ผลของโอโซนต่อการควบคุมการเกิดโรคหลังเก็บเกี่ยวและการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในผลลำไยระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Effect of Ozone on Postharvest Diseases Control and Catalase Activity Changes in Longan Fruit During Storage at Low Temperature

กานดา หวังชัย[1*] ศรัณยา เพ่งผล[1]

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Kanda Whangchai[1] Sarunya Pengphol[1]

[1]Department of Biology, Faculty of Science, ChiangMai University, Chiang Mai 50200

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของโอโซนต่อการควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยว และการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ของผลลำไยพันธุ์ดอระหว่างการเก็บรักษา โดยนำผลลำไยมารมด้วยก๊าซโอโซนความเข้มข้น 200 ppm เป็นเวลา 60 นาที และนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C และ 5 °C เป็นเวลา 3 วัน และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ พบว่าการรมด้วยก๊าซโอโซนสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้เมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถลดการเกิดโรคได้ดียิ่งขึ้น โดยให้ผลเช่นเดียวกับการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และการเก็บรักษาผลลำไยอุณหภูมิ 5 °C และ 27 °C มีแนวโน้มทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในส่วนเปลือกเพิ่มขึ้น ส่วนในเนื้อของผลลำไยพบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ไม่มากนัก จากผลการทดลองนี้ พบว่าการให้โอโซนอาจมีผลทำให้ผลลำไย ต้านทานต่อการเกิดโรคได้ โดยอาจสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกของผลลำไย ดังนั้นการใช้โอโซนน่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการทดแทนการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เพื่อควบคุมโรคหลังการเก็บเกี่ยวของลำไย

คำสำคัญ : ลำไย โอโซน กิจกรรมของเอนไซม์ catalase

Abstract

Effect of ozone on postharvest diseases control and catalase activity changes in longan fruit *Dimocarpus longan* Lour. cv. 'Daw' during storage were studied. Longan fruits were exposed to ozone (O_3) at the concentration of 200 ppm for 60 minutes then stored at 27 °C and 5 °C for 3 days and 4 weeks, respectively. The results showed that ozone had significantly reduced disease incidence during storage time when compared with the control, especially when stored at 5 °C was more effective to delay disease incidence comparable to sulfur dioxide fumigation. Exposing fruit to ozone before storage at both temperatures tended to increase catalase activity in the peel. However, the catalase acitivities in longan aril were not substantially affected by these treatments. From this experiment, ozone treatment could enhance the disease resistance of longan possibly via an increase in catalase activity, suggested. That ozone treatment could be used as an alternative method, in substitution of sulfur dioxide fumigation, to control the postharvest diseases.

Keywords : Longan, Ozone, Catalase Activity

***Corresponding author.** E-mail: kanda@chiangmai.ac.th

บทนำ

ลำไยเป็นไม้ผลเขตร้อนและกึ่งร้อนชนิดหนึ่ง ซึ่งมีการบริโภคมากและเป็นสินค้ามีการส่งออกที่มีมูลค่าถึง 2,453.24 ล้านบาท ในปี พ.ศ.2550 ไปยังประเทศจีน อินโดนีเซีย ฮ่องกง แคนาดา และสิงคโปร์ โดยมีการส่งออกหลายรูปแบบ ลำไยพันธุ์อีดอหรือดอเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุด (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2550) ความเสียหายที่เกิดแก่ผลผลิตลำไยหลังเก็บเกี่ยวมี 4 สาเหตุสำคัญ คือ เชื้อจุลินทรีย์ อายุการเก็บรักษา บาดแผล และ ความบอบช้ำระหว่างการเก็บรักษา และการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกเป็นสีน้ำตาล ดังนั้นจึงมีการใช้วิธีการเก็บรักษาต่างๆ เพื่อลดความเสียหายของผลลำไยภายหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ การใช้อุณหภูมิสูง การใช้สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา และการใช้ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์รมผลลำไย แต่ปัจจุบันลูกค้าผู้นำเข้าลำไยบางประเทศห้ามไม่ให้ใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์และมีแนวโน้มว่าประเทศอื่นๆ จะห้ามไม่ให้ใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์นี้ด้วย นอกจากนี้คนไทยส่วนใหญ่เริ่มตื่นตัวในการบริโภคอาหารที่ปลอดภัยต่อสุขภาพจึงมีการนำโอโซนมาใช้เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์หรือฆ่าจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชบางชนิดได้ เพราะเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) ของจุลินทรีย์ต่างๆ ทั้งแบคทีเรีย และเชื้อรา จะถูกทำลายได้ (ชมภูศักดิ์ พูลเกษ, 2540) จากสมบัติของโอโซนดังกล่าวจึงควรมีการศึกษาวิจัยเพื่อหากรรมวิธีการใช้โอโซนในการควบคุมโรคเน่าของผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยวซึ่งเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการควบคุมโรคให้ใกล้เคียงหรือดีกว่าการรมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ เพื่อทดแทนหรือลดปริมาณการตกค้างของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในผลลำไย และช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลลำไยให้นานขึ้น โดยความเครียดในพืช ได้แก่ ความร้อน ความหนาวเย็น โอโซน ความแห้งแล้ง และมลภาวะทางอากาศ รวมทั้งความเครียดจากสารออกซิแดนท์เหล่านี้จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนในวงโคจรชั้นนอกสุดปราศจากคู่ เกิดขึ้นเมื่อวงโคจรของอิเล็กตรอนชั้นนอกสุดของโมเลกุลหนึ่งๆ ได้รับอิเล็กตรอนเข้ามาหรือสูญเสียอิเล็กตรอนชั้นนอกสุดไปหนึ่งอิเล็กตรอน Shewfelt and Rosario (2000) จึงได้อธิบายว่าเป็นการตอบสนองของผักผลไม้ต่อความเครียดจากสภาพการเก็บรักษา โดยการกระตุ้นอนุมูลอิสระ (free radical) ของออกซิเจนชนิดว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา reactive O_2 เช่น $O_2^{\bullet -}$, H_2O_2, และ $HO^{\bullet}$ ให้เพิ่มมากขึ้น โดยทั่วไปอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากขั้นตอนของกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น กระบวนการหายใจ (respiration) หรือ การสังเคราะห์โปรตีน (protein synthesis) เป็นต้น และมีกลไกในการควบคุมระดับของอนุมูลอิสระ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารใดๆ ที่สิ่งมีชีวิตใช้เพื่อป้องกันตนเองจากความเป็นพิษที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ป้องกันดังกล่าวอาจเกิดได้ทั้งจากความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือจับกับอนุมูลอิสระแล้วทำให้อนุมูลอิสระสูญเสียความสามารถในการเข้าทำลายเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระต่างชนิดกันจะมีกลไกการทำงานที่แตกต่างกัน หรืออาจเสริมฤทธิ์การทำงานซึ่งกันและกันอันเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระได้ โดยมีเอนไซม์ที่มีผลต่อระบบต้านอนุมูลอิสระ เช่น catalase (CAT) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในเนื้อเยื่อพืช (Salin, 1987) ป้องกัน oxidative injury กำจัดอนุมูลอิสระก่อนที่เซลล์จะถูกทำลาย (Cao & Prior, 2002) จากความสำคัญข้างต้นจึงได้มีงานทดลองนี้เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ที่ผลลำไยสร้างขึ้นหลังจากได้รับโอโซนในการควบคุมโรคระหว่างการเก็บเกี่ยวที่อุณหภูมิต่ำ

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

ผลลำไยพันธุ์ดอที่เก็บเกี่ยวในระยะแก่ทางการค้าชั้นมาตรฐาน AA จากสวนเกษตรกร ในเขตอำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ นำมาตัดแต่งก้านออกให้เหลือประมาณ 0.5 เซนติเมตร และคัดเลือกผลลำไยที่มีขนาดผลสม่ำเสมอกันและไม่มีความเสียหาย เช็ดด้วยแอลกอฮอล์ นำมารมด้วยก๊าซโอโซนจากเครื่องกำเนิดโอโซนที่ความเข้มข้น 200 ppm วัดโดยใช้เครื่องวัดโอโซน (Ozone detector ; Model Gastec, Japan) เป็นเวลา 60 นาที ส่วนชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์โดยใช้สารซัลไฟต์ 1 กรัม ต่อลำไย 1 กิโลกรัม รมในตู้รมขนาด 34.5 x 44.5 x 45 เซนติเมตร^3 นำมาบรรจุเป็นผลเดี่ยวในกล่องพลาสติกขนาด 11.5 x 16 x 7 เซนติเมตร^3 กล่องละ 20 ผล จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 3 กล่อง และปิดด้วยพลาสติกชนิดพีวีซียืดห่อหุ้มอาหารเพื่อต้องการควบคุมให้อยู่ในสภาพที่เหมือนกันเพื่อการสังเกตการเกิดโรค แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 27 °C และ 5 °C บันทึกผลการทดลองทุก 1 วันเป็นเวลา 3 วัน และ 1 สัปดาห์ เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตามลำดับ นำมาวิเคราะห์ ดังนี้

1. เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค ตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโดยการให้คะแนนเป็น 5 ระดับ ดังนี้

คะแนน 1 = ไม่ปรากฏให้เห็นเชื้อราจนถึงปรากฏเชื้อราที่ผลลำไยไม่เกิน 20% ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด

คะแนน 2 = ปรากฏเชื้อราที่ผลลำไยเป็น 21-40% ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด

คะแนน 3 = ปรากฏเชื้อราที่ผลลำไยเป็น 41-60% ของพื้นที่เปลือก

คะแนน 4 = ปรากฏเชื้อราที่ผลลำไยเป็น 61-80% ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด

คะแนน 5 = ปรากฏเชื้อราที่ผลลำไยเป็น 81-100% ของพื้นที่เปลือกทั้งหมด

$$\frac{\text{รวมระดับคะแนนทุกผล}}{\text{จำนวนผล}} = \text{คะแนนเฉลี่ย}$$

นำระดับคะแนนเฉลี่ยเทียบเป็น % จากการปรากฏเชื้อราที่ผลลำไย

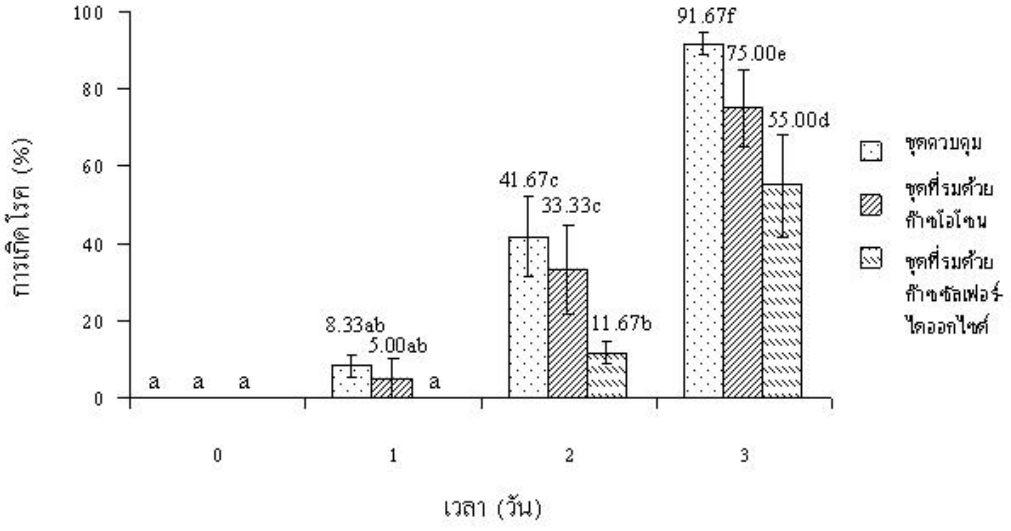
2. วิเคราะห์ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase วิธี UV spectrophotometric method (Polle *et al.*, 1994) นำเปลือกและเนื้อลำไยซึ่งได้จากการสุ่มแช่ด้วยไนโตรเจนเหลวมาตัวอย่างละ 1 กรัม 3 ซ้ำ บดร่วมกับ 3 มิลลิลิตร ของ K_2HPO_4 บัฟเฟอร์ ปั่นแยกที่ 15,000 g เป็นเวลา 20 นาที ได้สารสกัดหยาบนำมาวิธีวิเคราะห์ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ; CAT Aebi, 1984) ใส่ K_2HPO_4 บัฟเฟอร์ 3 มิลลิลิตร ในสารสกัดหยาบ 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 240 นาโนเมตร

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 3 กล่อง วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 6.0

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

1. ผลของโอโซนและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อการควบคุมโรคของผลลำไย

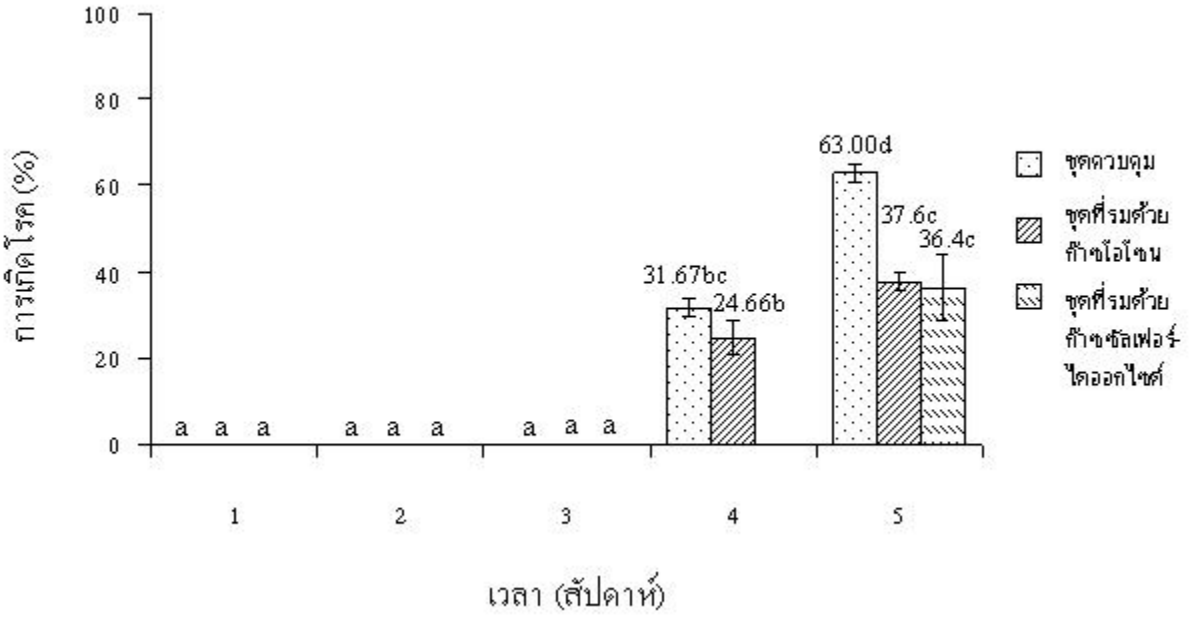
เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C พบว่าทุกชุดการทดลองการเกิดโรคเพิ่มขึ้นมากตั้งแต่วันที่ 2 ของการเก็บรักษา โดยชุดที่รมโอโซนมีค่า 33.33 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดควบคุมมีค่า 41.67 เปอร์เซ็นต์ แต่ชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีการเพิ่มขึ้นของโรคมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 11.67 เปอร์เซ็นต์ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในวันที่ 3 ของการเก็บรักษาทั้งชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนและซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีการเกิดโรคเท่ากับ 75 และ 55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งต่ำกว่าชุดควบคุมที่มีการเกิดโรคถึง 91.67 เปอร์เซ็นต์ โดยแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 3 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)
(I บนกราฟ แสดงค่า standard deviation; SD)

เช่นเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่าเมื่อเก็บรักษา 5 สัปดาห์ ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซน และซัลเฟอร์-ไดออกไซด์สามารถควบคุมโรคได้ดีเช่นเดียวกันโดยมีค่า 37.6 และ 36.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 2) เช่นเดียวกับการทดลองของ Whangchai *et al.* (2005) ที่พบว่าการรมผลลำไยสดด้วยก๊าซโอโซน 20 ppm เป็นระยะเวลา 60 นาที สามารถลดการเกิดโรคระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C ได้ดี นอกจากนี้ยังได้ศึกษาการรมลำไยด้วยก๊าซโอโซนเพื่อควบคุมเชื้อรา 2 ชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia* sp. และ *Cladosporium* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA โดยรมเป็นเวลา 15 30 60 และ 120 นาที พบว่าการรมเป็นเวลา 60 นาที สามารถลดการเจริญของ mycelia ของ *Lasiodiplodia* sp. และสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์ *Cladosporium* sp. ได้ ซึ่งโอโซนเป็นสารออกซิแดนท์ที่มีประสิทธิภาพ สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งกลไกในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ คือ ทำปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยตรงกับผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดการรั่วไหลของสารประกอบภายในเซลล์ (cell lysis) เช่นเดียวกับ Ishizaki *et al.* (1987) พบว่าโอโซนมีการซึมผ่านผนังเซลล์แล้วทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ใน cytoplasm ทำให้แบคทีเรียมีการแบ่งเซลล์ลดลง เนื่องจากสาเหตุต่างๆ ที่โอโซนมีผลต่อการทำลายแบคทีเรีย โดยอาจมีผลในการออกซิไดส์เซลล์เมมเบรนของแบคทีเรียให้ได้รับความเสียหาย นอกจากนี้ Palou *et al.* (2003) ศึกษาการใช้ก๊าซโอโซนในส้มพันธุ์ 'Lanelate' ที่ความเข้มข้น 0.72 ppm (v/v) ซึ่งบรรจุในถุงพลาสติกชนิด returnable plastic containers (RPCs) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12.8 °C เป็นเวลา 14 วัน พบว่า สามารถยับยั้งการเกิดสปอร์ของเชื้อรา *Pencillium digitatum* และ *Penicillium italicum* ได้ เนื่องจากโอโซนจะเกิดการออกซิไดส์ในถุงพลาสติกมากกว่าไม่ใส่ถุงพลาสติก โดยโอโซนจะเป็นพิษต่อเซลล์หรือเนื้อเยื่อของเชื้อรา จากการทดลอง Sarig *et al.* (1996) พบว่าโอโซนอาจกระตุ้นให้พืชสร้างความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคโดยการสร้างสารที่เรียกว่า phytoalexin เช่น reversital และ pterostilbene ทำให้การเข้าทำลายของเชื้อเกิดขึ้นน้อย



ภาพที่ 2 เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของผลลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์
หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)
(I บนกราฟ แสดงค่า standard deviation; SD)

2. ผลของโอโซนและอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อกิจกรรมของเอนไซม์ catalase

เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกผลลำไยชุดควบคุมมีแนวโน้มลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา 3 วันโดยวันที่ 0 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase เท่ากับ 16.15±0.98 nmoles of H_2O_2/mg protein.min สูงกว่าชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนและก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ซึ่งมีค่าเท่ากับ 9.83±0.67 และ 9.10 ±0.53 nmoles of H_2O_2/mg protein.min ตามลำดับ และชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนมีกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกผลลำไยเพิ่มขึ้นจาก 9.83±0.67 เป็น 15.60±0.43 nmoles of H_2O_2/mg protein.min เช่นเดียวกับชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์จาก 9.10±0.53 เป็น 9.87± 0.66 nmoles of H_2O_2/mg protein.min (ตารางที่ 1) ส่วนในเนื้อผลลำไยก่อนและหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน ทุกชุดการทดลองมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ไม่แตกต่างกันทางสถิติและมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ตลอดอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ทั้งหมดในเปลือกลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 3 วัน (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) (แสดงค่าเฉลี่ย ± SD)

กรรมวิธีทดลอง	เวลา (วัน)			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	16.15 ± 0.98de	9.19 ± 1.13a	16.64 ± 2.05e	14.69 ± 1.49cd
ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซน	9.83 ± 0.67a	13.12 ± 0.80bc	12.95 ± 0.90b	15.60 ± 0.43de
ชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์	9.10 ± 0.53a	8.77 ± 0.11a	8.61 ± 0.10a	9.87 ± 0.66a

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันทั้งแนวตั้งและแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ทั้งหมดในเนื้อลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C เป็นเวลา 3 วัน (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) (แสดงค่าเฉลี่ย ± SD)

กรรมวิธีทดลอง	เวลา (วัน)			
	0	1	2	3
ชุดควบคุม	9.6 ± 0.08e	6.59 ± 1.15ab	8.51 ± 0.42de	6.43 ± 0.45ab
ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซน	5.86 ± 2.36a	7.24 ± 0.07b	7.52 ± 0.11bd	7.53 ± 0.09cd
ชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์	9.25 ± 0.18e	7.61 ± 0.06cd	9.75 ± 0.21e	7.30 ± 0.10bd

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันทั้งแนวตั้งและแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)

เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกผลลำไยชุดควบคุมมีค่าลดลงตลอดการเก็บรักษา ซึ่งการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 และ 2 สัปดาห์ แตกต่างจากวันแรกอย่างชัดเจน ส่วนชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนและซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นมากโดยเฉพาะสัปดาห์ที่ 1 ของการเก็บรักษาจาก 9.83±0.67 เป็น 11.92±0.06 nmoles of H_2O_2/mg protein.min และ 9.10±0.53 เป็น 16.24±0.11 nmoles of H_2O_2/mg protein.min ตามลำดับ โดยแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับวันแรกของการเก็บรักษาและเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยในสัปดาห์ที่ 2 (ตารางที่ 3) ส่วนสัปดาห์ที่ 3 และ 4 เกิดผลเน่าเนื่องจากเป็นโรคมากจึงไม่สามารถนำมาวิเคราะห์ได้

ตารางที่ 3 ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ทั้งหมดในเนื้อลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) (แสดงค่าเฉลี่ย ± SD)

กรรมวิธีทดลอง	เวลา (สัปดาห์)		
	0	1	2
ชุดควบคุม	16.15 ± 0.98de	12.45 ± 1.11b	11.77 ± 0.28b
ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซน	9.83 ± 0.67a	11.92 ± 0.06b	12.82 ± 0.17b
ชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์	9.10 ± 0.53a	16.24 ± 0.11e	15.09 ± 0.96cd

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันทั้งแนวตั้งและแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)

กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกของชุดควบคุมมีปริมาณมากกว่าชุดที่ได้รับโอโซนและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ อาจเนื่องจากสารทั้งสองมีผลทำให้เซลล์บางส่วนได้รับความเสียหาย จึงต้องใช้ catalase เพื่อกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น ชุดควบคุมมีแนวโน้มลดลงตลอดการเก็บรักษา เนื่องจากเซลล์เสื่อมสภาพทำให้เอนไซม์ catalase ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในเซลล์เพื่อเปลี่ยนให้เป็นน้ำและออกซิเจน (Burris, 1993) เนื่องจากเซลล์เกิดความเสียหายมากขึ้น ทำให้มีการเพิ่มขึ้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สัมพันธ์กับการทำงานที่น้อยลงของเอนไซม์ catalase ในขณะที่ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนมีกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกผลลำไยเพิ่มขึ้น เนื่องจากเซลล์พืชสามารถซ่อมแซมตัวเองและเอนไซม์ catalase ถูกชักนำให้สร้างขึ้นและมีบทบาทสำคัญต่อการชักนำให้เกิดการต้านทานต่อความเครียด ซึ่งในกรณีนี้ถือว่าโอโซนเป็นความเครียดสำหรับพืชอย่างหนึ่ง เช่นเดียวกับ Macrae & Ferguson (1985) พบว่าในต้นกล้าพืชหลายชนิด โดยเฉพาะในพันธุ์ที่ต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำ จะมีปริมาณ catalase ลดลง และจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นซึ่งการลดลงของ catalase เกิดขึ้น เนื่องจากเยื่อหุ้ม peroxisome ที่ได้รับความเสียหายไม่สามารถนำสารตั้งต้นการสังเคราะห์ catalase มาใช้ได้ ดังเช่นการทดลองของ Sala & Lafuente (2000) ที่พบว่าการให้ความร้อนแก่ผลส้มก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำทำให้ผลส้มมีความต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำได้ดี โดยสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจน และ Sala (1998) ได้ศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ active oxygen scavenging ได้แก่ superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase และ glutathione reductase ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ พบว่า catalase สูงขึ้นในพันธุ์ที่ต้านทานต่ออุณหภูมิต่ำเช่นเดียวกับ Prasad (1997) รายงานว่าปริมาณ catalase มีบทบาทสำคัญทำให้พืชต้านทานต่ออุณหภูมิในต้นกล้าข้าวโพด และจากการทดลองของ ลดาศิริ หัวใจแก้ว (2542) ซึ่งศึกษาในผลมะละกอที่ได้รับอุณหภูมิสูงก่อนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ catalase มากกว่าจึงลดอาการสะท้านหนาวได้ดี และยังได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ catalase กับปริมาณ peroxides ทั้งหมด พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในส่วนเปลือกมีความสัมพันธ์กับปริมาณ peroxides ทั้งหมดมากกว่าในเนื้อ

แต่จากการทดลองนี้พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเนื้อผลลำไยของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติทั้งก่อนและหลังการเก็บรักษา โดยชุดควบคุมมีแนวโน้มลดลงเช่นเดียวกับชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซนและซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (ตารางที่ 4) อาจเนื่องจากก๊าซโอโซนไม่สามารถแทรกซึมไปยังส่วนเนื้อผลได้และเซลล์ส่วนใหญ่มีการเสื่อมสภาพมากขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้นจึงทำให้ catalase มีปริมาณลดน้อยลง ซึ่งอาจมีผลมาจากไม่สามารถทำลายเมมเบรนของ peroxisomal ที่ทำหน้าที่นำ catalase เข้าไปยัง peroxisome ได้ (Macrae & Ferguson, 1985)

ตารางที่ 4 ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ทั้งหมดในเนื้อลำไยที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 2 สัปดาห์ (nmoles of H_2O_2/mg protein.min) (แสดงค่าเฉลี่ย ± SD)

กรรมวิธีทดลอง	เวลา (สัปดาห์)		
	0	1	2
ชุดควบคุม	9.60 ± 0.08d	7.45 ± 0.16bc	8.22 ± 0.29cd
ชุดที่รมด้วยก๊าซโอโซน	5.58 ± 2.36a	7.07 ± 0.01bc	7.52 ± 0.30bc
ชุดที่รมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์	9.25 ± 0.18a	6.50 ± 0.12ab	6.90 ± 0.45abc

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันทั้งแนวตั้งและแนวนอนแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($P \leq 0.05$)

สรุปผลการทดลอง

การรมผลลำไยด้วยก๊าซโอโซนก่อนการเก็บรักษาสามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (5 °C) เป็นเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการรมด้วยก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และการรมด้วยก๊าซโอโซนทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเปลือกผลลำไย เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 27 °C ในขณะที่ชุดควบคุมมีแนวโน้มลดลง ส่วนอุณหภูมิต่ำ (5 °C) มีผลเพียงเล็กน้อยต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ทั้งในเปลือกและเนื้อผลลำไย

เอกสารอ้างอิง

ชมภูศักดิ์ พูลเกษ. (2540). *การใช้โอโซนทางการแพทย์และสิ่งแวดล้อม.* กรุงเทพฯ: ไบร์ทเอนเทคมาร์เกตติ้ง.

ลดาศิริ หัวใจแก้ว. (2542). *ผลของการใช้อุณหภูมิสูงต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในผลมะละกอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2550). *ปริมาณและมูลค่าการส่งออกสินค้าเกษตร.* วันที่ค้นข้อมูล 26 เมษายน 2550, เข้าถึงได้จาก http://www.oae.go.th/statistic/export/1301LO.xls

Aebi, H. (1984). Catalase *in vitro. Methods in Enzymology,* 105; 121-126.

Burris, R.H. (1993). Hydrogenperoxide (Peroxidase and catalase). In Ruchand. S. (ed), *Encyclopedia of Plant Physiology* (pp. 365-400). Berlin: Springer-Verlage.

Cao, G., & Prior, R.L. (2002). Measurement of total antioxidant capacity in nutritional and clinical studies. In Cadenas, E., & Packer L. (eds.) (pp. 47-55). New York: Handbook of Antioxidants. Marcel Dekker.

Ishizaki, K., Sawadaishi, D., Miura, K., & Shinriki, N. (1987). Effect of ozone on plasmid DNA of *Escherichia coli* in situ. *Water Research, 21*(7), 823-828.

Macrae, E.A., & Ferguson, I.B. (1985). Changes in catalase activity and hydrogen peroxide concentration in plants in response to low temperature. *Physiology of Plant, 65,* 51-56.

Palou, L., Joseph, L.S., Carlos, H.C., Monir, M., & Pilar, P. (2003). Ozone gas penetration and control of *Penicillium digitatum* and *Penicillium italicum* within commercial packages of oranges during cold storage. *Crop Protection, 22,* 1131-1134.

Polle, A., Other, T., & Seifert, F. (1994). Apoplastic peroxidases and lignification in needles of norway spruce (*Picea abies* L.). *Plant Physiology, 106,* 53-60.

Prasad, T.K. (1997). Role of catalase in inducing chilling tolerance in pre-emergent maize seedlings. *Plant Physiology, 114,* 1369-1376.

Sala, J.M. (1998). Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits. *Postharvest Biology and Technology, 13,* 255-261.

Sala, J.M., & Lafuente, M.T. (2000). Catalase enzyme activity is reacted to tolerance of mandarin fruits to chilling. *Postharvest Biology and Technology, 20,* 81-89.

Salin, M.L. (1987). Toxic oxygen species and protective system of the chloroplast. *Physiology of Plant, 72,* 681-689.

Sarig, P., Zahavi, T., Zutkhi, Y., Yannai, S. & Lisker, N. (1996). Ozone for control of postharvest decay of table grapes caused by *Rhizopus stolonifer*. *Physiological and Molecular Plant Pathology, 48,* 403-415.

Shewfelt, R.L., & Rosario, B.A. (2000). The role of lipid peroxidation in storage disorders of fresh fruits and vegetables. *Hortscience, 35*(4), 575-579.

Whangchai, K., Saengnil, K., & Uthaibutra, J. (2005). Control of postharvest diseases in longan fruit by ozone. *Acta Horticulturae, 682,* 2121-2126.