บทที่ 2
ทบทวนเอกสาร

2.1 ลักษณะทั่วไปของลำไย

ลำไย (*Dimocarpus longan* Lour.) จัดอยู่ในตระกูล Sapindaceae ซึ่งเป็นไม้ผลกึ่งเมืองร้อน และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย ลำไยที่ปลูกในแถบภาคเหนือมีหลายสายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดอ พันธุ์แห้ว พันธุ์ชมพู และพันธุ์เบี้ยวเขียว เป็นต้น โดยพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุดคือ พันธุ์ดอ โดยลำไยพันธุ์ดอมีลักษณะประจำพันธุ์คือ เป็นลำไยพันธุ์เบาสามารถออกดอกและเก็บผลก่อนพันธุ์อื่น ติดผลค่อนข้างสม่ำเสมอ ยอดอ่อนมีทั้งยอดสีเขียวและสีแดง ลำต้นแข็งแรง เปลือกผลหนา ผลมีลักษณะเป็นทรงผลกลมแป้น เบี้ยวยกบ่าข้างเดียว ผิวสีน้ำตาล เนื้อค่อนข้างเหนียวสีขาวขุ่น มีรสหอมหวานไม่แฉะ มีปริมาณน้ำตาลประมาณ 20% เมล็ดขนาดใหญ่ปานกลาง รูปร่างแบนเล็กน้อย (พิชัย, 2531; พาวิน, 2543)

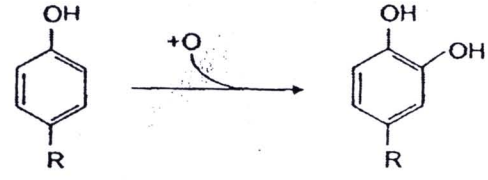
2.2 ปัญหาการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย

การเปลี่ยนสีของเปลือกผลจากสีน้ำตาลอมเหลืองเป็นสีน้ำตาลคล้ำอย่างรวดเร็วหรือ browning ภายหลังการเก็บเกี่ยว นับว่าเป็นปัญหาที่สำคัญของลำไยซึ่งกระทบต่อคุณภาพผล ทำให้ราคาลดต่ำลง อายุการเก็บรักษาสั้นลงและไม่เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ (Sardsud *et al.*, 1994) โดยผลที่โตเต็มที่แล้วจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลคล้ำเร็วกว่าผลที่ยังไม่โตเต็มที่ แม้การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเป็นเพียงการเปลี่ยนแปลงเฉพาะลักษณะภายนอกและมักไม่มีผลโดยตรงต่อรสชาติของผลก็ตาม (Menzel and Waite, 2005) โดยการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลมักจะเกี่ยวข้องกับการสูญเสียน้ำ การเสื่อมสภาพของผล อาการสะท้านหนาว หรือการถูกทำลายโดยโรคและแมลง โดยกลไกทางชีวเคมีของการเกิดสีน้ำตาลเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลที่พบมากในเปลือกผลทำให้เปลือกผลเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาลคล้ำ โดยมีเอนไซม์เร่งปฏิกิริยาที่สำคัญ คือ โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase; POD) (Jiang, 1999; Jiang and Li, 2001)

เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO)

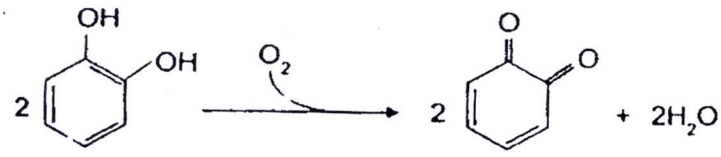
เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) มีชื่อตามระบบการเรียกชื่อของเอนไซม์ว่า monophenol dihydroxyphenylalanine: oxygen oxidoreductase (Anderson, 1968; Mayer and Harel, 1979) และมีชื่อสามัญเรียกทั่วไปหลายชื่อตามสารตั้งต้นของปฏิกิริยานั้นๆ เช่น cresolase, catecholase, phenolase และ tyrosinase (Mathew and Parpia, 1971; Mayer and Harel, 1979) ทั้งนี้ระบบการตั้งชื่อของเอนไซม์มีการเปลี่ยนแปลงชื่อไปจากเดิมเพื่อความจำเพาะปฏิกิริยายิ่งขึ้น เช่น monophenol monooxygenase เปลี่ยนเป็น cresolase (EC 1.14.18.1) และ diphenol oxidase เปลี่ยนเป็น catecholase (EC 1.10.3.1) เป็นต้น (Mayer, 1987)

เอนไซม์ PPO มีโลหะทองแดงเป็นองค์ประกอบ โดยในพืชทั่วไปพบเอนไซม์ PPO อยู่ในคลอโรพลาสต์หรือพลาสติดอื่นๆ แยกต่างหากจากสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สะสมอยู่ภายในแวคิวโอล เมื่อเซลล์พืชถูกทำลายลงเอนไซม์และสารตั้งต้นนี้จึงมีโอกาสสัมผัสกันและเกิดปฏิกิริยาพื้นฐาน 2 อย่าง คือ ไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) ของสารประกอบฟีนอล ณ ตำแหน่งออร์โธ (ortho) โดยเอนไซม์ cresolase ซึ่งใช้ออกซิเจนเป็นสารตั้งต้นร่วม ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบไดฟีนอล (diphenol) (ภาพ 1) เรียกปฏิกิริยานี้ว่า monophenol oxidase activity ส่วนอีกปฏิกิริยาได้แก่ ดีไฮดรอกซิเลชัน (dehydroxylation) ของสารประกอบไดฟีนอลใช้ออกซิเจนเป็นสารตั้งต้นร่วมเช่นกัน เพื่อสร้างออร์โธ-ควิโนน (*o*-quinones) โดยเอนไซม์ catecholase (ภาพ 2) เรียกปฏิกิริยานี้ว่า diphenol oxidase activity ต่อจากนั้นออร์โธ-ควิโนนจึงเกิดการรวมตัวกับสารในกลุ่มฟีนอลอื่นๆ โดยกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน (polymerization) ได้เป็นสารสีน้ำตาลเกิดขึ้น (จริงแท้, 2549) ทั้งนี้ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ PPO อยู่ในช่วง 5.0 ถึง 7.5 ซึ่งแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด (Taylor and Clydesdale, 1987)



monophenol diphenol

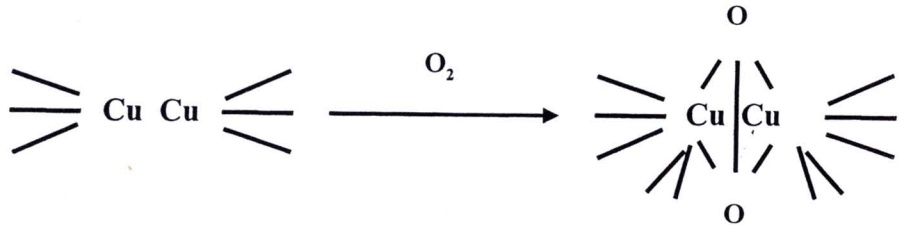
ภาพ 1 ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของสารประกอบฟีนอลเร่งโดย monophenol oxidase (Marshall *et al.*, 2000)



catechol *o*-benzoquinone

ภาพ 2 ปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันของสารประกอบฟีนอลเร่งโดย diphenol oxidase (Marshall *et al.*, 2000)

โดยปกติเอนไซม์ PPO อยู่ในรูป deoxy form ซึ่งเมื่อเปลี่ยนรูปเป็น oxy form (ภาพ 3) จึงจะสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลได้ (Whitaker, 1995)



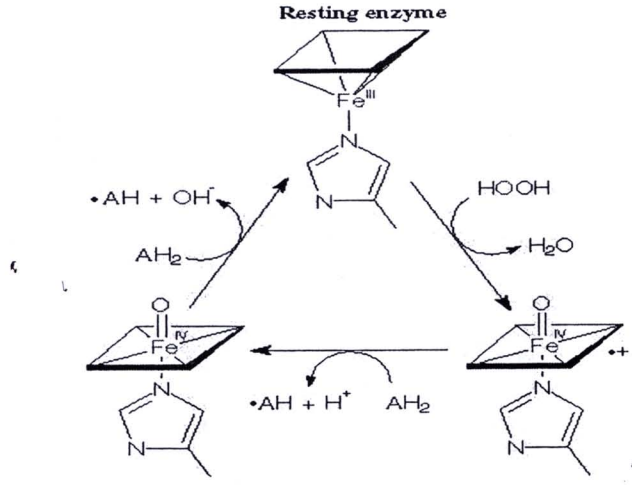
Deoxy form Oxy form

ภาพ 3 ปฏิกิริยาการเปลี่ยน deoxy form เป็น oxy form ของเอนไซม์ PPO (Whitaker, 1995)

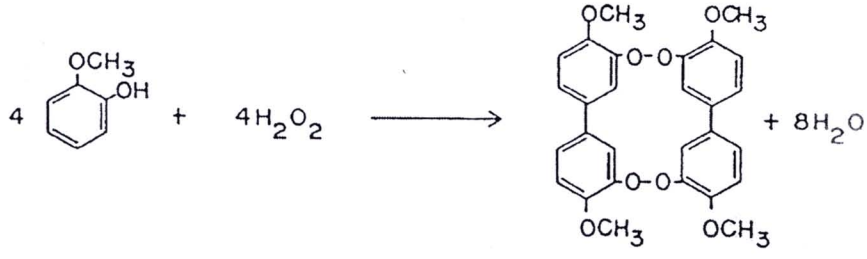
เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase; POD)

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) มีชื่อตามระบบการเรียกชื่อของเอนไซม์ว่า donor: hydrogenperoxide oxidoreductase (EC 1.11.1.7) เป็นเอนไซม์ที่พบอยู่ทั่วไปในพืชชั้นสูงทุกชนิดมีโครงสร้างเป็นไกลโคโปรตีนที่มีเหล็กเป็นองค์ประกอบ โดยเอนไซม์ POD อาศัยไฮโดรเจนเปอร์-ออกไซด์ (H_2O_2) ในการเปลี่ยนแปลงโครงรูปจาก inactive form (resting enzyme) เป็น active form ที่พร้อมสำหรับเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลที่เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ จนกระทั่งได้ผลิตภัณฑ์ควบคู่กับการเปลี่ยนโครงรูปของเอนไซม์ POD กลับสู่โครงรูปเดิมที่เป็น inactive (Dawson, 1988) ภาพ 4 เป็นปฏิกิริยาแบบเปอร์ออกซิเดชัน (peroxidatic reaction) โดยมีสารตั้งต้นได้แก่ กัวอะคอล (guaiacol), ไพโรแกลคอล (pyrogallol), เมซิดีน (mesidine) และ พารา-ครีซอล (*p*-cresol) เป็นต้น เป็นผู้ให้ไฮโดรเจนในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ POD มักใช้กัวอะคอล

เป็นสารตั้งต้นในการวิเคราะห์ เนื่องจากไม่ซับซ้อน เตรียมง่าย รวดเร็ว และวัดผลได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) โดยตรง ซึ่งจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีน้ำตาล คือเตตระ-กัวอะคอล (tetra-guaiacol) (ภาพ 5) (ปราณี, 2547)



ภาพ 4 ปฏิกิริยาการเปลี่ยนโครงรูปของเอนไซม์ POD จาก inactive form ไปเป็น active form ที่พร้อมเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Dawson, 1988)



ภาพ 5 ปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันโดยมีเอนไซม์ POD เร่งปฏิกิริยา (ปราณี, 2547)

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds)

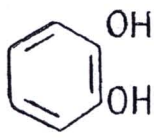
สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมีมากมายหลายชนิด โดยมีชนิดและปริมาณแตกต่างกันไปในแต่ละส่วนของพืชและชนิดของพืช (ตาราง 1) รวมทั้งยังขึ้นอยู่กับพันธุ์ อายุ และสภาพแวดล้อม โครงสร้างทางเคมีหลักของสารประกอบฟีนอลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีนซึ่งมีกลุ่มไฮดรอกซิล

(OH) เกาะอยู่กับคาร์บอนตำแหน่งที่หนึ่งหรือมากกว่า และอาจมีกลุ่มเคมีอื่นๆ เกาะกับคาร์บอนอื่นๆ ด้วย (Marshall *et al.*, 2000)

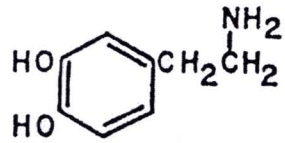
ตาราง 1 ชนิดของสารประกอบฟีนอลที่เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO ในพืชบางชนิด (Marshall *et al.*, 2000)

ชนิดพืช	ชนิดของสารประกอบฟีนอล
โกโก้	catechin, leucoanthocyanidins, anthocyanin, complex tannins
กล้วยหอม	3,4-dihydroxyphenylethylamine (dopamine), leucodelphinidin, leucocyanidin
ท้อ	chlorogenic acid, pyrogallol, 4-methyl catechol, catechol, caffeic acid, gallic acid, catechin, dopamine
ชา	flavonol, catechins, tannins, cinnamic acid derivatives
มะม่วง	dopamine-HCl, 4-methyl catechol, catechol, caffeic acid, catechin, chlorogenic acid, tyrosine, 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA), *p*-cresol
ผักกาดหอม	tyrosine, caffeic acid, chlorogenic acid derivatives
องุ่น	catechin, chlorogenic acid, catechol, caffeic acid, DOPA, tannins, flavonols, protocatechuic acid, resorcinol, hydroquinone, phenol

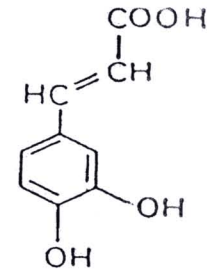
โดยสารประกอบฟีนอลพื้นฐานที่เป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO ได้แก่ ฟีนอล แคติคอล และครีซอล สำหรับแคติคอลนั้นนิยมใช้เป็นสารตั้งต้นในการศึกษาเกี่ยวกับกลไกการเกิดสีน้ำตาล หรือการศึกษาเอนไซม์ PPO ในปฏิกิริยาออกซิเดชันของฟีนอล (diphenol oxidation) อื่นๆ เพราะสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO ในพืชต่างๆ มักมีโครงสร้างบางส่วนคล้ายแคติคอล เช่น 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน (3,4-dihydroxyphenylalanine) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) เป็นต้น (ภาพ 6) (จริงแท้, 2549)



catechol



3,4-dihydroxyphenylalanine



caffeic acid

ภาพ 6 สูตรโครงสร้างของแคติคอลและสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO ในพืชต่างๆ ที่มีโครงสร้างบางส่วนคล้ายแคติคอล (อารยา, 2546; Robards *et al.*, 1999)

รายงานวิจัยการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย

มีรายงานการศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของผลลำไย ดังนี้

Jiang and Li (2001) ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของเปลือกผลลำไยพันธุ์ Shixia ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90% เป็นเวลา 40 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน และเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 40 ของการเก็บรักษา ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน

Whangchai *et al.*(2005) ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน และเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ซึ่งสัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วัน

Duan *et al.* (2006) ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ Shixia ที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนที่อุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 6 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นสูงสุดภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ POD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 วัน ซึ่งเอนไซม์ทั้งสองนี้สัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 วัน รวมทั้งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด ซึ่งมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ ตลอดการเก็บรักษา

ส่วนรายงานการวิจัยการเกิดสีน้ำตาลที่มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้สำคัญอื่นๆ มีดังนี้

Lelyveld *et al.* (1984) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD กับปริมาณสารประกอบฟีนอลต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลอะโวคาโดพันธุ์ Fuerte โดยนำผลอะโวคาโดเก็บไว้ในห้องมืดอุณหภูมิ 22 °ซ จนกระทั่งผลสุกและนำผลมาตัดแบ่งชิ้นแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะบริเวณ mesocarp ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD เพิ่มขึ้นประมาณ 7 และ 3 เท่า จากค่าเริ่มต้น ตามลำดับ รวมทั้งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ลดลงในบริเวณ mesocarp และมีระดับการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นด้วย

Coseteng and Lee (1987) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลแอปเปิ้ลของสหรัฐอเมริกา 9 พันธุ์ ได้แก่ Tydeman Early, Paulared, Classic Delicious, Golden Delicious, McIntosh, Cortland, RI Greening, Empire และ Rome ในระหว่างการเจริญเติบโตของผลและภายหลังจากการเก็บเกี่ยวแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90% เป็นเวลา 90 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดลดลงช่วงก่อนผลเจริญเติบโตเต็มที่ สันนิษฐานว่ามีการนำเอาไปสังเคราะห์และเปลี่ยนเป็นไดฟีนอลอื่นๆ เช่น แอนโทไซยานิน และฟลาโวนอล เป็นต้น หลังจากนั้นทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นภายหลังจากการเก็บรักษาซึ่งสัมพันธ์กับระดับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา

Amiot *et al.* (1992) ศึกษาความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ต่อการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อผลแอปเปิ้ล 11 พันธุ์ ได้แก่ Reinette Canada, McIntosh, Gala, Fuji, Red Delicious, Charden, Granny Smith, Florina, Golden, Mutsu และ Elstar พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีค่าสูงสุดในผลพันธุ์ Red Delicious สัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่มีระดับสูงสุด รวมทั้งพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดลดต่ำลงประมาณ 2 เท่า จากค่าเริ่มต้น

Underhill and Critchley (1994) ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ในชั้นเนื้อเยื่อของเปลือกผลแต่ละชั้น ได้แก่ epicarp, mesocarp และ endocarp ของผลลิ้นจี่พันธุ์ Tai So และ Kwai May Pink ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 24 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 60% เป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บ

รักษานานขึ้น โดยมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งมีค่าสูงสุดภายหลังการเก็บรักษา 12 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังพบว่าแต่ละส่วนของเปลือกผลมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD แตกต่างกันโดยกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีค่าสูงในเนื้อเยื่อชั้น epicarp และ upper mesocarp ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ POD มีค่าสูงในเนื้อเยื่อชั้นของ mesocarp และ endocarp

Ketsa and Atantee (1998) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ POD และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลมังคุดจากสวนจังหวัดระยอง ภายหลังได้รับการกระแทก แล้วเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 29 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 96% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ POD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายหลังการเก็บรักษา โดยเพิ่มสูงประมาณ 5 เท่า จากค่าเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 3 ของการเก็บรักษา ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ลดลงอย่างต่อเนื่องและในชั่วโมงที่ 3 มีปริมาณต่ำลงประมาณ 2 เท่า จากค่าเริ่มต้น สันนิษฐานว่าเอนไซม์ POD เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลในสภาวะดังกล่าว ส่งผลให้สารตั้งต้นมีปริมาณลดลงและเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น

de Oliveira *et al.* (1999) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลมะม่วงสุกพันธุ์ Tommy ที่มีอาการ spongy tissue ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 12±2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 88±3% เป็นเวลา 28 วัน พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีค่าสูงที่สุดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยมีค่าประมาณ 2 และ 3 เท่า ของค่าเริ่มต้นตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าเนื้อผลปกติและเนื้อผลที่เกิดอาการ spongy tissue 50% ของเนื้อผลทั้งหมด สัมพันธ์กับการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มสูงตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ทั้งนี้การเกิดอาการ spongy tissue มีความสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อผลที่เพิ่มสูงขึ้นตามอาการที่เกิดกับเนื้อผล

Zhang *et al.* (2001) ศึกษาความสัมพันธ์ของการเกิดสีน้ำตาลและปริมาณแอนโทไซยานิน รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของเปลือกผลลิ้นจี่พันธุ์ Huaizhi ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 70% เป็นเวลา 6 วัน พบว่าการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่เพิ่มสูงขึ้นและปริมาณของแอนโทไซยานินที่ลดลง สันนิษฐานว่ามีการเร่งการสลายแอนโทไซยานินโดยเอนไซม์ anthocyanase โดยการเปลี่ยนไซยานิดิน-3-รูทิโนไซด์ (cyanidin-3-rutinoside) ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักของแอนโทไซยานินเป็นสารออร์โธ-ฟีนอล (*o*- phenol) ที่มีโครงสร้างคล้ายแคติคอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO

Jiang *et al.* (2002) ศึกษาความสัมพันธ์ของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลแอปเปิ้ลตัดแบ่งชิ้นพันธุ์ Starking ของญี่ปุ่นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ

27 °ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้นกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีค่าสูงที่สุดประมาณ 30 เท่า จากค่าเริ่มต้น ภายหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 นาที ในขณะที่มีการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งวัดจากการเปลี่ยนแปลงของค่า a* ที่เพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าเพิ่มสูงทันทีภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 30 นาที และมีค่าประมาณ 8 เท่า จากค่าเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 6 ของการเก็บรักษา

Nguyen *et al.* (2003) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลกล้วยไข่และกล้วยหอมทอง จากจังหวัดเพชรบุรี ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 และ 10 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 85% เป็นเวลา 15 วัน พบว่าผลกล้วยทั้งสองพันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 6 °ซ มีค่าเพิ่มสูงมากกว่าที่อุณหภูมิ 10 °ซ และกล้วยไข่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงมากกว่ากล้วยหอมทองประมาณ 2 เท่า ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดที่ลดต่ำลง โดยเปลือกผลกล้วยไข่มีปริมาณที่ต่ำกว่าในกล้วยหอมทองประมาณ 3 เท่า สันนิษฐานว่าสารประกอบฟีนอลเป็นสารตั้งต้นในการชักนำเกิดสีน้ำตาลที่เร่งโดยเอนไซม์ PPO ทำให้มีปริมาณของสารตั้งต้นลดต่ำลงและเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้น

Zhou *et al.* (2003) ศึกษาความสัมพันธ์ของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ในระหว่างการเกิดสีน้ำตาล (blackheart) ของเนื้อผลสับปะรดพันธุ์ Smooth Cayenne ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 และ 25 °ซ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าไม่มีการเกิดสีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ สัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ซึ่งต่ำมาก ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ POD มีค่าเพิ่มขึ้นตลอดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ส่วนผลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °ซ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วย้ายไปที่อุณหภูมิ 25 °ซ มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เพิ่มสูงโดยมีค่าเพิ่มสูงมากกว่า 5 เท่า ของผลที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ ตลอดการเก็บรักษา ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ POD มีค่าสูงคงที่ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 °ซ สันนิษฐานว่าเอนไซม์ PPO เป็นเอนไซม์สำคัญในการก่อให้เกิดสีน้ำตาลในผลสับปะรด โดยเฉพาะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำที่ชักนำให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ PPO เพิ่มสูงขึ้น ส่วนเอนไซม์ POD อาจไม่ใช่เอนไซม์หลักในการก่อให้เกิดสีน้ำตาลในผลสับปะรด เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ POD ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

2.3 การควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

ในปัจจุบันวิธีการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้มีอยู่หลากหลายวิธี ได้แก่ การใช้ความร้อน การใช้อุณหภูมิต่ำ การควบคุมสภาวะบรรยากาศ และการใช้สารเคมี แต่วิธีการที่มีประสิทธิภาพและได้รับความนิยมคือ การใช้สารเคมี ซึ่งเป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย สะดวก และมีประสิทธิภาพสูงซึ่งวิธีการส่วนใหญ่มีวัตถุประสงค์หลัก 3 เรื่องคือ ควบคุมสารตั้งต้น ควบคุมผลิตภัณฑ์ และควบคุมการทำงานของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลโดยตรง (จริงแท้, 2549) โดยประสิทธิภาพของวิธีการดังกล่าวอาจเหมือนหรือแตกต่างกันในผัก ผลไม้แต่ละชนิดแต่ละพันธุ์ ดังรายงานการศึกษาต่อไปนี้

รายงานวิจัยการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าสารเคมีที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวได้ดีที่สุดคือ ก๊าซซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) โดยรายงานของ ซิง ชิง และ คณะ (2531) ศึกษาการใช้ SO_2 รมผลลำไยพันธุ์ดอ และพันธุ์เบี้ยวเขียว ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า SO_2สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีและเปลือกผลลำไยมีสีเหลืองสว่างมากยิ่งขึ้น รวมทั้งยังสามารถลดการเพิ่มปริมาณของจุลินทรีย์ได้ โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ SO_2 คือ 200-300 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม แต่เนื่องจากการใช้ SO_2 มีปัญหาเรื่องสารพิษตกค้าง ดังรายงานของ รัตนา (2535) พบว่า การใช้ก๊าซ SO_2 เป็นพิษต่อระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ และเมื่อตกค้างอยู่ในอาหารยังมีผลลดประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และไขมันในร่างกาย

นอกจากนี้ยังมีการใช้สารเคมีชนิดอื่นเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย ดังนี้

Jiang and Li (2001) ศึกษาการใช้ไคโตซานเคลือบผลลำไยพันธุ์ Shixia เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 90% เป็นเวลา 40 วัน พบว่าการเคลือบผลด้วยไคโตซานทำให้การเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของเปลือกผลลดต่ำลง รวมทั้งยังสามารถรักษาคุณภาพผลและการควบคุมเข้าทำลายของโรคได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานคือ 2% (W/V)

Whangchai *et al.* (2005) ศึกษาการใช้ก๊าซโอโซนร่วมกับการจุ่มผลในกรดอินทรีย์บางชนิดต่อการเกิดสีน้ำตาลของผลลำไยพันธุ์ดอ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน พบว่าการรมด้วยโอโซนร่วมกับการแช่ผลในสารละลายกรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก และกรดออกซาลิก สามารถลดระดับการเกิดสีน้ำตาล รวมทั้งมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และปริมาณจุลินทรีย์ของผลให้ต่ำลง โดยวิธีการที่เหมาะสมที่สุดคือรมด้วยโอโซน 200 ไมโครลิตรร่วมกับการแช่ในสารละลายกรดออกซาลิก 5% (W/V) เป็นเวลา 5 นาที

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 05 MA 2555
เลขทะเบียน 249145
เลขเรียกหนังสือ

Duan *et al.* (2006) ศึกษาการใช้โซเดียมไนโตรพลูสไซด์เพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลของผลลำไยพันธุ์ Shixia ที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนอุณหภูมิ 28 °ซ เป็นเวลา 6 วัน พบว่าการแช่ผลลงในสารละลายโซเดียมไนโตรพลูสไซด์ซึ่งสามารถปลดปล่อยก๊าซไนตริกออกไซด์สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลและกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ให้ต่ำลง นอกจากนี้ยังช่วยรักษาสารประกอบฟีนอลทั้งหมดตลอดระยะเวลาการทดลองให้มีปริมาณสูง โดยระดับความเข้มข้นของโซเดียมไนโตรพลูสไซด์ที่เหมาะสมคือ 1 mM แช่เป็นเวลา 5 นาที

Pongsakul *et al.* (2006) ศึกษาการใช้ซีสเตอีน โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอ พบว่าการแช่ผลในสารละลายเหล่านี้มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดต่ำลง โดยซีสเตอีนสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPOได้ดีที่สุด รองลงมาคือโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ตามลำดับ

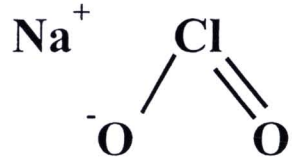
Sodchit *et al.* (2008) ศึกษาการใช้อะซิทิลซีสเตอีนและเฮกซิลรีซอซินอล เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของผลลำไยพันธุ์ดอในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15±2 °ซ ความชื้นสัมพัทธ์ 85% เป็นเวลา 6 วัน พบว่าการแช่ผลในอะซิทิลซีสเตอีนสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้กว่าเฮกซิลรีซอซินอล รวมทั้งสามารถลดการเจริญของจุลินทรีย์ และลดการสูญเสียน้ำหนักของผลได้ดี โดยระดับความเข้มข้นของอะซิทิลซีสเตอีนที่เหมาะสมคือ 5 mM แช่เป็นเวลา 5 นาที

จากรายงานวิจัยการใช้สารเคมีเพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไยที่กล่าวมาในข้างต้นนี้ ยังมีสิ่งที่ต้องคำนึงถึงนอกจากประสิทธิภาพการป้องกัน คือความเป็นพิษหรืออันตรายต่อผู้บริโภค รวมทั้งราคาต้นทุนและความสะดวกในกรรมวิธีนั้นๆ ดังนั้นจึงมีความพยายามคิดค้นหาสารเคมีชนิดใหม่ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าชนิดที่ผ่านมาในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลและมีความปลอดภัยสูงต่อผู้บริโภค

รายงานวิจัยการใช้โซเดียมคลอไรต์และอนุพันธ์เพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

โซเดียมคลอไรต์นับว่าเป็นสารเคมีล่าสุดที่มีรายงานการใช้ควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ อาจทดแทนสารเคมีที่ใช้ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลที่ผ่านมาที่มักมีราคาสูง ประสิทธิภาพต่ำและเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยโซเดียมคลอไรต์จัดเป็นสารเคมีประเภทออกซิไดซ์ ซึ่งในสภาพที่เป็นกรดโซเดียมคลอไรต์จะปลดปล่อยก๊าซคลอรีนไดออกไซด์ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นตัวออกซิไดซ์ที่ดี สามารถนำมาใช้ทำความสะอาดล้างผักและผลไม้ รวมทั้งควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารและเครื่องดื่ม (Sussman, 1983; Mullerat *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 2003; Gonzalez *et al.*, 2004) นอกจากนี้โซเดียมคลอไรต์ยังมีความปลอดภัยสูงต่อผู้บริโภค รวมทั้งเป็นสารเคมีประเภท GRAS (Generally Recognized As Safe) ซึ่งสำนักงานอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) มีการรับรอง

ว่าการใช้โซเดียมคลอไรต์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05-0.12% สามารถนำมาใช้ในการทำความสะอาดล้างผักและผลไม้ได้อย่างปลอดภัย (Ruiz-Cruz *et al.*, 2006; FDA, 2011) ทั้งนี้ไม่กี่ปีที่ผ่านมามีการนำโซเดียมคลอไรต์และอนุพันธ์มาใช้ควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้บางชนิด โดยสันนิษฐานว่าโซเดียมคลอไรต์สามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลโดยไปออกซิไดซ์โคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ PPO คือทองแดง (Cu^{2+}) ทำให้เอนไซม์เปลี่ยนจากสภาพ active form ไปเป็น inactive form ส่งผลให้เอนไซม์ PPO ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาต่อไปได้จึงไม่เกิดสีน้ำตาลขึ้น นอกจากนี้โซเดียมคลอไรต์ยังสามารถไปออกซิไดซ์สารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเอนไซม์ PPO และ POD ให้เปลี่ยนเป็นสารประกอบฟีนอลชนิดอื่นหรือสารประกอบอื่นๆ จึงมีผลทำให้การเกิดสีน้ำตาลลดลงเช่นกัน (Whitaker, 1972;،McEvily *et al.*, 1992; Lu *et al.*, 2007; He *et al.*, 2008) รวมทั้งโซเดียมคลอไรต์ยังสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญประการหนึ่งในการเกิดสีน้ำตาล (Martinez-Sanchez *et al.*, 2006; Ruiz-Cruz *et al.*, 2006) ทั้งนี้มีรายงานการวิจัยพบว่าโซเดียมคลอไรต์และอนุพันธ์ในระดับความเข้มข้นต่ำสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยมีรายละเอียดดังนี้



ภาพ 7 สูตรโครงสร้างทางเคมีของโซเดียมคลอไรต์ (Chembiofinder, 2011)

Lu *et al.* (2006) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการเกิดสีน้ำตาลในน้ำแอปเปิ้ลพันธุ์ Red Delicious ซึ่งมีการเติมสารละลายโซเดียมคลอไรต์ที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 0-8 mM พบว่าโซเดียมคลอไรต์มีผลควบคุมการเกิดสีน้ำตาลและการทำงานของเอนไซม์ PPO โดยที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมคลอไรต์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล คือ 8 mM

Fu *et al.* (2007) ศึกษาผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicious ตัดแบ่งชิ้นที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าคลอรีน-ไดออกไซด์สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยสารละลายคลอรีนไดออกไซด์ความเข้มข้น 10 และ 50 mg/l สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPOได้ 15 และ 63% ตามลำดับ

Lu *et al.* (2007) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้น ที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนอุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 14 วัน พบว่า

โซเดียมคลอไรต์สามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยสามารถชะลอการลดลงของค่า L* ได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมคลอไรต์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 0.5 g/l เป็นเวลา 1 นาที ทั้งนี้สันนิษฐานว่าโซเดียมคลอไรต์ทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้ง (inhibitor) การทำงานของเอนไซม์ PPO

Du *et al.* (2009) ศึกษาผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของรากบัวพันธุ์ Bai Hua ตัดแบ่งชิ้นที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนอุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 10 วัน พบว่า คลอรีน-ไดออกไซด์สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลและยืดอายุหลังการเก็บรักษาได้ดี โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO รวมทั้งชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่า L*, a* และ b* โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของคลอรีนไดออกไซด์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 100 mg/l เป็นเวลา 15 นาที

Guan and Fan (2009) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Granny Smith ตัดแบ่งชิ้นที่เก็บรักษาในถุงพลาสติกฟิล์มอุณหภูมิ 3 และ 10 °ซ เป็นเวลา 14 วัน พบว่าโซเดียมคลอไรต์สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีโดยชะลอการลดลงของค่า L* และ b* ได้ดีกว่าชุดควบคุม โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของโซเดียมคลอไรต์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 0.05% (W/V) เป็นเวลา 5 นาที

Chen *et al.* (2010) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการเกิดสีน้ำตาลใน asparagus lettuce ตัดแบ่งชิ้นที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนอุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 14 วัน พบว่าคลอรีนไดออกไซด์สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลและยืดอายุหลังการเก็บรักษาได้ดี โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่า L*, a* และ b* และลดการเจริญของจุลินทรีย์ โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของคลอรีนไดออกไซด์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 100 mg/l เป็นเวลา 20 นาที

Wu *et al.* (2011) ศึกษาผลของคลอรีนไดออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของลิ้นจี่พันธุ์ Huaizhi ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 20 °ซ เป็นเวลา 7 วัน พบว่าคลอรีนไดออกไซด์สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลและยืดอายุหลังการเก็บรักษารวมทั้งลดการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ให้ต่ำลง ทั้งนี้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของคลอรีนไดออกไซด์ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 12% (W/V) เป็นเวลา 5 นาที

รายงานวิจัยการใช้กรดอินทรีย์บางชนิดร่วมกับสารเคมีหลักเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

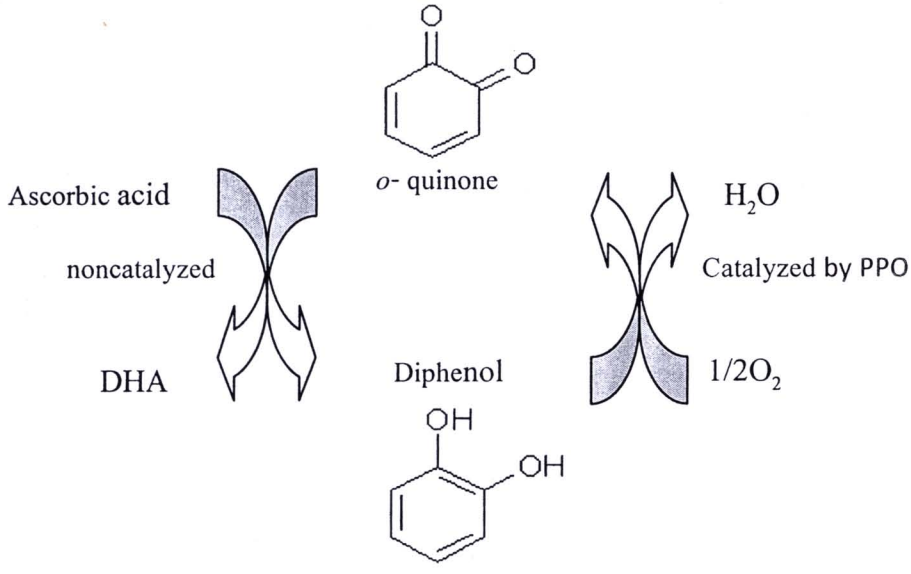
จากรายงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่ามีกรดอินทรีย์บางชนิดมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลของพืชในระดับปานกลาง แต่เมื่อนำมาใช้ร่วมกับสารเคมีชนิดอื่นแล้วมีผลเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของสารเคมีนั้นดียิ่งขึ้น ซึ่งกรดอินทรีย์แต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีแตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของกรดแต่ละชนิด โดยกรดอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก ซึ่งมีประสิทธิภาพในการลดหรือยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิดและพันธุ์ดังต่อไปนี้

การใช้กรดแอสคอร์บิกเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

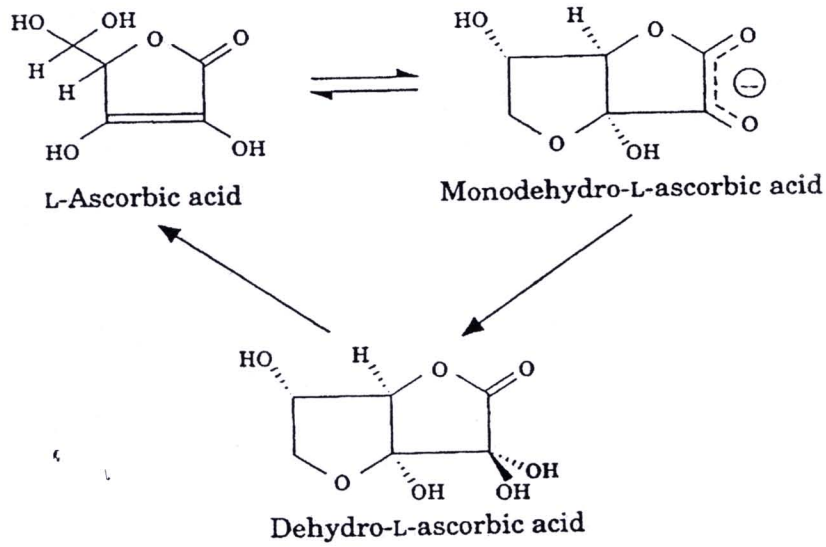
กรดแอสคอร์บิกหรือวิตามินซีพบได้ในผักและผลไม้สดหลายชนิด เช่น พริกหวาน ผักคะน้า ฝรั่ง มะละกอสุก และส้ม เป็นต้น (นิธิยา, 2539) กรดแอสคอร์บิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการลดการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาที่เร่งโดยเอนไซม์ PPO และ POD โดยกรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติเป็น reducing agent ทำการรีดิวซ์สารออร์โธ-ควิโนนให้เปลี่ยนกลับเป็นสารไดฟีนอลก่อนเกิดปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารสีน้ำตาล (Walker, 1997) (ภาพ 8) โดยกรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดซ์กลายเป็นกรดโมโนไฮโดรแอสคอร์บิก (monohydroascorbic acid) แต่สารชนิดนี้ไม่เสถียรจึงถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) ซึ่งเสถียรมากกว่า และสามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นกรดแอสคอร์บิกได้ (ภาพ 9) (Marshall *et al.*, 2000) นอกจากนี้กรดแอสคอร์บิกสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาด้วยเอนไซม์ PPO โดยทำหน้าที่เป็น chelating agent รวมตัวกับไอออนโลหะของเอนไซม์ PPO คือ ทองแดงที่บริเวณเร่งทำให้เอนไซม์เปลี่ยนสภาพ เป็น inactive form ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นซึ่งเป็นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยตรง (Marshall *et al.*, 2000) และกรดแอสคอร์บิกสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล โดยทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) โดยถ่ายเทไฮโดรเจนอะตอมจากโมเลกุลของกรดแอสคอร์บิกให้กับออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนไม่สามารถเปลี่ยนรูปของเอนไซม์ POD ให้อยู่ในรูปสถานะพร้อมเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาล (นิธิยา, 2539) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยกรดแอสคอร์บิกนี้อาจแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ของพืช รวมทั้งระดับความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสมของกรดที่ใช้ดังนี้

พรอนันต์ (2545) ศึกษาในผลลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย พบว่าการแช่ผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1% (W/V) นาน 15 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลได้นาน 24 วัน ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ

เอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาก่อให้เกิดสีน้ำตาลที่ยังคงมีปริมาณคงที่ ส่วน Saper and Ziolkowski (1987) ศึกษาในเนื้อผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Winesap และ Red Delicious พบว่าการแช่เนื้อผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1.6% (W/V) นาน 1 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีในทั้งสองพันธุ์ โดยมีค่ายับยั้งการเกิดสีน้ำตาลเท่ากับ 100 และ 116% เมื่อเปรียบเทียบจากชุดควบคุมตามลำดับ ภายหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าการยับยั้งลดต่ำลงมากกว่า 50% ในทั้งสองพันธุ์ และ Martinez *et al.* (2001) ศึกษาในผลสตรอเบอร์รี่พันธุ์ Selva ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °ซ พบว่าการแช่ผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีค่าการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ POD สูงถึง 94.5% เมื่อใช้ความเข้มข้น 1 mM ซึ่งการใช้ความเข้มข้นของกรดสูงเป็นการยืดช่วงเวลาก่อนการเกิดสีน้ำตาล (lag period) ให้นานมากขึ้นและทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ POD ลดต่ำลง เนื่องจากความเข้มข้นของ H_2O_2 ลดลง



ภาพ 8 ปฏิกิริยาการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยกรดแอสคอร์บิก (Marshall *et al.*, 2000)



ภาพ 9 ปฏิกิริยารีดอกซ์ผันกลับได้ (reversible redox) ของกรดแอสคอร์บิกและดีไฮโดร-แอสคอร์บิก (Marshall *et al.*, 2000)

รายงานวิจัยการใช้กรดแอสคอร์บิกเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากรดแอสคอร์บิกเป็นสารเคมีที่มีสามารถการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการลดการเกิดสีน้ำตาลอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะการเก็บรักษา ระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสม และสายพันธุ์ของลำไย ดังรายงานการศึกษาต่อไปนี้

อังคณา (2549) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 25 °ซ เป็นเวลา 30 และ 5 วันตามลำดับ โดยแช่ผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 5 และ 10% (W/V) เป็นเวลา 5 นาที พบว่ากรดแอสคอร์บิกสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลทำให้เปลือกผลมีความสว่างรวมทั้งเปลือกผลมีการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลน้อย ทั้งนี้ความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแอสคอร์บิกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 5% เป็นเวลา 5 นาที

ศันสนีย์ (2550) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 15 วัน โดยแช่ผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 1% (W/V) เป็นระยะเวลาต่างๆ คือ 1, 5, 10, 20 และ 30 นาที พบว่ากรดแอสคอร์บิกสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลลดเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด กิจกรรมของเอนไซม์ PPO

รวมทั้งการเน่าเสียของผล โดยความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมของกรดแอสคอร์บิกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 1% เป็นเวลา 5 นาที

Whangchai *et al.* (2005) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน โดยแช่ผลในสารละลายกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 5 และ 10% (W/V) พบว่ากรดแอสคอร์บิกสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO รวมทั้งรักษาคุณภาพของผล โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดแอสคอร์บิกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 5% เป็นเวลา 5 นาที

จากรายงานข้างต้น สรุปได้ว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายแอสคอร์บิกที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยของไทยและแนะนำให้เกษตรกรใช้เพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 1-10%

การใช้กรดซิตริกเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้

กรดซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบทั่วไปในธรรมชาติ เช่น ผลส้มและมะนาว เป็นต้น ซึ่งให้รสเปรี้ยวและสามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้ โดยทำหน้าที่เป็น acidulant ลดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายให้ต่ำลง ซึ่งเป็นการเพิ่มไฮโดรเจนไอออน (H^+) ให้กับหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl) ในโมเลกุลของเอนไซม์ เป็นการเปลี่ยนแปลงประจุบนหมู่อะมิโนของเอนไซม์ และหากมีการลดลงของค่าความเป็นกรด-เบส (pH) มากเกินไปอาจมีผลทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ให้เสียสภาพธรรมชาติไป (McCord and Kilara, 1983) นอกจากนี้กรดซิตริกยังทำหน้าที่เป็น chelating agent โดยการจับกับโลหะทองแดงและเหล็กซึ่งเป็น prototropic group ของเอนไซม์ PPO และ POD ตามลำดับ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นได้ (Furia, 1964) อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยกรดซิตริกนี้อาจแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ของพืช รวมทั้งระดับความเข้มข้น และระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสมของกรดที่ใช้ ดังนี้

อุไรวรรณ (2543) ศึกษาในผลลิ้นจี่พันธุ์ค่อม พบว่ากรดซิตริกสามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยการแช่ผลในสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 1.0 M เป็นเวลา 10 นาที สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลและลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ให้ต่ำลงมากกว่าในชุดควบคุมประมาณ 2 เท่า ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °ซ เป็นเวลา 14 วัน ในขณะที่ สนธยา (2546) ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลในผลฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่ตัดแบ่งชิ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่ 25 °ซ พบว่าการแช่ในกรดซิตริกความเข้มข้น 1.5% (W/V) สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้โดยการลดกิจกรรมของเอนไซม์ POD ให้ลดต่ำลงมากกว่าชุดควบคุมตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษาเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ส่วน McCord and Kilara (1983) ศึกษาในเห็ด (*Agaricus bisporus*) พบว่ากรดซิตริกสามารถลดการเกิด

สีน้ำตาลได้ดี โดยการแช่เห็ดในสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 M เป็นเวลา 1 นาที สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลและมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง 64% จากค่าเริ่มต้น

รายงานวิจัยการใช้กรดซิตริกเพื่อควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย

จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่ากรดซิตริกเป็นสารเคมีที่มีสามารถการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไย โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสภาวะการเก็บรักษา ระยะเวลาในการแช่ที่เหมาะสมและสายพันธุ์ลำไย ดังรายงานการศึกษาต่อไปนี้

วิทยาและคณะ (2548) ศึกษาผลของกรดซิตริกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย พันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน โดยแช่ผลในสารละลายกรดซิตริก 4 ระดับความเข้มข้นคือ 0.5, 1, 3 และ 5% (W/V) พบว่ากรดซิตริกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลทำให้เปลือกผลมีความสว่างรวมทั้งรักษาคุณภาพของผล โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซิตริกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 3% เป็นเวลา 10 นาที

รัมม์พันและคณะ (2551) ศึกษาผลของกรดซิตริกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย พันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °ซ เป็นเวลา 5 วัน โดยแช่ผลในสารละลายกรดซิตริก 3 ระดับความเข้มข้นคือ 2, 3 และ 4% (W/V) พบว่ากรดซิตริกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลทำให้เปลือกผลมีความสว่างและมีสีเหลืองสด โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซิตริกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 4% เป็นเวลา 5 นาที รองลงมาคือ 3 และ 2% ตามลำดับ

Whangchai *et al.* (2005) ศึกษาผลของกรดซิตริกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไย พันธุ์ดอที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน โดยแช่ผลในสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 5 และ 10% (W/V) พบว่ากรดซิตริกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO รวมทั้งรักษาคุณภาพของผล โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของกรดซิตริกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลคือ 5% เป็นเวลา 5 นาที

จากรายงานข้างต้น สรุปได้ว่าระดับความเข้มข้นของสารละลายซิตริกที่มีประสิทธิภาพสูงและแนะนำให้เกษตรกรใช้เพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยของไทย คือ 1-10% เช่นเดียวกับกรดแอสคอร์บิก

ในระยะเวลาต่อมามีรายงานการนำกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และกรดอินทรีย์อื่นๆ บางชนิดมาใช้ร่วมกับสารเคมีหลักเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้ มีรายงานการศึกษาดังนี้

Son *et al.* (2001) ศึกษาผลของกรดออกซาลิกร่วมกับกรดอินทรีย์ 3 ชนิดคือ กรดอิริทรอบิก กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Fuji ตัดแบ่งชิ้น ที่เก็บรักษา

ที่อุณหภูมิ 2 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่าการใช้กรดออกซาลิกร่วมกับกรดอินทรีย์เหล่านี้สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการใช้กรดออกซาลิกเพียงชนิดเดียว โดยการใช้กรดออกซาลิกร่วมกับกรดอิริทรอบิก และการใช้กรดออกซาลิกร่วมกับกรดแอสคอร์บิกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกรดซิตริก

Lu *et al.* (2007) ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดอินทรีย์ 4 ชนิดคือกรดซิตริก กรดออกซาลิก กรดซาลิไซลิก และกรดซินนามิก ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้น ที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนในสภาพอุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 14 วัน พบว่าโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดอินทรีย์สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการใช้โซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซินนามิกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซาลิไซลิก โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซิตริก และโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดออกซาลิก ตามลำดับ

Rojas-Grau *et al.* (2008) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิกร่วมกับ เฮกซิลรีซอซินอล อะซิทิลซีสเตอีน และกลูต้าไธโอน ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Fuji ตัดแบ่งชิ้น ที่เก็บรักษาในถุงโพลีโพพิลีนในสภาพอุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 14 วัน พบว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับสารเคมีเหล่านี้สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่ากรดแอสคอร์บิกเพียงชนิดเดียว โดยสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งชะลอการเปลี่ยนแปลงค่า L* และ a* ได้ดี ทั้งนี้การใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับเฮกซิลรีซอซินอลสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือกรดแอสคอร์บิกร่วมกับอะซิทิลซีสเตอีน และกรดแอสคอร์บิกร่วมกับกลูต้าไธโอน ตามลำดับ