บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ (EO) ในการยับยั้งเชื้อ *Penicillium digitatum* ในหลอดทดลอง

จากผลการทดสอบน้ำ EO ต่อการเจริญของเชื้อ *Penicillium digitatum* พบว่า น้ำ EO สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเน่าราสีเขียวบนผลส้มสายน้ำผึ้ง โดยมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือน้ำ EO ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ดีที่สุด คือ น้ำ EO ที่ผลิตโดยใช้สารละลายเกลืออิ่มตัว ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Okull and Labobde (2004) พบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Penicilium expansum* ในผลแอปเปิลที่ทำบาดแผลได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องมาจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ใช้มีสภาพความเป็นกรดสูง ซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ pH ที่ต่ำของน้ำ EO มีผลทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เสียสภาพและ ยอมให้กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) เข้าไปในเซลล์ได้ง่ายขึ้น โดยกรดนี้มีผลไปออกซิไดส์กรดนิวคลีอิคและโปรตีนทำให้โปรตีนเสียสภาพและเซลล์ถูกทำลายในที่สุด (Acher *et al*.,1997) เช่นเดียวกับการทดลองในครั้งนี้ที่ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเซลล์ *Penicillium digitatum* ภายหลังได้รับน้ำ EO ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่าเซลล์ของเชื้อรานี้เปลี่ยนแปลงไปหลังจากได้รับน้ำ EO โดยจะมีลักษณะผิดปกติ เส้นใยเกิดการแบนลีบ หงิกงอ เนื่องจากก๊าซคลอรีน (Cl_2) ที่ผลิตได้จากขั้วบวกจะทำปฏิกิริยากับน้ำได้ กรดไฮโปคลอรัส (HOCl) ที่เป็นสารที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับไฮโปคลอไรด์ (OCl^-) และสารประกอบคลอรีนอื่นๆ (White, 1992) และจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ HOCl และ OCl^- ทำให้ผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ได้รับความเสียหายเช่นเดียวกับ Whangchai *et al.* (2003) พบว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการผ่านกระแสไฟฟ้า (Electro-oxidation) มีผลทำให้เซลล์ phytoplankton ได้รับความเสียหายและมีปริมาณลดลง นอกจากนี้จากการทดลองของ Len *et al* . (2002) พบว่าเมื่อค่า pH ของน้ำ EO เปลี่ยนแปลงจะมีการสูญเสียคลอรีนในน้ำ EO เพิ่มขึ้นโดยเฉพาะในระบบเปิด ในขณะเดียวกันยังมีรายงานของ Venkitanarayanan *et al* .(1999) พบว่าสปอร์ของ *E. coli* 0157:H7, *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes* ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตเมื่อให้น้ำ EO นาน 10 นาที และยังมีนักวิทยาศาสตร์อีกหลายคนได้ชี้ให้เห็นว่าส่วนของสปอร์จะมีความต้านทานสารประกอบเคมีมากกว่า vegetative cell (Hayashibara *et al*., 1997)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของน้ำอิเล็กโทรไลต์ (EO) ต่อการควบคุมโรคและคุณภาพของส้มสายน้ำผึ้งหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

การแช่ผลส้มด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์นาน 8 นาที จะช่วยลดการเกิดโรคได้ดีกว่ากรรมวิธีอื่นๆ เนื่องจากเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไฮโปคลอรัสกับเชื้อจุลินทรีย์ และอาจเนื่องจากน้ำอิเล็กโทรไลต์ที่ผลิตจากความต่างศักย์ไฟฟ้า 8 โวลต์ นาน 60 นาที และใช้สารละลายเกลืออิ่มตัวมีค่า pH ต่ำที่สุด คือ 3.9 และมีค่า total free chlorine ค่อนข้างสูง คือ 102 ppm ซึ่งค่า pH ที่ต่ำเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา และสารประกอบ hypochlorus (HOCl) จะมีประสิทธิภาพในการเป็นสารออกซิไดซ์ ที่ดีที่สุดในช่วง pH 4-5 นอกจากนี้ค่า total free chlorine ที่สูง ทำให้เกิดการแตกตัวออกมาเป็น hydroxy และ chlolorine radical ซึ่งไปมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ เนื่องจากโครงสร้างของเซลล์ถูกทำลาย (Al-Haq *et al*., 2002) สอดคล้องกับ Buck *et al.* (2002) พบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่มีผนังเซลล์บาง เช่น เชื้อรา *Botrytis* และ *Monilinia* ได้ภายในเวลา 30 วินาที หรือน้อยกว่านั้น หลังจากได้รับน้ำ อิเล็กโทรไลต์ ส่วนเชื้อราที่มีผนังเซลล์หนา เช่น *Curvularia* และ *Helminthosporium* ใช้เวลา 2 นาที หรือมากกว่านั้นจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ เช่นเดียวกับ Al-Haq *et al*. (2002) พบว่าน้ำ EO สามารถควบคุมเชื้อ *Botryosphaeria berengeriana* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในสาลี่พันธุ์ La-france นอกจากนี้ Paola *et al.* (2005) ยังรายงานถึงผลของการใช้น้ำ EO เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในผักกะหล่ำปลี แต่ผลส้มที่แช่ด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์นาน 16 นาที จากการทดลองนี้กลับมีการเกิดโรคมากกว่าผลส้มที่แช่น้ำอิเล็กโทรไลต์กรรมวิธีอื่นๆ อาจจะเนื่องมาจากการแช่น้ำอิเล็กโทรไลต์ที่นานเกินไป จึงให้ผิวส้มเกิดความเสียหายเกิดอาการฉ่ำและเป็นรอยช้ำ ดังนั้นเชื้อราจึงมีช่องทางที่จะสามารถเข้าทำลายผลส้มได้มากขึ้น

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพโดยการวัดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลส้ม พบว่า ผลส้มที่ล้างด้วยน้ำอิเล็กโทรไลต์ทุกชุดการทดลอง มีการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักไม่แตกต่างกับชุดควบคุม อยู่ในช่วงคือ 4.1– 4.4 % เนื่องจากทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ได้ใช้ถุงพลาสติกบรรจุผลส้มระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็น ทำให้มีความชื้นสัมพัทธ์ค่อนข้างสูง ซึ่งเป็นการลดการสูญเสียน้ำหนักของผลไม้นั้นๆ นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิต่ำยังช่วยลดกระบวนการหายใจและการคายน้ำของผลไม้ด้วย (จริงแท้, 2541) ซึ่งโดยทั่วไปแล้ว ถ้าผลส้มมีการสูญเสียน้ำ 5–10 % ของน้ำหนักจะทำให้ผลเหี่ยว มีคุณภาพลดลงและมีรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Peleg, 1985) สอดคล้องกับ วิกันดา (2541) ที่พบว่าผลผลิตที่มีการคายน้ำมากกว่า 5 % มี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลทำให้ผลเหี่ยวและเสียรูปทรง เสียคุณภาพภายนอกทั้งๆ ที่คุณภาพภายในของผลยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของผลส้ม พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 11.7-12.5% โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในผลส้มประกอบไปด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นหลัก โดยส่วนใหญ่น้ำตาลที่พบในผลส้มเป็นน้ำตาลซูโครสมากกว่าน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสและมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้นซึ่งตรงกับจริงแท้ (2541) กล่าวว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้มีค่าเพิ่มขึ้นในผลส้มเมื่อเก็บรักษานานขึ้นเนื่องจากเกิดการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นและจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ของผลส้มพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงขึ้นเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.57 – 0.72% ซึ่งปริมาณกรดที่ไทเทรตได้นี้เป็นปัจจัยสำคัญในการบ่งชี้คุณภาพของผลส้ม และกรดที่พบมากในผลส้มคือกรดซิตริก โดยพบประมาณ 70–90 % ของกรดอินทรีย์ทั้งหมด (Davies and Albrigo, 1994) เนื่องจากผลส้มเป็นผลไม้ประเภท non–climacteric ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและกรดส่วนมากเกิดขึ้นในผลส้มที่อยู่ในช่วงระยะการเจริญเติบโตบนต้นและมีค่าสูงสุดเมื่อถึงระยะแก่หรือสุกที่จะเก็บเกี่ยวดังนั้นผลส้มที่เก็บเกี่ยวมาแล้วเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นก็จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้นี้เกิดขึ้นเล็กน้อยโดยมีการเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (ดนัยและนิธิยา, 2535) และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้แต่ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในผลส้มเป็นตัวกำหนดรสชาติของผลส้ม ผลส้มที่มีรสชาติดีจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสม (Baldwin *et al*., 1993)

ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสพบว่าค่า L* มีค่าลดลงเนื่องจากตอนเริ่มต้นการเก็บรักษาสีผิวของผลส้มได้มีสีเหลืองอมส้มอยู่แล้ว เมื่อเก็บรักษานานขึ้นทำให้สีผิวของผลส้มมีสีคล้ำขึ้น หรือเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล โดยจริงแท้ (2541) อธิบายการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้ทั่วๆ ไปว่าเกิดจากสารกลุ่มแอนโทไซยานิน เกิดปฏิกิริยากับเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ที่มีอยู่ในเซลล์ของพืชเอง จึงมีผลทำให้ค่าความสว่างลดลงนั่นเอง ซึ่ง Gross (1987) ยังกล่าวอีกว่าเอทธิลีนเป็นตัวการสำคัญที่เร่งการสลายของคลอโรฟิลล์และสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ ส่วนค่า a* ถ้ามีค่าเป็นบวกจะหมายถึงการมีสีแดงเช่นเดียวกับค่า b* ถ้าเป็นบวกจะหมายถึงการมีสีเหลือง มีค่าผันผวนไปมาตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยค่า b* มีแนวโน้มว่าจะมีค่าลดลงซึ่งสอดคล้องกับค่าความสว่างหรือ ค่า L* นั่นเองโดยเมื่อเก็บรักษานานขึ้นสีของเปลือกส้มจะมีสีคล้ำมากขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ศึกษาประสิทธิภาพของโอโซนในการควบคุมโรคของส้มพันธุ์สายน้ำผึ้ง

3.1 ศึกษาผลของโอโซนต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Penicillium digitatum*

3.2 ศึกษาผลของก๊าซโอโซนต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเชื้อ *Penicillium digitatum* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ประกอบ (light compound microscopy)

การรมด้วยโอโซน 2 ชั่วโมง มีผลทำให้เส้นผ่านศูนย์กลางของเชื้อ *Penicillium digitatum* เพิ่มขึ้นช้ากว่าชุดการทดลองอื่นๆ เนื่องจากโอโซนสามารถทำลายสปอร์ของเชื้อราทำให้ไม่สามารถงอกได้ นอกจากนี้โอโซนมีผลต่อการทำลายเซลล์แบคทีเรีย ซึ่ง Mudd *et al.* (1969) รายงานว่าโอโซนมีผลต่อการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโดยการเกิดปฏิกิริยา peroxidation ของสาร phospholipid ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ishizaki *et al.* (1987) ที่ได้ศึกษาผลกระทบของโอโซนที่มีต่อเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งพบว่าโอโซนจะมีการซึมผ่านผนังเซลล์ แล้วทำปฏิกิริยากับสารที่อยู่ภายในไซโตพลาสซึม และทำการเปลี่ยน plasmid DNA ที่มีลักษณะเป็นวงกลมปิดให้เป็นวงกลมเปิด มีผลทำให้แบคทีเรียมีการแบ่งเซลล์ลดลง นอกจากนี้โอโซนไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารสำคัญที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อและจากการทดสอบความไวของสปอร์ต่อโอโซน โดยทดสอบกับสปอร์ของ *Bacillus cereus* ATCC 11778 พบว่าสปอร์ของเชื้อมีการงอกลดลง เมื่อใช้โอโซนที่ระดับความเข้มข้น 200 mg/hr เป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามโอโซนมีฤทธิ์ในการกัดกร่อนสูงมาก และเป็นอันตรายต่อมนุษย์หากได้รับความเข้มข้นเกินกว่า 4 ppm สอดคล้องกับการทดลองนี้พบว่า การรมด้วยโอโซนเป็นระยะเวลานานขึ้นมีผลยับยั้งได้มากขึ้น นอกจากนี้ Hungsavanich (1999) ยังพบว่าถ้าใช้ความเข้มข้นมากทำให้สามารถควบคุมจำนวนประชากรของเชื้อรา แบคทีเรีย และไวรัสได้ดีมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะสปอร์ของเชื้อรามีการทนทานต่อการทำลายของโอโซนมากกว่าแบคทีเรีย และไวรัส 10-15 เท่า ซึ่งอาจเนื่องจากคุณสมบัติในการป้องกันโปรโตพลาสภายในเซลล์โดยเยื่อหุ้มสปอร์ (spore coat) ซึ่งโปรโตพลาสซึมเป็นส่วนที่จะถูก oxidation ได้ง่ายโดยโอโซน แต่สปอร์ของเชื้อรามี cortex ที่หนา เยื่อหุ้มเซลล์หลายชั้น และมีส่วนของอับสปอร์ (exosporangium) ทำให้ทนทานต่อการเข้าทำลายของโอโซน

นอกจากนี้จากการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของเส้นใยเชื้อราหลังจากได้รับโอโซน พบว่าโอโซนทำให้เกิดความผิดปกติของเส้นใยเชื้อรา *P. digitatum* เช่น เส้นใยมีลักษณะลีบเล็ก เช่นเดียวกับการทดลองของ Khan *et al.* (1999) พบว่า conidia ของ *Sphaerotheca fuliginea* หลังจากรมด้วยโอโซนมีขนาดเล็กลง และการงอกของสปอร์ถูกยับยั้งที่ความเข้มข้น 100 ppb ซึ่งน่าจะเป็นสาเหตุมาจากการเกิด plasmolysis ทำให้เซลล์เปลี่ยนรูปร่างไป โดยณัฐลักษณ์ (2547) และ Whangchai *et al.* (2005) พบว่าโอโซนทำให้เกิดความผิดปกติของเซลล์เชื้อรา ได้แก่ *Lasiodiplodia* sp. และ *Cladosporium* sp. ที่ผ่านการรมก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมง และพบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เส้นใยของเชื้อราทั้งสองเกิดความผิดปกติ เช่น เซลล์มีขนาดใหญ่ขึ้นและเกิดปุ่มปมที่บริเวณผิวของเซลล์อาจเป็นเพราะคุณสมบัติของโอโซนที่สามารถเข้าทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์โดยเข้าไปทำลายชั้นโปรตีนที่แทรกอยู่ในชั้นไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้โปรตีนจับตัวเป็นก้อนภายในไซโตพลาสซึมของจุลินทรีย์ได้ จึงน่าจะเป็นผลให้เส้นใยของเชื้อราไม่สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ

3.3 ศึกษาผลของโอโซนต่อการควบคุมการเกิดโรคและคุณภาพของผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

จากการทดลองที่ 3.1 พบว่าการรมก๊าซโอโซนเป็นเวลา 2 ชั่วโมงมีผลยับยั้งเชื้อ *Penicillium digitatum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อดีที่สุด จึงนำมาทำการทดลองต่อในการทดลองนี้โดยรมโอโซนแบบต่อเนื่องกับผลส้มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ พบว่าโอโซนสามารถลดการเกิดโรคได้ดีเช่นเดียวกัน ซึ่งเป็นคุณสมบัติในการควบคุมการเน่าเสียของโอโซน เนื่องจากเป็นคุณสมบัติของโอโซนในการเป็นตัวออกซิไดซ์เข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสารเคมีที่อยู่ในเซลล์ของจุลินทรีย์ (Hunt and Marinas,1999) และอีกลักษณะคืออนุมูลตัวกลางอิสระ (free radical-mediated) เป็นตัวเข้าทำลาย ซึ่งการเข้าทำลายของโอโซนมีผลต่อเซลล์เมมเบรน ไซโตพลาสซึม โปรตีนและชั้นของไขมันในเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้โปรตีนในเซลล์จับตัวกันเป็นก้อน เซลล์แตก สอดคล้องกับการทดลองของ Palou *et al.* (2002) รายงานว่าการใช้โอโซนความเข้มข้น 0.3 ppm (v/v) อย่างต่อเนื่องช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Monilinia fructicola, Botrytis cinerera*, *Mucor piriformis* และ *Pennicillium expansum* บนผิวท้อพันธุ์ Elegant Lady เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และ Palou *et al.* (2001และ2003) รายงานว่าการใช้โอโซนในการควบคุมการงอกของสปอร์เชื้อ *Penicillium digitatum* และ *P. italicum* โดยปลูกเชื้อทั้งสองลงบนผิวส้มและรมด้วยโอโซน 0.72 ppm เป็นเวลา 14 วัน แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12.8°C ในภาชนะบรรจุต่างๆ กัน พบว่าโอโซนจะมีประสิทธิภาพยับยั้งเชื้อทั้งสองเมื่อใช้ภาชนะบรรจุแบบตะกร้าพลาสติกซึ่งเป็นภาชนะที่ก๊าซสามารถผ่านทะลุได้ดี โดยเฉพาะเมื่อใช้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C โดยพบว่ายิ่งเพิ่มระยะเวลานานขึ้นจะยิ่งเพิ่มประสิทธิภาพของโอโซนมากขึ้น เนื่องจากโอโซนในอากาศมีความคงตัวได้ดีกว่าในสภาพที่มีอุณหภูมิต่ำ ดังนั้นจึงมีระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับเชื้อจุลินทรีย์นานขึ้น โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถช่วยลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ดังการศึกษาในผลอะโวคาโดพันธุ์ Hass พบว่า การเก็บรักษาผลที่อุณหภูมิ 6-8°C ทำให้การเกิดโรคต่ำกว่าผลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °C (Woolf *et al*., 2003) เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหลังการเก็บเกี่ยวตามปกติจะเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-25°C ซึ่ง จักรพงษ์ (2542) กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 20-25°C ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 95-98% โดยเฉพาะหากบรรยากาศอิ่มตัวด้วยน้ำหรือมีหยดน้ำเกาะที่ผิวของผลิตผลลักษณะดังกล่าวจะ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่งเสริมให้สปอร์ของเชื้อจุลินทรีย์เกิดการงอกหรือมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น โดยอุณหภูมิต่ำไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพผลแต่มีผลทำให้ความหนาแน่นเนื้อลดลง เนื่องจากการเสื่อมสภาพโดยการทำงานของเอนไซม์ จะเห็นได้ว่าในสัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษาทุกกรรมวิธีมีค่าความแน่นเนื้อลดลงมาก อาจเกิดเนื่องจากเชื้อราที่เข้าทำลายผลสามารถปล่อยเอนไซม์เพื่อย่อยและสลายเนื้อผลได้ เช่นเดียวกับรายงานของ Horton and Keen (1966) พบว่าเชื้อรา *Fusarium oxysporium*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cineria*, *Rhizopus rolfsii* สามารถสร้างเอนไซม์ polygalacturonase ได้

จากการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพโดยการวัดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลส้ม พบว่าที่อุณหภูมิ 5°C จะมีเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งโดยทั่วไปถ้าผลผลิตมีการสูญเสียน้ำ 5-10% ของน้ำหนักจะทำให้ผลเหี่ยวมีคุณภาพลดลงและมีรสชาติไม่ดี (Peleg, 1985) สอดคล้องกับ วิกันดา (2541) ที่กล่าวว่าผลผลิตที่มีการคายน้ำมากกว่า 5% จะทำให้ผลเหี่ยวและเสียรูปทรง เสียคุณภาพภายนอกทั้งๆ ที่คุณภาพภายในของผลยังไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ส่วนการวัดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักของผลส้มที่อุณหภูมิ 5°C พบว่ามีการสูญเสียน้ำหนักน้อย คือ 3.2 -6.86% เนื่องจากทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 95-100% ซึ่งการลดการสูญเสียน้ำหนักของผลไม้นั้น ทำได้โดยการทำให้อากาศรอบๆ ผลไม้มีความสามารถน้อยในการที่จะรับเอาไอน้ำที่ระเหยมาจากเนื้อเยื่อของผลไม้ โดยการลดอุณหภูมิให้ต่ำลง หรือการเพิ่มความชื้นเข้าไปในอากาศ นั่นคือการลดความแตกต่างของความดันไอน้ำระหว่างอากาศกับผิวของผลไม้ (สายชล, 2538) นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิต่ำยังช่วยลดกระบวนการหายใจและการคายน้ำของผลไม้ด้วย (จริงแท้, 2541)

ในการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของผลส้ม พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ที่อุณหภูมิ 5 และ 25°C มีปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาจากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้) พบว่ามีปริมาณเปลี่ยนแปลงค่อนข้างที่จะผันผวนโดยจะมีค่าอยู่ในช่วง 14.10 – 0.64% ที่ 5°C โดยปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ในผลส้มจะประกอบไปด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นหลัก โดยส่วนใหญ่น้ำตาลที่พบในผลส้มจะเป็นน้ำตาลซูโครสมากกว่าน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส (ดนัย, 2536) และจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งตรงกับ จริงแท้ (2541) กล่าวว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้จะมีค่าเพิ่มขึ้นในผลส้มเมื่อเก็บรักษานานขึ้นเนื่องจากเกิดการสูญเสียน้ำระหว่างการเก็บรักษาทำให้ความเข้มข้นของน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นและจากการวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ ของผลส้มพบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นเล็กน้อย โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.77 -0.55 % ที่อุณหภูมิ 5°C ซึ่งปริมาณกรดที่ไทเทรตได้นี้เป็นปัจจัยสำคัญในการบ่งชี้คุณภาพของผลส้ม และกรดที่พบมากในผลส้มคือกรดซิ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตริก โดยพบประมาณ 70-90% ของกรดอินทรีย์ทั้งหมด (Davies and Albrigo, 1994) เนื่องจากผลส้มเป็นผลไม้ประเภท non-climacteric ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและกรดส่วนมากจะเกิดขึ้นในผลส้มที่อยู่ในช่วงระยะการเจริญเติบโตบนต้นและจะมีค่าสูงสุดเมื่อถึงระยะแก่หรือสุกที่จะเก็บเกี่ยว ดังนั้นผลส้มที่เก็บเกี่ยวมาแล้วเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้นก็จะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดที่ไทเทรตได้นี้เกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยโดยที่จะมีการเกิดขึ้นอย่างช้าๆ (ดนัยและนิธิยา, 2535) และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในผลส้มเป็นตัวกำหนดรสชาติของผลส้ม ผลส้มที่มีรสชาติดีจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้อยู่ในสัดส่วนที่เหมาะสม โดยถ้ามีค่าอยู่ระหว่าง 10-16 ถือว่าผลส้มนั้นมีรสชาติอยู่ในเกณฑ์ดีและมีคุณภาพเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคได้ (Baldwin *et al*., 1993)

ส่วนสีผิวของผลส้มมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยที่ ค่า L*, a* และ b* ของผลส้มที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C พบว่าค่า L* และ b* มีค่าลดลงและค่า a* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เนื่องจากขณะเริ่มต้นของการเก็บรักษาสีผิวของผลส้ม ได้มีสีเหลืองอมส้มอยู่แล้ว เมื่อเก็บรักษานานขึ้นทำให้สีผิวของผลส้มมีสีคล้ำลง จึงมีผลทำให้ค่าความสว่างลดลงนั่นเอง ซึ่ง Gross (1987) ยังกล่าวอีกว่า เอทธิลีนเป็นตัวการสำคัญที่เร่งการสลายของคลอโรฟิลล์และสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ จากการทดลองใช้โอโซนผ่านน้ำ พบว่า การใช้โอโซนทุกกรรมวิธีช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลส้มได้ ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากโอโซนที่ผ่านลงในน้ำจะเข้าทำปฏิกิริยากับเอทธิลีนในผลส้มได้ อัมพวัน (2544) กล่าวว่า โอโซนช่วยลดกระบวนการเสื่อมสภาพอันเนื่องมาจากก๊าซเอทธิลีนได้ โดยโอโซนจะกำจัดก๊าซเอทธิลีนออกไปด้วยการเข้าทำปฏิกิริยากับเอทธิลีนนั่นเอง

การทดลองที่ 4 การศึกษาผลของน้ำ EO ร่วมกับโอโซนต่อการควบคุมการเกิดโรคและคุณภาพผลส้มพันธุ์สายน้ำผึ้งหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากคุณสมบัติที่ดีของน้ำ EO และโอโซนที่ช่วยชะลอการเกิดโรคในส้มจึงได้มีการศึกษาผลร่วมของ 2 ปัจจัย เพื่อให้การควบคุมโรคมีประสิทธิภาพมากขึ้นเพื่อทดแทนการใช้สารเคมี โดยจากการศึกษาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมื่อเก็บรักษาที่ 5°C พบว่า ตั้งแต่สัปดาห์แรกชุดควบคุมมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับชุดการทดลองทั้งหมดหลังจากสัปดาห์ที่ 2 ชุดที่มีการแช่ด้วยน้ำ EO นาน 4 นาที ก่อนการรมโอโซนมีการเพิ่มขึ้นของการเกิดโรค เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ซึ่งการใช้น้ำ EO เพียงอย่างเดียว พบว่าในวันที่ 21 ทุกชุดการทดลอง (การแช่ด้วยน้ำ EO เป็นเวลา 4, 8 และ 16 นาที) มีการเกิดโรคเพิ่มขึ้นเป็น 77, 42 และ 28% ตามลำดับ ขณะที่ถ้ามีการแช่น้ำ EO นาน 4 นาที ร่วมกับการรมด้วยโอโซนระหว่างการเก็บรักษาจะพบการเกิดโรคเพียง

3.3% ส่วนในชุดที่แช่ด้วยน้ำ EO เป็นเวลา 8 นาที และ16 นาที ก่อนการรมด้วยโอโซนไม่พบการเกิดโรคเลย การให้น้ำ EO เป็นระยะเวลานานขึ้นยิ่งทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่าง HOCl และ OCl^- กับเชื้อจุลินทรีย์เกิดได้มากขึ้น แต่การแช่หรือล้างส้มด้วยน้ำ EO จะมีประสิทธิภาพดีสำหรับส้มที่มีการปนเปื้อนมากบนผิวเท่านั้น โดยน้ำ EO ยังไม่สามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อผลได้ถ้าเกิดการเข้าทำลายของเชื้อแล้ว นอกจากนี้ยังมีข้อจำกัดอีกอย่างหนึ่งของโอโซนคือ สลายตัวง่ายที่อุณหภูมิปกติ ฉะนั้นการรมด้วยโอโซนแบบต่อเนื่องเป็นระยะๆ ที่อุณหภูมิต่ำทำให้โอโซนมีความคงตัวและสามารถควบคุมโรคได้มีประสิทธิภาพมากขึ้นทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาส้มให้ได้ดียิ่งขึ้น เนื่องจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำมีผลลดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ให้ต่ำลง ทำให้เปลือกผลส้มมีการเข้าทำลายของโรคน้อยลง เช่นการศึกษาในผลอะโวคาโดพันธุ์ Hass พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6-8°C มีการเกิดโรคลดลงต่ำกว่าผลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15°C (Woolf *et al.*,2003) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Palou *et al.* (2002) พบว่าเมื่อให้โอโซนความเข้มข้น 0.03 ppm ในตู้ container ส่งออกส้มที่มีอุณหภูมิ 10°C เป็นเวลา 2 สัปดาห์แบบต่อเนื่อง ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Monilinia fructicola*, *Botrytis cinerera*, *Mucor piriformis* และ *P. digitatum* บนผิวของผลท้อที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของผลส้มที่แช่น้ำ EO แล้วรมด้วยก๊าซโอโซน พบว่า การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้มีแนวโน้มคงที่ เมื่อมีอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเนื้อผลมีการนำน้ำตาลไปใช้ในกระบวนการหายใจในขณะเกิดการ เสื่อมสภาพของผล (Nagar,1994) ซึ่งโดยทั่วไปการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยชะลอกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ โดยเฉพาะกระบวนการหายใจซึ่งอาศัยน้ำตาลเป็นสารตั้งต้นหลัก จึงมีการนำสารตั้งต้นไปใช้ลดลง (Paull and Chen, 1987) ทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ ลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ส่วนปริมาณของกรดที่ไทเทรตได้มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเนื่องจากส้มเป็นผลไม้ที่บ่มไม่สุก (non-climacteric) เมื่อเก็บเกี่ยวจากต้นจะมีการหายใจลดลงมากและหยุดสร้างน้ำตาลและมีการสลายตัวของกรด

ในเรื่องการเปลี่ยนแปลงสีผิวของเปลือกผลส้มนั้นภายหลังจากที่เก็บเกี่ยวมาแล้วจะมีการเปลี่ยนสีของเปลือกผลเกิดขึ้นโดยสีเขียวจะหายไปและปรากฏสีเหลือง ส้มออกมาแทน ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของรงควัตถุพวกคลอโรฟิลล์ กลายเป็นสารที่ไม่มีสี ในช่วงแรกมีเปลือกผลส้มจะมีสีเขียวลดลงเนื่องจากเป็นช่วงที่คลอโรฟิลล์สลายตัวและมีการพัฒนาของสีเหลืองแต่ในช่วงสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าสีของเปลือกคล้ำลง เนื่องจากผลส้มมีการสูญเสียน้ำหนัก อีกทั้งผลส้มมีการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์มากขึ้นจึงทำให้เปลือกผลส้มมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษานานขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่า การแช่ผลส้มในน้ำ EO และรมด้วยก๊าซโอโซนแบบต่อเนื่องระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้แม้ว่าผลส้มจะเกิดบาดแผล ซึ่งอาจนำไปใช้ในระบบอุตสาหกรรมการผลิตส้มเพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อและสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเน่าในส้มตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาโดยมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

จากกระแสการตื่นตัวในเรื่องการบริโภคอาหารปลอดภัยในปัจจุบันรัฐบาลจึงมีนโยบายสนับสนุนและฟื้นฟูภาคการเกษตรเพื่อเพิ่มศักยภาพสินค้าที่จะมุ่งสู่มาตรฐานสากลซึ่งการพัฒนาเทคโนโลยีเหล่านี้จะทำให้โครงสร้างพื้นฐานทางการเกษตรมีความแข็งแกร่งอันจะส่งผลและส่งเสริมให้การผลิตได้มาตรฐานเป็นที่ยอมรับของสากลและจากการทดลองทั้งหมดจะเห็นได้ว่าทั้งน้ำ EO และโอโซนสามารถลดสารพิษตกค้างในผลผลิตได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เช่นเดียวกับ Deza *et al.* (2003) ได้ทำการศึกษาถึงผลของน้ำ EO ต่อการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 , *Salmonella enteritidis* และ *Listeria monocytogenes*ที่อยู่บนผิวของมะเขือเทศ พบว่าน้ำอิเล็กโทรไลต์สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้โดยไม่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ซึ่งสอดคล้องกับยุทธศาสตร์ในเรื่องการเพิ่มผลิตภาพที่มุ่งเน้นเพิ่มปริมาณและคุณภาพของผลผลิตทางการเกษตรโดยการพัฒนาโครงสร้างพื้นฐานทรัพยากรเพื่อการผลิต ส่งเสริมการวิจัย พัฒนาและสนับสนุนการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสม การพัฒนาองค์ความรู้และการส่งเสริมการผลิตที่มีประสิทธิภาพ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved