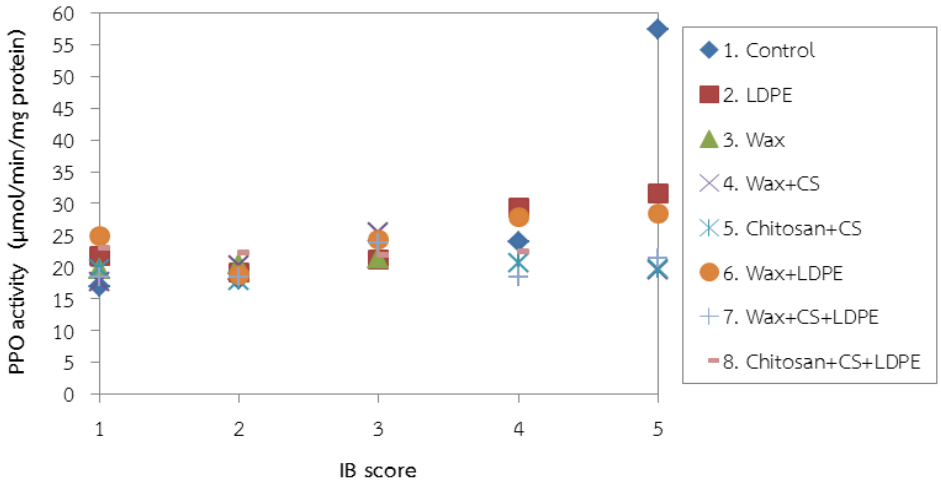


Figure 2 PPO activity of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks classified in to each internal browning score.

Table 3 Total phenolic content of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2 ˚C for 3 weeks classified in to each internal browning score and average of the content.

Treatment	Total phenolic content (mg/gFW)					
	Score 1	Score 2	Score 3	Score 4	Score 5	Average
1. Control	64.242 cd	76.745 b	-	58.078 c	68.364 c	66.857 d
2. LDPE	67.117 c	65.732 c	63.307 c	59.948 bc	61.887 d	63.598 e
3. Wax	75.602 b	63.758 c	63.446 c	-	-	67.602 cd
4. Wax+CS[1/]	67.567 c	65.524 c	69.818 b	-	78.545 b	70.364 b
5. Chitosan+CS	76.744 ab	67.567 c	-	61.264 bc	85.610 a	72.797 a
6. Wax+LDPE	56.381 e	81.281 a	76.918 a	68.641 a	61.714 d	68.987 bc
7. Wax+CS+LDPE	60.467 d	67.533 c	63.792 c	62.995 abc	68.329 c	64.623 e
8. Chitosan+CS+LDPE	80.589 a	68.329 c	64.000 c	65.662 ab	-	69.645 b
F-test	**	**	**	*	**	**
CV (%)	3.3	3.5	3.9	5.5	2.7	1.6

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test. * =significant at p<0.05, ** =significant at p<0.01, ns=non significant

[1/] CS = Cellophane sheet

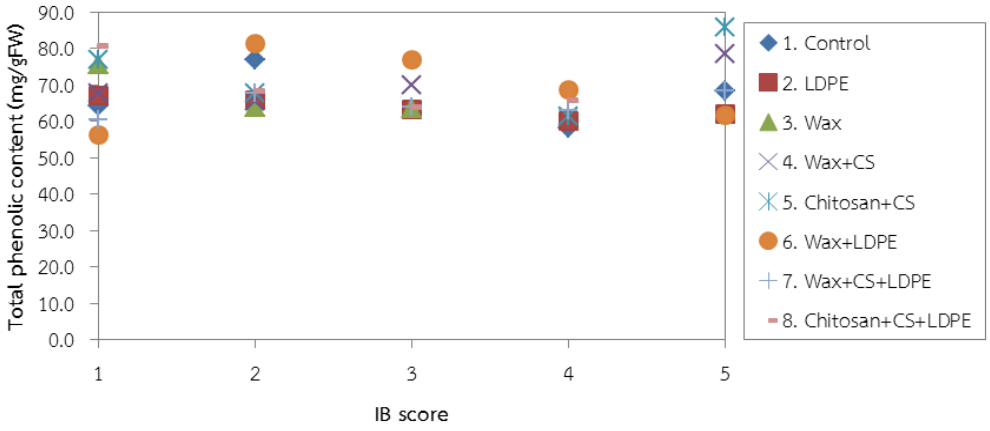


Figure 3 Total phenolic content of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2˚C for 3 weeks classified in to each internal browning score.

Table 4 Percentage of DPPH free radical scarvenging activity of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks classified in to each internal browning score and average of the activity.

Treatment	Percentage of DPPH free radical scarvenging activity					
	Score 1	Score 2	Score 3	Score 4	Score 5	Average
1. Control	55.741 a	54.309 a	-	46.488	46.467	50.751 a
2. LDPE	52.916 abc	49.353 bc	46.547 a	44.219	44.736	47.554 bc
3. Wax	53.194 ab	52.657 ab	47.144 a	-	-	50.998 a
4. Wax+CS[1/]	48.876 de	51.184 abc	45.433 ab	-	47.96	48.363 b
5. Chitosan+CS	49.234 cde	48.577 bc	-	46.01	47.224	47.761 bc
6. Wax+LDPE	51.761 bcd	47.264 c	43.562 b	44.776	44.517	46.376 bc
7. Wax+CS+LDPE	45.754 e	47.901 c	45.015 ab	44.099	45.075	45.568 c
8. Chitosan+CS+LDPE	50.547 bcd	48.955 bc	47.244 a	43.244	-	47.497 bc
F-test	**	*	**	ns	ns	**
CV (%)	4.0	4.9	2.7	3.9	6.0	2.8

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test. * =significant at p<0.05, ** =significant at p<0.01, ns=non significant

[1/] CS = Cellophane sheet

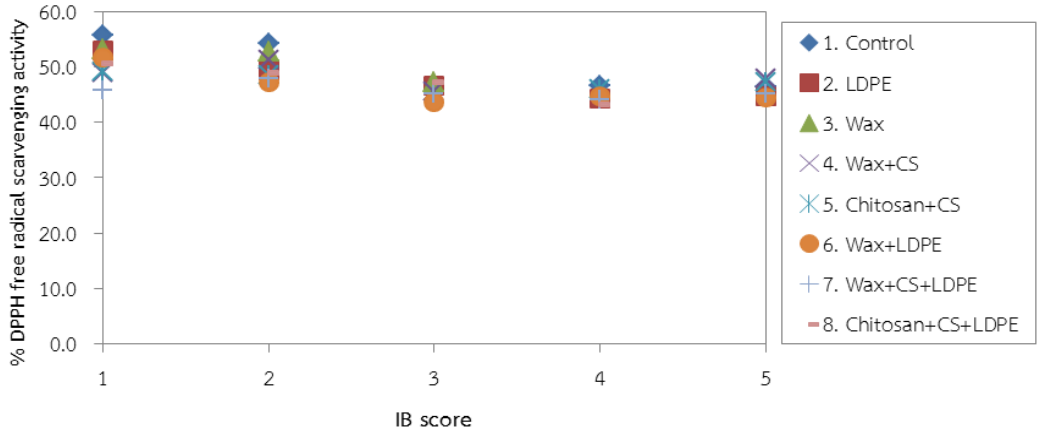


Figure 4 Percentage of DPPH free radical scarvenging activity of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks classified in to each internal browning score.

ครั้งที่ 2

ในการทดลองครั้งที่ 2 ได้นำกรรมวิธีที่ดีที่สุดทั้ง 3 กรรมวิธีจากการทดลองครั้งที่ 1 มาทดลองเปรียบเทียบร่วมกับกรรมวิธีควบคุมอีกครั้งเพื่อยืนยันผล

จากคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาล และเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลบนพื้นที่แกน พบว่า ทุกกรรมวิธีมีคะแนนไม่เกิน 2 และเปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลไม่เกิน 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทุกกรรมวิธี และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 5) เมื่อพิจารณาเปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่

มีค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ คือ คะแนน 1 และ 2 รวมกันมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ทุกกรรมวิธีอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยกรรมวิธีควบคุมมีจำนวน 87 เปอร์เซ็นต์ กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet และกรรมวิธีที่ 4 การเคลือบผิวผลด้วย Wax มีจำนวน 83 เปอร์เซ็นต์ และกรรมวิธีที่ 2 การเคลือบผิวผลด้วย Chitosan ร่วมกับ Cellophane sheet มีจำนวน 80 เปอร์เซ็นต์ (Figure 5)

สำหรับคุณภาพด้านอื่นๆ พบว่า กรรมวิธีที่ 3 การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet มีการสูญเสียน้ำหนักน้อยที่สุด ส่วนเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนสีผิวผล (percentage of degreening of peel) และความแน่นเนื้อ ไม่พบความแตกต่างในแต่ละกรรมวิธี (Table 5) นอกจากนี้ยังไม่พบความผิดปกติในกลิ่นและรสชาติของทุกกรรมวิธี

Table 5 Quality of pineapple kept in different coating and packaging after stored at 13±2°C for 3 weeks**.** IB = internal browning

Treatment	IB score	%IB	Weight loss (Kg)	% Degreening of peel	Flesh firmness (Kg)
1. Control	1.6	10.2	0.18 b	34.6	1.60
2. Chitosan+CS[1/]	2.0	16.1	0.18 b	19.9	1.63
3. Wax+CS	1.7	13.5	0.15 a	19.3	1.71
4. Wax	1.6	13.2	0.17 ab	17.1	1.58
F-test	ns	ns	**	ns	ns
CV (%)	24.1	70.2	8.1	56.8	7.6

Different letter indicate significant within columns by Duncan's Multiple Range test. * =significant at $p<0.05$, ** =significant at $p<0.01$, ns=non significant

[1/] CS = Cellophane sheet

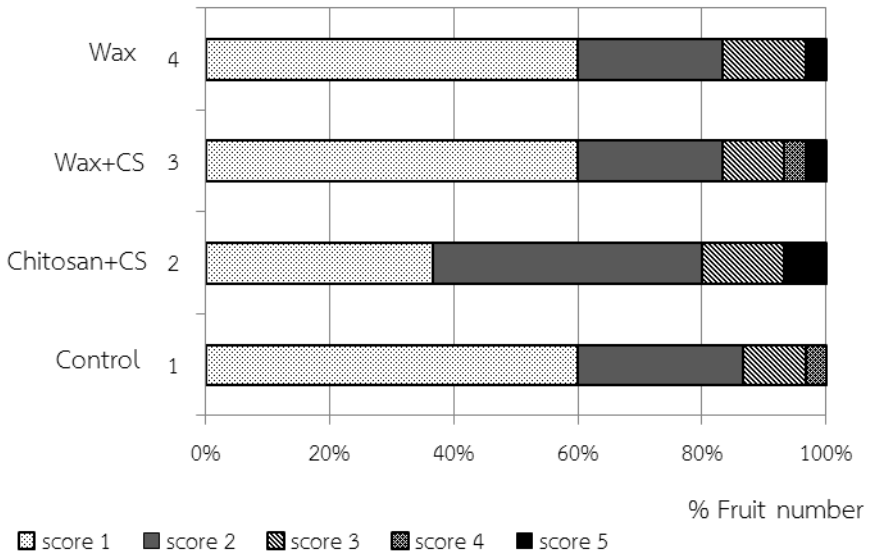


Figure 5 Number of pineapple fruit (%) classified in to each internal browning score of each kind of coating and packaging.

จากผลการทดลองทั้ง 2 ครั้ง พบว่า กรรมวิธีที่ให้ผลอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้และมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลดีในอันดับต้นๆทั้ง 2 ครั้ง คือ การเคลือบผิวผลด้วย Wax ร่วมกับ Cellophane sheet โดยในครั้งที่ 1 และ 2 มีคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลเท่ากัน 1.7 คะแนน เปอร์เซ็นต์การเกิดสีน้ำตาลบนพื้นที่แกนใกล้เคียงกัน 12.1 และ 13.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เปอร์เซ็นต์จำนวนผลที่มีค่าคะแนนการเกิดไส้สีน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้เท่ากัน 83 เปอร์เซ็นต์ และผลการวิเคราะห์ทางเคมีในครั้งที่ 1 ซึ่งพบว่า PPO activity ต่ำ Antioxidant activity ค่อนข้างสูง และปริมาณวิตามินซีสูง แสดงให้เห็นว่ากรรมวิธีนี้มีประสิทธิภาพในการควบคุมไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ พบว่า การเคลือบผิวผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยไม่มีผลกระทบต่อความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักปริมาณน้ำตาล กรด รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

2. เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้บรรจุภัณฑ์ (MAPs) ชนิดต่างๆ พบว่า การบรรจุสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองในถุงพลาสติก LDPE ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยไม่มีผลกระทบต่อ ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักปริมาณน้ำตาล กรด และวิตามินซี รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

3. เมื่อนำสารเคลือบและบรรจุภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพมาทดสอบร่วมกัน พบว่า ไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาล และ พบว่า การเคลือบผิวผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดีกว่าการไม่ใช้สารเคลือบและถุงบรรจุใดๆ และไม่มีผลกระทบต่อความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาล กรด รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

4. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

4.1 ผู้ส่งออกสับปะรดสามารถนำวิธีการบรรจุผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองเพื่อควบคุมปัญหาการเกิดไส้สีน้ำตาลเพื่อการส่งออกได้ในระดับหนึ่ง

4.2 หน่วยงานอื่นๆ สามารถนำข้อมูลพื้นฐานเหล่านี้ไปพัฒนาต่อยอดได้ เช่น กรมส่งเสริมการเกษตร กรมส่งเสริมสหกรณ์ สถาบันการศึกษา และภาคเอกชน

โครงการวิจัยที่ 3 การศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown

Study of PPO Gene Expression Regulating Internal Browning in Pineapple cv. 'Trad-See-Thong' Using Antisense Gene Knockdown Approach

ผู้วิจัย

พงศกร สรรค์วิทยากุล วรางคณา มากกำไร วีรา คล้ายพุก อุทัยวรรณ ทรัพย์แก้ว หยกทิพย์ สุดารีย์

บทนำ

สับปะรด (*Ananas comosus*) เป็นพืชที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนมีแหล่งกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้สำหรับประเทศไทยมีการปลูกสับปะรดกระจายอยู่ทั่วไปมานานแล้วแต่มีปริมาณไม่มากนักโดยมีแหล่งปลูกที่สำคัญคือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรี ระยอง และชุมพร สับปะรดเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งภายในประเทศและต่างประเทศไทย ประเทศไทยเป็นประเทศที่ผลิตสับปะรดได้เป็นอันดับ 3 ของโลก หรือผลิตได้ร้อยละ 9.4 ของผลผลิตสับปะรดรวมทั้งโลก ซึ่งผลิตได้ลำดับรองลงมาจากประเทศฟิลิปปินส์ และคอสตาริกา โดยคาดว่าในปี 2560 จะมีผลผลิตประมาณ 25 ล้านตัน ทั้งนี้ ผลผลิตเฉลี่ยของไทยอยู่ที่ประมาณ 4.13 ตันต่อไร่ พื้นที่การปลูกทั่วประเทศ มีประมาณ 526,693 ไร่ ขณะที่ทั่วโลกมีปริมาณการผลิตสับปะรดอยู่ที่ 23 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร,2561) ตลาดสับปะรดที่สำคัญของโลกอยู่ในอเมริกา เยอรมนี สเปน รัสเซีย และเนเธอร์แลนด์

ในส่วนของสับปะรดผลสดประเทศไทยสามารถผลิตสับปะรดทานสดได้มากถึงปีละ 2-3 แสนตัน โดยมีประเทศสิงคโปร์เป็นผู้นำเข้ารายใหญ่ของไทย 1,500-2,000 ตันต่อปี รองลงมาคือ ญี่ปุ่น 250 ตันต่อปีและมาเลเซีย 100-200 ตันต่อปี อย่างไรก็ตาม ไทยสามารถส่งออกได้เพียง 3,000 ตันต่อปี ที่เหลือเป็นการบริโภคในประเทศ โดยสายพันธุ์ที่นิยมปลูกเป็นสับปะรดสำหรับทานสด ได้แก่ นางแล ตราดสีทอง ภูเก็ต สวี และมีบางส่วนเป็นพันธุ์ปัตตาเวีย (เดลินิวส์ 25 พฤษภาคม 2555)

ปัญหาสำคัญที่เกิดกับผลสับปะรดผลสดเกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน ๆ เช่นการขนส่งทางเรือหรือห้องเย็น คือ อาการไส้สีน้ำตาล (T.B.T. Nguyen. 2003) ซึ่งเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลสับปะรด โดยมีลักษณะเป็นจุดสีคล้ำบริเวณเนื้อผลภายในใกล้แกนกลางของผล และจะมีขนาดขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งผู้ส่งออกส่วนมากมีปัญหาเรื่องราคาและคุณภาพซึ่งต้องแข่งขันกับประเทศอื่น

สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง มีคุณสมบัติที่ดี ทั้งเรื่องรสชาติและสีสันแต่มีปัญหาเรื่องไส้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่งรุนแรงมาก ถึงแม้พันธุ์นี้จะเป็นพันธุ์ที่ตลาดต้องการมากและมีผู้พยายามส่งออกหลายครั้งแต่ก็ประสบความล้มเหลว สับปะรดตราดสีทองจึงถือเป็นพันธุ์ที่มีศักยภาพสามารถมีส่วนแบ่งตลาดสับปะรดในต่างประเทศเพิ่มขึ้นได้อย่างต่อเนื่อง เพราะสับปะรดพันธุ์นี้มีจุดเด่นที่สีสันและแตกต่างจากสับปะรดผลสดที่มีจำหน่ายอยู่ทั่วไปในตลาดขณะนี้หากว่าสามารถแก้ในเรื่องอาการไส้สีน้ำตาลได้

ทั้งนี้ความรุนแรงของอาการไส้สีน้ำตาลอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ซึ่งทำปฏิกิริยาอ๊อกซิเดชั่นกับสารจำพวกเฟนอลิก คือ Polyphenol oxidase (PPO) (Clemente and Pastore, 1998) โดยพบว่า ปฏิกิริยา Polyphenol oxidase (PPO) เพิ่มขึ้นหากเกิด Strees ต่อเนื่องในขณะที่ผลไม้ถูกหั่นเป็นชิ้นซึ่งจะลดระยะเวลาการเก็บรักษา (Saltveit (2000)) นอกจากนี้อาการแผลสีน้ำตาลจะรุนแรงมากหากผลไม้ที่ถูกแช่เย็นไว้ถูกนำออกมาใช้เป็นชิ้นๆ หรือหั่น เช่นเดียวกับการถูกอ๊อกซิเจนซึมเข้าไปบริเวณผิวซึ่งยิ่งทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันรุนแรงขึ้น (Weller *et al*. (1997))

Polyphenol oxidase หรือ PPO enzyme เป็นเอนไซม์หลักใน Phenylpropanoid pathway (Va´mos-Vigya´zo´, 1981) ซึ่งสามารถสังเคราะห์ phenolic compounds ได้เช่น กรด Chlorogenic และสารอนุพันธ์ของกรดคาเฟอิกซึ่งอาจเป็นสารตั้งต้นของอาการแผลสีน้ำตาล (Lattanzio *et al*., 1989; Tomas-Barberan *et al*.,1997).

ในสับปะรดพบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นในสับปะรดที่มีอาการไส้สีน้ำตาล (Raimbault A.K. *et al*., 2011) จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ PPO อาจมีความเกี่ยวข้องกับอาการไส้สีน้ำตาล งานทดลองชิ้นนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของยีน เอนไซม์ และอาการไส้สีน้ำตาลหากมีความเกี่ยวข้องกัน

ได้มีการศึกษาเอนไซม์ PPO ในพืชชนิดอื่นนอกจากสับปะรดด้วยเช่นกัน โดยพบว่าเมื่อทำการ silencing ยีน polyphenol oxidase (PPO) โดยการสร้าง antisense vector ในมันฝรั่งทำให้อาการแผลสีน้ำตาลลดลงอย่างเห็นได้ชัด (C. W. B. Bachem *et al*., 1994; Coetzer C. *et al*., 2001) นอกจากนี้ยังมีความพยายามในการผลิตสับปะรด GMOs โดยการถ่ายยีน antisense ยีน PPO โดยวิธี Balistic และใช้ Agrobaterium ด้วย (L. Ko *et al.* การทดลองยังไม่ตีพิมพ์) และมีการผลิตสายพันธุ์สับปะรด ซึ่งได้รับการดัดแปลงพันธุกรรมเพื่อลดอาการไส้สีน้ำตาล โดย Queensland Department of Primary Industries ประเทศออสเตรเลีย ทั้งนี้หน่วยงานดังกล่าวได้ทำการ silencing gene PPO และได้ทำการขออนุญาต และทดสอบความปลอดภัยทางชีวภาพ เพื่อปลูกสับปะรดสายพันธุ์ดังกล่าวตั้งแต่ปี 2546 ที่ผ่านมา (APPLICATION FOR LICENCE FOR INTENTIONAL RELEASE OF A GMO INTO THE ENVIRONMENT: Application No. DIR 0028/2002)

ดังนั้นการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์ PPO นี้ และปัจจัยทางกายภาพ เช่น อุณหภูมิ pH และออกซิเจน ที่มีผลต่อการแสดงออกของยีน อาจนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจในกลไกการเกิดอาการ IB ซึ่งจะเป็นการปูทางไปสู่วิธีการแก้ปัญหาอาการ IB ในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองต่อไป

ระเบียบวิธีการวิจัย

อุปกรณ์

1. เครื่อง PCR
2. Dry bath
3. ตู้เย็นเก็บตัวอย่าง
4. เครื่อง Run Gel electrophoresis
5. เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง Centrifuge
6. ตู้ Incubator

วิธีการ

7.1 การศึกษาข้อมูลยีน PPO โดยวิธี Bioinformatic

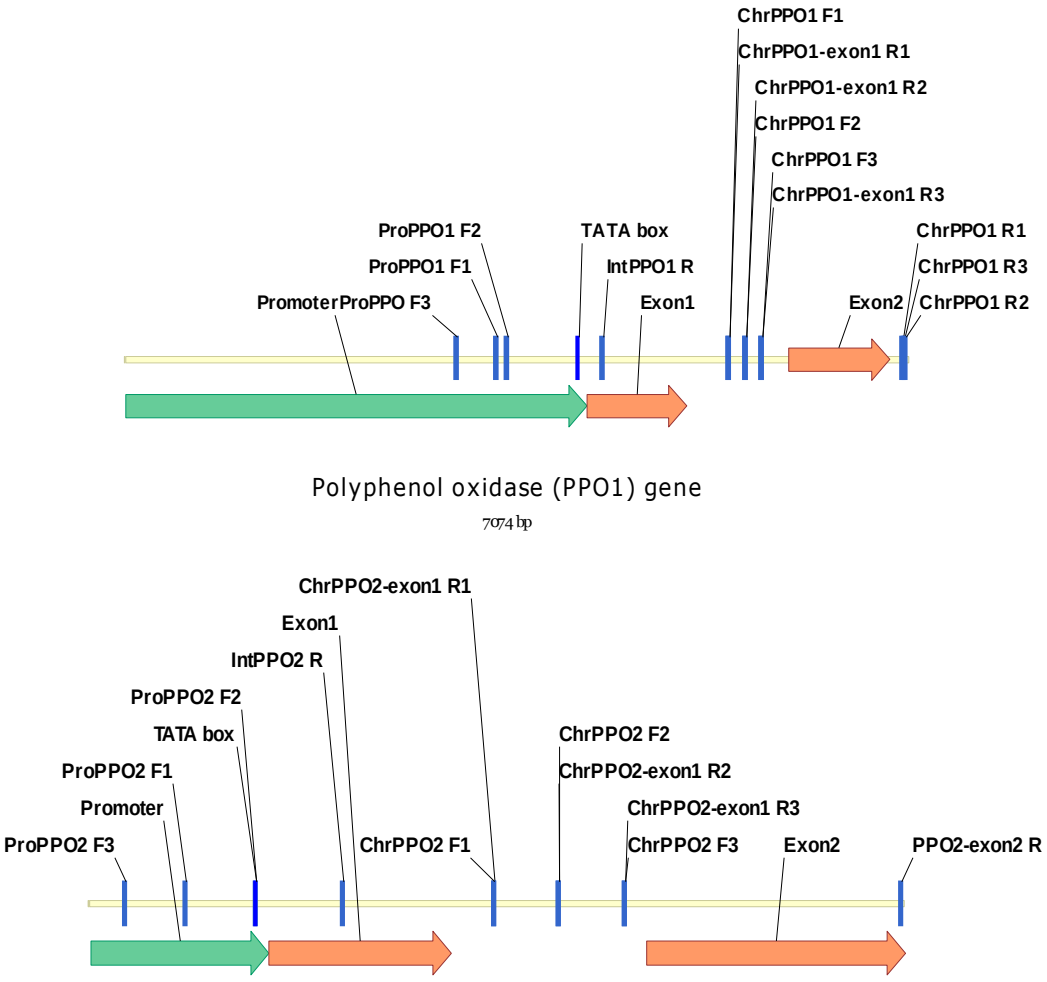
สืบค้นยีน Polyphenol Oxydase (PPO) บนฐานข้อมูล NCBI พบยีน 2 ชนิด ในสับปะรด คือ PPO1และ PPO2 มี Gene bank number คือ AY149881.1 และ AY149882.1 นำสายรหัสพันธุกรรมของยีน PPO1 และ PPO2 มาวิเคราะห์ โดยโปรแกรม Vector NTI และ ฐานข้อมูล Blast nucleotide & Protein เพื่อวิเคราะห์สายรหัสพันธุกรรมโดยละเอียด

7.2 การตรวจสอบความถูกต้องและการโคลนชิ้นยีนเพื่อสร้าง Silencing vector

- ตรวจสอบความถูกต้องของยีนตามฐานข้อมูลโดย ออกแบบ Primer จากสายรหัสพันธุกรรมตามฐานข้อมูล ในส่วน Promoter intron และ exon ส่วนปลาย เพื่อตรวจสอบสายรหัสพันธุกรรมว่าถูกต้องตรงตามฐานข้อมูลหรือไม่โดยเป็นการออกแบบ Primer แบบสุ่มตามลักษณะที่เหมาะสมกระจายตามจุดต่างๆบนยีนและคาดคะเนความยาวของ Amplicon (ภาพที่ 1, ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 แสดง Primer ที่ออกแบบเพื่อใช้ตรวจสอบรหัสพันธุกรรม

หมายเหตุ	Name	Sequence(5'-3')	Tm(oC)	Size(bp)
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO1	ProPPO1_F1	CATTTCTATTTCCTAAGCCA	44.3	20
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO1	ProPPO1_F2	AGAATAGACTGGACTTAATGTAG	41.7	23
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO1	ProPPO1_F3	TTGTAGGATTGTTGGAGTTA	42.1	20
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO1-exon1_R1	GGACCACTCAATTCTAACC	42.9	19
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO1-exon1_R2	GAGAGAGAGAGAGAGAGAGTTG	43	22
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO1-exon1_R3	AGTATCTGAGACCCAAGTTC	41.9	20
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO1_F1	GGTTAGAATTGAGTGGTCC	42.9	19
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO1_F2	CAACTCTCTCTCTCTCTCTC	43	22
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO1_F3	GAACTTGGGTCTCAGATACT	41.9	20
ใช้แอมส่วน หลัง exon2	ChrPPO1_R1	GACTACAACAACATGGCTG	42.8	19
ใช้แอมส่วน หลัง exon2	ChrPPO1_R2	TCCAAACATACCCCACAT	44.9	18
ใช้แอมส่วน หลัง exon2	ChrPPO1_R3	CCACATATCGACTACAACAA	43	20
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO2	ProPPO2_F1	AAAGAAAGAGCAAGAAATGT	42.8	20
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO2	ProPPO2_F2	CTATAAATACGGCATCACAA	43.2	20
ใช้แอมส่วน Promoter ของยีน PPO2	ProPPO2_F3	TAAACCAAGCGGTGTGA	44.6	17
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO2-exon1_R1	AAGATTTATACTCGACTCCTC	41.6	21
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO2-exon1_R2	GTGGATTGTAAACTTAGCAT	41.1	20
ใช้แอมส่วน Intron หลัง exon1	ChrPPO2-exon1_R3	GGTTGGTATTCGAGGCT	44.1	17
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO2_F1	GAGGAGTCGAGTATAAATCTT	41.6	21
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO2_F2	ATGCTAAGTTTACAATCCAC	41.1	20
ใช้แอมส่วน Intron ก่อน exon2	ChrPPO2_F3	AGCCTCGAATACCAACC	44.1	17
ใช้แอมส่วนปลายของ exon2 ยีน PPO2	PPO2-exon2_R	TTACTATAGGGCACGCG	44.2	17
แอมภายในยีน PPO1	IntPPO1_R	TTGTTGCTCCTTAGATTTG	42.7	19
แอมภายในยีน PPO2	IntPPO2_R	AGCTTGAAGTCCACGAT	41.3	17



ภาพที่ 1 แสดงรายละเอียดตำแหน่ง Primer บนยีน PPO1 และ PPO2

ดำเนินการตรวจสอบยีนทั้ง 2 ชนิดโดยวิธี PCR โดย GoTaq® Green Master Mix ที่ปริมาตร 25 µl โดยมีส่วนผสมดังนี้

ตารางที่ 2 แสดงส่วนผสม PCR Master mix

Component	Volume	Final concentration
GoTaq® Green Master Mix, 2X	12.5	1X
Upstream primer, 10µM	0.5	0.1 uM
downstream primer, 10µM	0.5	0.1 uM
DNA template	5	200 ng
Nuclease-Free Water to	25	NA

และใช้โปรแกรมการตรวจวิเคราะห์ PCR ดังต่อไปนี้

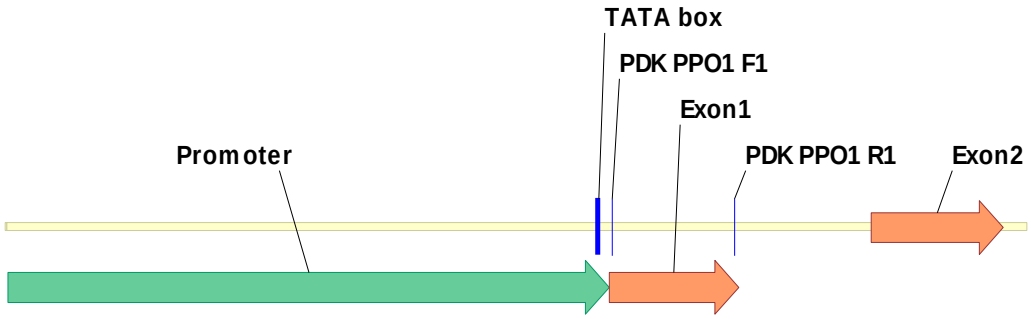
ตารางที่ 3 แสดงโปรแกรมการทำงานของ PCR

State	Temperature	Time
Denaturation	95°C	2 min
Denaturation	95°C	30 sec
Annealing	48-50 °C	45 sec 30 cycles
Elongation	72 °C	1 min
Final Elongation	72 °C	7 min
Cooling down	4 °C	∞

- เมื่อตรวจสอบความถูกต้องของยีนตามฐานข้อมูลแล้วจึงออกแบบ Primer เพื่อการโคลนชิ้นส่วนยีนเพื่อนำไปใช้ตัดต่อสร้าง Silencing Vector pRNAi-GG สำหรับ Transform สำหรับถ่ายเข้าสู่ Agrobacterium ชนิด AGL1 รวมทั้งวิเคราะห์ข้อมูลสายรหัสพันธุกรรม ทั้งนี้ออกแบบ Primer ให้อยู่ภายใน exon ของยีน PPO1 และ 2 โดยเพิ่มเบสที่จำเป็นสำหรับใช้ในการตัดต่อเข้าสู่เวคเตอร์ pRNAi-GG คือ Restriction site BsaI 5’-GGTCTC-3’ และ specific เบส 5’-AGGAG-3’ ที่ส่วนหน้าของ Primer Forward ในส่วนของ Reverse Primer เพิ่ม Restriction site BsaI 5’-GGTCTC-3’ และ specific เบส 5’-ATCGT-3’ เช่นเดียวกัน (Puyan *et al.*, 2012.) (ภาพที่ 2, ตารางที่ 4)

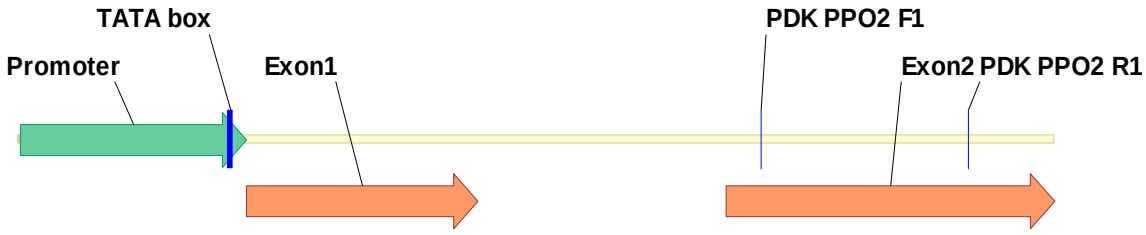
ตารางที่ 4 แสดงรายละเอียด Primer ที่สังเคราะห์

หมายเหตุ	Name	Sequence(5'-3')	Tm(°C)	Size(bp)
ใช้แอมส่วน Exon ของยีน PPO1	PDK_PPO1_F1	GGTCTCAGGAGGCTTCCCAACCAATAACACC	51.1	20
ใช้แอมส่วน Exon ของยีน PPO1	PDK_PPO1_R1	GGTCTCATCGTACGGCGAGGTTGTGGTTA	51.1	18
ใช้แอมส่วน Exon ของยีน PPO2	PDK_PPO2_F1	GGTCTCAGGAGAACCAACCCAACGACGAA	50.08	18
ใช้แอมส่วน Exon ของยีน PPO2	PDK_PPO2_R1	GGTCTCATCGTGGGCAGATTACATACGCATTTA	51.5	22



Polyphenol oxidase (PPO1) gene

7074bp



Polyphenol oxidase (PPO2) gene

3930bp

ภาพที่ 2 แสดงตำแหน่ง Primer ที่ใช้สำหรับ Clone ชิ้นยีนบางส่วนสำหรับตัดต่อเข้าสู่เวคเตอร์

ดำเนินการ โคลนชิ้นยีนทั้ง 2 ชนิดโดยวิธี PCR โดยระบบ Thermo Scientific Phusion High-Fidelity DNA Polymerase ที่ปริมาตร 50 µl โดยมีส่วนผสมดังนี้

ตารางที่ 5 แสดง PCR Master mix โดยระบบ Thermo Scientific Phusion High-Fidelity DNA Polymerase

Component	Volume (µl)	Final concentration
5X Phusion HF buffer	10	1X
10 mM dNTPs	1	200 µM
Upstream primer, 10µM	2.5	0.5 µM
Downstream primer, 10µM	2.5	0.5 µM
Phusion DNA polymerase	0.5	0.02 U/µl
DNA template	200 ng	200 ng
Nuclease-Free Water to	50	NA

และใช้โปรแกรม PCR ดังต่อไปนี้

ตารางที่ 6 แสดง PCR Phusion Program

State	Temperature	Time
Denaturation	98°C	30 sec
Denaturation	98°C	10 sec
Annealing	48-60 °C	30 sec 30 cycles
Elongation	72 °C	1 min
Final Elongation	72 °C	7 min
Cooling down	4 °C	∞

7.3 การตัดต่อเวคเอตร์ pRNAi-GG และการถ่ายเวคเตอร์เข้าสู่อะโกรแบคทีเรียม AGL1

นำชิ้นยีน PPO1 และ PPO2 ที่โคลนได้ตัดต่อเข้าสู่ Vector pRNAi-GG โดยวิธี Single Digestion-Ligation PCR product ดังกล่าวได้จากการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วย Primer ggTcTcAggAg- gene specific forward primer และ ggTc

TcATcgT- gene specific reverse primer (Primer PDK_PPO1 F1, PDK PPO1 R1, PDK_PPO2 F1,PDK_PPO2 R1) จากนั้นจึงผสม PCR product ที่ได้ ปริมาณ 50 ng กับ pRNAi-GG vector 200 ng และ BsaI enzyme (NEB) 5 units และ T4 DNA ligase 10 units (Promega, high concentration ligase - 20 u/µl) ใน 10 µl 1X ligation buffer (Promega) จากนั้น บ่มส่วนผสมทั้งหมดที่ 37°C 2 min 16°C 5 min 35 cycles และ 50°C 5 min (final digestion) และ 80°C 5 min (heat inactivation) (ภาพที่ 3) จากนั้นจึงผสม mixture ทั้งหมดที่ได้จากกระบวนการ Single-digestion ligation ปริมาตร 10 µl กับ E. coli DH5 alpha competent Cells (ซึ่งเตรียมดังนี้

(1) นำ DH5 alpha ไปเลี้ยง 1 คืน ที่ 37°C จากนั้นนำเชื้อที่ผ่านการเลี้ยง 1 คืน ไปเจือจางกับ อาหาร LB broth อัตราส่วน 1:50

(2) เลี้ยงเชื้อที่เจือจางแล้วที่ 37°C เขย่า 200 rpm จนถึง early log phase (OD600 = 0.25-0.4)

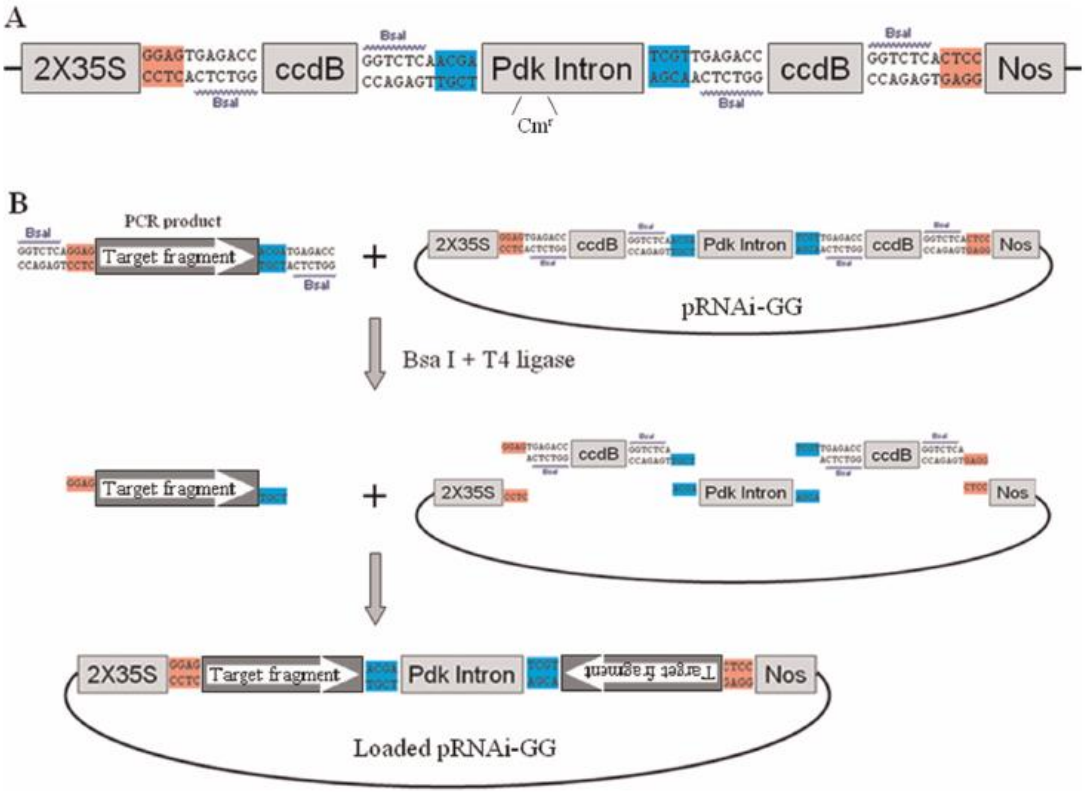
(3) ในระหว่างที่เซลล์กำลังโตนั้นนำ 2XTSS solution (LB broth ผสมกับ 20% (wt/vol) PEG (molecular weight 3350 หรือ 8000), 10% (vol/vol) DMSO, 40 mM Mg^{2+} ($MgSO_4$ หรือ $MgCl_2$), ที่ pH 6.5 มาละลายช้าๆ และเจือจางกับน้ำกลั่นอัตราส่วน 1:1 และแช่น้ำแข็งเอาไว้

(4) นำเชื้อที่เลี้ยงจนได้ค่า OD ที่ต้องการแล้ว มาแบ่งใส่หลอด 1.5 ml หลอดละ 1 ml แล้วนำไปปั่นตกตะกอน 5000g ที่ 4°C 1-2 นาที

(5) ดูดของเหลวใสส่วนบนออกแล้วเติม 1XTSS solution ที่เจือจางแล้ว 0.1 ml แล้วแช่หลอดไว้ในน้ำแข็ง

(6) ผสมเซลล์กับสารละลายเบาๆด้วย Pipet

(7) เก็บสารละลายเซลล์โดยนำไปทำให้เย็นตัวอย่างรวดเร็วด้วย liquid nitrogen ทันทีแล้วเก็บไว้ที่ -80°C, (Chung *et al*.1989) และดำเนินการ Transformation โดยวิธี Heat shock โดยนำเชื้อที่เตรียมไว้มาละลายจากนั้นเติม mixture ผสมให้เข้ากันแช่น้ำแข็งไว้ 10 นาที แล้วนำไปบ่มที่ที่ 42°C 2-5 นาที แล้วแช่น้ำแข็ง 10 นาที เติม LB broth 1ml แล้วนำไปเลี้ยง ที่ 37°C เขย่า 200 rpm นำเชื้อที่ผ่านการ Transformation แล้ว ไปเลี้ยงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ LB ผสม kanamycin 25 mg/L และ chloramphenicol 5 mg/L (chloramphenicol resistance gene อยู่ใน Pdk intron) เพื่อคัดเลือก Transformant ที่ได้รับ recombinants vector จากผลการทดลอง คัดเลือกเชื้อ E. coli DH5 alpha ที่โตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ นำ Single colony เลี้ยง 37°C 1 คืน



ภาพที่ 3 กระบวนการตัดต่อยีนเข้าสู่ Vector pRNAi-GG โดยวิธี Single Digestion-Ligation

นำเชื้อที่เลี้ยง O/N ไปสกัด Vector pRNAi-GG: PPO1, : PPO2 ตรวจสอบความถูกต้องและ Transform เข้าสู่ Agrobacterium AGL1 โดยวิธี Freeze-thaw 1.นำ Agrobacterium ที่เลี้ยงบน Antibiotic ที่เหมาะสมมา 1 colony ผสมกับ liquid YENB 3 ml ในหลอด 15 ml เลี้ยงที่ 30°C O/N โดยเติม carbenicillin 50 mg/L 2. ผสม liquid YENB 50 ml กับ เชื้อ O/N ที่เลี้ยงไว้ ใน flask 250 ml นำไปเลี้ยงที่ 30°C จนได้ OD600 ระหว่าง 0.5 และ 1.0 (หรือประมาณ 4-5 ชม.) 3. นำเชื้อที่เลี้ยงได้แล้วแช่ในน้ำแข็ง 5-10 นาที นำไปปั่นตกตะกอนที่ 3000 rpm 4°C 5 นาที 4. ดูดน้ำใสส่วนบนออก แล้วนำตะกอนเซลล์ ไปผสมกับ CaCl2 20 mM 1 ml ดูด สารละลายเชื้อ 0.1 ml ใส่หลอด 1.5 ml ใหม่ 5. เติม plasmid DNA 1 µg ในแต่ละหลอดที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากัน นำหลอด

สารละลายแบคทีเรียไปแช่แข็งด้วยไนโตรเจนเหลว จากนั้นละลายที่ 37°C 5 นาที 6. เติม liquid YENB 1 ml ในแต่ละหลอด แล้วเปลี่ยนไปใส่หลอด 15 ml บ่มที่ 30°C 2 ชั่วโมง 7. นำสารละลายแบคทีเรียที่ได้ใส่หลอด 1.5 ml แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ 4,000 rpm ดูดสารละลายที่เหลือออกให้เหลือ 100 µl 8. Spread เชื้อบน Plate LB คัดเลือก Transformant ด้วย Antibiotic Kanamycin ที่ 30°C ประมาณ 2-3 วัน เพื่อนำไปใช้ในการถ่ายยีนเข้าสู่ผลสับปะรดต่อไป

7.4 การ Inoculate เชื้อ Agrobaterium สู่ผลสับปะรดเพื่อทดสอบการแสดงออกของยีน PPO1, PPO2

คัดเลือกตัวอย่างสับปะรดที่อายุ ตาเปิด 1 – 2 ตา จำนวน 24 ผล เพื่อเตรียมการทดลอง 2 ชุด รวม 6 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำประกอบด้วย 4 Treatment คือ T1: AGL1 pRNAi-GG: PPO1 T2: AGL1 pRNAi-GG: PPO2 T3: AGL1 pRNAi-GG: PPO1+PPO2 T4: H_2O โดยชุดที่ 1 จะเก็บไว้ 2 สัปดาห์ ที่ 13°C (รวมวันที่ Inoculate) และ ชุดที่ 2 จะเก็บไว้ 3 สัปดาห์ ที่ 13°C (ภาพที่ 4)

ภาพที่ 4 แสดงการแบ่งซ้ำและ Treatment ของชุดการทดลอง

เตรียมเชื้อ Agrobacterium ที่ได้รับการ Transform Vector pRNAi-GG: PPO2 โดยนำเชื้อมาเลี้ยงบน Plate LB ผสม kanamycin 25 mg/L และ chloramphenicol 5 mg/L จากนั้น นำ Single Colony ไปเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 1 ลิตร ผสม kanamycin 25 mg/L ที่ 30°C 1 คืน

นำเชื้อที่ได้ฉีดเข้าผลสับปะรดทั้ง 2 ชุดการทดลอง โดยฉีด เชื้อปริมาตร 10 ml 3 จุด ส่วนบน ส่วน กลาง และ ส่วนล่างของผลสับปะรด บ่มที่ 30°C 2 คืน แล้วลดอุณหภูมิลงเหลือ 13°C (ภาพที่ 5)

เวลาและสถานที่ : ดำเนินงานวิจัยที่ สำนักวิจัยพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพและสถาบันวิจัยพืชสวน 2558 – 2560

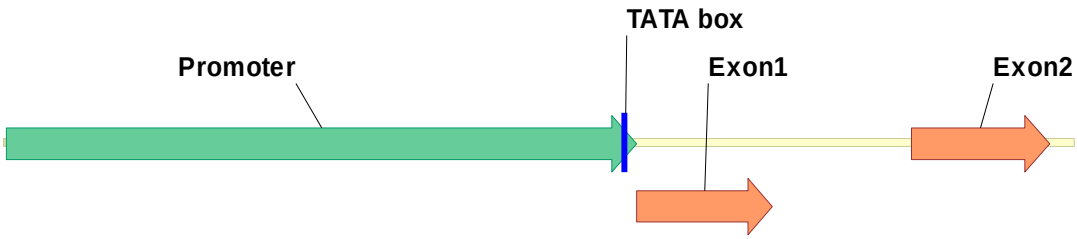
ภาพที่ 5 แสดงกระบวนการฉีด Agrobacterium เข้าสู่ผลสับปะรด เพื่อให้เกิด Transient transformation

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

8.1 การศึกษาข้อมูลยีน PPO โดยวิธี Bioinformatic

จากการสืบค้นยีน Polyphenol Oxydase (PPO) บนฐานข้อมูล NCBI พบยีน 2 ชนิด ในสับปะรดคือ PPO1และ PPO2 มี Gene bank accession number คือ AY149881.1 และ AY149882.1

เมื่อนำสายรหัสพันธุกรรมของยีน PPO1 (Gene bank accession number: AY149881.1) มาวิเคราะห์ โดยโปรแกรม Vector NTI พบว่า สายรหัสพันธุกรรมยาว 7,074 bp (Figure1.)ประกอบด้วย โพรโมเตอร์ขนาด 4,170 bp และ พบ Exon1 ถัดจากโพรโมเตอร์ขนาด 900 bp และขั้นด้วย Intron ขนาด 919 bp และต่อด้วย Exon2 ขนาด 915 bp ดังนั้นขนาดของยีนไม่รวมโพรโมเตอร์มีขนาด 2,734 bp

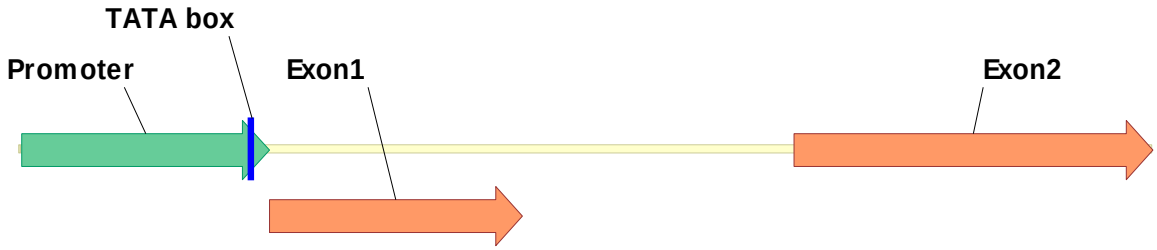


Polyphenol oxidase (PPO1) gene

7074 bp

ภาพที่ 6 แสดงองค์ประกอบของยีน PPO1

เมื่อนำรหัสพันธุกรรมของยีน PPO2 Gene bank accession number: AY149882.1 มาวิเคราะห์พบว่า สายรหัสพันธุกรรมยาว 3,930 bp ประกอบด้วยโพรโมเตอร์ขนาด 860 bp และ พบ Exon1 ถัดจากโพรโมเตอร์ขนาด 879 bp และขั้นด้วย Intron ขนาด 943 bp และต่อด้วย Exon2 ขนาด 1,248 bp ดังนั้นขนาดของยีนไม่รวมโพรโมเตอร์มีขนาด 3,070 bp



Polyphenol oxidase (PPO2) gene

3930 bp

ภาพที่ 7 แสดงองค์ประกอบของยีน PPO2

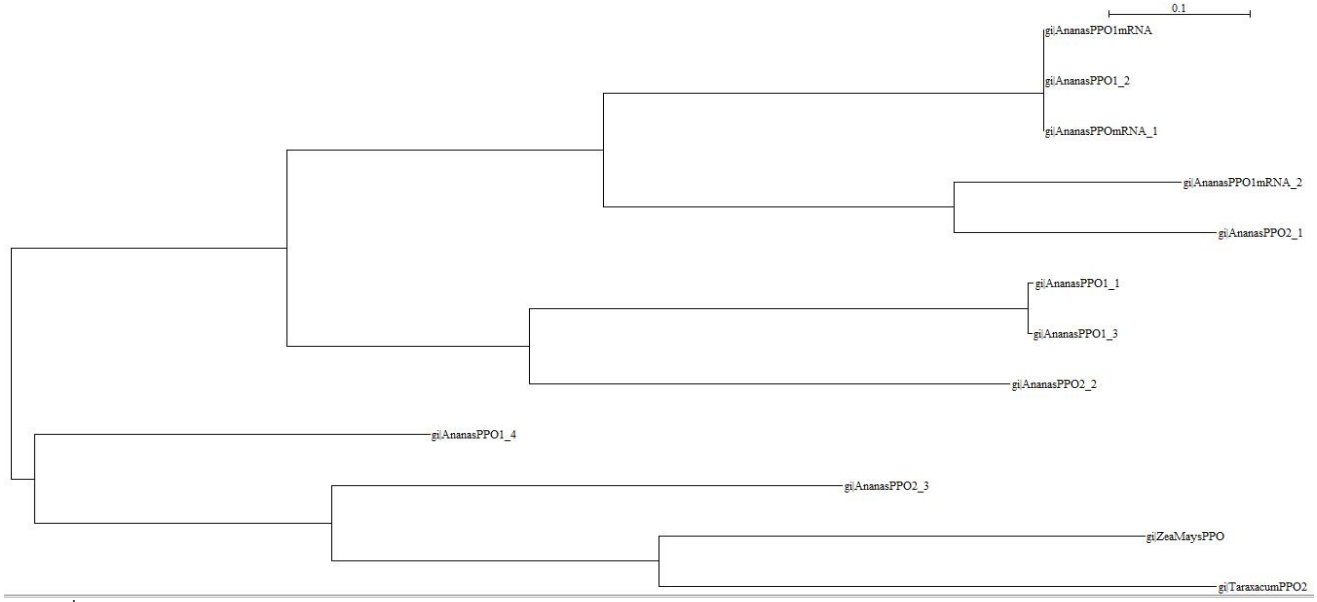
นำสายรหัสพันธุกรรมของยีน PPO1 และ PPO2 ในส่วนของ exon1 และ exon2 มาเชื่อมกันเป็น mRNA แล้วนำไป Blast กับฐานข้อมูล NCBI พบว่ายีน PPO1 มีสายรหัสพันธุกรรมบางส่วนมีความเหมือนกับข้าวโพด (Zea mays Linn.) และต้นทัมโปโปะ (Taraxacum officinale.) สองชนิดเท่านั้น (ภาพที่ 6,7)

ในขณะที่ ยีน PPO2 เมื่อเทียบกับยีน PPO1 พบว่ามีในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวถึง 23 ชนิดที่มียีน PPO2 อยู่คือ ข้าวสาลี (Triticum aestivum) ข้าวพื้นเมืองแอฟริกา (Oryza brachyantha), ข้าวญี่ปุ่น (Oryza sativa Japonica Group), ข้าวฟ่าง (Sorghum bicolor), ข้าวโพด (Zea mays), purple false brome (Brachypodium distachyon), perennial ryegrass (Lolium perenne), wild emmer wheat (Triticum dicoccoides), Triticum urartu หญ้าชนิดHordeum chilense, หญ้าชนิด Aegilops tauschii, small spelt (Triticum monococcum), wild einkorn (Triticum monococcum subsp. aegilopoides), หญ้าชนิด Setaria viridis, ข้าวฟ่างหางหมา (Setaria italica), ข้าวป่า (Oryza officinalis), two-rowed barley (Hordeum vulgare subsp. vulgare),ข้าว (Oryza sativa), สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองแอฟริกา (Oryza glaberrima) สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองแอฟริกา (Oryza barthii), ข้าวป่าพบในเอเชีย (Oryza nivara), ข้าวอินเดีย (Oryza sativa Indica Group) (ภาพที่ 8, 9, 10)

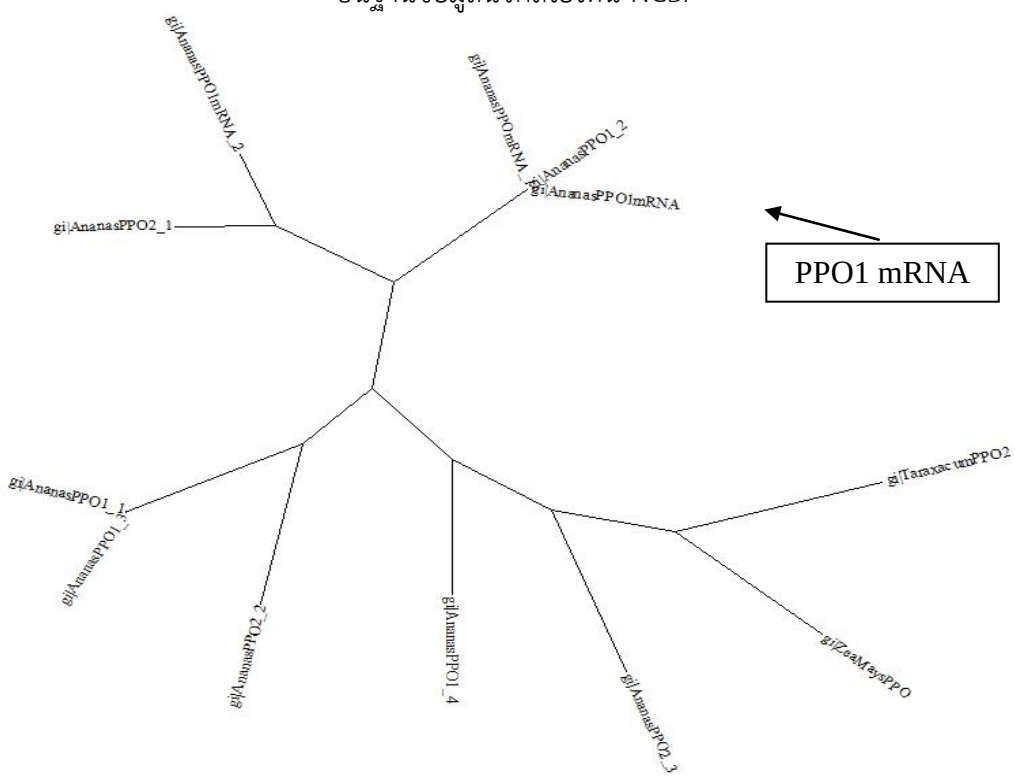
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการที่มียีน PPO2 อยู่ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิดนั้นแสดงว่ายีน PPO2 อาจเป็นยีนที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตในพืชใบเลี้ยงเดี่ยว ด้วยเหตุนี้วิวัฒนาการของพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเหล่านี้จึงยังคงเก็บรักษายีนชนิดนี้ไว้และไม่สูญหายไป ในขณะที่ยีน PPO1 พบว่ามีอยู่เพียงในข้าวโพดและไม้ดอกชนิดหนึ่งซึ่งเป็นเพียงบางส่วนของยีนเท่านั้น ยีน PPO1 จึงอาจเป็นยีนที่จำเพาะเจาะจงกับสัปปะรดและไม่จำเป็นกับพืชชนิดอื่นๆ

เมื่อนำสาย mRNA ของยีน PPO1 และ PPO2 ไป Translate โดยโปรแกรม Vector NTI เมื่อได้ Direct strand มาแล้วจึงนำสายเปปไทด์ ไป Blast กับฐานข้อมูลโปรตีน พบว่าโปรตีนทั้งสองชนิดมีลักษณะโครงสร้างที่คล้ายกันมาก และมี Tyrosinase superfamily เหมือนกัน รวมถึงลักษณะโครงสร้างโปรตีน PPO1 เหมือนกัน อนึ่งสิ่งที่แตกต่างคือระยะห่างระหว่างโครงสร้างและส่วนต้นของโปรตีนที่มีความเฉพาะเจาะจงของแต่ละโปรตีน (ภาพที่ 13 A, B) อย่างไรก็ดีเมื่อนำโปรตีนทั้งสองมาเปรียบเทียบกันพบว่ามีความแตกต่างกัน 28.4%

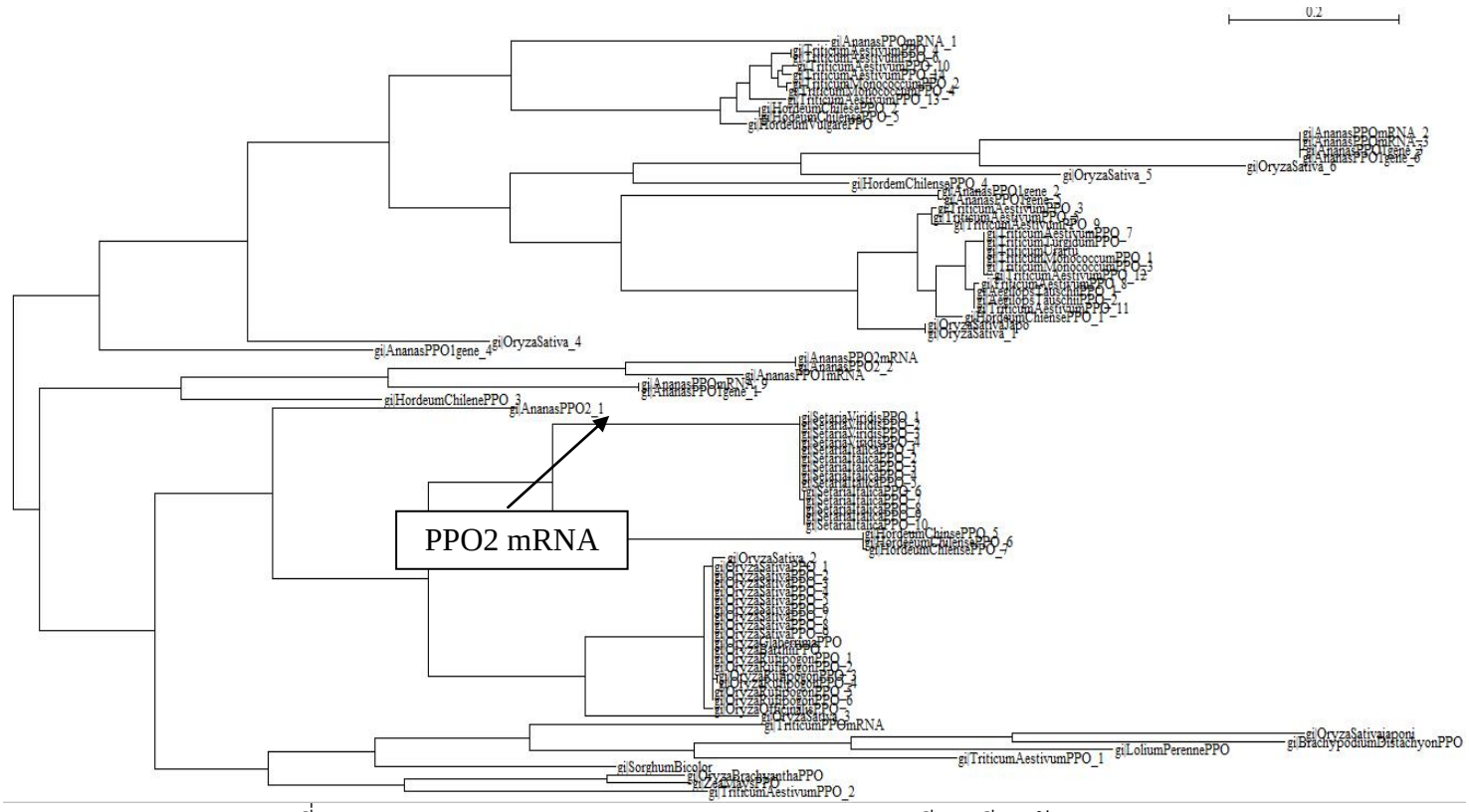
(ภาพที่ 13C)



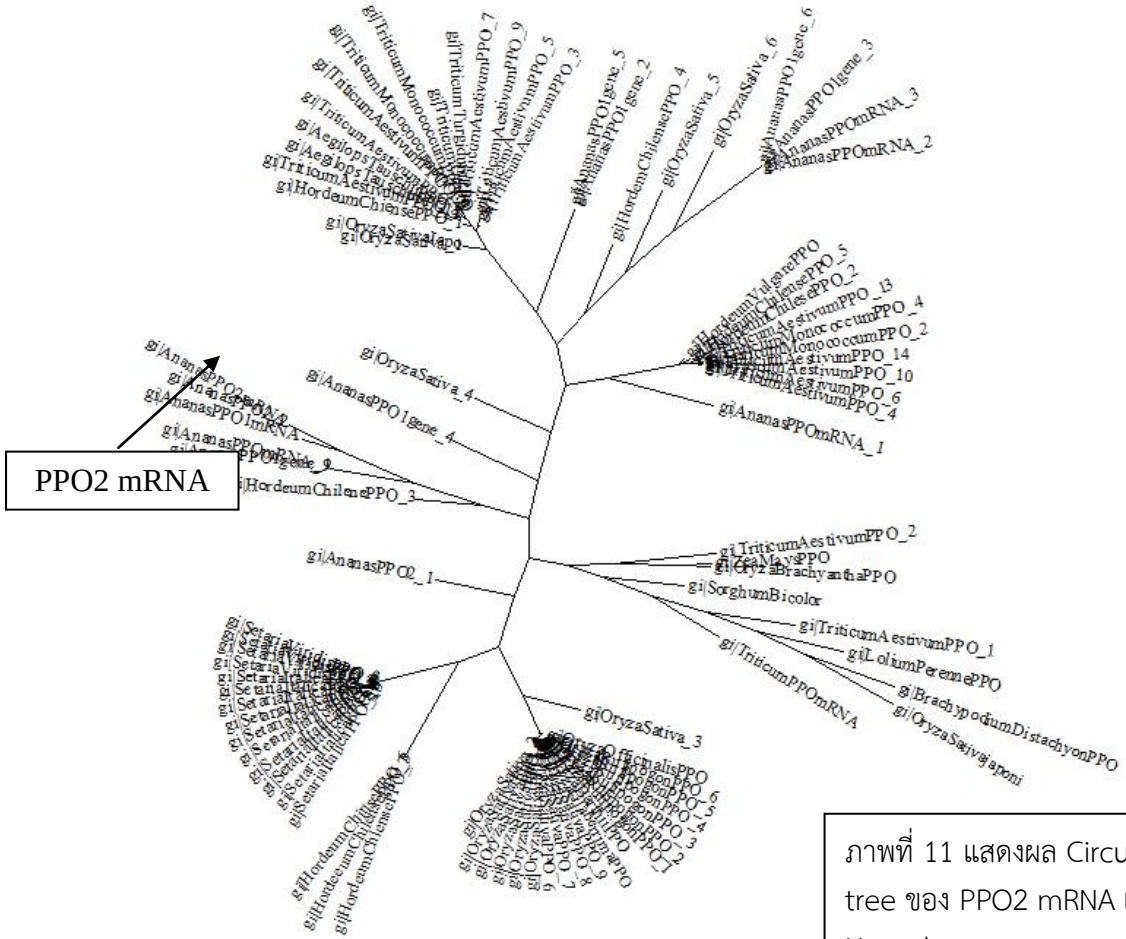
ภาพที่ 8 แสดงผล Parsimony tree ของ PPO1 mRNA เปรียบเทียบกับ Homologue sequence บนฐานข้อมูลนิวคลีโอไทน์ NCBI



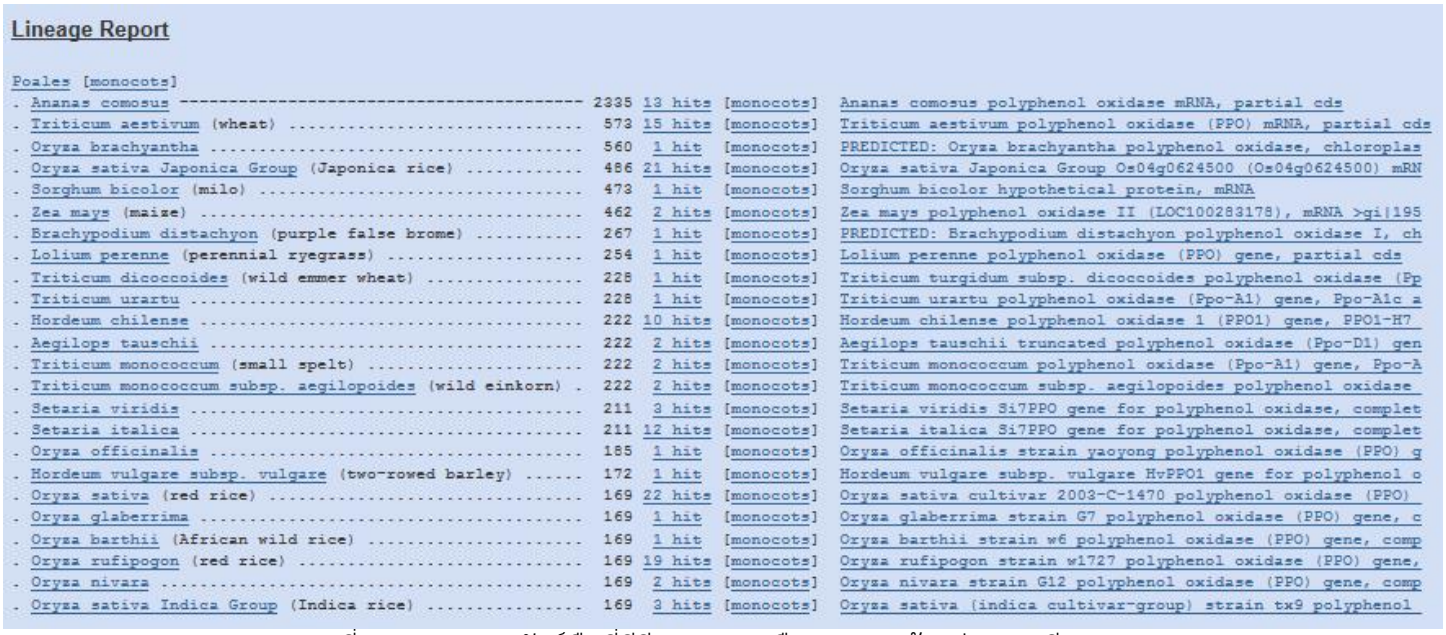
ภาพที่ 9 แสดงผล Circular parsimony tree ของ PPO1 mRNA เปรียบเทียบกับ Homologue sequence บนฐานข้อมูลนิวคลีโอไทน์ NCBI



ภาพที่ 10 แสดงผล Parsimony tree ของ PPO2 mRNA เปรียบเทียบกับ Homologue sequence บนฐานข้อมูลนิวคลีโอไทน์ NCBI



ภาพที่ 11 แสดงผล Circular parsimony tree ของ PPO2 mRNA เปรียบเทียบกับ Homologue sequence บนฐานข้อมูลนิวคลีโอไทน์ NCBI

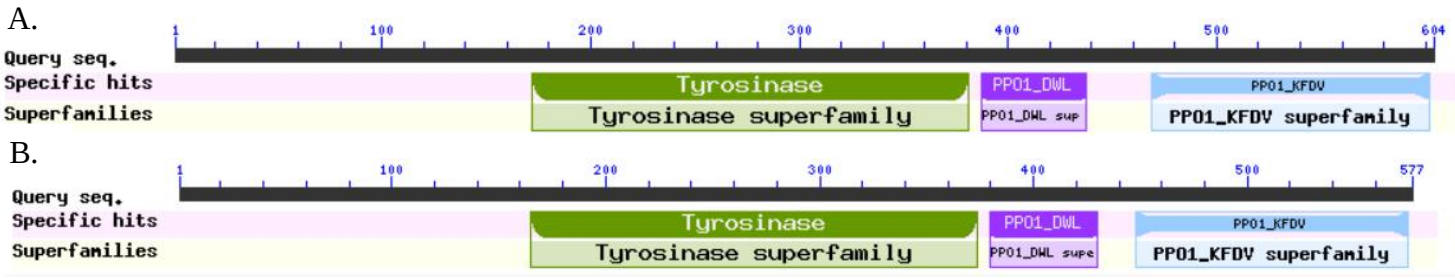


Lineage Report

Poales [monocots]

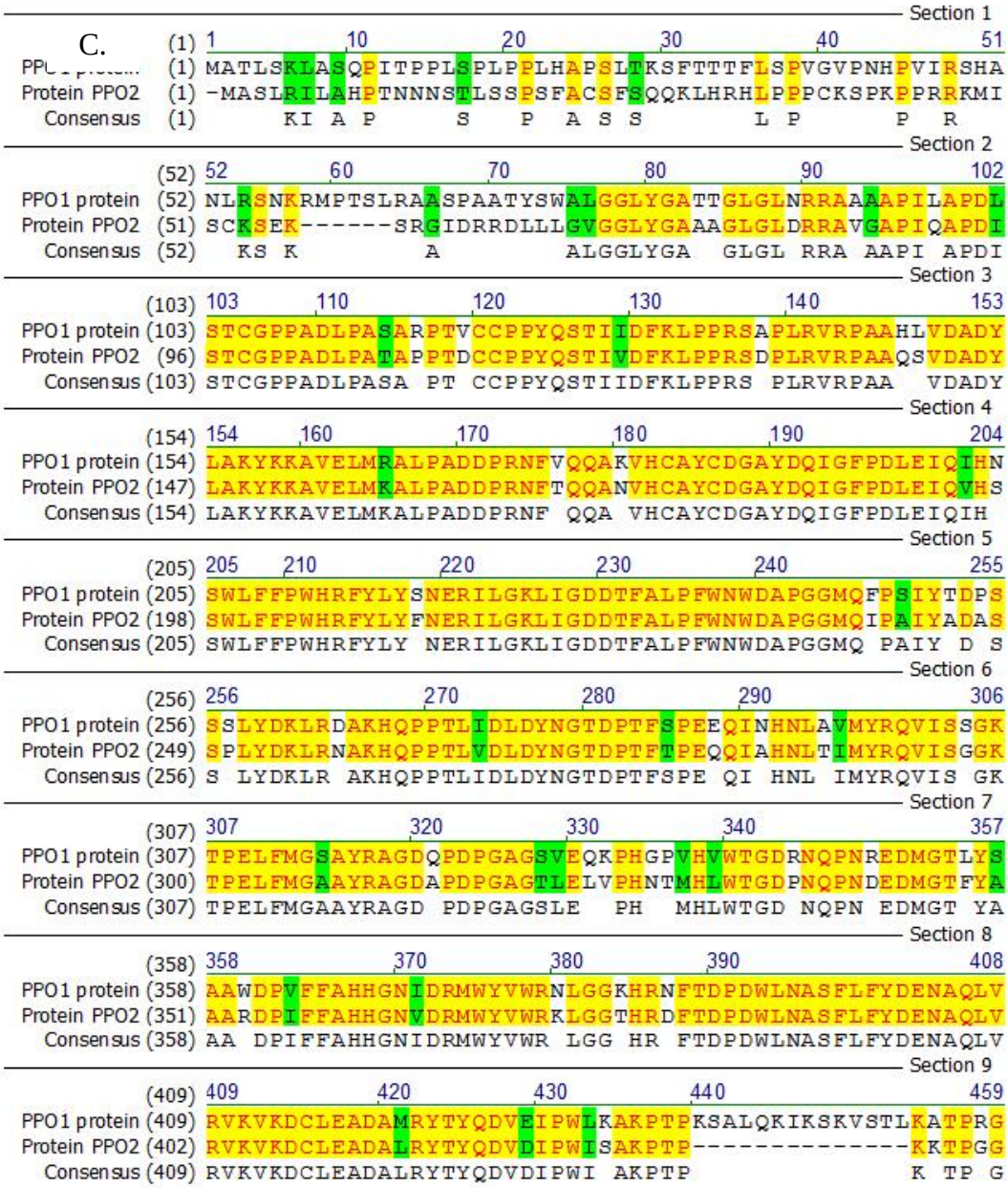
. Ananas comosus	2335	13 hits	[monocots]	Ananas comosus polyphenol oxidase mRNA, partial cds
. Triticum aestivum (wheat)	573	15 hits	[monocots]	Triticum aestivum polyphenol oxidase (PPO) mRNA, partial cds
. Oryza brachyantha	560	1 hit	[monocots]	PREDICTED: Oryza brachyantha polyphenol oxidase, chloroplas
. Oryza sativa Japonica Group (Japonica rice)	486	21 hits	[monocots]	Oryza sativa Japonica Group Os04g0624500 (Os04g0624500) mRN
. Sorghum bicolor (milo)	473	1 hit	[monocots]	Sorghum bicolor hypothetical protein, mRNA
. Zea mays (maize)	462	2 hits	[monocots]	Zea mays polyphenol oxidase II (LOC100283178), mRNA >gi|195
. Brachypodium distachyon (purple false brome)	267	1 hit	[monocots]	PREDICTED: Brachypodium distachyon polyphenol oxidase I, ch
. Lolium perenne (perennial ryegrass)	254	1 hit	[monocots]	Lolium perenne polyphenol oxidase (PPO) gene, partial cds
. Triticum dicoccoides (wild emmer wheat)	228	1 hit	[monocots]	Triticum turgidum subsp. dicoccoides polyphenol oxidase (Pp
. Triticum urartu	228	1 hit	[monocots]	Triticum urartu polyphenol oxidase (Ppo-A1) gene, Ppo-A1c a
. Hordeum chilense	222	10 hits	[monocots]	Hordeum chilense polyphenol oxidase 1 (PPO1) gene, PPO1-H7
. Aegilops tauschii	222	2 hits	[monocots]	Aegilops tauschii truncated polyphenol oxidase (Ppo-D1) gen
. Triticum monococcum (small spelt)	222	2 hits	[monocots]	Triticum monococcum polyphenol oxidase (Ppo-A1) gene, Ppo-A
. Triticum monococcum subsp. aegilopoides (wild einkorn)	222	2 hits	[monocots]	Triticum monococcum subsp. aegilopoides polyphenol oxidase
. Setaria viridis	211	3 hits	[monocots]	Setaria viridis Si7PPO gene for polyphenol oxidase, complet
. Setaria italica	211	12 hits	[monocots]	Setaria italica Si7PPO gene for polyphenol oxidase, complet
. Oryza officinalis	185	1 hit	[monocots]	Oryza officinalis strain yaoyong polyphenol oxidase (PPO) g
. Hordeum vulgare subsp. vulgare (two-rowed barley)	172	1 hit	[monocots]	Hordeum vulgare subsp. vulgare HvPPO1 gene for polyphenol o
. Oryza sativa (red rice)	169	22 hits	[monocots]	Oryza sativa cultivar 2003-C-1470 polyphenol oxidase (PPO)
. Oryza glaberrima	169	1 hit	[monocots]	Oryza glaberrima strain G7 polyphenol oxidase (PPO) gene, c
. Oryza barthii (African wild rice)	169	1 hit	[monocots]	Oryza barthii strain w6 polyphenol oxidase (PPO) gene, comp
. Oryza rufipogon (red rice)	169	19 hits	[monocots]	Oryza rufipogon strain w1727 polyphenol oxidase (PPO) gene,
. Oryza nivara	169	2 hits	[monocots]	Oryza nivara strain G12 polyphenol oxidase (PPO) gene, comp
. Oryza sativa Indica Group (Indica rice)	169	3 hits	[monocots]	Oryza sativa (indica cultivar-group) strain tx9 polyphenol

ภาพที่ 12 แสดงสายพันธุ์พืชที่มียีน PPO2 หรือประกอบด้วยส่วนของยีน PPO2



ภาพที่ 13 A. แสดงผลการ Blast สายรหัสเปปไทด์โปรตีน PPO1

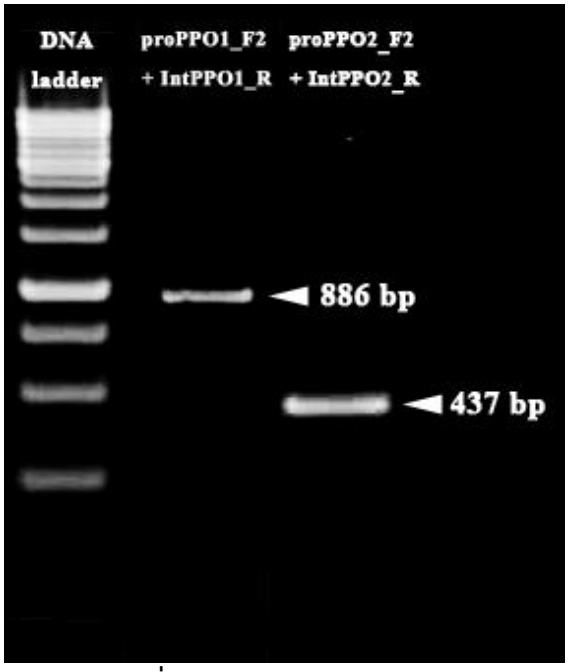
B. แสดงผลการ Blast สายรหัสเปปไทด์โปรตีน PPO2



C. แสดงการเปรียบเทียบระหว่างโปรตีน PPO1 และ PPO2

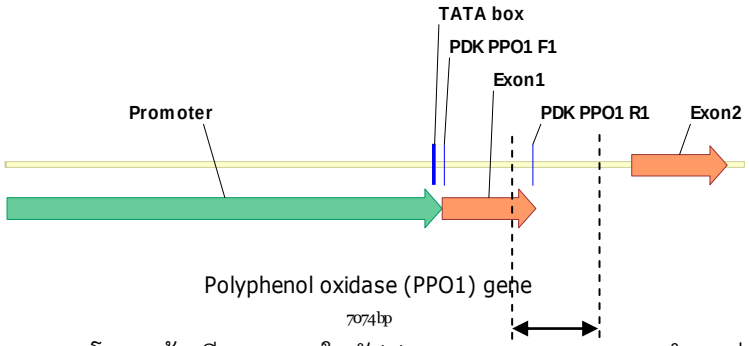
8.2 การตรวจสอบความถูกต้องและการโคลนชิ้นยีนเพื่อสร้าง Silencing vector

ตรวจสอบข้อมูลยีน *ppo1* และยีน *ppo2* โดยคู่ไพรเมอร์ proPPO1_F2 และ IntPPO1_R สำหรับยีน ppo1 และ คู่ไพรเมอร์ proPPO2_F2 และ IntPPO2_R สำหรับยีน ppo1 (ตารางที่ 1) โดยวิธี PCR ซึ่งตรวจพบยีนถูกต้องตามฐานข้อมูล (ภาพที่ 14) ทั้งนี้ได้ PCR product ขนาด 886 bp สำหรับยีน *ppo1* และ 437 bp สำหรับยีน *ppo2* จากนั้นนำ PCR product ไปวิเคราะห์โดยการถอดรหัสสายพันธุกรรมพบว่ายีน *ppo1* มีความแตกต่างจากรหัสพันธุกรรมซึ่งได้จากฐานข้อมูล 2 ตำแหน่งบริเวณ exon1 ในขณะที่ยีน *ppo2* รหัสเบสเหมือนกับฐานข้อมูลทุกประการ



ภาพที่14 การทำปฏิกิริยา PCR เพื่อตรวจสอบความถูกต้องของยีน ppo1 และ ppo2 ตามฐานข้อมูล PCR product ของยีน ppo1 มีขนาด 886 bp และ ppo2 มีขนาด 437 bp

เมื่อยืนยันความถูกต้องของยีน ppo1 และ ยีน ppo2 แล้วจึงดำเนินการ Clone ชิ้นยีนด้วย Primer PDK_PPO1 F1 และ PDK PPO1 R1 เพื่อนำไปใช้ในการตัดต่อเข้าสู่ เวคเอตร์ pRNAi-GG



ภาพที่ 15 แสดงภาพโครงสร้างยีน PPO1 ในสับปะรด ขนาด 7 kbp และตำแหน่ง primer PDK_PPO1 F1 และ PDK_PPO1 R1 บน Exon 1 ยีน PPO1

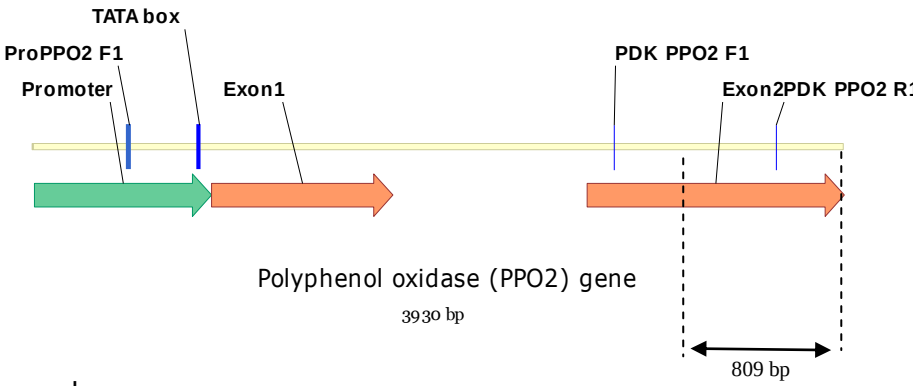
จากการทดลองพบว่าได้ชิ้น DNA จากการโคลน ความยาว 866 bp ทั้งนี้เมื่อนำ PCR Product ของยีน ppo1 ที่ได้มาถอดรหัสพบว่าได้รหัสพันธุกรรมได้ดังต่อนี้:

5’CTTTGCATGCTCCTTCTCTCACCAAAAGCTTCACCACCACCTTCCTCTCCCTTGTAGG
AGTCCCAAACCACCGCGTCATAAGATCTCTTGCAAATCTAAGGAGCAACAAGAGAATG
CCGACAAGCCTGCGGGCCGCATAGACCGCCGCGACCTACTCCTGGGCCTCGGCGGGCT
TTACGGTGCCACCACTGGGCTCGGCCTCAACCGTCGAGCGGCCGCTGCCCCTATCCTGG
CTCCCGACCTCTCAACTTGTGGGCCACCTGCCGACCTCCCTGCCTCCGCCCGACCGACA
GTTTGCTGCCCGCCATACCAATCCACCATCATCGACTTCAAGCTCCCCCCGCGATCTGC
TCCGCTTCGCGTCCGGCCTGCGGCCCACTTGGTTGACGCCGACTACCTGGCCAAGTATA

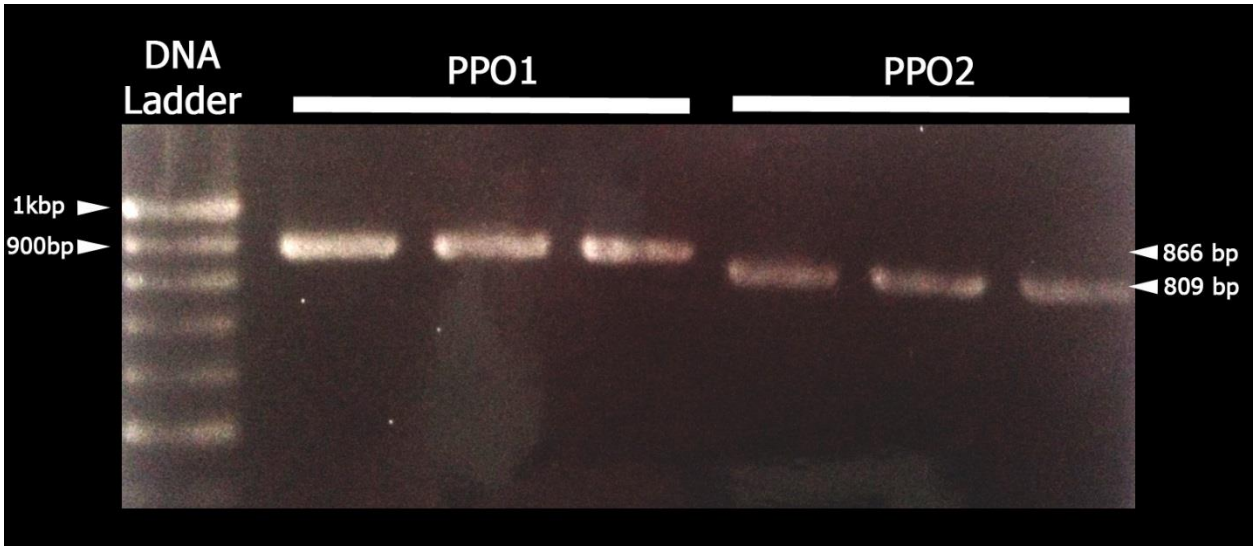
AGAAGGCAGTCGAGCTCATGAGGGCCCTGCCGGCCGACGACCCGCGCAACTTCGTACA
GCAAGCGAAAGTGCACTGTGCGTACTGCGACGGCGCGTATGACCAAATCGGCTTCCCC
GATCTCGAGATCCAGATCCACAACTCGTGGCTCTTCTTTCCTTGGCACCGGTTCTACCT
CTACTTCAACGAGCGCATACTCGGGAAACTTATCGGCGACGACACGTTCGCGCTGCCTT
TCTGGAACTGGGACGCGCCGGGGGGCATGCAGTTCCCGTCTATCTACACGGACCCTTCA
TCCTCGCTATATGACAAGCTGCGTGATGCGAAGCACCAGCCGCCGACTTTGATTGACCT
CGACTACAATGGCACCGATCCTACCT3’

ในส่วนของยีน ppo2 ดำเนินการ Clone ชิ้นยีนด้วย Primer PDK_PPO2 F1 และ PDK PPO2 R1 จากการทดลองพบว่าได้ชิ้น DNA จากการโคลน ความยาว 809 bp ทั้งนี้เมื่อนำ PCR Product ของยีน ppo1 ที่ได้มาถอดรหัสพบว่าได้รหัสพันธุกรรมได้ดังต่อนี้:

5’CGTTCTACGCGGCGGCGCGGGACCCCATCTTCTTCGCCCACCACGGCAACGTCGACC
GCATGTGGTACGTGTGGCGGAAACTCGGGGGCACGCACCGCGATTTCACCGACCCCGA
CTGGCTCAACGCGTCCTTCCTCTTCTACGACGAGAACGCGCAGCTCGTCCGCGTCAAAG
TAAAGGACTGCTTGAGCGCCGACGCGCTGCGGTACACGTACCAGGACGTCGACATCCC
GTGGATCAGTGCGAAGCCGACGCCGAAGAAAACACCGGGGGGCGCTGCGCCTTCCACG
ACAGAGGCTATATTTCCGGTGGTGCTGGATAAGCCGGTGAGCTCTACGGTGGCGAGGC
CGAAGACGGGGAGGAGTACTGGGGAGGAGGAGGTGTTGGTGGTGGAGGGAATCGAGCT
GGACAAGGACGTGGCCGTGAAGTTCGACGTGTATATAAACGCGCCGGACAACGAAGGG
GTGGGGCCGGAGGCGAGCGAGTTCGCAGGGAGCTTCGTCCAGGTGCCGCACAAGCACA
AGAAGGGGAAGAAGGAGAAGGCGAGGATTAAAACGACGCTCAGGCTCGGGATAACGGA
CCTGCTCGAGGACATCGGCGCCGAGGACGACGAGAGCGTGCTCGTCACGCTCGTGCCG
AGGATAGGCGAGGGGTTGGTCAAGGTTGGTGGGCTAAGGATCGATTTCTCCAAGTGAT
CAGCAGCAAATTAACTATACATGAAAGTAAAAAAAATTGCATT3'



ภาพที่ 16 แสดงภาพโครงสร้างยีน PPO2 ในสับปะรด ขนาด 3 kbp และตำแหน่ง primer PDK_PPO2 F1 และ PDK_PPO2 R1 บน Exon 2 ยีน PPO2

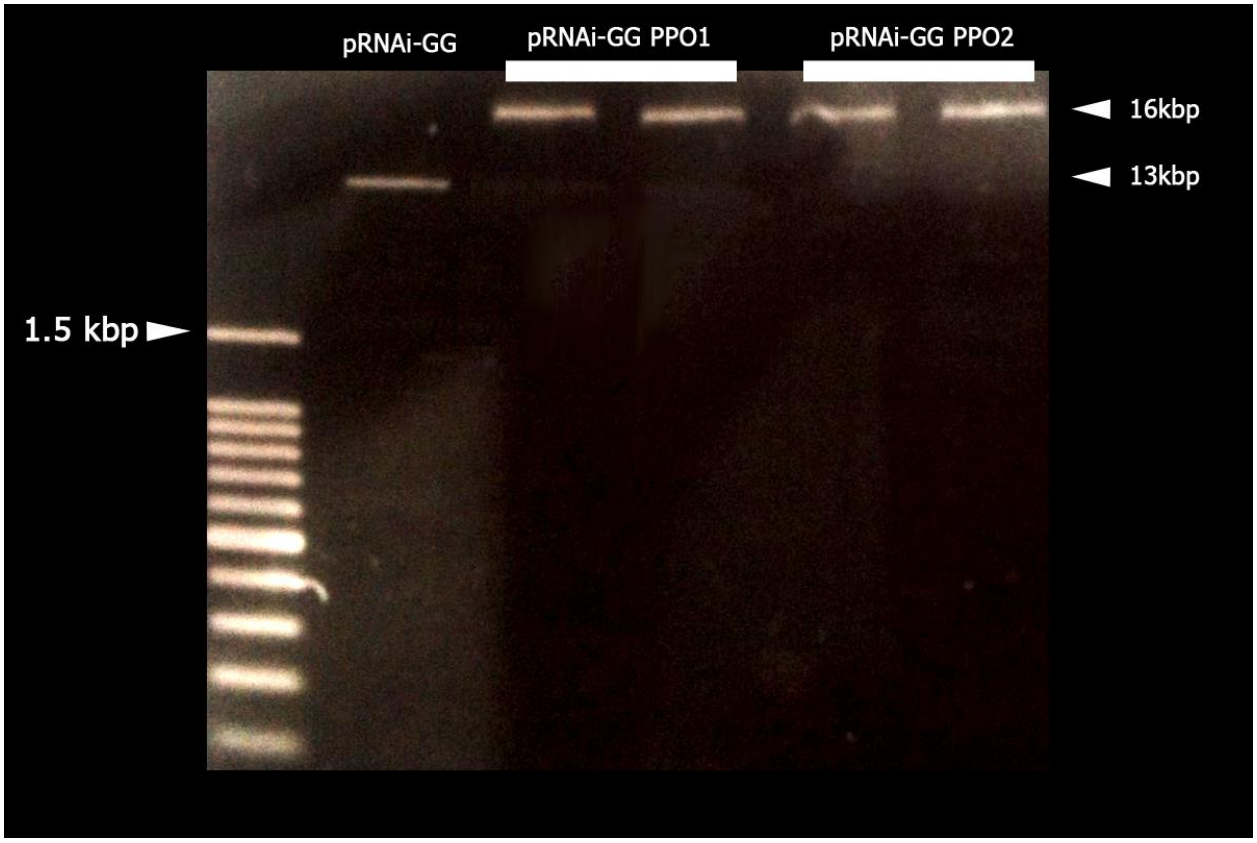


ภาพที่ 17 แสดงภาพการโคลนชิ้นยีนบางส่วนของยีน PPO1 ขนาด 866 bp และ ยีน PPO2 ขนาด 809 bp

8.3 การตัดต่อเวคเตอร์ pRNAi-GG และการถ่ายเวคเตอร์เข้าสู่อะโกรแบคทีเรียม AGL1

นำชิ้นยีน PPO1 และ PPO2 ที่โคลนได้ตัดต่อเข้าสู่ Vector pRNAi-GG โดยวิธี Single Digestion-Ligation แล้ว Transform ด้วยวิธี Heat shock เข้าสู่ E. coli DH5 alpha competent Cells เลี้ยงบน อาหารเลี้ยงเชื้อ LB ผสม kanamycin 25 mg/L และ chloramphenicol 5 mg/L เพื่อคัดเลือก Transformant ที่ได้รับ recombinants vector จากผลการทดลองพบว่าประสบความสำเร็จในการได้ Transformant สำหรับยีน PPO1 และ PPO2 พบว่าได้ Colony จำนวนมาก เมื่อนำ single colony Transformant ไปเลี้ยงสกัด recombinants vector แล้วนำไป ตรวจสอบข้อมูลยีน *ppo1* และยีน *ppo2* โดยนำไปตัดด้วย Restrcition enzyme BsaI จากผลการทดลองพบว่า เอนไซม์ BsaI สามารถตัด WT pRNAi-GG ได้ โดยพบขนาดอยู่ที่ประมาณ 13 kbp แต่ไม่สามารถตัด pRNAi-GG PPO1 และ pRNAi-GG PPO2 ได้โดยพบขนาดของเวคเตอร์อยู่ที่ 16 kbp ซึ่งในส่วนของ WT pRNAi-GG เอนไซม์ BsaI สามารถตัดชิ้นยีน ccdB ซึ่งเป็น Insert ภายในออกได้ทั้งหมดประมาณ 3kb (ภาพที่ 18) ทั้งนี้การใช้ PDK intron ซึ่งมี chloramphenicol Resistance ยีน อยู่ภายในสามารถซึ่งหากแบคทีเรียสามารถโตในอาหารที่มี chloramphenicol ได้โครงสร้างภายในเวคเตอร์ต้องถูกต้อง ทั้งนี้จากผลการทดลองสามารถยืนยันความถูกต้องของเวคเตอร์ได้

ภาพที่ 18 แสดงภาพการตัดเวคเตอร์ที่สกัดได้เพื่อตรวจสอบด้วย Restrcition enzyme BsaI ใน pRNAi-GG และ เวคเตอร์ pRNAi-GG PPO1 และ PPO2



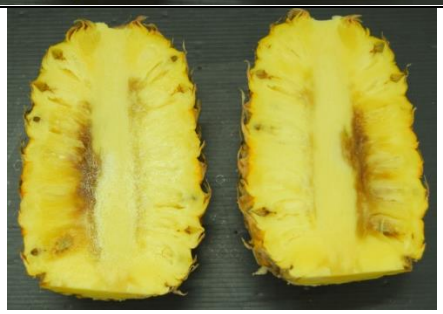
นำเวคเตอร์ที่สกัดได้ถ่ายเข้าสู่ Agrobacterium AGL1 โดยวิธี Freeze-thaw คัดเลือก Transformant ด้วย Antibiotic Kanamycin พบว่าได้ Transformant ประมาณ 50 โคโลนี ต่อ plate ทั้งนี้เตรียมดำเนินการเก็บตัวอย่าง สัปปะรด เพื่อ Inoculate กับเชื้อ และ Transform ยีนเข้าสู่ผลสับปะรด

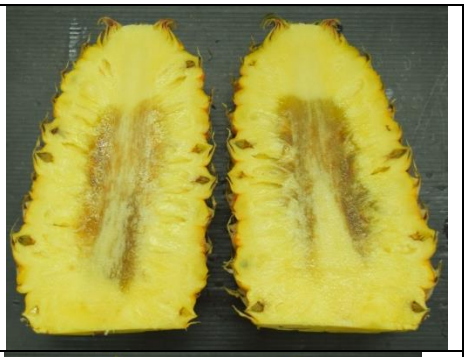
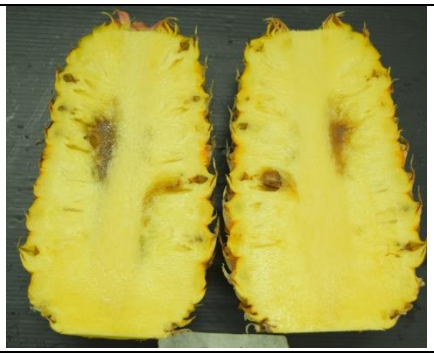
8.4 การ Inoculate เชื้อ Agrobaterium สู่ผลสัปปะรดเพื่อทดสอบการแสดงออกของยีน PPO1, PPO2

จากผลการทดลองของสับปะรดทั้ง 2 ชุด คือที่ 2 และ 3 สัปดาห์ พบว่าเชื้อ Agrobacterium (AGL1) pRNAi-GG: PPO2 สามารถ Infect ผลสัปปะรดได้และทำให้เกิดกระบวนการ Silencing gene PPO2 เป็นผลให้อาการไส้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นกับชุดควบคุมในสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญและเห็นได้ชัดเจนโดยในส่วนของ Agrobacterium (AGL1) pRNAi-GG: PPO2 มีอาการไส้สีน้ำตาลลดลงอย่างชัดเจน ถึง 5 ใน 6 ซ้ำ ของชุดการทดลอง หรือ ลดลง 83.33% จึงสามารถกล่าวได้ว่ายีน PPO2 มีส่วนเกี่ยวข้องอย่างมากกับอาการไส้สีน้ำตาลในสัปปะรดพันธุ์ตราดสีทอง อย่างไรก็ดีในส่วนของ Agrobacterium (AGL1) pRNAi-GG: PPO1 ยีน PPO1 พบว่าผลการทดลองไม่มีความแตกต่างมากนักกับชุดควบคุม (ผลการทดลองไม่ได้แสดง) จึงสามารถ

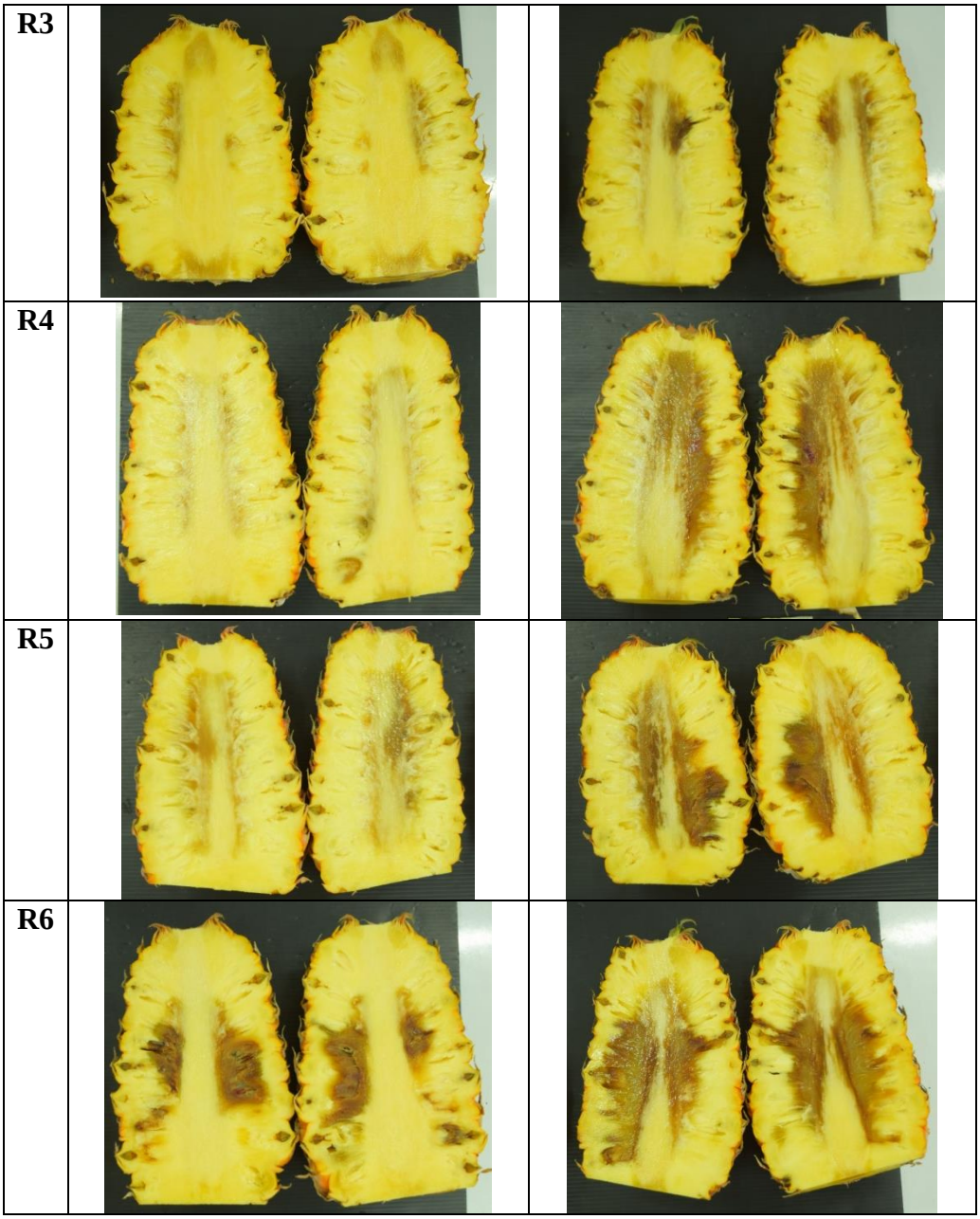
สรุปได้ว่า ยีน PPO2 มีผลมากที่สุดต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง อย่างไรก็ดีในส่วนของ สัปดาห์ที่ 3 (ชุดที่ 2) ผลสับปะรดทั้งในส่วนของชุดควบคุมและชุดทดลองได้ผลไม่ต่างกันมากนักแต่ในส่วนของ (AGL1) pRNAi-GG: PPO2 พบ อาการไส้สีน้ำตาลลดลงเกือบ 50 เปอร์เซ็นต์ ของจำนวนซ้ำทั้งหมด (ตารางที่ 7, ภาพที่ 19)

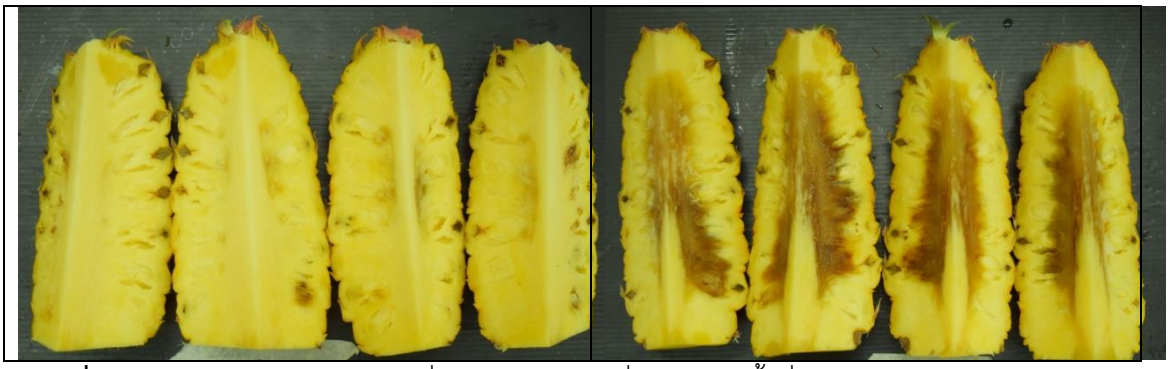
ตารางที่ 7 แสดงภาพเปรียบเทียบสับปะรด ชุดที่ 1 และ 2 ที่ได้รับการฉีด Agrobacterium pRNAi-GG: PPO2 และชุดควบคุม ที่ได้รับการฉีดน้ำกลั่นแทน

	ชุดที่ 1	
	Treat with Agrobacterium pRNAi-GG: PPO2	Control H_2O
R1		
R2		
R3		
R4		

R5		
R6		

	ชุดที่ 2	
	Treat with Agrobacterium pRNAi-GG: PPO2	Control H_2O
R1		
R2		





ภาพที่ 19 แสดงภาพผลสัปปะรดชุดที่ 1 Treatment ที่ 2 และ 4 ซ้ำที่ 4 ตัดแบ่ง 4 แฉก เปรียบเทียบการฉีด Agrobacterium pRNAi-GG: PPO2 (ซ้าย) และชุดควบคุม ที่ได้รับการฉีดน้ำกลั่นแทน (ขวา)

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ปัญหาสำคัญที่เกิดกับผลสับปะรดผลสดเกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานาน เช่นการขนส่งทางเรือหรือห้องเย็น ทำให้เกิด อาการไส้สีน้ำตาล ทำให้เกิดปัญหาเรื่องราคาและคุณภาพซึ่งต้องแข่งขันกับประเทศอื่น สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง มีคุณสมบัติที่ดี ทั้งเรื่องรสชาติและสีสันแต่มีปัญหาเรื่องไส้สีน้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างการขนส่งรุนแรงมาก หากว่าสามารถแก้ในเรื่องอาการไส้สีน้ำตาลได้จะช่วยส่งเสริมการส่งออกให้เกษตรกรและผู้ประกอบการสามารถขยายตลาดการส่งออกและเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตร ในงานวิจัยนี้ สามารถโคลนชิ้นยีน PPO1 และ PPO2 จากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองแล้วตัดต่อเข้าสู่ เวคเตอร์ pRNAi-GG และ ถ่ายเวคเตอร์ที่ได้รับการตัดต่อแล้วทั้ง 2 ชนิด เข้าสู่อะโกรแบคทีเรียม ชนิด AGL1 ได้ Transformant 2 ชนิดซึ่งพร้อมสำหรับใช้ถ่ายยีนเพื่อสร้างระบบ Silencing ยีน PPO1/2 คือ AGL1 PPO1_RNAi-GG และ AGL1 PPO2_RNAi-GG ซึ่งสามารถนำไปใช้ถ่ายเข้าสู่พืชได้ทันที หรือ ถ่ายเข้าสู่ผลสับปะรดเพื่อทดสอบแบบ Transient transformation จากผลการทดลองพบว่าผลสับปะรดที่ได้รับการ Inoculate แบบฉีดโดยตรงโดย AGL1 PPO2_RNAi-GG มีอาการไส้สีน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ดีผลสับปะรดที่ได้รับการ Inoculate แบบฉีดโดยตรงโดย AGL1 PPO1_RNAi-GG เกิดอาการไส้สีน้ำตาลเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ได้ว่ายีน PPO2 อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับอาการไส้สีน้ำตาลที่รุนแรงในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองและสามารถวิจัยและพัฒนาต่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์สับปะรดพันธุ์ตาดสีทองต่อไปได้

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

การใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เพื่อลดการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ในช่วงเดือนเมษายน พบว่า การใช้สารละลาย $CaCl_2$ และ $SrCl_2$ มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลาย และการใช้สารละลาย $SrCl_2$ มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด จะเกิดไส้สีน้ำตาล ส่วนในช่วงเดือนมิถุนายน พบว่า การใช้สารละลายกรดอีริทอร์บิก มีระดับของการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลน้อยกว่าสับปะรดที่ไม่ให้สารละลาย แต่มีปริมาณวิตามินซีที่เหลืออยู่ถึง 29.52 เปอร์เซ็นต์และการไม่ให้สารละลาย มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่ำสุด และกรรมวิธีต่างๆที่ใช้ในการทดลองไม่มีผลกระทบต่อ ความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาล กรด และวิตามินซี รวมถึงกลิ่นและรสชาติ ดังนั้นการใช้สารเคมีดังกล่าว จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่อาจนำไปใช้เป็นกรรมวิธีในการปฏิบัติเพื่อควบคุมอาการไส้สีน้ำตาลในระดับหนึ่งได้

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ พบว่า การเคลือบผิวผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองด้วย Wax GLK (WAXES 18 เปอร์เซ็นต์ w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยไม่มีผลกระทบต่อความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักปริมาณน้ำตาล กรด รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการใช้บรรจุภัณฑ์ (MAPs) ชนิดต่างๆ พบว่า การบรรจุสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองในถุงพลาสติก LDPE ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยไม่มีผลกระทบต่อ ความแน่นเนื้อ การสูญเสียน้ำหนักปริมาณน้ำตาล กรด และวิตามินซี รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

การนำสารเคลือบและบรรจุภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพมาทดสอบร่วมกัน พบว่า ไม่มีผลในการเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมอาการไส้สีน้ำตาล และ พบว่า การเคลือบผิวผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองด้วย Wax GLK (WAXES 18% w/v (Shellac, wax) ร่วมกับ Cellophane sheet ในขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ หลังจากเก็บเกี่ยวที่ระยะแก่เขียว มีแนวโน้มในการควบคุมการเกิดไส้สีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดีกว่าการไม่ใช้สารเคลือบและถุงบรรจุใดๆ และไม่มีผลกระทบต่อความแน่นเนื้อ ปริมาณน้ำตาล กรด รวมถึงกลิ่นและรสชาติ

การศึกษากลไกควบคุมการทำงานของยีนสังเคราะห์เอนไซม์ PPO ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทองโดยเทคนิค Antisense Gene Knockdown สามารถโคลนชิ้นยีน PPO1 และ PPO2 จากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองแล้วตัดต่อเข้าสู่ เวคเตอร์ pRNAi-GG และถ่ายเวคเตอร์ที่ได้รับการตัดต่อแล้วทั้ง 2 ชนิด เข้าสู่อะโกรแบคทีเรียม ชนิด AGL1 ได้ Transformant 2 ชนิดซึ่งพร้อมสำหรับใช้ถ่ายยีนเพื่อสร้างระบบ Silencing ยีน PPO1/2 คือ AGL1 PPO1_RNAi-GG และ AGL1 PPO2_RNAi-GG ซึ่งสามารถนำไปใช้ถ่ายเข้าสู่พืชได้ทันที หรือ ถ่ายเข้าสู่ผลสับปะรดเพื่อทดสอบแบบ Transient transformation จากผลการทดลองพบว่าผลสับปะรดที่ได้รับการ Inoculate แบบฉีดโดยตรงโดย AGL1 PPO2_RNAi-GG มีอาการไส้สีน้ำตาลลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ดีผลสับปะรดที่ได้รับการ Inoculate แบบฉีดโดยตรงโดย AGL1 PPO1_RNAi-GG เกิดอาการไส้สีน้ำตาลเช่นเดียวกับกลุ่มควบคุมโดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ได้ว่ายีน PPO2 อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับอาการไส้สีน้ำตาลที่รุนแรงในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองและสามารถวิจัยและพัฒนาต่อเพื่อปรับปรุงพันธุ์สับปะรดพันธุ์ตาดสีทองต่อไปได้

บรรณานุกรม

กรมส่งเสริมการเกษตร. รายงานข้อมูลภาวการณ์ผลิตพืชแบบรายปี 2555. สืบค้นจาก: http://production.doae.go.th/report/report_main2.php [ก.ค. 2557]

กรมอุตุนิยมวิทยา. สภาวะอากาศประเทศไทย เดือนเมษายน 2558. สืบค้นจาก: http://www.tmd.go.th/programs/uploads/monthlySummary/เมษายน581.pdf [ก.พ. 2559].

กรมอุตุนิยมวิทยา. สภาวะอากาศประเทศไทย เดือนมิถุนายน 2558. สืบค้นจาก: http://www.tmd.go.th/programs/uploads/monthlySummary/มิถุนายน58888.pdf [ก.พ. 2559]

งามทิพย์ ภู่วโรดม. 2537. ก๊าซกับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ: นครปฐม. 396 หน้า.

จักรพงษ์ พิมพ์พิมล และ จริงแท้ ศิริพานิช. 2536. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดและวิธีการป้องกัน. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ 27(4) : 421-430.

จรัญญา พงโศธร. 2549. ผลของแสงและบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพในระหว่างการเก็บรักษาแก้วมังกรพันธุ์เวียดนาม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี : 20-25.

จริงแท้ ศิริพานิช และ อ้อมอรุณ นุกูลธรประกิต. 2548 อนุมูลเสรีและตัวต้านออกซิเดชันกับอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรด. Postharvest Newsletter 4(1): 1-3.

จริงแท้ ศิริพานิช และ อ้อมอรุณ นุกูลธรประกิต. 2548 อนุมูลเสรีและตัวต้านออกซิเดชันกับอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรด. Postharvest Newsletter 4 (1): 1-3.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2538. สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ: นครปฐม. 396 หน้า.

จริงแท้ ศิริพานิช. 2554. โครงการ “ทดสอบระบบการส่งออกสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง”: 1-54.

จักรพงษ์ พิมพ์พิมล และ จริงแท้ ศิริพานิช. 2536. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดและวิธีการป้องกัน. วิทยาสารเกษตรศาสตร์ 27(4) : 421-430.

ฐิติรัตน์ กฤตยาภิรมย์. 2547. ผลของสารเคลือบผิว Stafresh 7055 ต่อการเกิดอาการสะท้านหนาวในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี: 70-72.

ฤทัยรัตน์ ทันตวิวัฒนา และคณะ. 2555. ผลของการใช้เมทิลจัสโมเนทต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง.ว. วิทย. กษ. 43 : 3 (พิเศษ) : 396-399

ทวีศักดิ์ แสงอุดม จงวัฒนา พุ่มหิรัญ สมเกียรติ นวลละออง บุญเกื้อ ทองแท้ ไพรัตน์ ช่วยเต็ม และเบญจมาส รัตนชินกร. 2544. ศึกษาการป้องกันการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลของสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง. ผลงานฉบับเต็มในการประเมินแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งนักวิชาการเกษตร7 ว. สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. น.1-45.

มณฑาทิพย์ ยุ่นเจริญ. 2539. กรดแอสคอร์บิก และกรดอีริทรอบิก/แอนติออกซิแดนท์. วารสารอาหาร. 26(1) : 13-17.

มยุรี ภาคลำเจียก และ อมรรัตน์ สวัสดิทัต. 2533. คู่มือการใช้พลาสติกเพื่อการหีบห่อ. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 80 หน้า.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร 2555. สถานการณ์สินค้าเกษตรที่สำคัญและแนวโน้ม ปี 2556 : 72-80

Abdullah, H., M.A. Rohaya and M.Z. Zaipun. 1987. Storage study of pineapple (*Ananas comosus* cv. Sarawak) with special emphasis on black heart disorder. Hort. Abstr. 57(8): 6738.

Akamine, E.K., T. Goo, T. Steepy, T. Greidanus and N. Iwaoka. 1975. Control of endogenous brown spot of fresh pineapple in postharvest handling. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 100(1): 60-65.

APPLICATION FOR LICENCE FOR INTENTIONAL RELEASE OF A GMO INTO THE ENVIRONMENT: Application No. DIR 0028/2002

Ben-Yehoshua, S., Shapiro, B., Chen, Z.E. and Lurie, S. 1983. "Mode of action of plastic film in extending life of lemon and bel1 pepper fruits by alleviation of water stress". Plant Physiology. 73: 87-93.

Christian W. B. Bachem1, Gert-Jan Speckmann1, Piet C. G. van der Linde, Frank T. M. Verheggen, Michelle D. Hunt, John C. Steffens & Marc Zabeau(1994). Antisense Expression of Polyphenol Oxidase Genes Inhibits Enzymatic Browning in Potato Tubers. Nature Biotechnology 12, 1101 – 1105.

Chung C.T., Suzanne L. Niemela, Roger H. Miller. (1989). One-step preparation of competent Escherichia coli: Transformation and storage of bacterial cells in the same solution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 86, 2172.2

Clemente, E., Pastore, G.M. (1998). Peroxidase and polyphenoloxidase, the importance for foodtechnology. Boletim SBCTA, 32, 167-171.

Coetzer C, Corsini D, Love S, Pavek J, Tumer N. Control of enzymatic browning in potato (Solanum tuberosum L.) by sense and antisense RNA from tomato polyphenol oxidase (2001). J. Agric. Food Chem., 49 (2), pp 652–657

Dull, G.G.1971. The pineapple, pp.303-324. In A.C. Hulme (ed.). The Biochemistry of Fruits and Their Products. Vol.II. Academic Press, London.

Hardenburg, R.E. 1971. "Effect of in-package environment on keeping quality of quality of fruits and vegetables", Hort. Science, 6: 198-201.

Lattanzio, V., Linsalata, V., Palmieri, S., Van Sumere, C.F.,1989. The beneficial effect of citric and ascorbic acid on the phenolic browning reaction in stored artichoke (Cynara scolymus L.) heads. Food Chem. 33, 93/106.

Murata, T. 1990. Relation of chilling stress to membrane permeability, pp. 238-272. In C.Y. Wanng, ed. Chilling Injuly of Horticultural Crops. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

ONE 7(5): e38186. doi:10.1371/journal.pone.0038186Raimbault AK, Marie-Alphonsine PA, Horry JP, Francois-Haugrin M, Romuald K, Soler A.,2011. Polyphenol oxidase and peroxidase expression in four pineapple varieties (Ananas comosus L.) after a chilling injury.J Agric Food Chem.Jan 12;59(1):342-8

Paull, R. E. and Chen, N. J. 1987. “Effect of storage temperature and wrapping on quality characteristics of litchi fruit”. Scientia Horticulturae. 33: 223-36.

Paull, R. E. and K.G.Rohrbach. 19850 “Symptom delopment of chilling injury in pineapple”. J. Amer.Soc.Hort.Sci. 110 (1): 100-105.

Pitadeniya, D.S., Lakshman, P.L.N. and Hettiarachchi, M.P. 2005. Pineapple black heart disorder: Measures to reduce postharvest losses during transportation and storage. APEC Symposium on Assuring Quality and Safety of Fresh Produce, August 1-3, 2005, Bangkok, Thailand: 76 pp.

Saltveit, M.E. (2000). Wound induced changes in phenolic metabolism and tissue browing are alteradby heat shock. Postharvest Biol. and Techno., 21, 61-69.

Shahida, F., J. K. V. Arachchi and Y-J Jeon. 1999. Food applications of chitin and chitosans. Trends in Food Sciences & Technology 10: 37-51.

Shewfelt, R.L. and M.E. Erickson. 1991. Role of lipid peroxidation in the mechanism of membrane-associated disorders in edible plant tissue. Trends Food Sci. Technol. 6: 152-154.

Suntipabvivattana N. and N. Somboonkaew. 2005. Chitosan coating on shelf life of pineapple cv. Poo-lae. APEC Symposium on Assuring Quality and Safety of Fresh Produce, August 1-3, 2005, Bangkok, Thailand: 76 pp.

Teisson, C.,P. Martin-Prevel.J.P.Combres and P. Py. 1978. Internal browning of pineapple disorder caused by refrigeration (English summary) Fruits. 33(1) : 48-50.

Thi Bich Thuy Nguyen, Saichol Ketsa, Wouter G. van Doorn, 2003.Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage.Postharvest Biology and Technology 30., 187/193.

Tomas-Barberan, F.A., Gil, M.I., Castaner, M., Artes, F.,Saltveit, M.E., 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. J. Agric. Food Chem. 45, 583/589.

Varoquaux, P., Albagnac, G., The, C.N. and Varoquaux, F. 1996. Modified atmosphere packaging of fresh beansprouts. Journal of Science Food and Agriculture. 70: 224-230.

Weller, A., Sims, C.A., Matthews, R.F., Bates, R.P.,Brecht, J.K. (1997). Browning susceptibility and changes in composition during storage of carambola slices. J. Food Science, 62, 256-260.

Yan P, Shen W, Gao X, Li X, Zhou P, et al. (2012) High-Throughput Construction of Intron-Containing Hairpin RNA Vectors for RNAi in Plants. PLoS

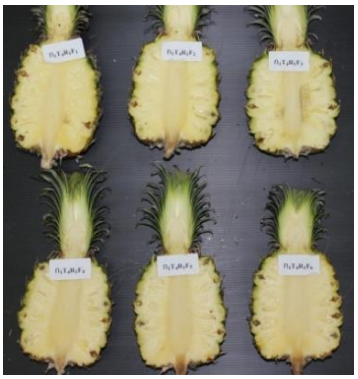
Zagory, D. and Kader, A. A. 1988. Modified atmosphere packaging of fresh produce. Food Technology. 42 (9): 70-77.

ภาคผนวก

1. Control

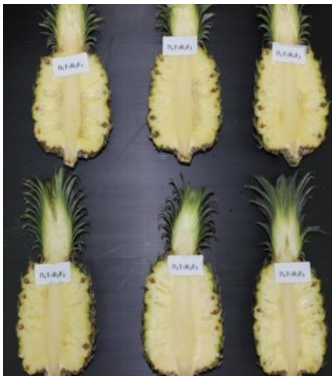
2. 0.2ppm 1-MCP

3. 0.2M $CaCl_2$



4. 0.2M $SrCl_2$

5. 0.1M Erythorbate



6. 0.1M Ascorbate

7. 1.5 M Sodium Erythorbate

8. 0.1M Sodium Ascorbate

9. 0.01M Methyl Jasmonate

ภาพผนวกที่ 1.1 : แสดงผลของกรรมวิธีต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน

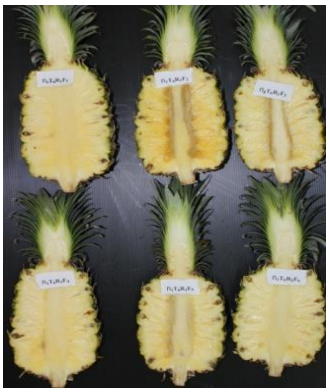
1. Control

2. 0.2ppm 1-MCP

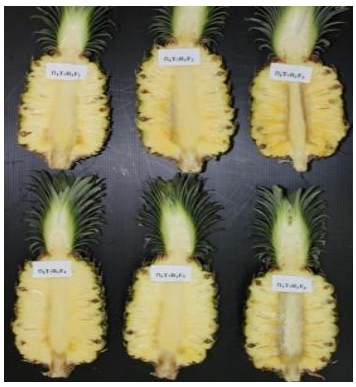
3. 0.2M $CaCl_2$

4. 0.2M $SrCl_2$

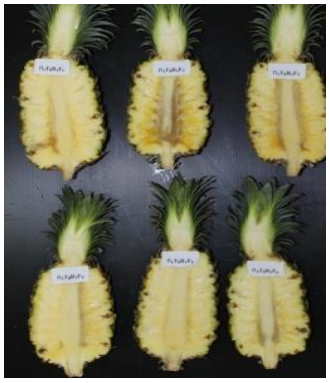
5. 0.1M Erythorbate



6. 0.1M Ascorbate



7. 1.5 M Sodium Erythorbate



8. 0.1M Sodium Ascorbate

9. 0.01M Methyl Jasmonate

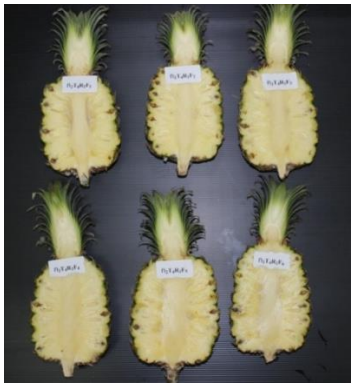
ภาพผนวกที่ 1.2 : แสดงผลของกรรมวิธีต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน

1. ผลของการใช้สารเคลือบผิวชนิดต่างๆ ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดผลสดพันธุ์ตราดสีทอง

1. Control

2. 2% Chitosan

3. GLK Wax 18% w/v

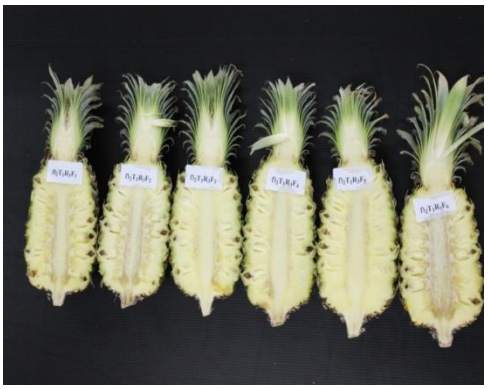


4. Cellophane sheet

5. 2% Chitosan+Cellophane sheet

6. GLK Wax 18%w/v+Cellophane sheet

ภาพผนวกที่ 2.1 : ผลของการใช้สารเคลือบผิวต่างๆ ต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน

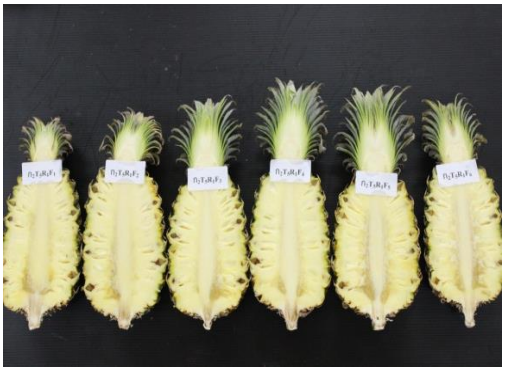


1. Control

2. 2% Chitosan

3. GLK Wax 18% w/v

4. Cellophane sheet



5. 2% Chitosan + Cellophane sheet

6. GLK Wax 18%w/v + Cellophane sheet

ภาพผนวกที่ 2.2 : ผลของการใช้สารเคลือบผิวต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน

2. ผลของบรรจุภัณฑ์ (MAPs) ต่อการเกิดอาการไส้สีน้ำตาลในสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

1. Control

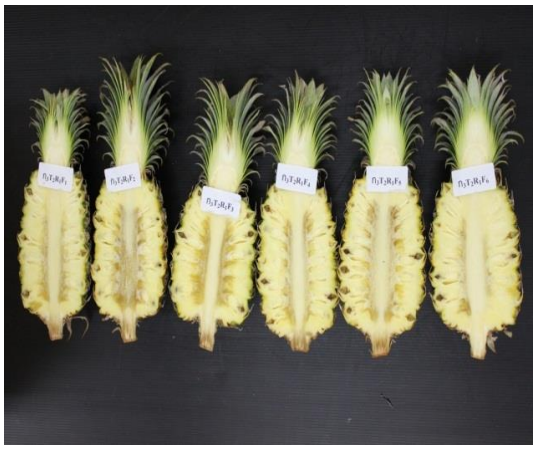
2. PP bag

3. LDPE bag

4. PVC film

ภาพผนวกที่ 2.3 : ผลของบรรจุภัณฑ์ต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 1 เดือนเมษายน

1. Control



2. PP bag

3. LDPE bag

4. PVC film

ภาพผนวกที่ 2.4 : ผลของบรรจุภัณฑ์ต่างๆต่อการเกิดไส้สีน้ำตาลในผลสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน