วิทยานิพนธ์

ผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

EFFECT OF ASCORBIC ACID, CITRIC ACID AND OXYGEN CONTENT ON BROWNING OF FERMENTED BAMBOO SHOOT DURING STORAGE

นางสาวจารุณี จึงสถาปัตย์ชัย

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2551

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์การอาหาร — **สาขา**

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร — **ภาควิชา**

เรื่อง ผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

Effect of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxygen Content on Browning of Fermented Bamboo Shoot during Storage

นามผู้วิจัย นางสาวจารุณี จึงสถาปัตย์ชัย

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D.)

กรรมการ .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบูลย์ สัจจาอนันตกุล, Ph.D.)

กรรมการ .....

(รองศาสตราจารย์เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา .....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนะบูลย์ สัจจาอนันตกุล, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

ผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

Effect of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxygen Content on Browning of Fermented Bamboo Shoot during Storage

โดย

นางสาวจารุณี จึงสถาปัตย์ชัย

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร)
พ.ศ.2551

จารุณี จึงสถาปัตย์ชัย 2551: ผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การอาหาร) สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ วรรณี จิรภาคย์กุล, Ph.D. 82 หน้า

การเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาเป็นปัญหาหนึ่งที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ ในการทดลองนี้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดองที่มีการใช้กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก บรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำ และตัวอย่างทางการค้าที่มีการเติมสารซัลไฟต์เทียบกับตัวอย่างควบคุม พบว่ากรดแอสคอร์บิกและซิตริกสามารถป้องกันการการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ยังมีประสิทธิภาพด้อยกว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองทางการค้า ตัวอย่างหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนต่ำสามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีได้ดีกว่าตัวอย่างทางการค้าและตัวอย่างควบคุม จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดอง ดังนั้นจึงศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาล ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด มาโลนไดอัลดิไฮด์ ลิกนิน และฟีนอลบางชนิดในหน่อไม้ดองกับการเกิดสีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 3 ชนิดที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนจากน้อยไปมาก คือ vacuum packaging (V), polypropylene (PP) และ low density polyethylene (LDPE) ตามลำดับ ในช่วงการเก็บรักษาพบว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีค่าของสีเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด โดยมีค่า hue และ white index (WI) สูงที่สุด และมีค่า delta-C ต่ำที่สุด หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE เริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงสีที่เข้มขึ้นภายหลังสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษา โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V และ PP มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมดคงที่ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา แต่มีค่าสูงกว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ LDPE ส่วนมาโลนไดอัลดิไฮด์ และลิกนิน ในหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ V มีค่าต่ำกว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ PP และ LDPE สารประกอบฟีนอลบางชนิดที่พบในหน่อไม้ดอง คือ catechol, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferrulic acid, quercetin และ kaempferol แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของปริมาณสารประกอบฟีนอลเหล่านี้ต่อการเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดองที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่มีปริมาณออกซิเจนซึมผ่านต่างกัน

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Jarunee Chungsatapathchai 2008: Effect of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxygen Content on Browning of Fermented Bamboo Shoot during Storage. Master of Science (Food Science), Major Field: Food Science, Department of Food Science and Technology. Thesis Advisor: Assistant Professor Wannee Jirapakkul, Ph.D. 82 pages.

Browning in fermented bamboo shoot during storage is one of problems for consumers. In this study, the browning of fermented bamboo shoot with ascorbic acid, citric acid, low oxygen permeation rate packaging and commercial sample which added sulphite were compared with control sample. The results showed that ascorbic and citric acids in fermented bamboo shoot could prevent color changing better than control sample but less than comercial sample. The using of low oxygen permeation rate packaging could prevent color changing better than both of control and commercial samples. The result showed that oxygen content affected browning of fermented bamboo shoot. Therefore, the effect of oxygen content on browning and the relationships between browning, total phenolic, malondialdehyde, lignin and some phenolic compounds during storage of fermented bamboo shoot stored in 3 different packagings were studied. The packages which had oxygen permeation rate from low to high were vacuum packaging (V), polypropylene (PP) and low density polyethylene (LDPE), respectively. During storage, the color of fermented bamboo shoot in V packaging had the least change with the highest values of hue and white index (WI) and lowest value of delta-C. On the other hands, fermented bamboo shoot in PP had brown color after 4 weeks of storage. The phenolic content of fermented bamboo shoot in V and PP packagings were similar but higher than those stored in LDPE packaging. The malondialdehyde and lignin of fermented bamboo shoot stored in V packaging were lower than those stored in PP and LDPE packagings. Some phenolic compounds found in fermented bamboo shoot were catechol, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferrulic acid, quercetin and kaempferol. However, they were not correlated with brown color in fermented bamboo shoot in different oxygen permeation rate packagings.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. วรรณี จิรภาคย์กุล ประธานกรรมการที่ปรึกษาที่แนะนำเรื่องการเรียนและการทำวิจัย ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ และขอขอบพระคุณ ผศ. ดร. ธนะบูลย์ สัจจาอนันตกุล กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก รศ. ดร. เพ็ญแข วันไชยธนวงศ์ กรรมการที่ปรึกษาวิชารอง และ รศ. ดร. หทัยรัตน์ ริมคีรี ที่กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอพระขอบคุณคณาอาจารย์ทุกท่านที่อบรมสั่งสอน และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารที่ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทำการวิจัย รวมถึงพี่ เพื่อน และน้อง นิสิตปริญญาโทที่ให้ความช่วยเหลือในระหว่างการศึกษาและวิจัย

ท้ายที่สุดขอขอบพระคุณสมาชิกในครอบครัวทุกคน ที่เข้าใจ และให้ความช่วยเหลือสนับสนุน ตลอดมา

จารุณี จึงสถาปัตย์ชัย

พฤษภาคม 2551

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
อุปกรณ์	22
วิธีการ	24
ผลและวิจารณ์	29
สรุปและข้อเสนอแนะ	47
สรุป	47
ข้อเสนอแนะ	48
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	49
ภาคผนวก	57
ภาคผนวก ก	58
ภาคผนวก ข	65
ภาคผนวก ค	70
ภาคผนวก ง	75

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การส่งออกหน่อไม้ระหว่างปี 2546 ถึง 2549	4
2	คุณค่าทางโภชนาการของหน่อไม้ ส่วนประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการ / 100 กรัม หน่อไม้สด	5
3	ชนิดของสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลและตัวอย่าง	17
4	กิจกรรมเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคสในหน่อไม้สดและหน่อไม้ดองมีหน่วยเป็น (หน่วยต่อนาที กรัมน้ำหนักเปียก)	34
5	อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนของบรรจุภัณฑ์	36
6	ปริมาณของสารประกอบฟีนอลบางชนิด(มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเปียก)	45

ตารางผนวกที่

ข1	องค์ประกอบเคมีของหน่อไม้ดอง	69
ง1	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า hue ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V	75
ง2	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า delta-C ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V	75
ง3	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่าwhite index (WI) ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V	76

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางผนวกที่		หน้า
ง4	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า hue ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	76
ง5	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่าdelta-C ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	77
ง6	การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า white index (WI) ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	77
ง7	การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	78
ง8	การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	78
ง9	การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	79
ง10	การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของสาร *p*-coumaric acid	79
ง11	การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของสาร ferrulic acid	80

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มกรดฟีนอล	10
2	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์	11
3	การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลจากเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสโดยมีไทโรซีนเป็นสับสเตรต	13
4	โครงสร้างของลิกนิน	15
5	การกระจายตัวของชนิดไอออนต่างๆในการละลายกรดซัลฟิวรัส	18
6	กลไกการป้องกันปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยสารรีดิวส์	18
7	การเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก เติมสารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่ำ	31
8	การเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	38
9	การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	39
10	การเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	42
11	การเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ	43
12	โคมาโตรแกรมของสารมาตรฐานของสารประกอบฟีนอลบางชนิด โดยเรียงลำดับดังนี้ 1=catechol, 2= caffeic acid, 3=p-coumaric acid, 4=ferrulic acid, 5=myricetin, 6=quercetin, 7= kaempferol	44

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพผนวกที่ **หน้า**

ข1	สีของหน่อไม้ดองที่เป็นที่ต้องการและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค	66
ข2	ผลของความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกต่อการเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ของหน่อไม้ดอง	67
ข3	ผลของความเข้มข้นของกรดซิตริกต่อการเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ของหน่อไม้ดอง	68
ค1	กราฟมาตรฐานของสาร gallic acid ของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด	71
ค2	กราฟมาตรฐานของสาร catechol	71
ค3	กราฟมาตรฐานของสาร caffeic acid	72
ค4	กราฟมาตรฐานของสาร *p*-coumaric acid	72
ค5	กราฟมาตรฐานของสาร ferrulic acid	73
ค6	กราฟมาตรฐานของสาร quercetin	73
ค7	กราฟมาตรฐานของสาร kaempferol	74

ผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

Effect of Ascorbic Acid, Citric Acid and Oxygen Content on Browning of Fermented Bamboo Shoot during Storage

คำนำ

หน่อไม้ เป็นพืชผักที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีเส้นใยมาก ซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบการย่อยของร่างกาย และถูกจัดเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทย นอกจากบริโภคในประเทศยังมีการส่งออกไปยังต่างประเทศ โดยมีการแปรรูปในรูปแบบต่างๆ การผลิตเป็นหน่อไม้ดองจัดเป็นวิธีหนึ่งที่นิยม โดยมีการส่งออกไปยังประเทศสหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ สหราชอาณาจักร ญี่ปุ่น และออสเตรเลีย มากตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามปัญหาที่พบในหน่อไม้ดองคือการเกิดสีคล้ำหรือเข้มขึ้นในช่วงการเก็บรักษา จึงมีการใช้สารในกลุ่มซัลไฟต์ป้องกันการเกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาลแต่สารกลุ่มนี้เมื่อบริโภคไปแล้วอาจเป็นสาเหตุให้เกิดอาการแพ้ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มประชากรที่เป็นโรคหอบหืดหากได้รับในปริมาณสูงบางรายอาจถึงแก่ชีวิตได้ โดยองค์การอาหารและยาโลกได้กำหนดให้ติดฉลากกับอาหารที่มีการใช้สารกลุ่มซัลไฟต์ โดยกำหนดค่าความปลอดภัยของสารซัลไฟต์ ร่างกายมนุษย์ไม่ควรได้รับสารนี้เกินวันละ 0.7 mg/คน/วัน (พรรัตน์และจันทร์ฉาย, 2540) จึงได้มีการศึกษาการทดแทนสารอื่นแทนสารกลุ่มซัลไฟต์ในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงสี โดยกรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกเป็นสารที่ได้รับความสนใจในการใช้ทดแทนสารกลุ่มซัลไฟต์ โดยปกติในผักผลไม้สดเมื่อเกิดการทำลายเนื้อเยื่อแล้วจะเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลอย่างรวดเร็ว โดยสารประกอบฟีนอลเป็นสับสเตรตถูกเปลี่ยนไปเป็นควิโนนได้ในสภาพที่มีออกซิเจน ทั้งจากปฏิกิริยาที่อาศัยและไม่อาศัยเอนไซม์ โดยสารควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนได้สารประกอบสีน้ำตาลเชิงซ้อน (Marshall, 2000) นอกจากนี้มีรายงานถึงองค์ประกอบเคมีที่อาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล คือ มาโลนไดอัลดิไฮด์ ที่เป็นผลผลิตจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากไขมัน และลิกนินที่เป็นผลผลิตของสารประกอบฟีนอลสับสเตรตที่ให้สีน้ำตาลแดง จากการทดลองของ Shen *et al*. (2006) ซึ่งศึกษาผลของการใช้กาซไนโตรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ และออกซิเจน ร้อยละ 93, 5 และ 2 ตามลำดับในหน่อไม้ พบว่า การลดปริมาณออกซิเจนสามารถป้องกันปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ที่น้อยกว่าตัวอย่างที่เกิดสีน้ำตาล นอกจากนี้ Bolanos and Silva (2004) พบว่าการเกิดสีน้ำตาลในมันแกวมี

ความสัมพันธ์กับปริมาณลิกนินที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นในการทดลองนี้จึงศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล และหาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมี คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอล มาโลนไดอัลดิไฮด์ และลิกนิน ของหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนที่แตกต่างกัน

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดองระหว่างการเก็บรักษา

2. ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลและองค์ประกอบทางเคมีที่เกี่ยวข้องระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนที่แตกต่างกัน

การตรวจเอกสาร

หน่อไม้

หน่อไม้ (Bamboo shoot) คือ หน่ออ่อนของไผ่ จัดอยู่ในกลุ่มของผัก สามารถนำไปใช้ประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น แกงหน่อไม้ ห่อหมกหน่อไม้ ซุปหน่อไม้ และหน่อไม้ต้มสำหรับเป็นผักจิ้ม ซึ่งเป็นการนำหน่อไม้ไปบริโภคโดยตรง สำหรับการแปรรูปหรือการถนอมอาหารจะอยู่ในรูปหน่อไม้เปรี้ยวและหน่อไม้แห้ง เป็นต้น ในปัจจุบันมีการนำหน่อไม้มาแปรรูปบรรจุกระป๋องหรือ บรรจุปี๊บ นอกจากจะใช้บริโภคภายในประเทศแล้ว ยังมีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ จากข้อมูลของกรมศุลกากรพบว่าการส่งออกหน่อไม้ไปยังตลาดต่างประเทศระหว่างปี พ.ศ. 2546-2549 มีมูลค่าการส่งออกมาก (ตารางที่ 1) โดยมีการส่งออกไปยัง สหรัฐอเมริกา เนเธอร์แลนด์ สหราชอาณาจักร ญี่ปุ่น และออสเตรเลีย มากตามลำดับ

ตารางที่ 1 การส่งออกหน่อไม้ระหว่างปี 2546 ถึง 2549

ปี	หน่อไม้ ผสมกัน ที่ปรุงแต่งหรือทำไว้ไม่ให้เสียโดยวิธีอื่น นอกจากใช้น้ำส้มสายชู หรือกรดอะซิติกที่ไม่ได้แช่แข็ง		หน่อไม้สด หรือแช่เย็น	
	ปริมาณ (กก.)	มูลค่า (บาท)	ปริมาณ (กก.)	มูลค่า (บาท)
2546	23,269,177	535,478,089	113,733	6,184,069
2547	21,880,509	504,035,507	154,612	5,176,074
2548	19,548,069	482,033,789	170,119	5,610,409
2549	24,983,476	589,143,583	846,216	15,008,419

1. ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการ

หน่อไม้มีส่วนประกอบหลายชนิด บางชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการ แต่บางชนิดอาจมีโทษหากรับปริมาณมาก โดยมีสารอาหารดังตารางที่ 2 ซึ่งปริมาณสารอาหารจะมีความแตกต่างกันเนื่องจากพันธุ์และอายุของหน่อไม้ หน่อไม้เป็นอาหารที่มีกรดแอมิโนหลายชนิด คือ aspartic acid, threonine, serine, glutamic acid, glycine, alanine, cystein, isoleucine, leucine, tyrosine, phenylalanine, lysine, methionine, histidine, arginine และ proline โดยมีกรดแอมิโน tyrosine มีปริมาณสูงสุด รองลงมาคือ glutamic acid และ aspartic acid (ณรงค์, 2531)

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของหน่อไม้ ส่วนประกอบที่มีคุณค่าทางโภชนาการ / 100 กรัม หน่อไม้สด

ส่วนประกอบ	ร้อยละ หรือ น้ำหนัก
ความชื้น	ร้อยละ 91.50
โปรตีน	ร้อยละ 2.50
ไขมัน	ร้อยละ 0.10
คาร์โบไฮเดรต	ร้อยละ 4.20
สารเยื่อใย	ร้อยละ 0.70
แคลเซียม	24 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	54 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.9 มิลลิกรัม
วิตามิน B_1	0.14 มิลลิกรัม
วิตามิน B_2	0.16 มิลลิกรัม
วิตามิน C	4 มิลลิกรัม

ที่มา : กรมอนามัย (2535)

2. การจำแนกพันธุ์และแหล่งของหน่อไม้

หน่อไม้ได้มาจากต้นไผ่ จึงมีการจำแนกพันธุ์ทางพฤกษศาสตร์ของหน่อไม้ตามต้นไผ่เป็นหลัก โดยไผ่ที่มีอยู่มากกว่า 75 สกุล หรือ 1,250 ชนิด (ณรงค์, 2531) ไผ่จะพบมากในเขตร้อน และพบบ้างในเขตอบอุ่น โดยไผ่แต่ละชนิดต้องการอุณหภูมิและความชื้นในการเจริญเติบโตไม่เท่ากัน ไผ่ที่พบในแต่ละประเทศจึงไม่เหมือนกัน สำหรับประเทศไทยมีไผ่ 41 ชนิด และนำมาใช้เป็นอาหารเพียง 19 ชนิด

หน่อไม้ไผ่ตง มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Dendrocalamus asper Backer* ลักษณะของหน่อมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 10 ถึง 15 เซนติเมตร หนักประมาณ 1 ถึง 6 กิโลกรัมพันธุ์ไผ่ตงที่กรมส่งเสริมการเกษตรแนะนำให้เกษตรกรปลูก มี 2 สายพันธุ์ได้แก่ (1) ไผ่ตงดำ มีลำต้นเขียวเข้มอมดำ มีรสหวานกรอบ เนื้อเป็นสีขาวละเอียด ไม่มีเสี้ยน (2)ไผ่ตงเขียว สีของลำต้นจะเป็นสีเขียว มีรสหวานอมขื่นเล็กน้อยเนื้อเป็นสีเขียวอมเหลือง ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี ไผ่ตงจะเริ่มแทงหน่อตั้งแต่เดือนพฤษภาคม-ตุลาคมของทุกปี สำหรับช่วงที่แทงหน่อมากคือเดือนกรกฎาคม-สิงหาคม จะสามารถตัดไผ่ตงได้ทุก ๆ 4-5 วัน ปี 2542 มีพื้นที่ปลูกหน่อไม้ไผ่ตง 144,351 ไร่ เป็นพื้นที่ที่ให้ผลผลิตแล้ว 55,723 ไร่ ผลผลิตรวม 83,765 ตัน สถิติจากกองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตรปี 2544 ไผ่ตงปลูกมากแถบจังหวัดปราจีนบุรีโดยมีพื้นที่ปลูก จำนวน 58,383 ไร่ให้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 2,179 กิโลกรัมต่อไร่

3. ผลิตภัณฑ์จากหน่อไม้

การดองหน่อไม้ เป็นการถนอมอาหารแบบหนึ่งที่นิยมเมื่อผลผลิตของหน่อไม้ออกผลผลิตจำนวนมาก ทำให้สามารถมีผลผลิตรับประทานตลอดฤดูกาล และสามารถเพิ่มมูลค่าผลผลิตได้ จากตารางที่ 1 พบว่า การส่งออกหน่อไม้ที่อยู่ในรูปแบบหน่อไม้ ผสมกัน ที่ปรุงแต่งหรือทำไว้ไม่ให้เสียโดยวิธีอื่น นอกจากใช้น้ำส้มสายชู หรือกรดอะซิติก ไม่ได้แช่แข็ง ซึ่งหน่อไม้ดองจัดอยู่ในประเภทนี้ จะเห็นได้ว่ามูลค่าของหน่อไม้ที่ผ่านกระบวนการแปรรูปสูงกว่าหน่อไม้สดอย่างเห็นได้ชัด อีกทั้งหน่อไม้ที่แปรรูปมีราคาต่อหน่วยสูงกว่าหน่อไม้สดที่ผลิตในฤดูกาล Dhavises (1972) กล่าวว่ากรรมวิธีการผลิตหน่อไม้ดองมีลักษณะใกล้เคียงกับการดองในผักชนิดอื่น เช่น กะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) กิมจิ (kim chi) เป็นต้น โดยกรรมวิธีของหน่อไม้ดองสามารถผลิตได้ง่ายกว่า จากการศึกษาการผลิตหน่อไม้ดองจากผู้ผลิต จังหวัดปราจีนบุรี มีขั้นตอนการผลิตดังนี้

1. ขั้นรับวัตถุดิบ เป็นการรับวัตถุดิบจากแหล่งต่าง ๆ นำมาฝานบาง ๆ แล้วคลุกเกลือ

2. ขั้นการหมักเพื่อเอาน้ำแรกออก โดยนำหน่อไม้ที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 มาหมักด้วยเกลือให้มีส่วนของแข็ที่ละลายน้ำอยู่ประมาณร้อยละ 3 จากนั้นอัดหน่อไม้ให้แน่น 2-3 วัน แล้วเอาน้ำขื่นออกโดยการสูบออกจากบ่อ

3. ขั้นการหมักนาน เป็นการนำหน่อไม้จากขั้นตอนที่ 2 ใส่เกลือในอัตราส่วนเนื้อหน่อไม้ต่อเกลือ 10 ต่อ 1 ส่วน แล้วหมักในบ่อขนาดใหญ่จนเต็มบ่อ จากนั้นโรยเกลือบนผิวหน้าให้หนา แล้วจึงนำผ้าใบมาคลุมปิดทับให้แน่นด้วยแคร่ไม้

4. ขั้นเตรียมหน่อไม้ก่อนบรรจุ โดยนำหน่อไม้จากขั้นตอนที่ 3 มาล้างด้วยน้ำสะอาด

5. ขั้นเตรียมน้ำปรุง เป็นขั้นตอนการเตรียมน้ำเกลือเพื่อเติมในการบรรจุหน่อไม้ดอง โดยทางการค้าจะมีการเติมสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ลงไปเพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาล

6. ขั้นบรรจุ โดยนำหน่อไม้จากขั้นตอนที่ 4 และนำน้ำปรุงจากขั้นตอนที่ 5 มาบรรจุในภาชนะในอัตราส่วนที่เหมาะสม ไล่อากาศออก แล้วมัดปากถุงให้แน่น

7. ขั้นกระจายสินค้า

4. ปัญหาของหน่อไม้ดอง

หน่อไม้ดองจัดเป็นอาหารประเภทหมักดองแบบดั้งเดิมในประเทศไทยที่นิยมใช้ในการประกอบอาหารหลายประเภท เช่น แกง ผัด เป็นต้น อย่างไรก็ตามหน่อไม้ดองมักมีการเปลี่ยนแปลงสีเป็นสีคล้ำขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งจัดเป็นข้อจำกัดของผลิตภัณฑ์ทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ จึงมีการใช้สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลบางประเภทที่อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคหากใช้เกินมาตรฐานที่กำหนด จากงานวิจัยของจินตนา และจันทร์ฉาย (2543) วิเคราะห์ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ในหน่อไม้เปรี้ยวที่ส่งออกไปประเทศญี่ปุ่น ซึ่งมีข้อกำหนดปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตามกฎหมายไม่เกิน 30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่าหน่อไม้เปรี้ยว 60 ตัวอย่าง มีซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่ได้มาตรฐาน 34 ตัวอย่าง โดยมีค่าเฉลี่ยของปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่เกินข้อกำหนดคือ 63.6 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่เกินระดับมาตรฐาน

การเกิดสีน้ำตาล

การเกิดสีน้ำตาล คือ การที่ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีที่คล้ำขึ้น หรือเป็นสีน้ำตาลซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญของการไม่ยอมรับของผู้บริโภคโดยตรงจึงจัดเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (Sapers and Miller, 1992) การเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีหลายประเภทขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการเข้าใจการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในอาหารชนิดนั้นๆจึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นมักจะเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของสับสเตรต คือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นควิโนนแล้วสามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนได้สารโมเลกุลใหญ่ที่ให้สีน้ำตาล คือ เมลานิน (Marshall, 2000) โดยองค์ประกอบทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล ได้แก่ สารประกอบฟีนอล ลิกนิน และมาโลนไดอัลดิไฮด์

1. สารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอลในพืชชั้นสูงสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมระดับทุติยภูมิ (secondary metabolism) ซึ่งไม่ได้ทำหน้าที่เป็นสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช โดยโครงสร้างหลักของสารประกอบฟีนอลที่พบเป็นกลุ่มสารที่มีองค์ประกอบเป็นวงอะโรมาติกเกาะอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลตั้งแต่ 1 หมู่ขึ้นไปหรือโครงสร้างวงอะโรมาติกหลายวงเกาะอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิล ปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลจะแตกต่างกันตามชนิด อายุ พันธุ์ ความสุกอ่อน สภาพแวดล้อมของการเจริญเติบโตและสภาวะในการเก็บรักษา สารประกอบฟีนอลถูกแบ่งตามโครงสร้างที่พบ คือ กรดฟีนอล และฟลาโวนอยด์

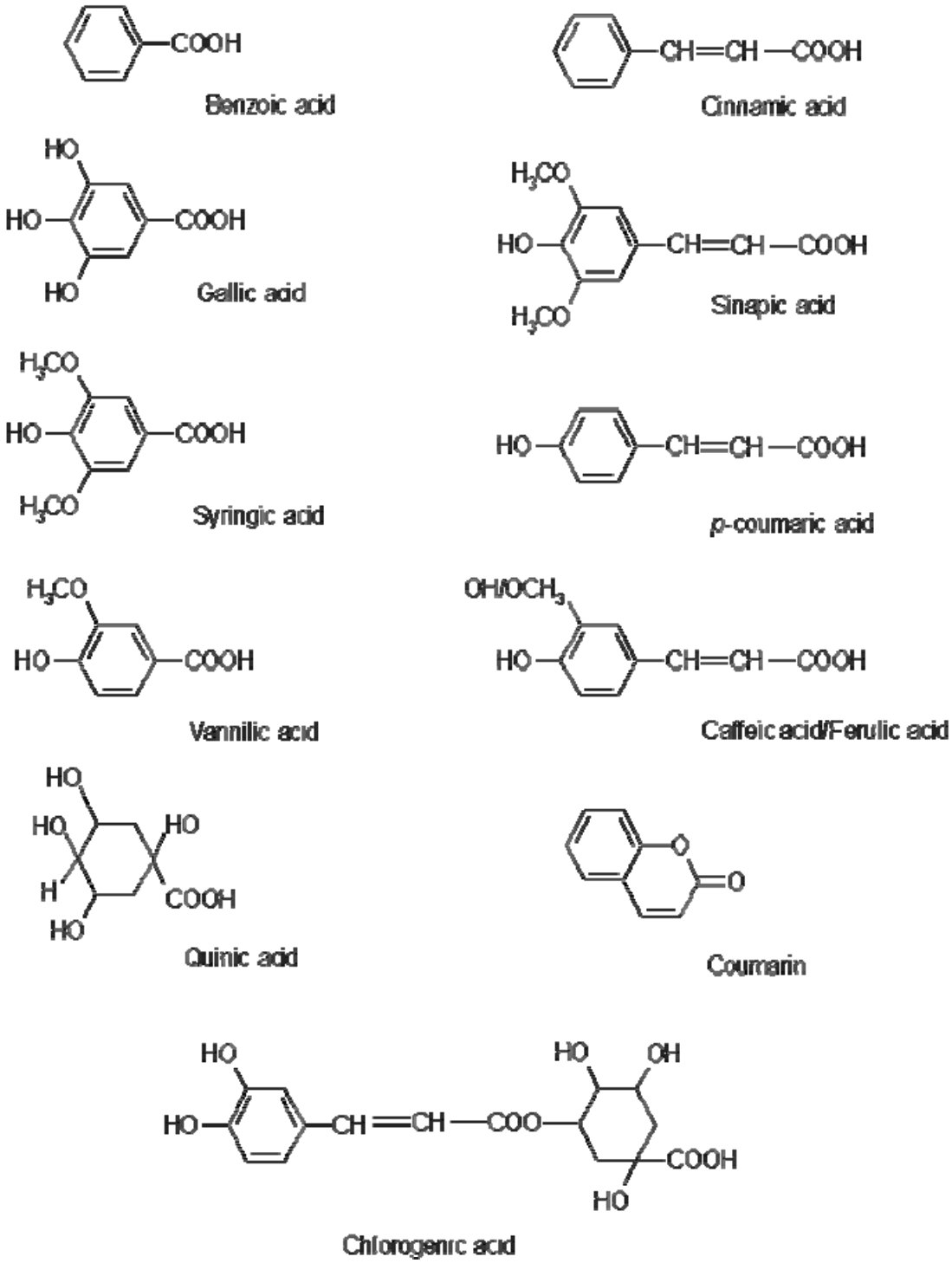
1.1. กรดฟีนอล (phenolic acid)

กรดฟีนอล เป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นวงเบนซีนอย่างง่ายต่อกับหมู่ไฮดรอกซิล โดยสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลน้อยที่สุดคือ ฟีนอล (phenol; C_6H_5OH) ซึ่งสารในกลุ่มนี้จะพัฒนาเป็นสารประกอบฟีนอลที่มีมวลโมเลกุลใหญ่ขึ้น ซึ่งกลุ่มโครงสร้างหลักที่พบได้แก่ hydroxyl benzoic และอนุพันธ์ และ hydroxy cinnamic acid และอนุพันธ์

hydroxyl benzoic และอนุพันธ์ โครงสร้างประกอบไปด้วยคาร์บอน 7 อะตอม (C_6–C_1) และเปลี่ยนเป็นสารชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกันโดยอาศัยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) และเมทิเลชัน (methylation) ซึ่งสารตั้งต้นเป็นอนุพันธ์ของกระบวนการ shikimate คือ dehydroshikimic

acid พัฒนาต่อไปเป็น gallic acid และ ellagic acid นอกจากนี้ ยังเกิดจากปฏิกิริยาดีเกรเดชัน (degradation) ของ cinamic acid เปลี่ยนไปเป็น benzoic acid และเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันโดยเปลี่ยนไปเป็น salisylic acid และ *p*-hydroxybenzoic acid โดยโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลดังแสดงในภาพที่ 1 นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลบางชนิดที่มีรายงานว่ามีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาล เช่น catechol ซึ่งเป็นสับสเตรทที่สำคัญในการเกิดสีน้ำตาล ส่วนไทโรซิน (tyrosine) สามารถเกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน ได้เป็น dihydroxyphenylalanine (DOPA), benzoic acid และ cinamic acid

hydroxy cinnamic acid และอนุพันธ์ โครงสร้างประกอบด้วยคาร์บอน 9 อะตอม (C_6 -C_3) โดยพัฒนามาจากกรดซินนามิกโครงสร้างของ *p*-coumaric acid และเปลี่ยนเป็นสารชนิดอื่นในกลุ่มเดียวกัน โดยอาศัยปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน โดยเติมหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) เข้าไปในโครงสร้างของ *p*-coumaric acid จะได้โครงสร้างของ caffeic acid และปฏิกิริยาเมทิเลชัน โดยการเติมหมู่เมทธิล (-CH_3) เข้าไปในโครงสร้างของ caftaric acid โครงสร้างของ ferrulic acid, caffeic acid ซึ่งเป็นสับสเตรทของเอนไซม์ พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ซึ่งมีโครงสร้างดังแสดงในภาพที่ 1 โดย caffeic acid และอนุพันธ์ เช่น chlorogenic acid และ caftaric acid จัดเป็นสารประกอบ *o*-diphenolic ในพืช ซึ่งเป็นสับสเตรทของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ โดยฟีนอลสำคัญที่มีรายงานว่าพบในหน่อไม้ ได้แก่ *p* (hydroxyphenyl) propionic acid, ferulic acid, caffeic acid และ chlorogenic acid (Kozukue *et al.,* 1998)

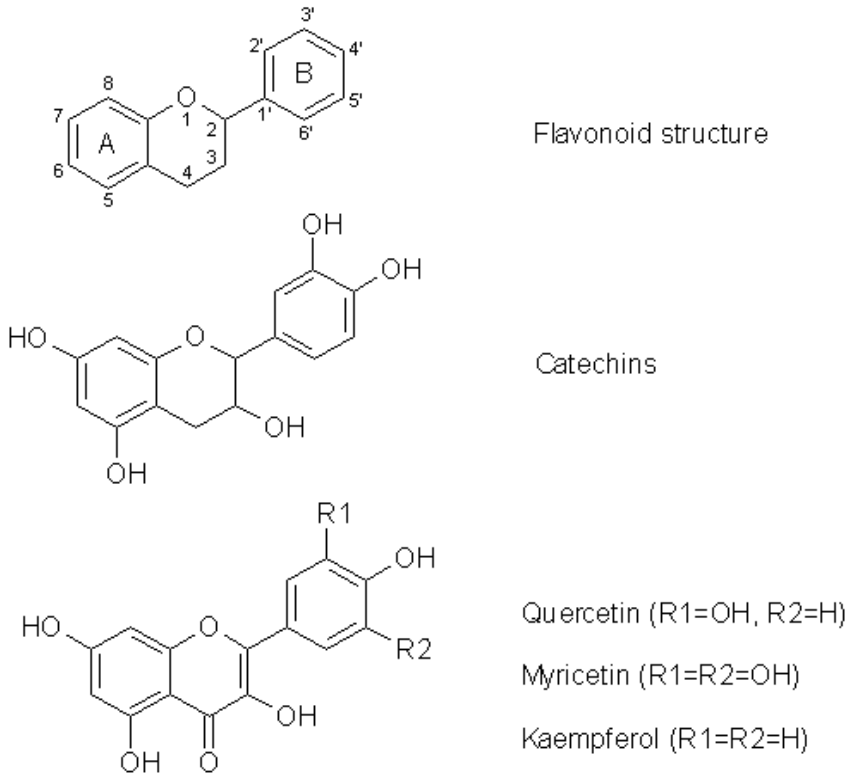


ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มกรดฟีนอล

ที่มา : Mashall *et al*. (2000)

1.2. ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

โครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ประกอบด้วย คาร์บอน 15 อะตอม (C_6 -C_3 -C_6) จัดเรียงตัวเป็นวงเบนซีน 2 วง และเชื่อมต่อกันด้วย ออกซิเจน 1 อะตอมและคาร์บอน 3 อะตอม เรียกวง A, B และ C ตามภาพที่ 2 การที่โครงสร้างระหว่างวง A และ B มี อะตอมของออกซิเจนเกาะอยู่ ทำให้อะตอมคาร์บอน 3 อะตอมของโครงสร้างในวง C เกิดการโค้งเข้ามาเป็นวง เนื่องจากแรงของอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยว (lone pair electron) ทำให้เกิดแรงผลักพันธะที่เกิดขึ้นเป็นมุมโค้งเชื่อมวง A และ B เข้าด้วยกัน ซึ่งเรียกโครงสร้างพื้นฐานนี้ว่า flavan nucleus โดย catechin เป็นสารประกอบที่เกิดขึ้นในธรรมชาติซึ่งโครงสร้างสัมพันธ์กับฟลาโวนอยด์ โดยมีลักษณะพื้นฐานเป็น 1,3-diphenylpopane จัดเป็น flavones ซึ่งเป็นสารที่ให้สีเหลืองซึ่งสะสมอยู่ในรูปรงควัตถุ ส่วน quercetin, myricetin และ kaempferol โดยทั่วไปมักถูกแทนที่ด้วยน้ำตาล ซึ่งโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลกลุ่มนี้ซึ่งแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์
ที่มา : Mashall *et al*. (2000)

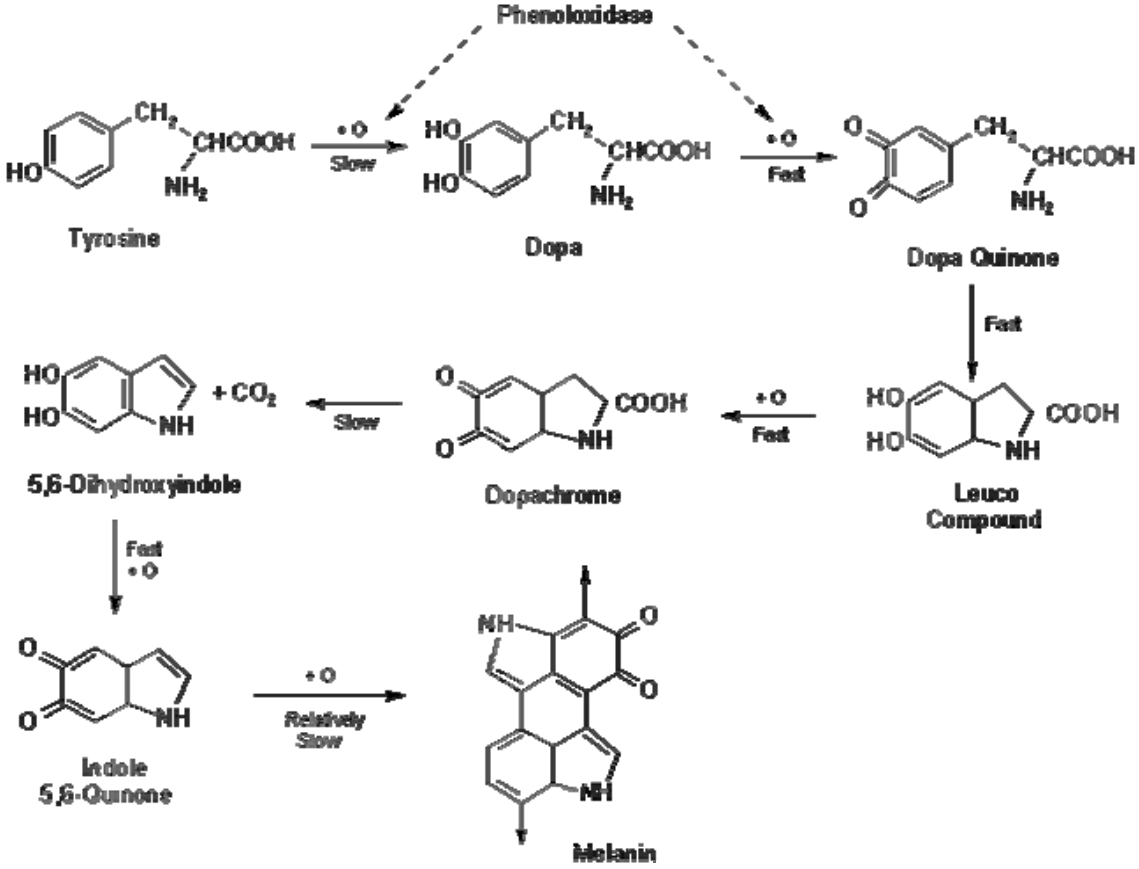
2. สารประกอบฟีนอลกับการเกิดสีน้ำตาล

สารประกอบฟีนอลทำให้ผักผลไม้มีรสชาติขม สร้างกลิ่นรส และมีส่วนในการเกิดสี โดยจะมีปริมาณและชนิดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและสภาวะแวดล้อมในการปลูก นอกจากนี้ สารประกอบฟีนอลมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้ โดยทำให้สารประกอบฟีนอลเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นสารควิโนน (quinone) ซึ่งสารควิโนนสามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) กับหมู่สำคัญของโปรตีนจนได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล ซึ่งการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลสามารถเกิดได้จากปฏิกิริยาที่อาศัยเอนไซม์และไม่อาศัยเอนไซม์

2.1. การเกิดสีน้ำตาลที่อาศัยเอนไซม์

เอนไซม์มีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลได้แก่ พอลิฟีนอลออกซิเดส แลคเคส และเปอร์ออกซิเดส

2.1.1. เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase: PPO: EC 1.14.18.1) จัดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญของปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องมาจากเอนไซม์ โดยมีทองแดงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเอนไซม์พอลิฟีนอล ออกซิเดสมักมีชื่อตามสับสเตรท เช่น tyrosinase, diphenoloxidase, catecholase, phenolase (Martinez and Whitaker, 1995) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์มี 2 ปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยา hydroxylation ซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ monophenols ไปเป็น *o*-diphenols (monophenolase และ cresolase activity) และปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ *o*-diphenols ไปเป็น *o*-quinones (diphenolase และ catecholase activity) ซึ่ง *o*-quinones เป็นสารประกอบที่สามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ต่อไปเป็น melanins ซึ่งสารสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเข้มขึ้น (ภาพที่ 3) ซึ่งเป็นลักษณะปรากฏที่ไม่ต้องการในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ส่วนใหญ่และยังทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ เช่น การเกิดสีน้ำตาลในลิ้นจี่มีการใช้สารประกอบ anthocyanin เป็นสับสเตรทที่สำคัญโดยมีเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงเป็นสีที่เข้มขึ้น โดยสีที่เกิดขึ้นเป็นตัวกำหนดอายุการเก็บของลิ้นจี่ (Huang *et al*., 1990, Jiang *et al*., 2004) นอกจากนี้เอนไซม์ พอลิฟีนอลออกซิเดส ยังเป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของผักและผลไม้ชนิดอื่น เช่น เผือก (Lourenco *et al*., 1992) แอปเปิ้ล (Sapers *et al.,* 1989) และหน่อไม้ (Huang *et al.*, 2002)



ภาพที่ 3 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลจากเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสโดยมีไทโรซีนเป็นสับสเตรต

ที่มา : Mashall *et al*. (2000)

2.1.2. เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase: POD: EC 1.11.1.7) เป็นเอนไซม์ที่มี heme เป็นองค์ประกอบ โดยทั่วไปจะเกิดปฏิกิริยาเมื่อผ่านกระบวนการที่ทำลายเนื้อเยื่อ เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะทำงานเมื่อสารประกอบฟีนอล อยู่ในรูป single-electron oxidation และมีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Cantos *et al*., 2002) โดยเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส มีบทบาทในผักและผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว ด้านการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพทางด้าน กลิ่นรส สี เนื้อสัมผัส และคุณค่าทางโภชนาการในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา จากการศึกษาของ Bolanos and Silva (2004) พบว่าเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสจะมีกิจกรรมสูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นในมันแกวในสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C

2.1.3. เอนไซม์แลคเคส (laccase : EC 1.10.3.2) เป็นเอนไซม์ที่มีทองแดงอยู่บริเวณตำแหน่งออกฤทธิ์ (Mustafa *et al.,* 2005) โดยเอนไซม์สามารถเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลสับสเตรตให้อยู่ในรูป quinone free radical ในสภาพที่มีโมเลกุลของออกซิเจน สับสเตรตของเอนไซม์แลคเคสมีหลากหลายทั้งที่เป็นสารอินทรีย์และอนินทรีย์ ได้แก่ mono-, ortho-, para-diphenol, methoxy-phenol, polyphenol, polyamines โดยทำงานได้ดีที่ pH ค่อนข้างต่ำ คือ 4.5-6 เอนไซม์แลคเคสมีบทบาทในการเกิดสีน้ำตาลและการสร้างสารประกอบลิกนินในผักผลไม้ จากการทดลองของ Avallone *et al*. (2003) พบว่า การเกิดสีน้ำตาลของแกนกลางสับปะรดมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์แลคเคส เมื่อเทียบกับสับปะรดที่แกนกลางไม่เกิดสีน้ำตาล

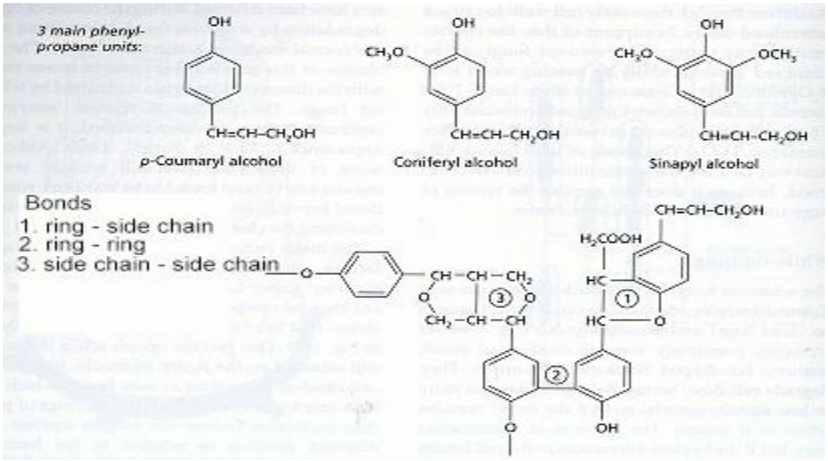
2.2. การเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์

การปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลไปเป็นสารกลุ่มควิโนน นอกจากการกระทำของเอนไซม์แล้ว สารประกอบฟีนอลสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นควิโนน โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยไม่อาศัยเอนไซม์ ซึ่งใช้เหล็กเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในสภาพที่มีออกซิเจนอยู่โดยไม่ต้องใช้เอนไซม์ (Cheng and Crisosto, 1995) โดยเหล็กไอออนสามารถพบได้ทั่วไปในธรรมชาติ เช่นในดิน สารเคมีทางการเกษตร และอุปกรณ์ในการผลิตเป็นต้น ซึ่ง Fe^{2+} เพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดสีน้ำตาลได้ อย่างไรก็ตามการเกิดสีน้ำตาลโดยไม่อาศัยเอนไซม์จะใช้เวลาในการเกิดปฏิกิริยามากกว่าการเกิดสีน้ำตาลแบบอาศัยเอนไซม์ จากการทดลองของ Lattanzio *et al*. (1994) ได้ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลในหัว artichoke พบว่า chlorogenic acid และ Fe^{2+} ในสภาพที่มีก๊าซออกซิเจนจะกลายเป็นโครงสร้างเชิงซ้อนของ chlorogenic acid/ Fe^{3+} และสามารถเกิดเป็นโครงสร้างที่ให้สีน้ำตาลได้ต่อไป

3. ลิกนิน

ลิกนิน คือ โครงสร้าง 3 มิติของสารประกอบฟีนอล ซึ่งได้จากพอลิเมอร์ที่เป็นอนุมูลอิสระของ *p*-coumaryl, coniferyl และ sinapyl alcohol (phenyl-propane units) (ภาพที่ 4) ที่เกิดภายในผนังเซลล์ของพืช (Whetten and Sederoff, 1995) ในผักผลไม้การสร้างลิกนินสัมพันธ์กับการสังเคราะห์ฟีนอลซึ่งเพิ่มขึ้นหลังจากถูกทำให้บาดเจ็บหรือกระแทก และพอลิเมอร์ของลิกนิน ซึ่งเกิดจาก พันธะโควาเลนต์กับ คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน โดยลิกนินเกิดจากการเซลล์พืชถูกทำลายทำให้เอนไซม์ทำงาน เพื่อป้องกันเนื้อเยื่อถูกทำลายจากจุลินทรีย์ จากงานวิจัยของ Valentines *et al*. (2005) พบว่า ลิกนินมีบทบาทสำคัญต่อการต้านการเสื่อมเสียของแอปเปิ้ล นอกจากนี้พบว่าลิกนิน

ยังมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล จากการวิจัยของ Bolanos and Silva (2004) พบว่าการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในมันแกวมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 4 โครงสร้างของลิกนิน
ที่มา: Deacon (2008)

4. มาโลนไดอัลดีไฮด์ (Malondialdehyde)

กระบวนการออกซิเดชันของไขมัน จะได้ผลผลิตเป็นสารประกอบคาร์บอนิล ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเนื้อสัมผัส กลิ่นรส สี ซึ่ง มาโลนไดอัลดีไฮด์จัดเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์หลักของกระบวนการนี้โดยสามารถทำปฏิกิริยากับ สาร thiobarbituric acid (TBA) 2 โมเลกุล การเกิดสีน้ำตาลในเนื้อเยื่อเกิดจากการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียโครงสร้างของเนื้อเยื่อของผักผลไม้ โดยไขมันเป็นส่วนประกอบหนึ่งของเนื้อเยื่อ มาโลนไดอัลดีไฮด์ เป็นผลผลิตตัวหนึ่งจากการออกซิเดชันของกรดไขมันในเนื้อเยื่อของผักผลไม้ โดยเป็นดัชนีชี้บ่งถึงความสมบรูณ์ของเนื้อเยื่อ โดยความแก่ของเนื้อเยื่อทำให้เกิด free radical มากขึ้นมีผลต่อการสร้างมาโลนไดอัลดีไฮด์ นอกจากนี้ผลผลิตจากปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันสามารถทำปฏิกิริยากับแอมิโนแล้วได้สารสีน้ำตาล จากการทดลองของ Su *et al.* (2005) พบว่ามาโลนไดอัลดีไฮด์ที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นในลำไย เช่นเดียวกับการทดลองของ Tian *et al*. (2004) พบว่าตัวอย่างเชอรี่ที่เก็บในบรรจุภัณฑ์แบบปรับเปลี่ยนบรรยากาศที่มีปริมาณออกซิเจนมากมีปริมาณ มาโลนไดอัลดีไฮด์ มากกว่าตัวอย่างที่เก็บในสภาวะมีออกซิเจนน้อยซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาล

การตรวจวัดค่าสี

การตรวจวัดการเกิดสีสามารถตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีจากการมองเห็นด้วยประสาทสัมผัส อย่างไรก็ตามการตรวจวัดค่าสีด้วยสายตาจะให้ค่าที่ไม่แน่นอน ดังนั้นจึงได้มีการใช้เครื่องมือในการวัดสีที่เกิดขึ้น โดยวิธีที่นิยมมากในการวัดค่าสีโดยใช้เครื่อง spectrophotometer เนื่องจากค่าที่ได้มีค่าแน่นอนมาก การวัดค่าในระบบ hunter จะแสดงผลเป็นค่า L, a และ b ซึ่งคำนวณเป็นค่าต่างๆดังนี้ hue, delta-C และ white index (WI)

hue คือ มุมของค่าสี (Mcguire, 1992)

hue = arctan b/a

โดย (0= แดง-ม่วง, 90= เหลือง, 180= น้ำเงิน-เขียว, 270= น้ำเงิน)

C คือ ค่าความอิ่มตัวของสี (chroma) (Mcguire, 1992)

$C = (a^2+b^2)^{1/2}$

delta-C คือค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าการอิ่มตัวของสี

$\text{delta-C} = ((a_{t1}-a_{t0})^2+(b_{t1}-b_{t0})^2)$

โดยที่ t_0คือ ตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น

t_1 คือ ตัวอย่างที่เวลาที่ต้องการตรวจวัด

WI คือ ดัชนีสีขาว (white index) (Rocculi *et al*., 2004)

$\text{white index (WI)} = 100- ((100-L)^2 + a^2 + b^2)^{1/2}$

การใช้สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล

การเกิดสีน้ำตาลเริ่มการเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลไปเป็นสารควิโนน แล้วเกิดปฏิกิริยาการเกิดพอลิเมอร์ จนได้สารประกอบสีน้ำตาลซึ่งอาจเกิดปฏิกิริยากับกรดแอมิโนและโปรตีนเกิดเป็นสาร ประกอบสีน้ำตาลที่เรียกว่า melanin หากไม่ต้องการสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น จำเป็นต้องป้องกันการเกิดสีน้ำตาลซึ่งมีหลายวิธี การใช้สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลจัดเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ โดยสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลมีหลายประเภทดังนี้ คือ reducing agents, chelating agent, acidulants, enzyme inhibitor, enzyme treatment และ complexing agent, (Marshall, 2000) (ตารางที่ 3)

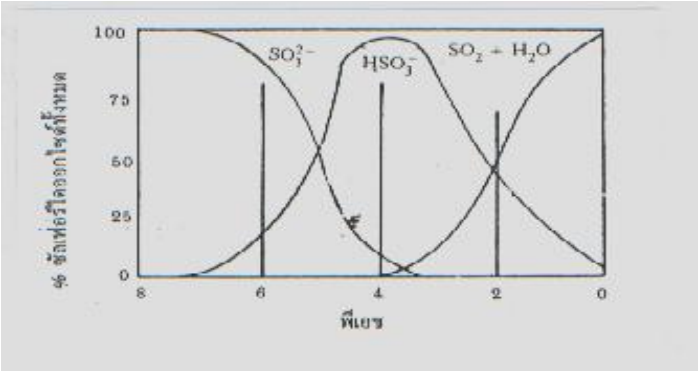
ตารางที่ 3 ชนิดของสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลและตัวอย่าง

ชนิด	ตัวอย่าง
reducing agents	sulphiting agents, ascorbic acid and analogs, cysteine, glutathione
chelating agents	phosphates, EDTA, organic acids
acidulants	citric acid, phosphoric acid
enzyme inhibitors	aromatic carboxylic anions, peptides, substituted resorcinols
enzyme treatments	oxygenases, *o*-methyl transferase, proteases
complexing agents	cyclodextrins

ที่มา : Mashall *et al*. (2000)

1. ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulfur dioxide, SO_2)

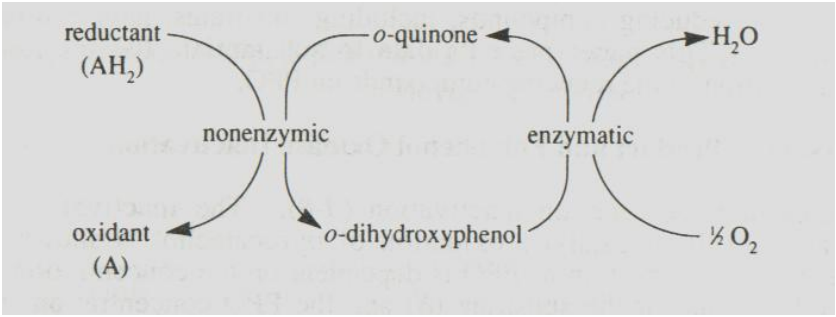
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 64.06 ที่อุณหภูมิห้องและที่ความดันปกติเป็นก๊าซที่ไม่มีสี ไม่ติดไฟ มีกลิ่นฉุนแสบ สามารถละลายน้ำได้กรดซัลฟิวรัสที่ไม่แตกตัว เมื่อละลายในน้ำจะอยู่ในรูปของกรดซัลฟิวรัส ไบซัลไฟต์ไอออนและซัลไฟต์ไอออน การกระจายของชนิดไอออนต่าง ๆ ในการละลายกรดซัลฟิวรัส ระหว่างช่วง 0-8 ได้แสดงดังภาพที่ 5 จะเห็นได้ว่า pH มากกว่า 0.5 จะมีแต่ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ และช่วง pH 4.5-8 มีไอออนของซัลไฟต์และไบซัลไฟต์ โดยซัลเฟอร์ไดออกไซด์ มีสมบัติในการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และสามารถป้องกันปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลของอาหาร โดยเป็นสารในกลุ่ม reducing agent จากรายงานของ Ferrer *et al*. (1989) พบว่าการใช้สารซัลไฟต์สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลเนื่องจากสารไบซัลไฟต์ทำปฏิกิริยากับ intermediate ของสารควิโนนทำให้ได้โครงสร้างเป็น sulphoquinones ซึ่งทำให้สับเตรท ไม่สามารถย้อนกลับเป็นสารประกอบฟีนอล จึงป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เนื่องจากมีผลเสียต่อสุขภาพจึงมีการจำกัดการใช้ โดย world health organization (WHO) และ food and drug administration (FDA) ได้แนะนำให้ได้รับปริมาณสารซัลไฟต์ต่อวันเท่ากับ 0-0.7 มิลลิกรัม ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต่อกิโลกรัมของน้ำหนักตัว (Marshall, 2000)



ภาพที่ 5 การกระจายของชนิดไอออนต่าง ๆ ในการละลายกรดซัลฟิวรัส
ที่มา : ประสาร (2538)

2. กรดแอสคอร์บิก

กรดแอสคอร์บิกสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้โดยรีดิวส์สารควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารพอลิฟีนอล ให้กลับมาอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลตามเดิมก่อนเปลี่ยนเป็นสารควิโนนซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล (Marshall, 2000) จากการทดลองของ Gorny *et al.* (2002) พบว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลที่ผิวหน้าของแพร์ได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดส์จนกลายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid; DHAA) ซึ่งกรดแอสคอร์บิกในรูปนี้ไม่สามารถรีดิวซ์สารประกอบฟีนอล จึงทำให้มีการสะสมสารควิโนนมากขึ้นและดำเนินปฏิกิริยาไปจนเป็นสารสีน้ำตาล จากรายงานของ Vamos-Vigyazo (1981) มีการใช้กรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ของมันคือกรดอีริทอร์บิค (erythorbic acid) ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในผลไม้สดและแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 6 กลไกการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยสารรีดิวส์
ที่มา: Osuga and Whitaker (1995)

3. กรดซิตริก

กรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็น acidulant โดยทำให้ความเป็นกรดในระบบเพิ่มมากขึ้น และสามารถทำหน้าที่เป็น chelating ในการจับโลหะได้ โดยความเข้มข้นที่นิยมใช้ประมาณร้อยละ 0.1-0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Dziezak, 1986) จากรายงานของ Jiang and Fu (1998) พบว่ากรดซิตริกสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลอย่างมีประสิทธิภาพในลิ้นจี่ โดยสามารถยับยั้งเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสได้ถึงร้อยละ 80-85 นอกจากนี้จากการทดลองของ Santerre *et al*. (1988) พบว่าการใช้กรดกรดซิตริกสามารถยืดอายุการเก็บรักษาโดยสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลแช่แข็ง และการใช้กรดซิตริกร่วมกับกรดแอสคอร์บิกทำให้สามารถป้องกันสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น (Pizzocaro *et al*., 1993)

บรรจุภัณฑ์

การใช้บรรจุภัณฑ์ในผลิตภัณฑ์อาหารมีความแตกต่างตามวัตถุประสงค์การใช้งาน ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ เพื่อชะลอหรือป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร จากปฏิกิริยาเคมีในอาหารที่สำคัญ คือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่มีผลให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารเปลี่ยนแปลง เช่น เกิดการเปลี่ยนแปลงสี กลิ่น และคุณค่าทางโภชนาการ ดังนั้นการเข้าใจสมบัติของบรรจุภัณฑ์จะนำไปสู่การเข้าใจปฏิกิริยาอาหารที่เกิดขึ้น และสามารถประยุกต์ใช้ได้อย่างถูกต้อง บรรจุภัณฑ์ที่ใช้กับอาหารมีหลายชนิด พลาสติกเป็นบรรจุภัณฑ์หนึ่งที่นิยมใช้ กับอาหาร ชนิดของพลาสติกจะแบ่งตามพอลิเมอร์ ซึ่งทำให้พลาสติกมีสมบัติที่แตกต่างกัน

1. polyethylene (PE)

ในบรรดาฟิล์มที่ใช้สำหรับหีบห่อ PE เป็นพลาสติกที่มีการใช้กันมากที่สุดในขอบเขตที่กว้าง สามารถใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร ผักผลไม้สด และผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆ เนื่องจากมีชนิดและคุณภาพหลายระดับ ซึ่งสามารถแบ่งได้ตามการจัดเรียงโมเลกุลและความหนาแน่นของพอลิเมอร์

LDPE (low density polyethlylene) เป็นพอลิเมอร์เดี่ยวที่มีการใช้บรรจุอาหารมากที่สุด มีราคาถูก โดยใช้ในรูปแบบของฟิล์มและบรรจุภัณฑ์ที่ขึ้นรูป มีการจัดเรียงโมเลกุลแบบกิ่งก้าน มีมวลโมเลกุลต่ำ ความหนาแน่นของโมเลกุล ประมาณ 910-940 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร

ทำให้ LDPE มีสมบัติ เหนียว โปร่งแสง ยืดหยุ่นสูง โดยสามารถต้านทานแรงที่อุณหภูมิต่ำถึง -60 °C สามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี แต่ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้น้อย และมีจุดหลอมเหลวต่ำกว่า 100 °C (Robertson, 2000) จึงมักถูกใช้เป็นตัวเชื่อมระหว่างฟิล์มชนิดต่างๆ นอกจากนี้ LDPE ยังมีสมบัติป้องกันต่อสารเคมีได้ดีโดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรด ด่างและสารละลายอินทรีย์ แต่ไม่ทนต่อสารไฮโดรคาร์บอน น้ำมัน ไขมัน แต่สามารถป้องกันได้ดีขึ้นหากใช้ PE ที่มีมวลโมเลกุลสูงขึ้น LDPE มักใช้เป็นถุงบรรจุอาหารเช่น ผักผลไม้สด เนื้อสด ขนมปัง ลูกกวาด อาหารแช่แข็ง อาหารแห้ง เป็นต้น นอกจากนี้ฟิล์มชนิด LDPE ยังถูกใช้ร่วมกับพลาสติกชนิดอื่น เพื่อเสริมสมบัติการใช้งานให้เหมาะสม

2. polypropylene (PP)

PP เป็นพอลิเมอร์สายตรงที่มีพันธะคู่น้อยมากหรือไม่มีพันธะคู่ และมักมี methyl group กระจายติดอยู่ตามสายของพอลิเมอร์ ทำให้ PP มีความหนาแน่นต่ำกว่า 900 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร มีจุดหลอมเหลวสูงถึง 140-150 °C สูงกว่าพลาสติกกลุ่ม PE (Robertson, 2000) นอกจากนี้ PP มีสมบัติให้อัตราการซึมผ่านไอน้ำต่ำ ให้ก๊าซซึมผ่านปานกลาง สามารถทนต่อไขมันและสารเคมีสามารถป้องกันรอยขีดข่วนได้ดี ทนต่ออุณหภูมิสูง ใสและเป็นเงาโดยทั่วไปมีการขึ้นรูป 2 วิธีคือ เป่าให้จัดเรียงโมเลกุลใหม่เรียกว่า oriented polypropylene (OPP) มักใช้เป็นฟิล์มหดเพื่อห่อสินค้า และการหล่อขึ้นรูปเรียกว่า cast polypropylene (CPP) มักใช้เป็นถุงบรรจุอาหารสำเร็จรูป เช่น ขนมปัง ลูกกวาด อาหารแห้งชนิดต่างๆ และยังถูกใช้ร่วมกับพลาสติกชนิด เพื่อเสริมสมบัติการใช้งานให้เหมาะสม เช่น ถุงบรรจุอาหารที่ต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

3. vacuum packagings

การใช้ vacuum packaging มีวัตถุประสงค์เพื่อนำสมบัติที่ดีของพอลิเมอร์ หลากหลายชนิดไว้ด้วยกัน ทำให้สามารถป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารได้ดียิ่งขึ้น มีความสวยงาม ง่ายต่อการผลิตและลดต้นทุน การจะใช้ฟิล์มของพลาสติกชนิดใดมาทำ ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ต้องการสมบัติใดในการคงคุณภาพของอาหาร ในราคาที่ถูกที่สุด ในการทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ให้บรรจุภัณฑ์สามารถป้องการซึมผ่านของออกซิเจนได้ดีและสามารถทนกรดได้ เช่น nylon และ linear Low density polyethylene โดยพลาสติกทั้งสองชนิดมีสมบัติดังนี้

3.1. Nylon หรือ polyamide (PA)

PA เกิดจากปฏิกิริยาควบแน่น diamide และ dibasic acid หรือปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์ของกรดแอมิโน ซึ่งมีหลายชนิดโดยเรียกตามจำนวนคาร์บอนอะตอมในสายของพอลิเมอร์โดย nylon 6 เป็นที่นิยมใช้มากที่สุด สามารถทนอุณภูมิสูงถึง 219 ^{o}C โปร่งใส สามารถป้องกันการซึมผ่านน้ำมัน ไขมัน และสารเคมีได้ดี (Robertson, 2000) นอกจากนี้ยังสามารถป้องกันการขีดข่วน การกระแทก เจาะทะลุ แต่ไม่สามารถป้องกันกรดอนินทรีย์ ไม่สามารถปิดผนึกด้วยความร้อนทำให้ไม่สามารถใช้เป็นบรรจุภัณฑ์แบบเดี่ยว และที่สำคัญสามารถป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน กลิ่น รส ได้ดี แต่ไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำ จึงต้องมีการใช้ร่วมกับฟิล์มชนิด linear low density polyethylene เพื่อทำให้สมบัติครบตามที่ต้องการ

3.2. Linear low density polyethylene (LLDPE)

LLDPE เป็นพอลิเมอร์เดี่ยวที่มีการจัดเรียงโมเลกุลแบบสายตรง คล้ายกับ high density polyethylene (HDPE) แต่มีความหนาแน่นของโมเลกุลเท่าๆกับ LDPE ประมาณ 900-935 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร (Robertson, 2000) โดยทั่วไปสมบัติของ LLDPE จะคล้ายกับ LDPE แต่ LLDPE มีสมบัติที่ดีกว่า เนื่องจาก สามารถทนสารเคมีมากขึ้น สามารถทนอุณภูมิสูงและต่ำดีกว่า ให้ความมันวาวและแข็งแรงมากกว่าพลาสติกชนิด LDPE และมีจุดหลอมเหลวสูงกว่าที่ความหนาแน่นเท่ากัน ทำให้มีการใช้พลาสติกชนิดนี้ทดแทนพลาสติกชนิด LDPE ในหลายผลิตภัณฑ์ เนื่องจากสมบัติดังที่ผ่านมาของพลาสติกชนิด nylon และ linear low density polyethylene ทำให้สามารถเสริมสมบัติของพลาสติกของทั้งสองชนิดเข้าด้วยกัน จึงทำให้บรรจุภัณฑ์ชนิด vacuum packaging มีสมบัติมีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจน ทนสารอินทรีย์ประเภทกรดได้ดีขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัตถุดิบ

1.1. หน่อไม้สดซื้อจากแหล่งการค้า จังหวัดปราจีนบุรี

1.2. หน่อไม้ดองซื้อจากแหล่งผลิตในจังหวัดเดียวกับหน่อไม้สดโดยใช้หน่อไม้ดองในขั้นตอนที่หมักด้วยเกลือความเข้มข้นสูงในอัตราส่วนเกลือต่อหน่อไม้ 1 ต่อ 10 แล้วนำมาล้างเกลือออกด้วยน้ำ

2. อุปกรณ์และเครื่องมือ

2.1 เครื่องปั่น (blender, Philips) ประเทศจีน

2.2 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer, Miltion Roy spectronic 601) ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.3 เครื่องวัดสี (color instrument, Minolta 3500d) ประเทศญี่ปุ่น

2.4 เครื่องหมุนเหวี่ยง (refrigerated cetrifuge, Hitachi ninac CR 20B2) ประเทศญี่ปุ่น

2.5 เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (water activity meter, Testo 650) ประเทศจีน

2.6 เครื่องชั่งชนิดละเอียด (analytical balance, Satorius) ประเทศเยอรมัน

2.7 เครื่องอังน้ำ (water bath, Memmert) ประเทศเยอรมัน

2.8 ตู้อบ (hot air oven, Memmert) ประเทศเยอรมัน

2.9 เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, Hewlett Packgard 1100) ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.10 เครื่องวัดอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจน (oxygen permeation analyzer, Illinois instrument) ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.11 เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (sonicator, Bransonic 32) ประเทศสหรัฐอเมริกา

2.12 บรรจุภัณฑ์ชนิด low density polyethylene (LDPE, กิจถาวรพลาสติก) ประเทศไทย

2.13 บรรจุภัณฑ์ชนิด polypropylene (PP, กิจถาวรพลาสติก) ประเทศไทย

2.14 บรรจุภัณฑ์ชนิด vacuum (V, กิจถาวรพลาสติก) ประเทศไทย

3. สารเคมี

3.1 ascorbic acid (food grade) ประเทศจีน

3.2 citric acid (food grade) ประเทศจีน

3.3 catechol (HPLC grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.4 folin and ciocalteau phenol reagent (analytical grade, Fluka) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.5 gallic acid (analytical grade, Fluka) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.6 caffeic acid (HPLC grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.7 ferrulic acid (HPLC grade, Fluka) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.8 *t*- cinnamic acid (HPLC grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.9 *p*- coumaric (HPLC grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.10 เมทานอล (analytical and HPLC grade, Labscan) ประเทศไทย

3.11 hydrochloric (analytical grade, Labscan) ประเทศไทย

3.12 polyvinyl pyrrolidone (analytical grade, Sigma-aldrich)ประเทศเยอรมัน

3.13 sodium dihydrogen orthophosphate (analytical grade, Ajax Finechem) ประเทศออสเตรเลีย

3.14 di-sodium hydrogen orthophosphate (analytical grade, Ajax Finechem) ประเทศออสเตรเลีย

3.15 sodium acetate (analytical grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.16 acetic acid (analytical grade, Lab scan) ประเทศไทย

3.17 sodium hydroxide (analytical grade, Ajax Finechem) ประเทศออสเตรเลีย

3.18 sodium carbonate (analytical grade, Ajax Finechem) ประเทศออสเตรเลีย

3.19 trichloroacetic acid (analytical grade, Merck laboratories) ประเทศเยอรมัน

3.20 2-thiobarbituric acid (analytical grade, Merck laboratories) ประเทศเยอรมัน

3.21 2,2'- azino-bis 3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonate (HPLC grade, Fluka) ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.22 thioglycolic acid (analytical grade, Sigma-aldrich) ประเทศสหรัฐอเมริกา

วิธีการ

1. การศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจน ต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดอง

1.1. การเตรียมตัวอย่าง

นำหน่อไม้ดองจากขั้นตอนที่หมักด้วยเกลือความเข้มข้นสูงจากแหล่งผลิตทางการค้ามาล้างเกลือออก จากนั้นชั่งน้ำหนักเนื้อหน่อไม้ดอง 200 กรัม แล้วเติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2.6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในบรรจุภัณฑ์ชนิด low density polyethylene (LDPE) จากนั้นนำมาเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก หรือ น้ำปรุงจากทางการค้า ซึ่งสามารถแบ่งสิ่งทดลอง ดังนี้ คือ (1) กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก (2) กรดซิตริกร้อยละ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก (3) กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 ร่วมกับกรดซิตริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก (4) หน่อไม้ดองที่มีการเติมสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จากโรงงานผู้ผลิต (5) ตัวอย่างควบคุมที่เติมเฉพาะน้ำเกลือ (6) ตัวอย่างหน่อไม้ดองที่เติมเฉพาะน้ำเกลือในบรรจุภัณฑ์ชนิด vacuum packaging (V) ซึ่งเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ให้อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนน้อย จากนั้นปิดผนึก นำไปเก็บรักษาเป็นเวลา 7 สัปดาห์ โดยสุ่มตรวจวัดค่าสีที่เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นสัปดาห์ที่ 0, 2, 4, 6, 7

1.2. การตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่พื้นผิว

นำหน่อไม้ดองมาตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีที่พื้นผิวด้วยเครื่อง Minolta 3500d เพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นในระบบ hunter lab โดยแสดงผลในรูป L, a, b โดยคำนวณเป็นค่า hue, delta-chroma (delta-C) (Jeong *et al.,* 2008) และ white index (WI) (Rocculi *et al.,* 2004) ซึ่งมีสูตรดังนี้

hue = arctan b/a โดย (0= แดง-ม่วง, 90= เหลือง, 180= น้ำเงิน-เขียว, 270= น้ำเงิน)

delta-C = $((a_{t1}-a_{t0})^2+(b_{t1}-b_{t0})^2)$; t_0คือ ตัวอย่างที่เวลาเริ่มต้น, t_1 คือ ตัวอย่างที่เวลาที่ต้องการตรวจวัด

white index (WI) = $100- ((100-L)^2 + a^2 + b^2)^{1/2}$

2. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ของหน่อไม้ดอง

2.1. การเตรียมตัวอย่างหน่อไม้

หน่อไม้ดองใช้หน่อไม้ดองในขั้นตอนที่หมักด้วยเกลือความเข้มข้นสูง แล้วนำมาล้างเกลือออก เฉพาะการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ จะใช้หน่อไม้ดองเปรียบเทียบกับหน่อไม้สด

2.2. การตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์

การสกัดเอนไซม์ พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส อ้างอิงวิธีของ Bolanos and Silva (2004) โดยนำหน่อไม้สดและดองสกัดด้วย phosphate buffer (pH 7) และสาร polyvinylpyrolidone (PVPP) จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยงแล้วนำไปวัดกิจกรรมของเอนไซม์

การวัดกิจกรรมเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส โดยนำสารสกัด มาวัดกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส ในหน่อไม้ดองซึ่งใช้ cetechol เป็นสับสเตรท และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm โดยดัดแปลงมาจาก Jiang *et al*. (1998) (ภาคผนวก ก)

การวัดกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โดยนำสารสกัดมาวัดกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในหน่อไม้ซึ่งใช้สาร $ABTS^{+}$ และ hydrogenperoxide เป็นสับสเตรต และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 nm โดยอ้างอิงจาก Bolanos and Silva (2004) (ภาคผนวก ก)

การวัดกิจกรรมเอนไซม์แลคเคส โดยนำสารสกัด มาวัดกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสในหน่อไม้ซึ่งใช้สาร $ABTS^{+}$ และ hydrogenperoxide เป็นสับสเตรต และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm โดยอ้างอิงจาก Yang *et al*. (2007) (ภาคผนวก ก)

3. ผลของปริมาณออกซิเจนต่อการเกิดสีน้ำตาลและองค์ประกอบเคมีที่เกี่ยวข้องของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

3.1. การเตรียมตัวอย่างหน่อไม้

นำหน่อไม้ดองในขั้นหน่อไม้ที่มีความเข้มข้นเกลือสูง จากนั้นนำมาล้าง แล้วมาบรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด low density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP) และ vacuum packaging (V) แล้วนำมาเติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 2.6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในอัตราส่วนน้ำเกลือต่อเนื้อหน่อไม้ 120 มิลลิลิตร ต่อ 200 กรัม โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 สัปดาห์

3.2. การตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์

นำบรรจุภัณฑ์ชนิด low density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP) และ vacuum packaging (V) มาตรวจวัดอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนด้วยเครื่อง Oxygen Permeation Analyzer โดยใช้อัตราการไหลของก๊าซออกซิเจน และก๊าซไนโตรเจนเป็น 35 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อ นาที และควบคุมอุณหภูมิไว้ที่ 23 ^{o}C

3.3. การตรวจสอบการเกิดสีน้ำตาลที่พื้นผิว

นำหน่อไม้ดองมาตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีที่พื้นผิวด้วยเครื่อง Minolta 3500d เพื่อทดสอบการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น โดยคำนวณผลในรูปของดัชนี 3 ชนิด คือ hue, delta-chroma (delta-C) และ white index (WI) โดยตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้นในหน่อไม้ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

3.4. การตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสี

3.4.1. การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

การสกัดสารประกอบฟีนอลอ้างอิงจาก Cantwell *et al.* (2002) นำหน่อไม้ 10 กรัม มาสกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 26,000xg

อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลทั้งหมดอ้างอิงมาจาก Chang *et al*. (2006) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm (ภาคผนวก ก.) โดยเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid (ภาพผนวกที่ ค1) โดยตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

3.4.2. การหาปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ (Malondialdehyde)

การหาปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ อ้างอิงจาก Zheng and Tian (2006) นำหน่อไม้ 5 กรัม มาสกัดด้วย trichloroacetic acid (TCA) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ปั่นเข้าด้วยกัน แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วนำส่วนใสของสารสกัดมา 2 มิลลิลิตร แล้วใส่ 2-thiobarbituric acid (TBA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.6 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่ 20°C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600, 532 nm ตามลำดับ โดยคำนวณในรูปของ MDA โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงเท่ากับ 36 ต่อมิลลิโมลาร์และเซนติเมตร ตรวจวัดปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 10 สัปดาห์

3.4.3. การหาปริมาณลิกนิน

การหาปริมาณลิกนิน อ้างอิงจาก Bolanos and Silva (2004) นำหน่อไม้ 5 กรัม ปั่นร่วมกับ เมทานอล 40 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปกรองสุญญากาศ ล้างด้วยเมทานอล 20 มิลลิลิตร อีกครั้ง นำส่วนแข็งไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเติม กรดไฮโดรครอลิกความเข้มข้น 2 โมลาร์ 15 มิลลิลิตรแล้วใส่ thioglycolic acid ลงในส่วนแข็งที่เหลือ นำไปให้ความร้อน 4 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็น จากนั้นนำไปหมุนเหวี่ยง 10000xg 15 นาที ส่วนที่เหลือ (lignin thioglycolate) ล้างด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 5 มิลลิลิตรเป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำไป หมุนเหวี่ยง อีกครั้ง เติมเติม กรดไฮโดรครอลิกความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรที่ส่วนใส แล้วนำไปตกผลึก lignin thioglycolate ที่ 4 ° C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ละลายผลึกด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ 10 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 280 nm โดยตรวจวัดปริมาณลิกนินในสัปดาห์ที่ 0, 4 และ 8

3.4.4. การตรวจวัดสารประกอบฟีนอลบางชนิด

การสกัดฟีนอลบางชนิด (Bonilla *et al.*, 2003) โดยใช้ เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตรและกรดไฮโดรครอลิกในการสกัดหน่อไม้ดอง 10 กรัม แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C 2 ชั่วโมง แล้วนำไป เครื่องสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง จากนั้นนำไปกรอง การตรวจวัดฟีนอลบางชนิดในสารสกัด ใช้เครื่อง HPLC UV-vis detector ที่ความยาวคลื่น 280 nm ใช้ Zorbax SB-C18 (100*3.0 มิลลิเมตร, 3.5ไมโครเมตร) โดยมี mobile phase คือ methanol- KH_2PO_4ที่อัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที (Leucuta *et a.l*, 2005) โดยมี chlorogenic acid, caffeic acid, ferruic acid, *p*-coumaric, catechol, quercetin, myricetin และ kaempferol เป็นสารมาตรฐาน โดยตรวจวัดฟีนอลบางชนิดในสัปดาห์ที่ 0, 4 และ 8

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มโดยตลอด โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS version 12 ในการวิเคราะห์ผลด้วย ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan’s New Multiple’s Range Test (DMRT)

5. สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ผลและวิจารณ์

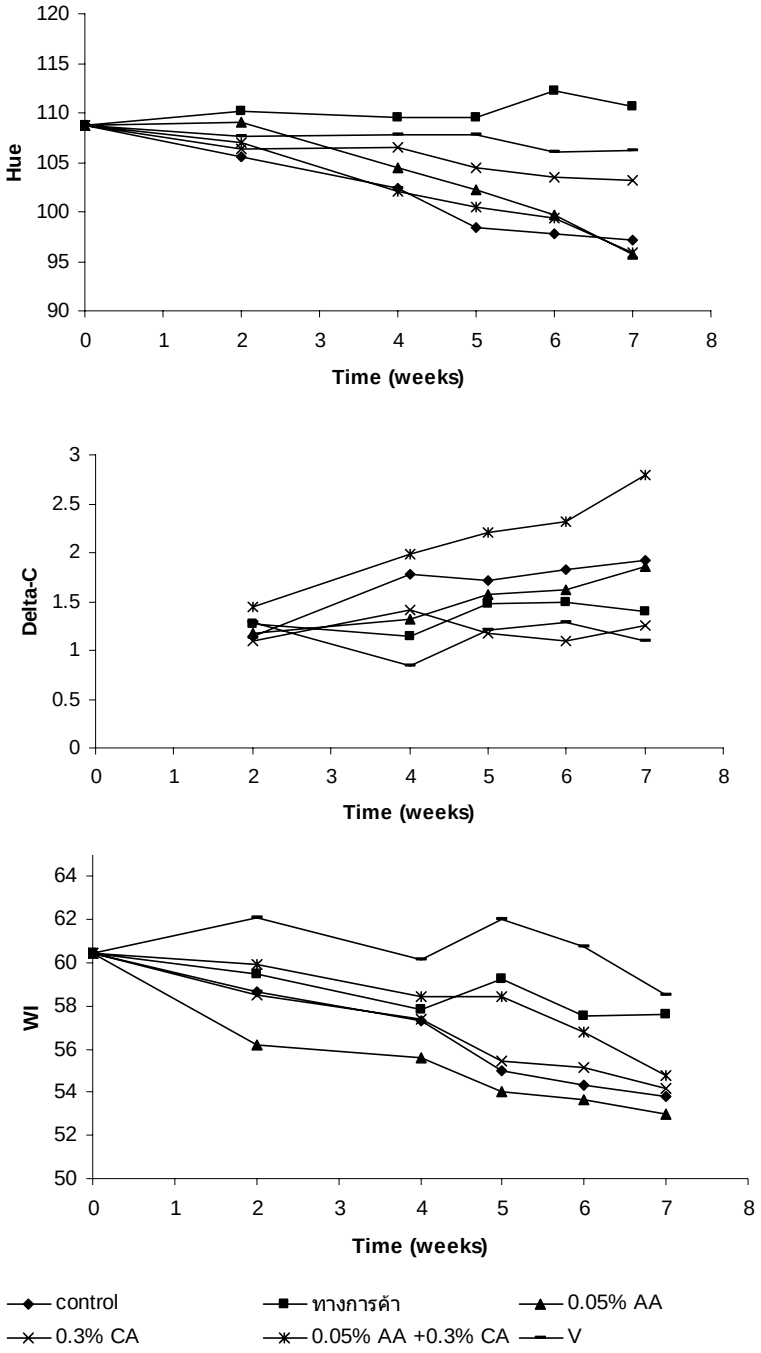
1. การศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดอง

หน่อไม้ดองมักจะเกิดการเปลี่ยนแปลงสีในช่วงการเก็บรักษาซึ่งมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ดังภาพผนวกที่ ข1 แสดงสีของหน่อไม้ดองที่ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค การใช้กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริกในฐานะสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล มักถูกใช้มาก เนื่องจากไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยทั่วไปความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่นิยมใช้อยู่ในช่วงร้อยละ 0.05-0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Marecik and Czapski, 2007) สำหรับกรดซิตริกความเข้มข้นที่นิยมใช้อยู่ในช่วงร้อยละ 0.1-0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Dziezak, 1986; Marecik and Czapaki, 2007) ในการทดลองขั้นต้นได้ศึกษาการใช้กรดทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นในช่วงดังกล่าวต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในหน่อไม้ดอง เมื่อนำหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิกมาตรวจสอบคุณภาพด้านสี (ภาพผนวกที่ ข2) พบว่าหน่อไม้ดองที่มีการเติมสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด แต่อย่างไรก็ตามการใช้กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นสูงไม่ได้ช่วยรักษาสีของหน่อไม้ดอง สำหรับคุณภาพสีของหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดซิตริก (ภาพผนวกที่ ข3) พบว่า หน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดซิตริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีสีของหน่อไม้ดองเป็นสีเหลืองอ่อนกว่าตัวอย่างอื่นและสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด โดยหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดซิตริกที่ความเข้มข้นน้อยกว่าร้อยละ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักไม่สามารถช่วยรักษาสีของหน่อไม้ดอง และหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักไม่มีความแตกต่างกันในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล จากผลการทดลองขั้นต้นทำให้การทดลองนี้เลือกใช้กรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และกรดซิตริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ดีที่สุดของกรดทั้งสองชนิดต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองไปทดลองต่อไป

จากการทดลองหาประสิทธิภาพของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และปริมาณออกซิเจนต่อค่าสีที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา โดยแบ่งสิ่งทดลองได้ดังนี้ คือ 1.หน่อไม้ดองที่เติมกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก 2. หน่อไม้ดองที่เติมกรดซิตริก 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก 3. หน่อไม้ดองที่เติมกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักร่วมกับกรดซิตริกที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก 4. หน่อไม้

ดองที่มีการเติมสารโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์จากโรงงานผู้ผลิต 5. หน่อไม้ดองควบคุมที่ไม่ได้เติมสารใด หน่อไม้ดองจากข้อ 1-5 บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE (low density polyethylene) 6. ตัวอย่างหน่อไม้ดองที่ไม่ได้เติมสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในบรรจุภัณฑ์ชนิด vacuum packaging (V) ซึ่งเป็นบรรจุภัณฑ์ที่ให้อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่ำ

จากการตรวจสอบคุณภาพด้านสี (ภาพที่ 7) พบว่า หน่อไม้ที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากโรงงาน และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีค่า hue ที่สูงกว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองตัวอย่างควบคุม ซึ่งแสดงว่าการใช้กรดทั้งสองชนิด สารเมตาไบซัลไฟต์ และการลดปริมาณออกซิเจน ส่งผลต่อค่าสี ซึ่งค่า hue มากแสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงเป็นสีเหลืองเข้มน้อย โดยตัวอย่างหน่อไม้ที่มีการเติมสารเมตาไบซัลไฟต์จากโรงงานมีค่า hue สูงที่สุด และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนลดลงมีค่า hue มากรองลงมา ตัวอย่างหน่อไม้ดองที่ใช้บรรจุภัณฑ์ชนิด V และหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริกมีค่า delta-C ต่ำที่สุดแสดงให้เห็นว่าหน่อไม้ดองจากทั้งสองตัวอย่างนี้มีความอิ่มตัวของสีที่ เปลี่ยนแปลงไปน้อยกว่าตัวอย่างอื่น อย่างไรก็ตามการเติมสารเมตาไบซัลไฟต์ของทางการค้า การเติมกรดแอสคอร์บิกหรือกรดซิตริกเพียงอย่างเดียวไม่ได้ช่วยในการรักษาการเปลี่ยนแปลงค่าความอิ่มตัวของสีเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมโดยมีค่าความอิ่มตัวของสีมากกว่าหรือไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่ระดับนัยสำคัญร้อยละ 95 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองที่ใช้บรรจุภัณฑ์ชนิด V มีค่า WI สูงกว่าตัวอย่างที่มีการเติมกรด และสารเมตาไบซัลไฟต์ และตัวอย่างควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างหน่อไม้ดองที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนลดลงมีค่าความเป็นสีขาวมากกว่าตัวอย่างอื่นรวมทั้งตัวอย่างที่มีการเติมสารเมตาไบซัลไฟต์



ภาพที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก (0.05% AA) กรดซิตริก (0.3% CA) กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก (0.05% AA+0.3% CA) เติมสารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า (ทางการค้า) ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่ำ คือ vacuum packaging (V)

จากภาพที่ 7 พบว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดที่ให้อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่ำมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการการใช้กรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก อาจเนื่องมาจากบรรจุภัณฑ์ชนิดนี้มีสมบัติในการป้องกันโดยให้อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนน้อยกว่าบรรจุภัณฑ์ชนิด low density polyethylene (LDPE) ที่ใช้ในทั่วไปในอุตสาหกรรมอาหาร ออกซิเจนจัดเป็นปัจจัยหนึ่งในการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นการใช้บรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนจึงมีส่วนสำคัญต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล จากงานวิจัยของ Teixeira *et al*. (2007) พบว่าการใช้ก๊าซออกซิเจนต่ำมีผลให้การเกิดสีน้ำตาลในมะเฟืองลดลง แต่เนื่องจากบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE มีสมบัติในการให้ก๊าซซึมผ่านได้ดี ก๊าซออกซิเจนจึงสามารถซึมผ่านได้ง่าย ขณะที่บรรจุภัณฑ์ชนิด V มีชั้นของฟิล์มหลายชั้น และมีฟิล์มชนิด Nylon ซึ่งเป็นชั้นที่สามารถป้องกันการซึมผ่านก๊าซได้เป็นอย่างดีโดยที่ยังคงความใสและความเหนียวเช่นเดียวกับบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE ทำให้ออกซิเจนมีโอกาสซึมผ่านบรรจุภัณฑ์ได้น้อย ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอาจทำให้ไม่มีสับสเตรตร่วมในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงไม่สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงสี การใช้บรรจุภัณฑ์ที่ป้องกันการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนจึงมีส่วนสำคัญต่อการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล

การใช้สารเมตาไบซัลไฟต์จากโรงงาน กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก ในผลิตภัณฑ์หน่อไม้ดอง ต่างมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงสีได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม การใช้สารเมตาไบซัลไฟต์โดยทั่วไปมักถูกใช้ในการป้องกันการเกิดสีน้ำน้ำตาลในหน่อไม้ดองทางการค้า แต่เนื่องจากสารนี้อาจเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคโดยเฉพาะกลุ่มเสี่ยง เช่นผู้ป่วยโรคหอบหืด เป็นต้น (พรรัตน์ และจันทร์ฉาย, 2540) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริกมีประสิทธิภาพในด้านการรักษาการเปลี่ยนแปลงสีด้อยกว่าการใช้สารเมตาไบซัลไฟต์ อาจเนื่องมาจากสารเมตาไบซัลไฟต์มีสมบัติเป็นสารรีดิวซ์ที่ดีและสามารถฟอกสีตัวอย่างได้ จึงทำให้มีประสิทธิภาพดีกว่ากรดทั้งสองชนิด จากรายงานของ Langdon (1987) การใช้เมตาไบซัลไฟต์สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีในมันฝรั่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตาม การใช้กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และการใช้กรดสองชนิดร่วมกันยังมีประสิทธิภาพในการรักษาสีของหน่อไม้ดองได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม การที่กรดแอสคอร์บิกมีประสิทธิภาพในการรักษาสีได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม อาจเนื่องมาจากกรดแอสคอร์บิกสามารถรีดิวส์ สารควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารพอลิฟีนอล ให้กลับมาอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลตามเดิมก่อนที่สารควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล จากงานวิจัยของ Rocha and Morais (2005) พบว่า การใช้กรดแอสคอร์บิกในแอปเปิ้ลตัดแต่งสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสได้ถึงร้อยละ 92 การใช้กรดซิตริกมี

ประสิทธิภาพในการรักษาสีได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม อาจเนื่องจากกรดซิตริกจะทำหน้าที่เป็นสารที่ทำให้สภาวะการทำงานของตัวอย่างเปลี่ยนแปลงไป ทำให้มีค่า pH ต่ำลง จึงอาจทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ดี นอกจากนี้กรดซิตริกยังทำหน้าที่เป็น chelator โดยจับกับโลหะแทนฟีนอล จากงานวิจัยของ Jiang and Fu (1998) พบว่าการใช้กรดซิตริกในลิ้นจี่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาล สำหรับการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริกมีประสิทธิภาพในการรักษาสีดีกว่าตัวอย่างควบคุม สอดคล้องกับการทดลองของ Langdon (1987) ที่รายงานการใช้ กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริกในมันฝรั่ง จะทำให้ประสิทธิภาพการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลดีขึ้น

2. **การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส แลคเคส**

เมื่อนำหน่อไม้สดและหน่อไม้ดองมาตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล คือ เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส (ตารางที่ 4) พบว่า เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสในหน่อไม้สดและดอง มีกิจกรรมเอนไซม์ 8.71 และ 0 หน่วยต่อนาทีและกรัมน้ำหนักเปียก เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส มีกิจกรรมเอนไซม์ 76.62 และ 4 หน่วยต่อนาทีและกรัมน้ำหนัก สดและกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส มีกิจกรรมเอนไซม์ 0.4 และ 0.04 หน่วยต่อนาทีและกรัมน้ำหนักเปียก จะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในหน่อไม้ที่ผ่านการดองจะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์น้อยมากเมื่อเทียบกับหน่อไม้สด

เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลโดยสามารถเปลี่ยนฟีนอลสับสเตรตไปเป็นสารควิโนนได้ จากงานวิจัยของ Cantos *et al.* (2002) พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดสีน้ำตาลกับกิจกรรมของเอนซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส จากการทดลองนี้จะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสลดลงจนไม่สามารถตรวจพบได้นั้น แต่การเกิดสีน้ำตาลยังสามารถเกิดต่อไปได้ ดังนั้นเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสอาจไม่ได้มีบทบาทต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองโดยตรง

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสสามารถเปลี่ยนฟีนอลสับสเตรตได้เช่นเดียวกันกับเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากงานวิจัยของ Shen *et al*. (2006) พบว่าเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ ในบรรจุภัณฑ์ที่มีออกซิเจนต่ำ แต่เนื่องจากหน่อไม้ดองมี pH ค่อนข้างต่ำทำให้กิจกรรมของเอนไซม์มีค่าลดลง ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพจึงทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสลดลง

เอนไซม์แลคเคสจัดเป็นเอนไซม์ในกลุ่มพอลิฟีนอลออกซิเดสซึ่งสามารถเปลี่ยนฟีนอลสับสเตรตไปเป็นสารควิโนน สับสเตรตของเอนไซม์ทั้งสองต่างกันตรงตำแหน่งของกลุ่มไฮดรอกซิลที่จับกับวงเบนซีน Lertsiri *et al.* (2003) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในระหว่างกระบวนการหมักของเต้าเจี้ยว พบว่าเอนไซม์แลคเคสอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลของเต้าเจี้ยวโดยไฮโดรควิโนนเป็นสับสเตรตที่ดีที่สุด และกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสลดลงเมื่อปริมาณเกลือสูงขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับการทดลองนี้ คือ หน่อไม้ดองมีกิจกรรมเอนไซม์แลคเคสลดต่ำลงเช่นกัน

ตารางที่ 4 กิจกรรมเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคสในหน่อไม้สดและหน่อไม้ดอง (หน่วยต่อนาที กรัมน้ำหนักเปียก)

กิจกรรมเอนไซม์ / ตัวอย่าง	พอลิฟีนอลออกซิเดส	เปอร์ออกซิเดส	แลคเคส
หน่อไม้สด	8.71±1.82	76.62±15.74	0.4±0.093
หน่อไม้ดอง	-	4±1.34	0.04±0.007

หมายเหตุ – คือ ไม่สามารถตรวจพบ

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าหน่อไม้เมื่อผ่านกระบวนการดองมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลลดลง หรือไม่สามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ แสดงให้เห็นว่าการเกิดสีน้ำตาลอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่ติดมากับตัววัตถุดิบน้อยมาก ในการทดลองต่อไปจึงมุ่งเน้นที่ผลขององค์ประกอบเคมีต่อการเปลี่ยนแปลงของสีของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

3. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงสีและองค์ประกอบเคมีที่เกี่ยวข้องของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

3.1. การตรวจสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์

เมื่อนำบรรจุภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิดที่ใช้ในการทดลองมาตรวจวัดอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน พบว่า บรรจุภัณฑ์ชนิด V มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนน้อยที่สุด และรองลงมาคือ บรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE ตามลำดับ โดยบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเพียง 98 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ขณะที่บรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 2598 และ 5255 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ตามลำดับ (ตารางที่ 5) บรรจุภัณฑ์ชนิด PP มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนน้อยกว่าบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE ประมาณสองเท่า สอดคล้องกับงานวิจัยของZerdine and Steele (2007) รายงานว่า บรรจุภัณฑ์ชนิด PP มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนระหว่าง 3000-3700 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน และ LDPE มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจน 7100 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน จะเห็นได้ว่าอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของฟิล์มทั้งสองชนิดมีความแตกต่างประมาณสองเท่าเช่นเดียวกับการทดลองนี้ อย่างไรก็ตามการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นอีก เช่น ความหนาของฟิล์ม การจัดเรียงของพอลิเมอร์ เป็นต้น Zerdine and Steele (2007) รายงานว่า การใช้บรรจุภัณฑ์และระบบต่างชนิด การผ่านเข้าออกของก๊าซออกซิเจนที่ต่างกัน และสภาวะในการเก็บรักษามีผลต่ออายุการเก็บรักษาของอาหาร การเลือกบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อการป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารจากสาเหตุต่างๆ ได้แก่ การออกซิเดชันของไขมัน การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ การออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก และการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เช่นสี เนื้อสัมผัส เป็นต้น แต่การใช้บรรจุภัณฑ์ที่ลดก๊าซออกซิเจนในอาหารนั้นมีความเสี่ยงต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Clostridium botulinum* ดังนั้นจึงได้มีการกำหนดอาหารที่จะใช้บรรจุภัณฑ์ชนิดนี้ได้ โดย จะต้องเป็นอาหารที่มีค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหารน้อยกว่า 0.91 มีค่าความเป็นกรดด่างน้อยกว่า 4.6 หรืออาหารที่อยู่ในน้ำเกลือความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 3.5 ขึ้นไป (Zakour, 2001) ซึ่งหน่อไม้ดองมีปริมาณน้ำอิสระอยู่เพียง 0.87 และมีความเป็นกรดด่าง 3.32 (ตารางผนวกที่ ข1) จึงทำให้หน่อไม้ดองสามารถใช้บรรจุภัณฑ์ที่ลดออกซิเจนได้

ตารางที่ 5 อัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนของบรรจุภัณฑ์

ชนิดของบรรจุภัณฑ์	อัตราการซึมผ่านออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน)
V	98±1.41
PP	2598±42.42
LDPE	5255±40.30

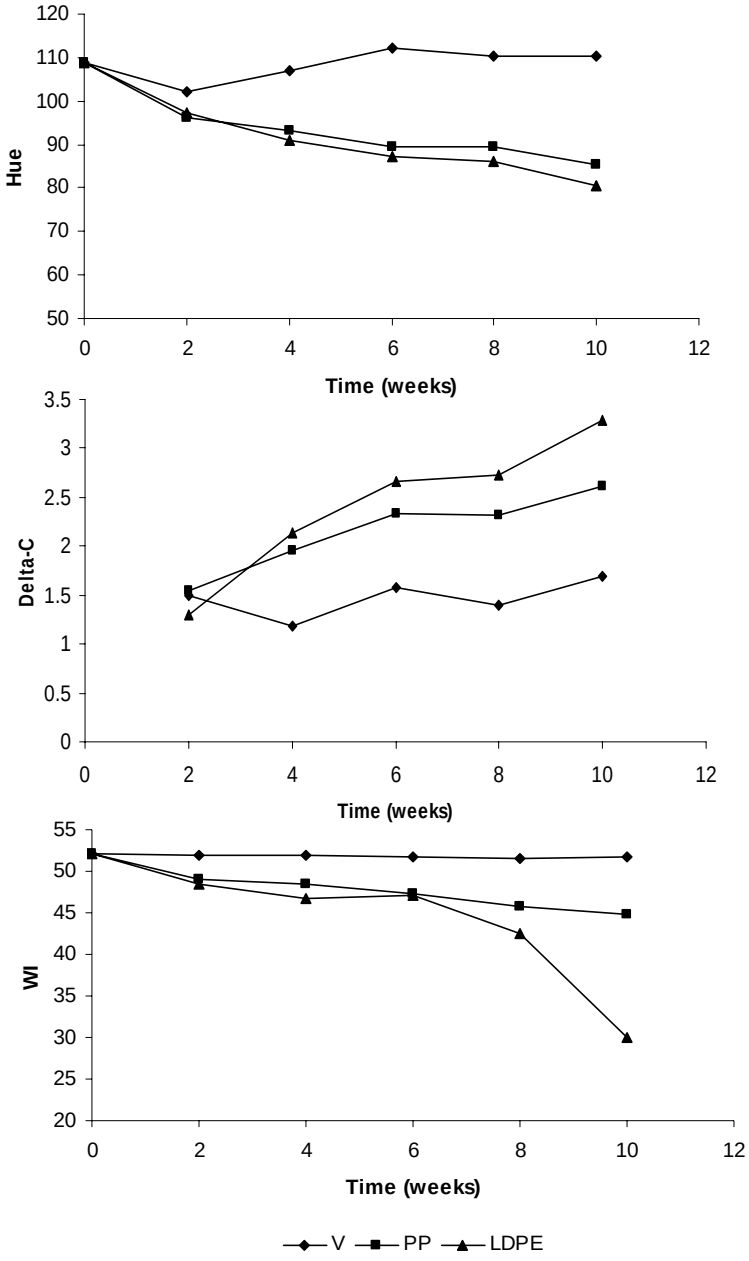
หมายเหตุ V คือ vacuum packaging
PP คือ polypropylene
LDPE คือ low density polyethylene

3.2. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อนำหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ 3 ชนิด คือ บรรจุภัณฑ์ชนิด vacuum packaging (V), polypropylene (PP) และ low density polyethylene (LDPE) มาตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงของสีโดยมีดัชนีในการบ่งชี้สีที่เกิดการเปลี่ยนแปลงไป คือ ค่า hue, delta-C และ white index (WI) พบว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดองได้ดีที่สุดตลอดการเก็บรักษาโดยมีค่า hue ค่า WI สูงสุด ซึ่งหมายความว่าสีของหน่อไม้ดองเป็นสีเหลืองอ่อนกว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจภัณฑ์ชนิด V มีการเปลี่ยนแปลงค่า delta-C แสดงว่าความอิ่มตัวของสีน้อย ซึ่งแตกต่างจากหน่อไม้ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE ที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงสีตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 (ภาพที่ 8) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP มีค่า hue และ WI สูงกว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE เล็กน้อย จะเห็นได้ว่าหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิด V สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงของสีได้มากที่สุดตลอดการเก็บรักษา โดยมี hue และ WI สูงที่สุด และมีค่า delta-C ต่ำที่สุด และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE เริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ WI ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ถึงแม้ว่าบรรจุภัณฑ์ PP มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนน้อยกว่าบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE กว่าเท่าตัว แต่กลับให้สีที่ไม่แตกต่างกันกับ

หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE อาจเนื่องมาจากบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE มีค่าการซึมผ่านออกซิเจนอยู่ในระดับสูงทำให้ปฏิกิริยาต่างๆที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันยังสามารถเกิดได้ โดยแตกต่างกับบรรจุภัณฑ์ชนิด V ซึ่งมีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนที่ต่ำจึงสามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีได้ จะเห็นได้ว่าในช่วงสัปดาห์ที่ 4 จะสังเกตเห็นการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดอง โดยเมื่อนำบรรจุภัณฑ์มาคำนวณอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนพบว่า บรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE และ PP มีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนถึง 4856 และ 2400 ลูกบาศก์เมตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าบรรจุภัณฑ์ทั้งสองมีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนสูงมากขณะที่บรรจุภัณฑ์ชนิด V มีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเพียง 90.6 ลูกบาศก์เมตรจึงอาจทำให้หน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE และ PP เริ่มเปลี่ยนแปลงสี และเมื่อหน่อไม้ดองถูกเก็บรักษาเป็นเวลา 10 สัปดาห์ หน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิด V ยังสามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีโดยมีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์เพียง 226 ลูกบาศก์เมตร โดยการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์ชนิด V ปริมาณน้อยกว่าหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ อีก 2 ชนิด ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามในช่วงสัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE และ PP ยังไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงสี (ภาพที่ 8) อาจแสดงให้เห็นว่าปริมาณก๊าซออกซิเจนที่ซึมผ่านอาจยังไม่มากพอให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี โดยบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE ซึ่งมีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนมากที่สุดมีปริมาณ 2428 ลูกบาศก์เมตรยังไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงสี แสดงว่าปริมาณออกซิเจนที่น่าจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีน่าจะเกินกว่า 2428 ลูกบาศก์เมตรขึ้นไปจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลซึ่งสัมพันธ์กับการทดลองของ Kim *et al.* (2004) ได้ทดลองผลของฟิล์มต่อคุณภาพของกะหล่ำปลีที่ใช้เป็นสลัดตัดแต่ง โดยคัดเลือกฟิล์มที่มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนที่แตกต่างกัน พบว่า สลัดที่ใช้ฟิล์มที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนสูงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีโดยเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น เมื่อเทียบกับสลัดที่ใช้ฟิล์มที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนน้อย ที่ไม่มีการเกิดสีน้ำตาลที่ผิวหน้าของสลัด สัมพันธ์กับการทดลองของ Shen *et al*. (2006) ได้ทดลองผลของการดัดแปลงบรรยากาศโดยใช้ก๊าซออกซิเจนน้อย ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ พบว่า หน่อไม้ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ดัดแปลงบรรยากาศมีการเกิดสีน้ำตาลเพียงเล็กน้อย ในขณะที่หน่อไม้ที่ไม่ได้บรรจุในบรรจุภัณฑ์ดัดแปลงบรรยากาศมีการเกิดสีน้ำตาลมาก และไม่สามารถนำไปรับประทาน และจากการทดลองของ Marrero and Kader (2006) ได้ทดลองสภาวะที่เหมาะสมของการดัดแปลงบรรยากาศต่อการรักษาคุณภาพของสับปะรดตัดแต่ง พบว่า การใช้ก๊าซออกซิเจนในอัตราส่วน 8 KPa หรือน้อยกว่า สามารถรักษาคุณภาพด้านสีของสับปะรดได้ดี จะเห็นได้ว่าการลดปริมาณของก๊าซออกซิเจนมีผลต่อการรักษาการเปลี่ยนแปลงของสีในผลิตภัณฑ์อาหาร จากผลการทดลองพบว่าการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บ

รักษาน่าจะมีผลมาจากปริมาณออกซิเจนที่แตกต่างกัน โดยบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนต่ำสามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีได้อย่างมีประสิทธิภาพ



ภาพที่ 8 การเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

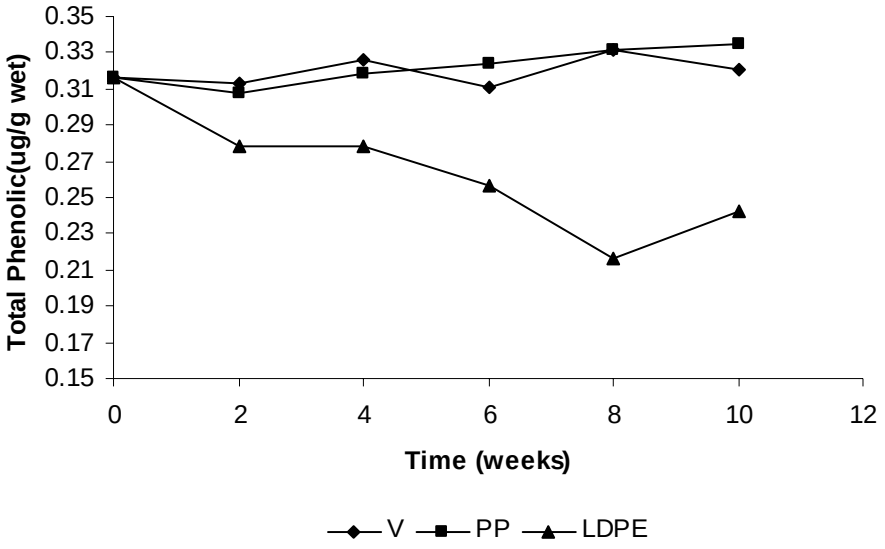
หมายเหตุ V คือ vacuum packaging

PP คือ polypropylene

LDPE คือ low density polyethylene

3.3. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจะเห็นได้ว่าในช่วง 2 สัปดาห์แรกค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเทียบกับสารมาตรฐาน gallic acid ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ในช่วงสัปดาห์ที่ 4 ของการเก็บรักษาพบว่า หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V และ PP จะมีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดมากกว่า หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ V คือ vacuum packaging
PP คือ polypropylene
LDPE คือ low density polyethylene

สารประกอบฟีนอลสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันไปเป็นสารควิโนนจากการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งสามารถทำงานได้แม้ที่ pH ต่ำกว่า 3.5 โดยขึ้นอยู่กับไอโซไซม์ของเอนไซม์ และจากปฏิกิริยา auto-oxidation ได้ในสภาวะที่มีเหล็กเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นควิโนนซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับโปรตีนต่อไปจนได้สารประกอบเชิงซ้อนสี

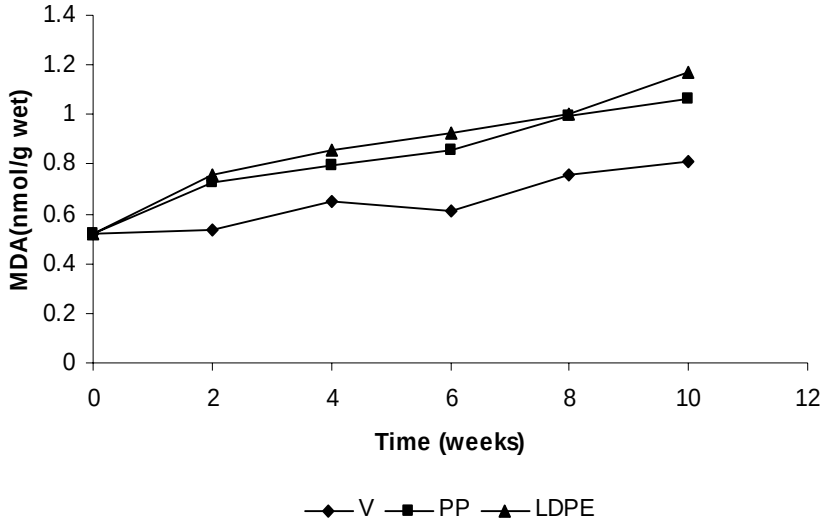
น้ำตาล (Cheng and Crisosto, 1995) โดยหน่อไม้ดองมีปริมาณโปรตีนเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 0.7 (ตารางผนวก ข1) ปฏิกิริยาดังกล่าวอาจสามารถเกิดขึ้นได้ ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดลดลง Duan *et al.* (2007) ได้ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลในลำไย พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอล มีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษาของลำไย โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลลดลงเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลมากขึ้น Zhang *et al*. (2000) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงฟีนอลในระหว่างการเก็บรักษาลิ้นจี่ พบว่า การเปลี่ยนแปลง cyanindrin -3-glucoside ซึ่งเป็นสาร anthocyanin หลักในลิ้นจี่ มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีที่เกิดขึ้น เมื่อ Cyanindrin -3-glucoside ลดลง มีการเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น Cantos *et al.* (2002) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงฟีนอลในระหว่างการเก็บรักษาของกะหล่ำปลี พบว่า กะหล่ำปลีพันธุ์ Iceberge Asdrubal มีสีเข้มขึ้น และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดน้อยลง ภายหลังการเก็บรักษา 7 วัน Pena and Jaing (2003) ได้ศึกษาผลของการใช้ไคโตซานในการเคลือบเกาลัดจีนในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า สีของเกาลัดเริ่มมีการเปลี่ยนเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัดเจนตั้งแต่วันที่ 6 ของการเก็บรักษาในขณะที่สารประกอบฟีนอลมีการลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน Cheng and Crisosto (1995) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอล กับการเกิดสีน้ำตาลของพีชที่เก็บในสารละลายบัพเฟอร์ พบว่า chlorogenic และ epicatechin มีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลของผลพีช จะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาล โดยสารประกอบฟีนอลอาจมีปริมาณลดลงเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงสีมากขึ้น อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้พบว่าสารประกอบฟีนอลไม่แสดงความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของค่าสีที่ได้ โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP มีสีเข้มแตกต่างจากหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ใกล้เคียงกันและลดลงไม่มาก ขณะที่ตัวอย่างหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด LDPE มีสารประกอบฟีนอลลดลงมากกว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V และ PP อาจเนื่องจากวิธีการตรวจวัดสารประกอบฟีนอลทั้งหมดจะรวมสารควิโนนซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลตัวหนึ่งซึ่งตรวจพบโดยวิธีนี้ด้วย สารประกอบฟีนอลที่อยู่ในรูปควิโนนจะมีสีเหลือง (Murata *et al*., 2002) โดยสารควิโนนจะทำปฏิกิริยากับกรดแอมิโนแล้วทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ให้สีน้ำตาล

3.4. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

มาโลนไดอัลดิไฮด์ มีปริมาณสูงขึ้นในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนสูงขึ้น โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีปริมาณน้อยที่สุด ส่วนหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุ

ภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 10) โดยมีความสัมพันธ์ทางเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงค่าของสีที่เข้มขึ้น ซึ่งสามารถเห็นความแตกต่างของค่าได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 อาจเนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อเยื่อเกิดจากการออกซิเดชัน ซึ่งเป็นผลมาจากการสูญเสียโครงสร้างของเนื้อเยื่อของผักผลไม้ โดยที่ผิวเคลือบและเนื้อเยื่อของผักผลไม้มักมีไขมันเป็นองค์ประกอบ เมื่อเนื้อเยื่อของผิวถูกทำลายออกซิเจนสามารถไปทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับกรดไขมัน ขณะเดียวกันฟีนอลก็สามารถรวมตัวกับสับสเตรตอีกทางหนึ่งแล้วเกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้นได้ ดังนั้นเมื่อเนื้อเยื่อถูกทำลายจึงทำให้มาโลนไดอัลดิไฮด์เป็นดัชนีที่บ่งบอกการเกิดสีน้ำตาลได้ ซึ่งปริมาณไขมันในหน่อไม้ดองมีปริมาณร้อยละ 0.21 (ตารางผนวก ข1) ซึ่งมีปริมาณไม่แตกต่างจากหน่อไม้สดจึงอาจทำให้ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดออกซิเดชันของไขมันเกิดขึ้นได้ในหน่อไม้ดองโดย Shen *et al.* (2006) ได้ศึกษาผลของการดัดแปลงบรรยากาศโดยใช้ก๊าซออกซิเจนน้อย ต่อการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้และองค์ประกอบเคมี พบว่า หน่อไม้ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ดัดแปลงบรรยากาศสามารถยับยั้งการสร้างสารมาโลนไดอัลดิไฮด์และการเกิดสีน้ำตาล Zheng and Tian (2006) ได้ศึกษาผลของการใช้กรดออกซาลิกต่อการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลในลิ้นจี่ พบว่า การใช้กรดออกซาลิกมีผลทำให้ปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม Tian *et al*. (2004) ได้ศึกษาผลของการดัดแปลงบรรยากาศโดยใช้ก๊าซออกซิเจนน้อย ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเชอรี่ พบว่า ผลของการดัดแปลงบรรยากาศโดยใช้ก๊าซออกซิเจนน้อยสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาล และยับยั้งการสร้างสารมาโลนไดอัลดิไฮด์ และความแน่นเนื้อของเชอรี่ได้ดี Tao *et al*. (2007) ได้ศึกษาผลของการให้ความเย็นแบบสุญญากาศและผลของสภาวะการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของออกซิเดชันของไขมันในเห็ด พบว่า ตัวอย่างที่มีการให้ความเย็นแบบสุญญากาศและตัวอย่างที่มีการดัดแปลงบรรยากาศช่วยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาในเห็ด โดยสามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงของสี และมีปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม จะเห็นได้ว่าการเกิดออกซิเดชันของไขมันมากอาจมีส่วนสำคัญในการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา โดยผลผลิตจากปฏิกิริยานี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดแอมิโนแล้วเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดต่อไปจนได้สารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (Takiguchi, 1999) ซึ่งสาเหตุของการออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในหลายผลิตภัณฑ์ เช่น ในเต้าหู้ (Homma and Fujimaki, 1982) ปลาซาดีน (Takiguchi, 1999) เป็นต้น Tamaki *et al*. (2007) ได้ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลในหัวหอมดอง พบว่าการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นมีลักษณะใกล้เคียงกับผลของปฏิกิริยาเมลลาร์ดจากกรดแอมิโนทำปฏิกิริยากับคาร์โบนิลของกรดไขมันหรือน้ำตาล และปฏิกิริยาคาราเมล จะเห็นได้ว่าปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์อาจเป็นดัชนีที่บ่งบอกถึงการเกิดสีน้ำตาลได้ในผลิตภัณฑ์ จากการทดลองนี้พบว่าปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์น่าจะมีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดอง โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุใน

บรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนต่ำ คือ V จะมีปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์และการเปลี่ยนแปลงสีน้อยกว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนปานกลางและมากคือ PP และ LDPE ตามลำดับ



ภาพที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

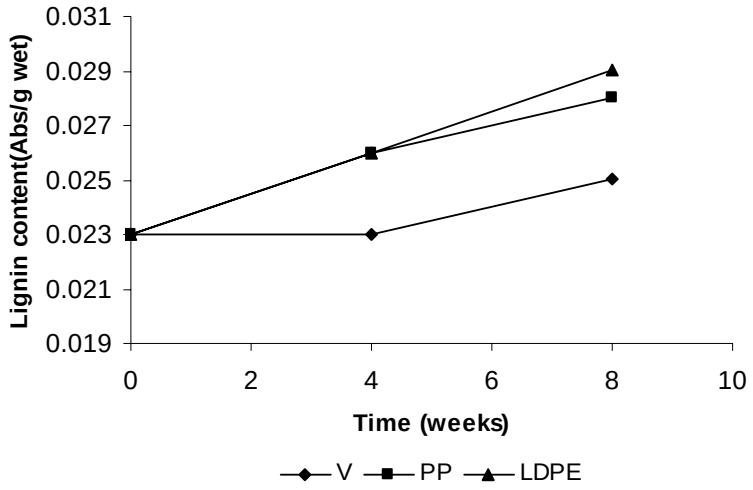
หมายเหตุ

V	คือ	vacuum packaging
PP	คือ	polypropylene
LDPE	คือ	low density polyethylene

3.5. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปเป็นลิกนิน มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น โดยลิกนินคือ โครงสร้าง 3 มิติของสารประกอบฟีนอล ที่เกิดพันธะโควาเลนต์กับ คาร์โบไฮเดรต และโปรตีน มีสีน้ำตาลแดง ซึ่งมักสร้างขึ้นเพื่อป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ Ketsa and Atatee (1998) ได้ศึกษาผลของการกระแทกต่อการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอล ลิกนินในมังคุด พบว่า เมื่อเกิดการกระแทกมังคุดจะมีการสร้างสารลิกนินเพิ่มขึ้น โดยการกระแทกจะทำให้สารประกอบฟีนอลเปลี่ยนแปลงไปเป็นสารลิกนิน Nafussi *et al*. (2001) ได้ศึกษาผลของการใช้ความร้อนในการหยุดยั้งเชื้อ *Penicillium digitatum* ต่อการเปลี่ยนแปลงสารต้านจุลินทรีย์ในมะนาวหวาน พบว่าเมื่อมีการให้ความร้อนจะทำให้มะนาวหวานมีการสร้างลิกนินน้อยลง

จากภาพที่ 11 แสดงปริมาณลิกนินในหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ พบว่า หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีค่าน้อยกว่า หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE ตามลำดับ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่าสี (ภาพที่ 8) Bolanos and Silva (2004) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและการสร้างสารลิกนินในมันแกวตลอดอายุการเก็บ พบว่าสีของมันแกวที่เข้มขึ้นสัมพันธ์กับ ปริมาณลิกนินเพิ่มมากขึ้น Mcauley *et al.* (1987) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกรดแอมิโนไลซีน ค่าความสว่าง และลิกนินในอาหารเช้าธัญญาพืชที่ทำมาจากข้าวสาลี พบว่าธัญญาพืชที่ผ่านกระบวนการบีบอัดจะมีปริมาณไลซีนลดลงน้อยกว่าธัญญาพืชที่ผ่านกระบวนการบีบอัดและอบ โดยมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าความสว่าง แต่มีความ สัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณลิกนินที่เกิดขึ้น จะเห็นได้ว่าปริมาณลิกนินมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลง สีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น จากการทดลองพบว่า หน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนน้อย คือบรรจุภัณฑ์ชนิด V มีการเกิดสีน้ำตาลในหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาน้อยกว่าอีกสองชนิด และมีการมีปริมาณลิกนิน น้อยกว่าตัวอย่างหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนปานกลางและมากคือ PP และ LDPE ตามลำดับ



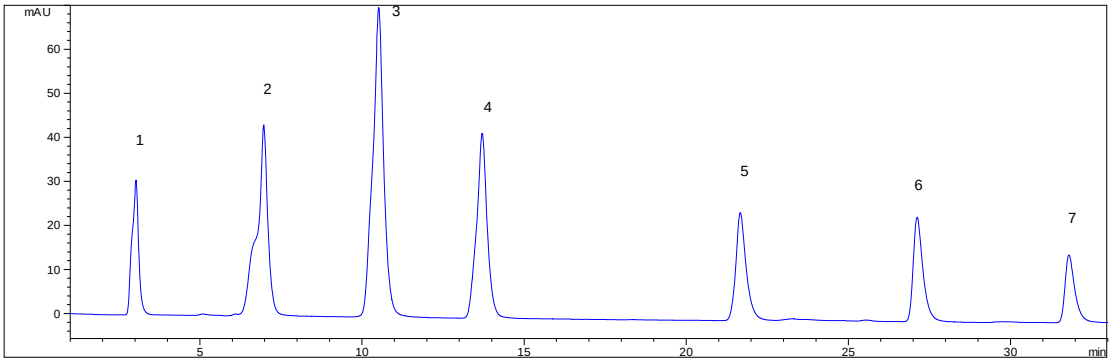
ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ

V	คือ	vacuum packaging
PP	คือ	polypropylene
LDPE	คือ	low density polyethylene

3.6. ผลของบรรจุภัณฑ์ที่มีการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนแตกต่างกันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลบางชนิดของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษา

สารประกอบฟีนอลบางชนิดซึ่งแสดงสารมาตรฐานของสารในกลุ่มฟีนอลและกลุ่มฟลาโวนอยด์ในภาพที่ 12 โดยสารในกลุ่มฟีนอล ได้แก่ catechol, caffeic acid, *p*-coumaric acid และ ferruilic acid ส่วนสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ myricetin, quercetin และ kaempferol เมื่อนำมาเทียบกับสารประกอบฟีนอลในหน่อไม้ดองพบว่า หน่อไม้ดองมีสารประกอบฟีนอล ดังนี้ catechol, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferrulic acid, quercetin และ kaempferol (ตารางที่ 6โดยสารประกอบฟีนอลที่รายงานว่าพบในหน่อไม้สด คือ caffeic acid, chlorogenic acid (Kozukue *et al*. 1998), ferruilic acid และ *p*-coumaric acid (Ishii and Hiroi, 1990) และ quercetin (Meakawa *et al.,* 1999)



ภาพที่ 12 โคมาโตรแกรมของสารมาตรฐานของสารประกอบฟีนอลบางชนิด โดยเรียงลำดับดังนี้ 1=catechol, 2= caffeic acid, 3=*p*-coumaric acid, 4=ferrulic acid, 5=myricetin, 6=quercetin, 7= kaempferol

การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอล จากตารางที่ 6 จะเห็นได้ว่าปริมาณสาร catechol ในหน่อไม้ดองมีปริมาณค่อนข้างมากเมื่อเทียบกับฟีนอลตัวอื่น โดยในหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 3 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 catechol และ caffeic acid จัดเป็นฟีนอลสับสเตรตตัวหนึ่งของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสแต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสไม่สามารถตรวจพบได้ในการทดลองนี้ จึงอาจทำให้บทบาทของ catechol และ caffeic acid ไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดอง

ตารางที่ 6 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลบางชนิด(มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักเปียก)

ปริมาณ / ตัวอย่าง	catechol	caffeic acid	*p*-coumaric acid	ferrulic acid	quercetin	kaempferol
สัปดาห์ที่ 0	10.30	0.29	0.42	1.12	5.74	4.80
สัปดาห์ที่ 4 V	8.05	0.28	0.30	0.93	6.00	5.13
PP	9.05	0.26	0.41	1.03	5.58	4.77
LDPE	8.93	0.25	0.36	1.10	5.72	4.88
สัปดาห์ที่ 8 V	9.46	0.30	0.23	0.79	6.99	5.67
PP	9.19	0.28	0.38	0.88	7.54	6.27
LDPE	10.17	0.33	0.37 *	1.06 *	4.29	3.79

หมายเหตุ * ตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีความแตกต่างทางนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คือ coumaric acid และ ferrulic acid ซึ่งจัดเป็นฟีนอลพื้นฐานที่พบในผนังเซลล์ของหน่อไม้ (Ishii and Hiroi, 1990) โครงสร้างสารทั้งสองตัวมีหมู่ไฮดรอกซิลไม่ได้อยู่ในตำแหน่ง ortho จึงไม่ได้จัดเป็นฟีนอลสับสเตรตโดยตรงของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส แต่สามารถเป็นสับสเตรตของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและแลคเคส ซึ่งยังคงมีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ จึงอาจทำให้สารประกอบฟีนอลทั้งสองตัวยังมีบทบาทในการเปลี่ยนแปลงปริมาณที่พบ

ปริมาณสาร quercetin และ kaempferol ในหน่อไม้ดองไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณ อาจเนื่องมาจากสารทั้งสองตัวเป็นฟีนอลในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีโครงสร้างใหญ่ จึงเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ยาก อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลในผลิตผลตามธรรมชาตินั้นมักมีความแปรปรวนสูง ซึ่งสารประกอบฟีนอลจะเปลี่ยนแปลงไปตามชนิด พันธุ์ อายุ ตลอดจนการเก็บรักษา จากการทดลองของ Kozukue *et al*. 1998 ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลกับการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้สดที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C พบว่า chlorogenic acid ในหน่อไม้ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C มีการเปลี่ยนแปลงสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลในส่วนบนและส่วนกลางของหน่อไม้ โดยมีปริมาณลดลงเมื่อเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น ขณะที่

สาร caffeic acid มีปริมาณเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บ จากการทดลองจะเห็นได้ว่าสภาวะในการเก็บรักษา ตลอดจนกรรมวิธีในการผลิต อาจส่งผลต่อสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่มีบทบาทต่อการเกิดสีน้ำตาลหน่อไม้ดอง จึงแตกต่างจากหน่อไม้สด

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. หน่อไม้ดองที่มีการใช้กรดแอสคอร์บิก ซิตริก และกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงของสีได้ดีกว่าตัวอย่างควบคุม แต่เมื่อเทียบกับตัวอย่างที่มีการใช้สารเมตาไบซัลไฟต์ยังด้อยประสิทธิภาพกว่า การใช้บรรจุภัณฑ์ที่ให้อัตราการซึมผ่านออกซิเจนน้อย สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงของสีได้ดีมากกว่าตัวอย่างควบคุม และ ตัวอย่างที่มีการใช้กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก

2. หน่อไม้ดองมีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาสีน้ำตาลลดลงกว่าหน่อไม้สด โดยไม่สามารถตรวจพบเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส ส่วนเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและแลคเคสลดลงประมาณ 20 และ 10 เท่า ตามลำดับ

3. อัตราการซึมผ่านออกซิเจนในบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกันโดยเรียงจากมากไปน้อยดังนี้ low density polyethylene (LDPE), polypropylene (PP) และ vacuum packaging (V) ตามลำดับ โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนที่แตกต่างกัน ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสี สารประกอบฟีนอลทั้งหมด มาโลนไดอัลดิไฮด์ ลิกนิน และสารประกอบฟีนอลบางชนิดแตกต่างกัน โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนต่ำ (V) สามารถรักษาการเปลี่ยนแปลงสีได้ดีกว่า โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดคงที่ มาโลนไดอัลดิไฮด์ ลิกนิน ต่ำกว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด PP และ LDPE

4. สารฟีนอลิกบางชนิดที่ตรวจพบในหน่อไม้ดอง คือ catechol, caffeic acid, *p*-coumaric acid, ferrulic acid, quercetin และ kaempferol โดยสารประกอบฟีนอลบางชนิดที่มีความแตกต่าง คือ *p*-coumaric acid และ ferrulic acid เท่านั้น แต่ไม่ได้มีความสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลของหน่อไม้ดอง

ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองนี้ พบว่าหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนที่แตกต่างกัน มีการเปลี่ยนแปลงสีน้ำตาล ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด มาโลนไดอัลดิไฮด์ และลิกนิน แตกต่างกัน โดยหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนต่ำ (V) สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ได้มุ่งเน้นไปทางด้านผลของปริมาณออกซิเจนต่อการเปลี่ยนแปลงสีเพียงอย่างเดียว ดังนั้นจึงควรศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านอื่น เช่น เนื้อสัมผัส และองค์ประกอบเคมีอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมอนามัย. 2543. **ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไทย**. กรุงเทพฯ: กองโภชนาการ กรมอนามัย.

จินตนา กิจเจริญวงศ์ และจันทรฉาย แจ้งสว่าง. 2543. การสำรวจปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างในหน่อไม้เปรี้ยว. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**. 42: 173-177.

ณรงค์ นิยมวิทย์. 2531. หน่อไม้และผลิตภัณฑ์จากหน่อไม้. **อาหาร**. 18: 79-94.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. 2538. การเกิดสีน้ำตาลของอาหารและการควบคุมป้องกัน. **อาหาร**. 25: 160-169.

พรรัตน์ สินชัยพานิช และ จันทร์ฉาย แจ้งสว่าง. 2540. การสำรวจปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ตกค้างใน ลำไย. **อาหาร**. 27:100-107.

A.O.A.C. 1995. Official Methods of Analysis, 15th ed. **The Association of Official Analytical Chemists**. Washington, D. C.

Avallone, S., J. P. Guiraud, J. M. Brillouet and C. Teisson. 2003. Enzymatic browning and biochemical alterations in black spots of pineapple [Ananas comosus (L.) Merr.]. **Curr. Micro**. 47: 113-118.

Bolanos, E.N.A. and E. M. Silva. 2004. Effect of polyphenoloxidase and peroxidase activitiy, phenolics, lignin content on the browning of cut jicama. **Postharvest Biol. Technol**. 33:275-283.

Bonilla, E. P., C. C. Akoh, S. Sellappan and G. Krewers. 2003. Phenolic content and antioxidant capacity of muscadine grapes. **J. Agric. Food Chem**. 51: 5497-5503.

Cantos, E., J. C. Espin and F. A. Barberan. 2002. Effect of wounding on phenolic enzymes in six minimally processed lettuce cultivars upon storage. **J. Agric. Food Chem**. 49:322-330.

Cantwell, M.I., G. Peiser. and E. M. Silva. 2002. Induction of chilling injury in jicama (Pachyrhizus erosus) roots: changes in texture, color and phenolics. **Postharvest Biol. And Technol**. 25: 311-320.

Chang, C.H., H. Y. Lin, C. Y. Chang and Y.C. Liu. 2006. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. **J. Food Eng**. 77: 478-485.

Cheng, G. W. and C. H. Crisosto. 1995. Browning potential, phenolic composition, and polyphenol oxidase activity of buffer extracts of peach and nectarine skin tissue. **J. Amer. Soc. Hort. Sci**. 120: 835-838.

Deacon, J. 2008. **The microbial world: Armillaria mellea and other wood-decay fungi.** Institute of cell and molecular biology**.** Available Source: http://www.biology.ed.ac.uk/research/groups/jdeacon/microbes/armill.htm, March 27, 2007

Dhavises, G. 1972. **Microbial studies during the picking of the shoot of bamboo, *Bambusa arundinacea,* Wild., and of pak sian, *Gynandropsis pentaphylla***. M.S. Thesis, Kasetsart University, Bangkok.

Duan, X., X. Su, Y. You, H. Qu, Y. Li and Y. Jiang. 2007. Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvest Longang fruit in relation to phenolic metabolism. **Food Chem**. 104:571-576.

Dziezak, J.D. 1986. Preservative system in foods, antioxidants and antimicrobial agent. **Food Technol**. 40: 94-136.

Ferrer, O.J., J. A. Koburger, W. S. Otwell, R. A. Gleeson, B. K. Simpson and M.R. Marshall. 1989. Phenoloxidase from the cuticle of florida spiny lobster *(Panulirus argus)*: mode of activation and characterization. **J. Food Sci**. 54: 63-67.

Gorny, J. R., B. H. Pierce, R. A. Cifuentes and A. A. Kader. 2002. Quality changes in fresh-cut pear slices as affected by controlled atmospheres and chemical preservatives. **Postharvest Biol. Technol**. 24: 371-278

Homma, S. and M. Fujimaki. 1982. Effect of water activity on lipid oxidation and browning of Kori-tofu. **Agric. Biol. Chem**. 46: 301-304.

Huang, L.C., Y. L. Lee, B. L. Huang, C. I. Kuo and J.F. Shaw. 2002. High polyphenol oxidase activity and low titratable activity in browning bamboo tissue culture. **In Vitro Cell. Dev. Biol**. 38: 358-365.

Huang, P.Y., H. Hart, H. Lee and L. Wicker. 1990. Enzymatic and color changes during postharvest storage of lychee fruit**. J. Food Sci**. 55: 1763-1763.

Ishii, T. and T. Hiroi. 1990. Linkage of phenolic acids to cell-wall polysaccharides of bamboo shoot. **Carbohydrate Research**. 206: 297-310.

Jeong, H. L., W. J. Jin, D. M. Kwang and J. P. Kee. 2008. Effects of anti-browning agents on polyphenoloxidase activity and total phenolics as related to browning of fresh-cut 'Fuji' apple. **ASEAN Food Journal.** 15: 79-87.

Jiang, Y. and J Fu. 1998. Inhibition of polyphenol oxidase and the browning control of litchi fruit by glutathione and citric acid. **Food Chem**. 62: 49-52

Jiang, Y., X. Duan, D. Joyce, Z. Zhang and J. Li. 2004. Advances in understanding of enzymatic browning in harvested litchi fruit. **Food Chem**. 88: 443-446.

Ketsa, S. and S. Atantee. 1998. Phenolic, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. **Postharvest Biol. Technol**.14: 117-124.

Kim, J. G., Y. Luo and K. C. Gross. 2004. Effect of package film on the quality of fresh-cut salad savoy. **Postharvest Biol. Technol**. 32: 99-107.

Kozukue, E., Kozukue, N., and H. Tsuchida. 1998. Identification and changes of phenolic compounds in bamboo shoot during storage at 20 ^{o}C. **J. Japan. Soc. Hort. Sci**. 67: 805-811.

Langdon, Thomas. 1987. Prevention of browning in fresh prepared potatoes without the use of sulfiteing agents. **Food Technol**. 41: 64-67.

Lattanzio, V., A. Cardinali, D. Venere and V. Palmieri. 1994. Browning phenolmena in stored artichoke (Cynara scolymus L.) heads: enzymic or chemical reactions. **Food Chem**. 50: 1-7.

Lertsiri, S., K. Phontree, W. Thepsingha and A. Bhumiratana. 2003. Evidence of enzymatic browning due to laccase-like enzyme during mash fermentation in Thai soybean paste. **Food Chem**. 80: 171-176.

Leucuta, S., L. Vlase, S. Gocan, L. Radu and C. Fodorea. 2005. Determination of phenolic compounds from *Geranium sanguineum* by HPLC. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies.** 28: 3109-3117.

Lourenco, E.J., V.A. Neves. and M.A. Da Silva. 1992. Polyphenol oxidase from sweet potato: purification and properties. **J. Agric. Food chem.**. 49: 2369-2373.

Marecik, R, B. and J. Czapski. 2007. The effect of seleced compounds as inhibitors of enzymatic browning and minimally processed apples. **Acta Sci. Pol., Technol. Aliment**. 6: 37-49.

Marrero, A. and A.A. Kader. 2006. Optimal temperature and modified atmosphere for keeping quality of fresh-cut pineapples. **Postharvest Biol. Technol**. 39: 163-168.

Marshall, M., J. Kim. And C. Wei. 2000. Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods. **FAO.** Available Source: http://www.fao.org/ag/ags/agsi/ENZYMEFINAL/Enzymatic%20Browning.html

Martinez, M.V. and J.R. Whitaker.1995. The biochemistry and control of enzymatic browning.**Trends in Food Sci. Technol,** 6: 195-200.

Mcauley, J. A., M. E. Kunkel and J. C. Actor. 1987. Relationships of available lysine to lignin, color and protein digestibility of selected wheat-based breakfast cereals. **J. Food Sci**. 52: 1580-1583.

Mcguire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurement. **Hort. Sci**. 27: 1254-1255.

Meakawa, T., S. Kosuge, S. Sakamoto, S. Funayama, K. Komiyama and K. Ohtsuki. 1999. Biochemical characterization of 60S acidic ribosomal P proteins associated with CK-II from bamboo shoots and potent inhibitors of their phosphorylation in vitro. **Biological & pharmaceutical bulletin** 22: 667-673.

Murata, M., M. Sugiura and Y. Sonokawa. 2002. Properties of chlorogenic acid quinone: relationship between browning and the formation of hydrogen peroxide from a quinone solution. **Bios. Biotechnol. Biochem.** 66: 2525-2530.

Mustafa M., L. Muniglia, B. Rovel and M. Girardin. 2005. Phenolic colorants obtained by enzymatic synthesis using a fungal laccase in a hydro-organic biphasic system. **Food Res. In.** 38: 995-1000.

Nafussi, B., S. B. Yehoshua, V. Rodov, J. Peretz, B. K. Ozer and G. D'hallewin. 2001. Mode of Action of Hot-Water Dip in Reducing Decay of Lemon Fruit**. J. Agric. Food Chem.** 49: 107-113.

Osuga, D. T and J. R. Whitaker. 1995. Mechanism of some reducing compounds that inactivate polyphenol oxidase, pp. 210-222. *In* Lee, C. Y. and J. R. Whitaker, eds. **Enzymatic browning and its prevention.** ACS symposium series. Washington, D.C.

Pena, L. T. and Y. M. Jiang. 2003. Effects of chitosan coating on shelf life andquality of fresh-cut chinese water chestnut. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol**. 36: 359-364.

Pizzocaro, F., D. Torreggiani and G. Gilardi. 1993. Inhibition of apple polyphenoloxidase (PPO) by ascorbic acid, citric acid and sodium chloride. **J. Food Process. Preserv**. 17:21–30.

Robertson, G.L. 2000. **Food packaging principles and practice**. Marcel Dekker Inc. New York .

Rocha, A.M.C.N. and A.M.M.B. Morais. 2005. Characterization of polyphenoloxidase (PPO) extracted from "Jonagored" apple. **Food Control**. 12: 85-90.

Rocculi, P., S. Romani and M. D. Rosa. 2004. Evaluation of physico-chemical parameters of minimally processed apples packed in non-conventional modified atmosphere. **Food Res. Int.** 37:329-335.

Santerre, C. R., J. N. Cash and D. J. Vannorman. 1988. Ascorbic acid/citric acid combination in the processing of frozen apple slices. **J. Food Sci**. 53:1713–1716.

Sapers, G.M. and R.L. Miller. 1992. Enzymatic browning control in potato with ascorbic acid-2-phosphatase. **J. Food Sci**. 57: 1132-1135.

Sapers, G.M., K.B. Hicks, J.G. Philips, L. Garzarella, D.L. Pondish, R.M. Matulaitis, T.J. McCormack, S.M. Sondey, P.A. Seib and Y.S El-Ataway. 1989. Control of enzymatic browning in apple with ascorbic acid derivatives, polyphenol oxidase inhibitors, and complexing agents. **J. Food Sci**. 54: 997-1002-1012.

Shen, Q., F. Kong and Q. Wang. 2006. Effect of modified atmosphere packaging on the browning and lignification of bamboo shoot. **J. Food Eng**. 77:348-354.

Su, X., Y. Jiang, L. Duan., H. Lui, Y. Li, W. Lin and Y. Zheng. 2005. Effects of pure oxygen on the rate of skin browning and energy status in longan fruit**. Food Technol. Biotechnol**. 43: 359-365.

Takiguchi, A. 1999. The effect of lipid oxidation in frozen Pulverize Niboshi (boiled and dried sardine) on color browning and formation of free amino acid. **Food Sci. Technol. Res**.5: 204-209.

Tamaki, M., M. Muratab and S. Homma. 2007. Characterization of the brown pigment in sauteed onion by metal-chelating Sepharose 6B column chromatography and microbial decolorization. **Lebensm.-Wiss. U.-Technol**. 40: 144-150.

Tao, F., M. Zhang and H. Yu. 2007. Effect of vacuum cooling on physiological changes in the antioxidant system of mushroom under different storage conditions. **J. Food Eng**. 79: 1032-1039.

Teixeira, G.H.A., J. F. Durigan, R. E. Alves and T. J. O'Hare. 2007. Response of minimally processed carambola to chemical. **Postharvest Biol. Technol**. 38:

Tian, S. P., A. L. Jiang, Y. Xu and Y. S. Wang. 2004. Responses of physiology and quality of sweet cherry fruit to different atmospheres in storage. **Food Chem**. 87: 43-49.

Valentines, M. C., R. Vilaplana, T. J. Usall and C. Larrigaudi`ere. 2005. Specific roles of enzymatic browning and lignification in apple disease resistance. **Postharvest Biol. Technol**. 36: 227-234.

Vamos, V.L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. **CRC Crit. Rev. Food Sci Nutr**. 15: 49-127.

Whetten, E. and R. Sederoff. 1995. Lignin biosynthesis. **Plant cell.** 7: 1001-1013.

Yang, Y, J., L. M. Cheng and Z. H. Liu. 2007. Rapid effect of cadmium on lignin biosynthesis in soybean roots. **Plant Sci**. 172: 632-639.

Zakour, O.P. 2001. Vacuum packaging (VP) and reduced oxygen packaging (ROP) of foods. **Venture a Newsletter for the Small Scale Food Entrepreneur**. 3: 1-8.

Zerdine, K. and B. Steele. 2007. Predicting of shelf life oxygen sensitive food using new technologies. **Food Sci. Aus**. 9: 97-101.

Zhang, D., P. C. Quantick and J. M. Grigor. 2000. Changes in phenolic compounds in Litchi (Litchi chinensis Sonn.) fruit during postharvest storage. **Postharvest Biol. Technol.** 19: 165-172.

Zheng, X. and S. Tian. 2006. Effect of oxalic acid on control of postharvest browning of litchi fruit. **Food Chem**. 96: 519-523.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์และเคมี

1. การสกัดเอนไซม์ (Bolanos and Silva, 2004)

1.1. สารเคมี

1.1.1. polyvinyl pyrrolidone (PVPP)

1.1.2. 0.05 M Posphate buffer pH 7

1.2. วิธีการ

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างหน่อไม้ 10 กรัมแล้วมาปั่นผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ร่วมกับสาร polyvinyl pyrrolidone (PVPP) แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 26,000xg เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C นำส่วนใสไปวัดกิจกรรมเอนไซม์ พอลิฟีนอลออกซิเดส เปอร์ออกซิเดส และแลคเคส ต่อไป

2. การตรวจวัดกิจกรรมพอลิฟีนอลออกซิเดส (ดัดแปลงมาจาก Jiang *et al*., 1998)

1.1. สารเคมี

1.1.1 catechol

1.1.2 posphate buffer pH 7 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

1.2. วิธีการ

เติมสารสกัดเอนไซม์ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 1 มิลลิลิตร กิจกรรมของเอนไซม์เริ่มต้นเมื่อเติมสาร catechol ซึ่งเป็นสับสเตรต 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410 nm โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ การเปลี่ยนแปลงของค่าดูดกลืนแสง 0.1 /นาที

3. การตรวจวัดกิจกรรมเปอร์ออกซิเดส (Bolanos and Silva, 2004)

1.1. สารเคมี

1.1.1 2,2'azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS radical)

1.1.2 posphate buffer pH 6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

1.1.3 peroxide

1.2. วิธีการ

เติมสารสกัดเอนไซม์ 0.05 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 1.34 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสาร 2,2'-azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS radical) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ 0.03 มิลลิลิตร กิจกรรมของเอนไซม์เริ่มต้นเมื่อเติมสารเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 0.092 มิลลิโมลาร์ 0.08 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 414 nm โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ การเปลี่ยนแปลงของค่าดูดกลืนแสง 0.1 /นาที

4. การตรวจวัดกิจกรรมแลคเคส (Yang *et al*., 2007)

1.1. สารเคมี

1.1.1 2,2'azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS radical)

1.1.2 acetate buffer pH 5 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

1.2. วิธีการ

เติมสารสกัดเอนไซม์ 0.05 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5 ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ 0.175 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสาร 2,2'-azino-bis-(3-ethyl-benzthiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS radical) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ 30 ไมโครลิตร กิจกรรมของเอนไซม์ถูกคำนวณจากการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm ภายหลังจากการเก็บไว้ 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ เอนไซม์เกิดปฏิกิริยา

ออกซิเดชันกับสารABTS radical 1 ไมโครโมล ต่อนาที โดยมีค่า สัมประสิทธิ์ของการดูดกลืนแสงเท่ากับ 36 ต่อมิลลิโมลาร์และเซนติเมตรที่ความยาวคลื่น 420 nm

5. การตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Chang *et al,*. 2006)

1.1. สารเคมี

1.1.1 folin–ciocalteu reagent

1.1.2 sodium carbonate

1.1.3 gallic acid

1.1.4 DI water

1.2. วิธีการ

เติมสารสกัดสกัดประกอบฟีนอล 0.125 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปเติมน้ำปราศจากไอออน0.5 มิลลิลิตร แล้วเติมสาร folin–ciocalteu reagent 0.125 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7 w/v แล้วทิ้งไว้ 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

6. การตรวจสอบปริมาณความชื้น (A.O.A.C, 1995)

ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดมาประมาณ 2-5 กรัม ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 105 ^{o}C นาน 4 ชั่วโมง ให้ได้น้ำหนักคงที่ และคำนวณหาปริมาณความชื้นจากน้ำหนักของตัวอย่างที่หายไป จากสูตร

$$\text{ร้อยละปริมาณความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป X 100}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

8. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (A.O.A.C, 1995)

ใช้ชุดวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนยี่ห้อ Buchi

1.1 สารเคมี

1.1.1 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

1.1.2 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4.5H_2O$)

1.1.3 โพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4)

1.1.4 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นไม่น้อยกว่าร้อยละ 32

1.1.5 สารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริก 0.1 นอร์มัล (0.05 โมลาร์)

1.1.6 สารละลายกรดบอริกร้อยละ 2

1.1.7 อินดิเคเตอร์ (0.02 g. methyl red + 0.1 g. bromocresol green ใน ethanol 100 มิลลิลิตร)

1.2. วิธีการ

1.2.1 ชั่งน้ำหนักให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนใส่ลงในหลอดย่อยโดยไม่ให้เปื้อนข้างหลอด และเติม K_2SO_4 10 กรัม และ $CuSO_4.5H_2O$ 0.5 กรัม ใส่ glass bead 2-3 เม็ด

1.2.2 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงในหลอดย่อย 20-25 มิลลิลิตร ต่อหลอด ปิดฝาและยกใส่ในเตาย่อย ต่อสายชุดจับไอกรดกับฝาหลอดย่อย

1.2.3 เปิดสวิตซ์เครื่องย่อยและชุดจับไอกรด ย่อยจนได้สารละลายใส จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น

1.2.4 เติมน้ำกลั่น 60-75 มิลลิลิตร. ก่อนนำไปกลั่น

1.2.5 เปิดสวิตซ์เครื่องกลั่น เปิดน้ำเข้าคอนเดนเซอร์ อุ่นเครื่องกลั่นโดยต่อหลอดที่มีน้ำกลั่นอยู่ประมาณครึ่งหลอด กลั่นเป็นเวลา 2 นาที โดยใช้ฟลาสก์เปล่ารองรับ

1.2.6 กลั่นตัวอย่างโดยนำหลอดย่อยที่เตรียมไว้จากข้อ 4 ต่อเข้ากับเครื่องกลั่นและใช้ฟลาสก์ที่บรรจุ Boric acid ร้อยละ 2 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ซึ่งหยดอิดิเคเตอร์ 2-3 หยด สำหรับรองรับสิ่งที่กลั่นได้

1.2.7 กดปุ่มเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เครื่องกลั่น โดยเติมด่างเป็น 3 เท่าของกรด

1.2.8 ตั้งเวลาที่ใช้ในการกลั่น และกดปุ่ม start เครื่องจะทำการกลั่น เมื่อครบเวลาให้นำไปไทเทรตกับ 0.1 นอร์มอล H_2SO_4 จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเทา บันทึกปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดซัลฟิวริกที่ใช้ในการไทเทรต นำไปคำนวณตามสูตร

1.2.9 ก่อนกลั่นตัวอย่างต่อไปต้องล้างระบบก่อนทุกครั้ง เมื่อกลั่นครบทุกตัวอย่างแล้วทำการกลั่นล้างระบบ และล้างทำความสะอาด drip tray

1.2.10 ปิดสวิตซ์ ปิดก๊อกน้ำ เช็ดทำความสะอาดเครื่องทั้งหมด

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(V_1-V_2) \times N \times f \times 1400}{E \text{ mg}}$$

$$\% \text{ Protein} = \%N_2 \times 6.25$$

โดย V_1 = consumption of acid (titrate)

V_2 = consumption of acid, blank determination

N = normality of the acid

f = factor of the acid

E = quantity of sample in mg or ml

9. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (A.O.A.C, 1995)

ใช้ชุดวิเคราะห์สกัดไขมัน SOXTEC

1.1. สารเคมี

1.1.1 petroleum ether

1.2. วิธีการ

1.2.1 เปิดสวิทซ์เครื่อง Service unit

1.2.2 เปิดสวิทซ์เครื่องทำความเย็น

1.2.3 บดตัวอย่างที่จะวิเคราะห์ให้ละเอียด

1.2.4 ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 3 กรัม (W_3) บนกระดาษกรองและห่อให้มิดชิด จากนั้นนำมาใส่ลงใน thimble

1.2.5 นำ thimbles ใส่ลงใน Soxtec system HT โดยใช้ วงแหวนเหล็กสวม

1.2.6 นำ extraction cup ไปอบและชั่งน้ำหนัก (W_2)

1.2.7 เติมตัวทำละลายลงใน extraction cup ประมาณ 50-75 มิลลิลิตร

1.2.8 นำ extraction cup เข้าไปใน soxtec system HT พร้อมทั้งโยกคันโยกลง

1.2.9 เลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง boiling และสกัดเป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นเลื่อนคันโยกมาที่ ตำแหน่ง rinsing ทำการ rinsing เป็นเวลา 30-45 นาที

1.2.10 ระเหยตัวทำละลายพร้อมกับปิด Condenser valve และเปิด สวิทซ์ของอากาศ

1.2.11 นำ extraction cup ไปอบที่อุณหภูมิ 100 ^{o}C เป็นเวลา 30 นาที

1.2.12 ทิ้ง extraction cup ให้เย็นใน desiccater ชั่งน้ำหนัก (W_1) คำนวณร้อยละของปริมาณไขมัน หรือน้ำมันตามสมการ

$$\%\text{Fat / Oil} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_3}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่าง + extraction cup

W_2 = น้ำหนัก extraction cup

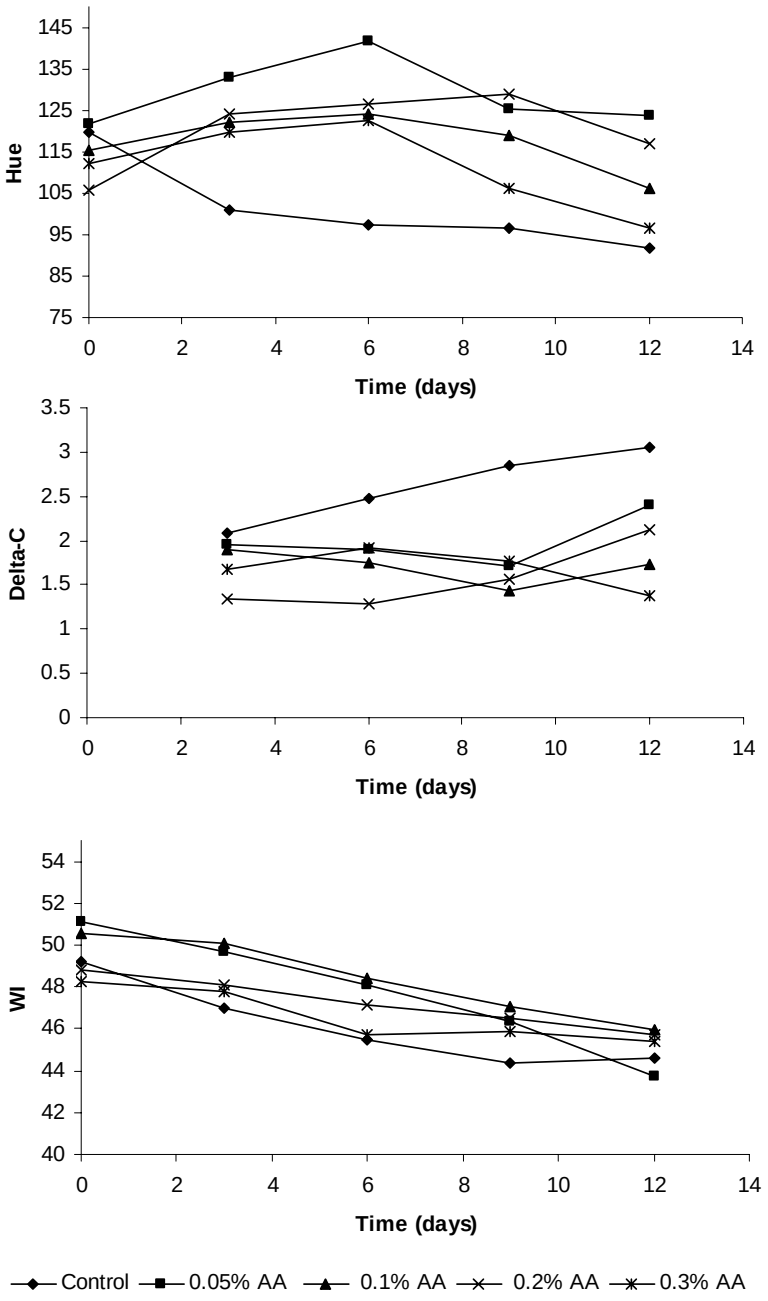
W_3 = น้ำหนักตัวอย่าง

ภาคผนวก ข

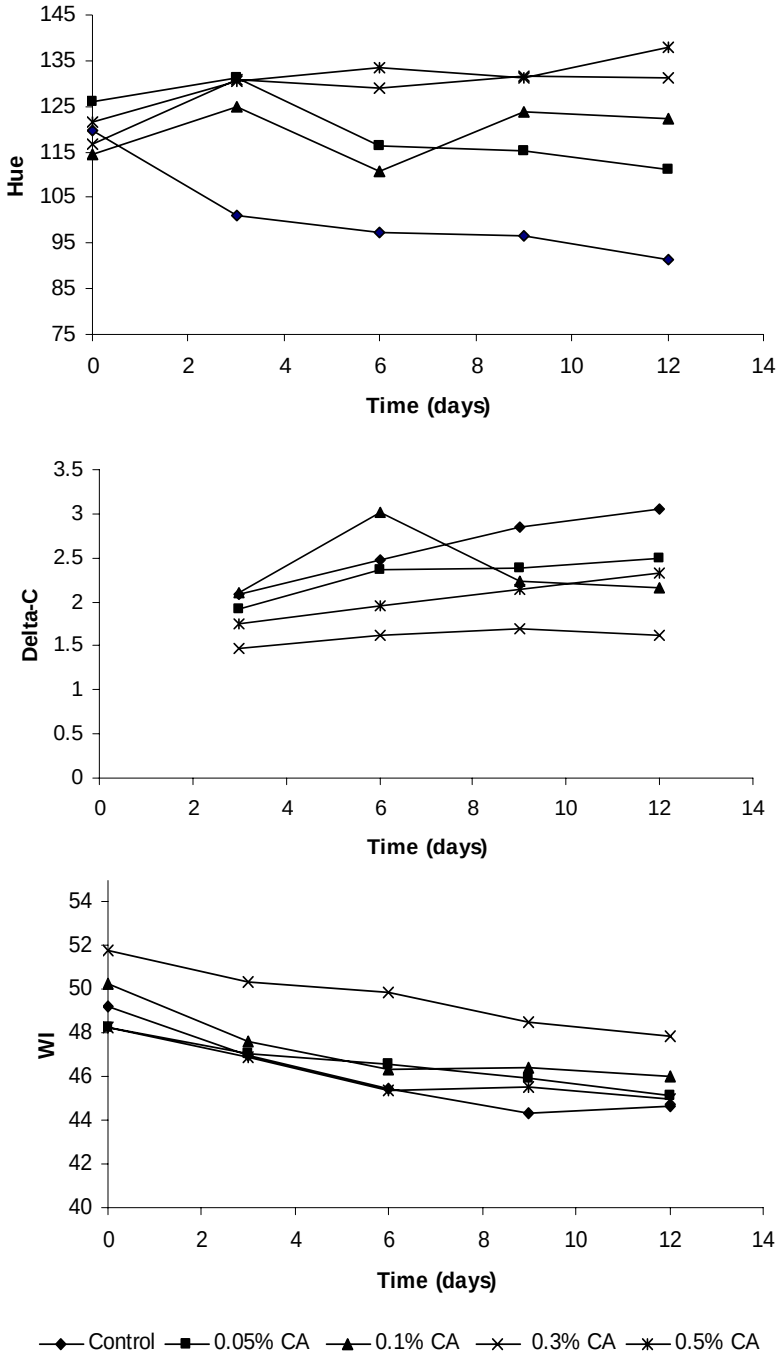
ภาคผนวก ข

สีและองค์ประกอบของหน่อไม้ดอง

ภาพผนวกที่ ข1 สีของหน่อไม้ดองที่เป็นที่ต้องการและไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค



ภาพผนวกที่ ข2 ผลของความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกต่อการเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ของหน่อไม้ดอง โดย control ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล, AA 0.05-0.3% คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่เติมลงไป



ภาพผนวกที่ ข3 ผลของความเข้มข้นของกรดซิตริกต่อการเปลี่ยนแปลงสีของหน่อไม้ดอง ต่อการเปลี่ยนแปลงค่า hue, delta-C และ white index (WI) ของหน่อไม้ดอง โดย control ตัวอย่างควบคุมที่กรดซิตริก, CA 0.1-0.5% คือ ความเข้มข้นของซิตริกที่เติมลงไป

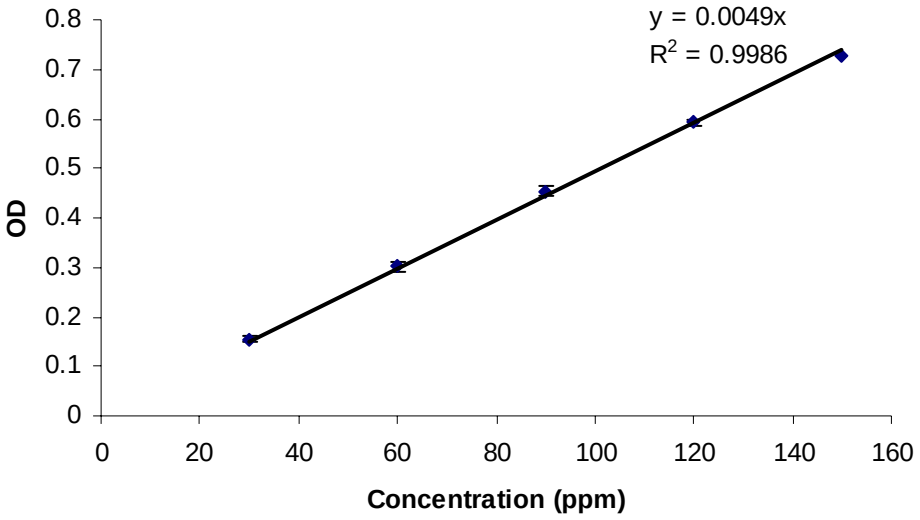
ตารางผนวกที่ ข1 องค์ประกอบของหน่อไม้ดอง

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ความชื้น	ร้อยละ 93.08% ±0.54
โปรตีน	ร้อยละ0.67 ± 0.03
ไขมัน	ร้อยละ0.21 ± 0.01
a_w	0.871 ± 0.002
pH	3.32 ± 0.18

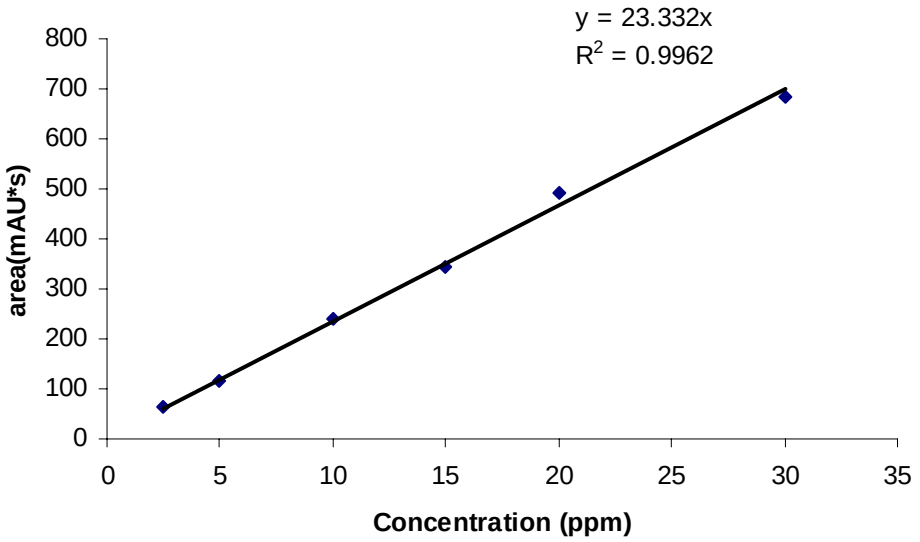
ภาคผนวก ค

ภาคผนวก ค

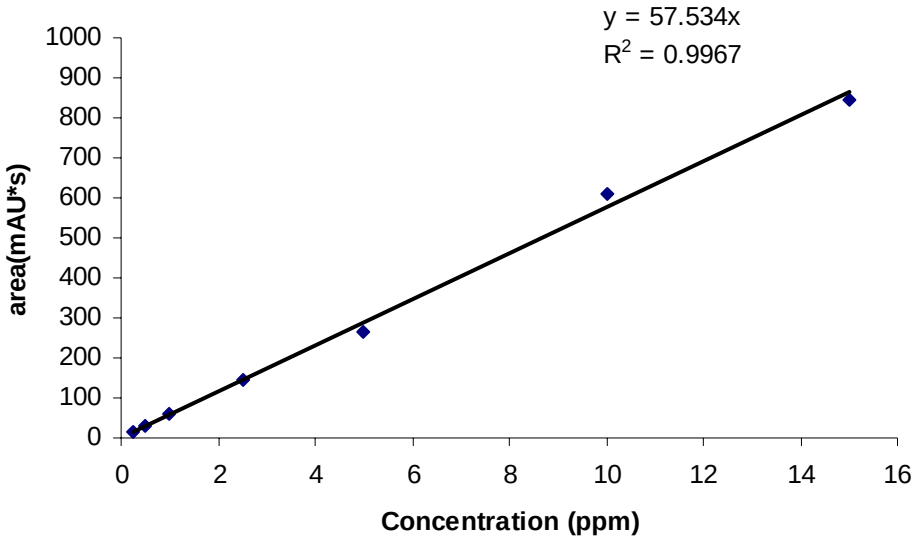
กราฟมาตราฐาน



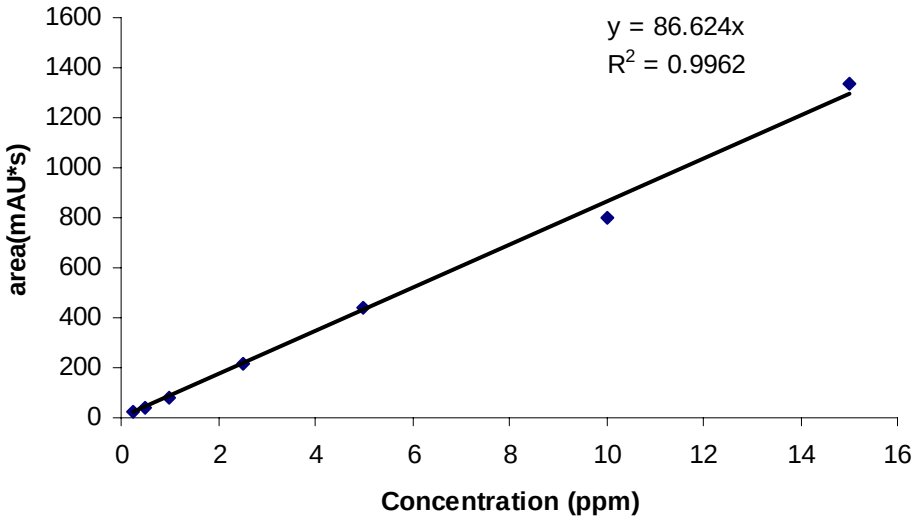
ภาพผนวกที่ ค1 กราฟมาตรฐานของสาร gallic acid ของสารประกอบฟีนอลทั้งหมด



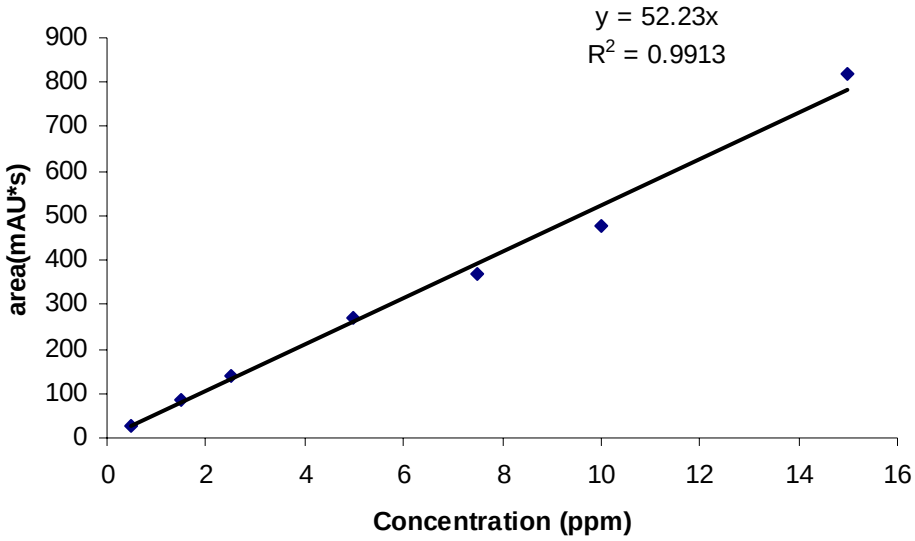
ภาพผนวกที่ ค2 กราฟมาตรฐานของสาร catechol



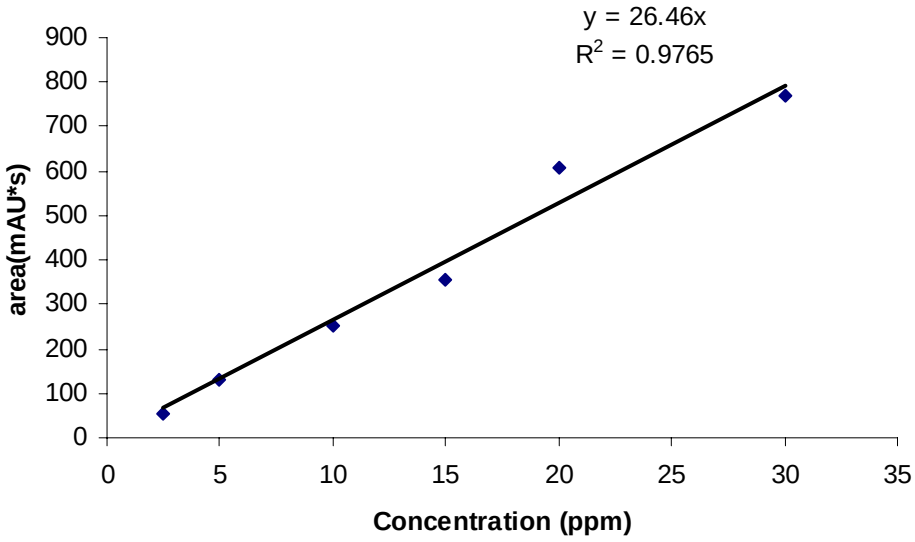
ภาพผนวกที่ ค3 กราฟมาตรฐานของสาร caffeic acid



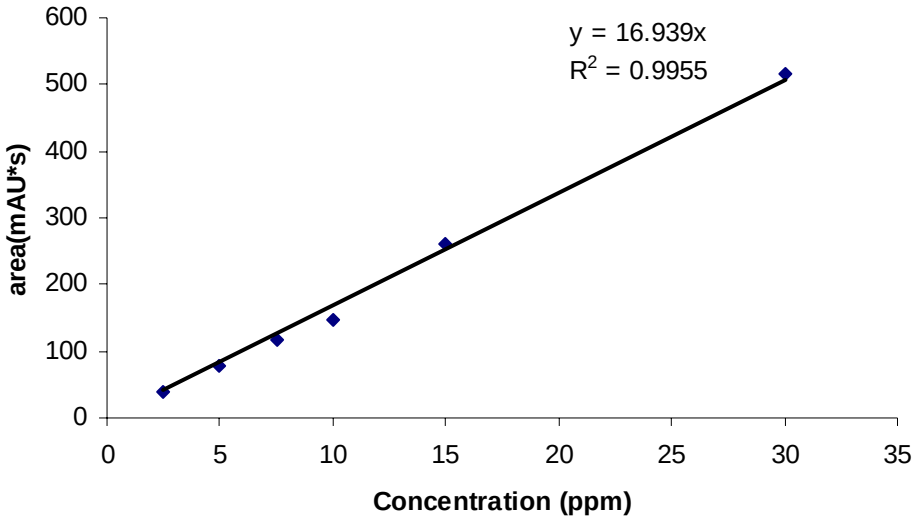
ภาพผนวกที่ ค4 กราฟมาตรฐานของสาร *p*-coumaric acid



ภาพผนวกที่ ค5 กราฟมาตรฐานของสาร ferrulic acid



ภาพผนวกที่ ค6 กราฟมาตรฐานของสาร quercetin



ภาพผนวกที่ ค7 กราฟมาตรฐานของสาร kaempferol

ภาคผนวก ง

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางผนวกที่ ง1 การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า hue ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	23830.512(a)	29	821.742	13.261	.000
Intercept	11744056.732	1	11744056.732	189524.103	.000
time	4808.098	4	1202.024	19.398	.000
trt	14834.246	5	2966.849	47.879	.000
time * trt	3997.418	20	199.871	3.225	.000
Error	67542.975	1230	61.966		
Total	12278106.377	1260			
Corrected Total	91373.488	1259			

ตารางผนวกที่ ง2 การวิเคราห์ทางสถิติค่า delta-C ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	333.287(a)	29	11.493	12.344	.000
Intercept	2638.599	1	2638.599	2834.027	.000
time	47.179	4	11.795	12.668	.000
trt	196.987	5	39.397	42.315	.000
time * trt	98.596	20	4.930	5.295	.000
Error	1014.836	1230	.931		
Total	3959.114	1260			
Corrected Total	1348.123	1259			

ตารางผนวกที่ ง3 การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า white index (WI) ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่มีการเติมกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก สารเมตาไบซัลไฟต์จากทางการค้า ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมสารชนิดใด (control) และหน่อไม้ดองที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิด V

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6510.570(a)	29	224.502	5.293	.000
Intercept	3532821.304	1	3532821.304	83294.419	.000
time	1814.728	4	453.682	10.697	.000
trt	4129.348	5	825.870	19.472	.000
time * trt	526.261	20	26.313	.620	.900
Error	46230.891	1230	42.414		
Total	3684478.482	1260			
Corrected Total	52741.461	1259			

ตารางผนวกที่ ง4 การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า hue ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	58556.916(a)	14	4182.637	26.310	.000
Intercept	5597880.893	1	5597880.893	35211.839	.000
time	2707.221	4	676.805	4.257	.002
trt	48858.106	2	24429.053	153.664	.000
time * trt	8719.000	8	1089.875	6.856	.000
Error	95545.320	601	158.977		
Total	5851203.990	616			
Corrected Total	154102.235	615			

ตารางผนวกที่ ง5 การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า delta-C ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	207.188(a)	14	14.799	13.346	.000
Intercept	2473.546	1	2473.546	2230.731	.000
time	84.646	4	21.162	19.084	.000
trt	97.354	2	48.677	43.899	.000
time * trt	38.050	8	4.756	4.289	.000
Error	666.419	601	1.109		
Total	3301.754	616			
Corrected Total	873.607	615			

ตารางผนวกที่ ง6 การวิเคราห์ทางสถิติ ค่า white index (WI) ของหน่อไม้ดองในระหว่างการเก็บรักษาที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	18130.247(a)	14	1295.018	28.281	.000
Intercept	1407908.005	1	1407908.005	30745.875	.000
time	4733.880	4	1183.470	25.845	.000
trt	8024.004	2	4012.002	87.614	.000
time * trt	5372.363	8	671.545	14.665	.000
Error	28161.938	615	45.792		
Total	1454200.190	630			
Corrected Total	46292.185	629			

ตารางผนวกที่ ง7 การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงสารประกอบฟีนอลระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.212(a)	14	.015	43.220	.000
Intercept	15.592	1	15.592	44423.537	.000
time	.004	4	.001	3.150	.016
trt	.172	2	.086	245.734	.000
time * trt	.037	8	.005	13.004	.000
Error	.057	161	.000		
Total	16.158	176			
Corrected Total	.269	175			

ตารางผนวกที่ ง8 การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณมาโลนไดอัลดิไฮด์ระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.652(a)	14	.332	4.953	.000
Intercept	121.301	1	121.301	1807.985	.000
time	2.379	4	.595	8.864	.000
trt	2.373	2	1.186	17.682	.000
time * trt	.115	8	.014	.215	.988
Error	10.802	161	.067		
Total	135.777	176			
Corrected Total	15.454	175			

ตารางผนวกที่ ง9 การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณลิกนินระหว่างการเก็บรักษาหน่อไม้ดองในบรรจุภัณฑ์ชนิดต่างๆ

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7932.489(a)	5	1586.498	3.277	.011
Intercept	248580.655	1	248580.655	513.491	.000
trt	6933.685	2	3466.842	7.161	.002
time	545.711	1	545.711	1.127	.292
trt * time	453.093	2	226.547	.468	.628
Error	31950.575	66	484.100		
Total	288463.718	72			
Corrected Total	39883.063	71			

ตารางผนวกที่ ง10 การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของสาร *p*-coumaric acid

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	7932.489(a)	5	1586.498	3.277	.011
Intercept	248580.655	1	248580.655	513.491	.000
trt	6933.685	2	3466.842	7.161	.002
time	545.711	1	545.711	1.127	.292
trt * time	453.093	2	226.547	.468	.628
Error	31950.575	66	484.100		
Total	288463.718	72			
Corrected Total	39883.063	71			

ตารางผนวกที่ ง11 การวิเคราห์ทางสถิติ การเปลี่ยนแปลงปริมาณของสาร ferrulic acid

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9246.323(a)	5	1849.265	3.437	.008
Intercept	730806.245	1	730806.245	1358.277	.000
trt	6271.869	2	3135.935	5.828	.005
time	2433.345	1	2433.345	4.523	.037
trt * time	541.108	2	270.554	.503	.607
Error	35510.573	66	538.039		
Total	775563.142	72			
Corrected Total	44756.896	71			

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจารุณี จึงสถาปัตย์ชัย
วัน เดือน ปี ที่เกิด	18 กรกฎาคม 2524
สถานที่เกิด	จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษาจาก สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ปีการศึกษา 2547 ศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ