

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไย พันธุ์ดองในระหว่างการเก็บรักษา

ตอนที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อระดับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอง

จากการศึกษาการแปรผลาญในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 0.001, 0.005, 0.01 และ 0.05% แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าสารละลายโซเดียมคลอไรต์สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกผลลำไยพันธุ์ดองได้ 73.8 และ 36.7% ตามลำดับในชั่วโมงที่ 24 และ 48 ของการเก็บรักษา โดยวัดจากการเปลี่ยนแปลงค่าดัชนี การเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0.01% ของสารละลายโซเดียมคลอไรต์ มีดัชนีการเกิดสีน้ำตาลต่ำที่สุดแสดงว่าสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด ถือเป็นระดับความเข้มข้น ของสารละลายโซเดียมคลอไรต์ที่เหมาะสมในการลดการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอง โดยระดับความเข้มข้นที่สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลลงมากที่สุด คือ 0.05, 0.005 และ 0.001% ตามลำดับ อย่างไรก็ตามการแปรผลาญในสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีผลลดการเกิดสีน้ำตาลได้เพียง 48 ชั่วโมงแรก ของการเก็บรักษาเท่านั้น หลังจากนั้นทุกชุดการทดลองมีการเกิดสีน้ำตาลสูงขึ้นและสูงเท่ากับชุดควบคุม ทั้งนี้การแปรผลาญในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ความเข้มข้น 0.05% ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นสูงสุด ในการทดลองครั้งนี้มีการเกิดสีน้ำตาลสูงกว่าที่ความเข้มข้น 0.01% อาจเนื่องมาจากการแปรผลาญ ความเข้มข้นที่สูงเกินไป จึงมีผลไปทำลายเนื้อเยื่อบริเวณเปลือกผลส่งผลทำให้สารประกอบฟินอล ถูกออกซิไดซ์โดยเอนไซม์ PPO และ POD ได้มากขึ้น การเกิดสีน้ำตาลจึงเกิดเพิ่มมากขึ้น (Lu et al., 2007) ซึ่งโดยทั่วไปแล้วการเก็บรักษาผลลำไยที่อุณหภูมิห้อง (25 °C) เปลือกผลมักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลอ่อน อย่างรวดเร็วเมื่อผลทำให้อาฎการเก็บรักษาลำไยสั้นเพียง 3-4 วัน (Lin et al., 2001)

จากการทดลองนี้นับว่าโซเดียมคลอไรต์ความเข้มข้น 0.01% มีศักยภาพในการลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยได้ ซึ่งระดับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมคลอไรต์และอนุพันธุ์ที่เหมาะสมในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในพืชแต่ละชนิดแตกต่างกันไป เช่น ในน้ำผลแอปเปิล พันธุ์ Red Delicious เมื่อเติมสารละลายโซเดียมคลอไรต์ความเข้มข้น 10 mM สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด (Lu et al., 2006) เช่นเดียวกับการศึกษาในผลแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้น พบว่าการแปรผลาญในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 1 นาที สามารถ



ขับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดี (Lu *et al.*, 2007) และในผลแอปเปิลพันธุ์ Granny Smith ตัดแบ่งชิ้น การแข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% เป็นเวลา 5 นาที สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีเช่นกัน (Guan and Fan, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานการลดการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้คลอรินไดออกไซด์ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของโซเดียมคลอไรต์ในพืชหลายชนิด เช่น ในผลแอปเปิลตัดแบ่งชิ้นพันธุ์ Golden Delicious พบร่วมกับคลอรินไดออกไซด์ความเข้มข้น 50 mg/l มีผลลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดี (Fu *et al.*, 2007) รวมทั้งในรากบัวพันธุ์ Bai Hua และใน asparagus lettuce พบร่วมกับการใช้สารละลายคลอรินไดออกไซด์ความเข้มข้น 100 mg/l สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีเช่นกัน (Du *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010)

เมื่อพิจารณาจากค่า L* และ b* โดยค่า L* เข้าใกล้ 100 แสดงว่าเปลือกผลมีความสว่าง และค่า b* มีค่าเป็นบวกแสดงว่าเปลือกผลมีสีเหลือง พบร่วมกับการแข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์สามารถลดการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกผลลงได้โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.01% ของสารละลายโซเดียมคลอไรต์ สามารถลดการลดลงของค่า L* และ b* ได้ดีที่สุด และมีค่า L* และ b* สูงที่สุด ซึ่งสามารถสังเกตจากเปลือกผลมีความสว่างและมีสีเหลืองสดที่สุด โดยระดับความเข้มข้นที่ให้ผลรองลงมาคือ 0.05, 0.005 และ 0.001% ตามลำดับ สอดคล้องกับดัชนีการเกิดสีน้ำตาลดังกล่าวข้างต้น รวมทั้งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยการใช้โซเดียมคลอไรต์และอนุพันธุ์ในพืชหลายชนิดที่สามารถลดการเปลี่ยนแปลงสีในผักและผลไม้ได้ดี เช่น ในผลแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้นที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนในสภาพอุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 14 วัน พบร่วมกับโซเดียมคลอไรต์ 0.05 % สามารถชะลอการลดลงของค่า L* ได้ดี (Lu *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับในผลแอปเปิลพันธุ์ Granny Smith ตัดแบ่งชิ้นการใช้โซเดียมคลอไรต์ 0.05% ก็สามารถชะลอการลดลงของค่า L* และ b* ได้ดี ทำให้ดัชนีการเกิดสีน้ำตาลเกิดลดลง (Guan and Fan, 2009) รวมทั้งในรากบัวพันธุ์ Bai Hua และใน asparagus lettuce การใช้คลอรินไดออกไซด์ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของโซเดียมคลอไรต์ 0.01% มีผลชะลอการเปลี่ยนแปลงของค่า L*, a* และ b* ได้ดีเช่นกัน (Du *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2010)

โดยทั่วไปการเก็บรักษาผลเป็นระยะเวลานานมักทำให้คุณภาพในการบริโภคในด้านต่างๆ ลดลง โดยกลืนของเนื้อผลอาจมีกลิ่นด้อยลง เนื่องจากผลมีการเสื่อมสภาพและมีการสลายของสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลืน ไดแก่ กรดไขมันหรือกรดอะมิโนที่เปลี่ยนเป็นสารระเหยซึ่งให้กลิ่นในเนื้อผล เช่น ester, aldehyde, lactone, ketone และ alcohol เป็นต้น โดยสารตั้งต้นเหล่านี้มีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง (จริงแท้, 2544; Yahai, 1996; Baldwin, 2002) ดังเช่นการเก็บรักษาผลแอปเปิลพันธุ์ Golden Delicious ในสภาพอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 7 เดือน มีปริมาณกลิ่นลดลงเหลือเพียง 50-60 % (Gorin *et al.*, 1975) ในด้านรสชาติของเนื้อผลก็มีการเปลี่ยนไปเช่นกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อาจมี

รสหวานเพิ่มมากขึ้นในผลบางชนิด เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจากการถ่ายสารโมเลกุลใหญ่ให้เป็นสารโมเลกุลเล็กที่สามารถละลายนำไปได้เพิ่มขึ้น เช่น น้ำตาลโมเลกุลคู่หรือโมเลกุลเดี่ยวต่างๆ พร้อมทั้งปริมาณกรดอินทรีย์ที่ลดลง เนื่องจากถูกนำไปใช้ในการหายใจ นอกจากนี้เนื้อผลอาจมีรสชาติจีดลง เนื่องจากมีการใช้น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการหายใจซึ่งส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลกลูโคส (คันย, 2534; จริงแท้, 2544) ดังการศึกษาในผลมะม่วงพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์พบว่ามีปริมาณของเยื่องทั้งหมดที่ละลายนำไปได้เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ในระหว่างการเก็บรักษาและมีค่าสูงสุดเท่ากับ 16.55 และ 17.08% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดที่ลดลงในผลทั้งสองพันธุ์และมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.17 และ 0.12% ในวันที่ 6 และ 10 ตามลำดับ (ศมาพร, 2545) ในด้านลักษณะเนื้อผลและความแน่นเนื้อ ผลอาจมีลักษณะผลย่นและนิ่มและเล็กน้อย เนื่องจากมีการถ่ายตัวขององค์ประกอบของผนังเซลล์ ซึ่งเกิดจากการทำงานของเอนไซม์สำคัญ ได้แก่ polygalacturonase (PG) และ pectin methylesterase (PME) รวมทั้งเอนไซม์อื่นๆ โดยทำงานร่วมกันในการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของเพคตินเป็นรูปที่ละลายนำไปได้ ทำให้โครงสร้างผนังเซลล์แยกออกจากกัน (จริงแท้, 2544) ซึ่งแตกต่างกันในแต่ละพืช เช่น ในผลอะโวคาโดพันธุ์ Hass มีความแน่นเนื้อลดลงและมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 10 เท่ากับวัสดุหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน ส้มพันธุ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PG มีค่าเพิ่มขึ้นประมาณ 35% (Zauberman and Jobin-Décor, 1995) และในผลมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์มีความแน่นเนื้อลดลงและมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 22.67 N/cm² ในวันที่ 10 ของการเก็บรักษาส้มพันธุ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PG และ PME ที่เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดประมาณ 2 และ 8 เท่าในวันที่ 8 และ 6 ของการเก็บรักษาตามลำดับ (ศมาพร, 2545) ซึ่งในการทดลองครั้งนี้คุณภาพของผลลำไยในชุดที่แซ่บในสารละลายโซเดียมคลอไรต์และชุดควบคุมมีคุณภาพผลในด้านกลืน รสชาติ ลักษณะเนื้อผล และความแน่นเนื้อ ไม่แตกต่างกันและไม่แตกต่างจากชุดควบคุม ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการใช้โซเดียมคลอไรต์ในปริมาณน้อยจึงไม่ส่งผลกระทบต่อกุณภาพผล ผลมีคุณภาพลดลงตลอดการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามคุณภาพด้านการยอมรับ พบว่าชุดที่แซ่บในสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีคุณภาพดีกว่าชุดควบคุมในช่วงแรกๆ ของการเก็บรักษา เนื่องจากมีการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้กลไกในการลดการเกิดสีน้ำตาลโดยโซเดียมคลอไรต์นั้นจะกล่าวในตอนต่อไป

ค่าระดับความเป็นกรด-เบส (pH) ของเนื้อเยื่อเปลือกผลที่แซ่บในสารละลายโซเดียมคลอไรต์และชุดควบคุมมีค่าไม่ต่างกันและคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากมีการใช้โซเดียมคลอไรต์ในปริมาณน้อย และโซเดียมคลอไรต์มีฤทธิ์ในการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบส (pH) ได้น้อยด้วย ทั้งนี้ทำให้ทราบว่าการลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลโดยโซเดียมคลอไรต์นี้ไม่ได้เกี่ยวข้องกับระดับความเป็นกรดของสารละลายในเปลือกผล

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ต่อการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดของเปลือกผลล้ำไยพันธุ์ดอ

การแข็งผลในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์มีผลช่วยลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ให้ต่ำลง โดยชุดที่แข็งในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ 0.01 และ 0.05% มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ต่ำที่สุดและไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โซเดียมคลอไรต์ทำหน้าที่เป็น inhibitor เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO โดยการออกซิไดซ์ Cu^{2+} ซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ PPO ซึ่งอยู่บริเวณ active site ให้เปลี่ยนเป็น Cu^{3+} ทำให้เอนไซม์ PPO เปลี่ยนสภาพจาก active form เป็น inactive form จึงไม่สามารถร่วงปฏิกิริยาร่วมตัวกับสารประกอบฟินอลได้ ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง (Whitaker, 1972; McEvily *et al.*, 1992) อย่างไรก็ตามกลไกการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ POD โดยโซเดียมคลอไรต์นั้นยังไม่มีรายงานการศึกษา สันนิษฐานว่าโซเดียมคลอไรต์สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ POD โดยทำหน้าที่เป็น inhibitor เช่นเดียวกับเอนไซม์ PPO โดยการออกซิไดซ์ Fe^{3+} ซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ POD ซึ่งอยู่บริเวณ active site ให้เปลี่ยนเป็น Fe^{4+} ทำให้เอนไซม์ POD เปลี่ยนสภาพจาก active form เป็น inactive form จึงไม่สามารถร่วงปฏิกิริยาร่วมตัวกับสารประกอบฟินอลได้เช่นกัน ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ POD ลดลง

ผลการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD โดยโซเดียมคลอไรต์ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น ในน้ำแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ซึ่งมีการเติมสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่าโซเดียมคลอไรต์ 8 mM มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO (Lu *et al.*, 2006) เช่นเดียวกับในผลแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้นโซเดียมคลอไรต์ 0.05% สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ดีและมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO (Lu *et al.*, 2007) ในขณะที่คลอร์นิโตรออกไซด์ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของโซเดียมคลอไรต์ ก็มีรายงานการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO โดยสารชนิดนี้ในพืชหลายชนิด เช่น ในผลแอปเปิลพันธุ์ Golden Delicious พบว่าสารละลายน้ำคลอร์นิโตรออกไซด์ความเข้มข้น 10 และ 50 mg/l สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ได้ถึง 15 และ 63% ตามลำดับ (Fu *et al.*, 2007) รวมทั้งในราบบัวพันธุ์ Bai Hua คลอร์นิโตรออกไซด์ความเข้มข้น 100 mg/l สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ได้ดีที่สุด (Du *et al.*, 2009) และใน asparagus lettuce คลอร์นิโตรออกไซด์ความเข้มข้น 100 mg/l ก็มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ในระหว่างการเกิดสีน้ำตาลได้เช่นกัน (Chen *et al.*, 2010)

สารประกอบฟีโนอลทั้งหมดในเปลือกผลลำไยมีปริมาณลดลงตลอดการเก็บรักษา สันนิษฐานว่าสารประกอบฟีโนอลได้ถูกนำไปใช้ในปฏิกริยาออกซิเดชันที่เร่งปฏิกริยาโดยเอนไซม์ PPO และ POD ได้สารประกอบสีน้ำตาลเป็นสารสุดท้าย ซึ่งปฏิกริยานี้มีสารตั้งต้นที่สำคัญคือ สารประกอบฟีโนอลนั้นเอง (McEvily *et al.*, 1992) การแข็งผลในสารละลายโซเดียมคลอไรต์มีผลช่วยรักษาปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมด โดยชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01 และ 0.05% มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO หรือ POD ต่ำลงหรือมีการเกิดสีน้ำตาลลดน้อยลงนั้นเอง ซึ่งเมื่อถูกความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD กับปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดแล้ว พบว่าในชุดการทดลองที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01 และ 0.05% มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลสูงสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดที่ต่ำ ซึ่งเป็นผลมาจากการคุณสมบัติบางประการของโซเดียมคลอไรต์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาลดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น และทำให้สารประกอบฟีโนอลทั้งหมดยังคงมีปริมาณสูง นอกจากนี้ยังสันนิษฐานว่าโซเดียมคลอไรต์สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยการออกซิไดซ์บริเวณพันธะคู่ของสารประกอบฟีโนอล ซึ่งทำให้สารประกอบฟีโนอลเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีโนอลชนิดอื่นๆ เช่น กรดคาเฟอิกหรือกรดควินิก ซึ่งต่อมาก็เปลี่ยนเป็นสารอื่นๆ ที่เอนไซม์ PPO และ POD ไม่สามารถทำปฏิกริยาได้ส่งผลให้สารประกอบฟีโนอลทั้งหมดยังคงมีปริมาณสูง (He *et al.*, 2008)

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริกต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดองในระหว่างการเก็บรักษา

ตอนที่ 1 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริกต่อระดับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยพันธุ์ดอง

การใช้สารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกโซร์บิก 2.5% มีค่านิยมการเกิดสีน้ำตาลต่ำที่สุด แสดงว่าสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาก็อชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกโซร์บิก 5.0% และชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดซิตริก 5.0% ตามลำดับ กรดอินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้นับว่าช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลำไยนี้ อย่างไรก็ตามชนิดและระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเพิ่มประสิทธิภาพนี้อาจแตกต่าง

กันไปในพืชแต่ละชนิด ดังงานวิจัยในผลลำไยพันธุ์ดอ พบว่ากรดแอกโซร์บิกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลในผลลำไยได้ดีกว่ากรดซิตริก (Pongsakul *et al.*, 2006) และเมื่อนำกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริกมาใช้ร่วมกับสารเคมีอื่นสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดียิ่งขึ้น เช่น ในผลแอปเปิลพันธุ์ Fuji ตัดแบ่งชิ้น พบว่าการใช้กรดอิตรอบิกหรือกรดแอกโซร์บิก หรือกรดซิตริกร่วมกับกรดออกชาลิกสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการใช้กรดออกชาลิกเพียงชนิดเดียว (Son *et al.*, 2001) เช่นเดียวกับในผลแอปเปิลพันธุ์ Fuji ตัดแบ่งชิ้น พบว่าการใช้กรดแอกโซร์บิกร่วมกับเซกชิลารีซอร์ชินอล อะซิทิลซีสเทอีนและกลูต้าไธโอนสามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าการใช้สารเคมีเหล่านี้เพียงชนิดเดียว เช่นกัน (Rojas-Grau *et al.*, 2008) ในผลแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้น ที่เก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีนอุณหภูมิ 5 °C เป็นเวลา 14 วัน ก็พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดออกชาลิก กรดซินนามิก และกรดชาลิไซลิก สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่า การใช้โซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซินนามิกสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด รองลงมาคือ โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดชาลิไซลิก โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซิตริก และโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดออกชาลิก ตามลำดับ (Lu *et al.*, 2007)

การแข็งผลในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริกสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกผลลำไยได้ดีกว่าการใช้สารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยชุดที่แข็งในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกโซร์บิก 2.5% สามารถชะลอการลดลงของค่า L* และ b* ได้ดีที่สุด และมีค่า L* และ b* สูงที่สุด ซึ่งสามารถสังเกตจากเปลือกผลยังมีความสว่างและมีสีเหลืองมากกว่า โดยระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมรองลงมาคือ ชุดที่แข็งในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดซิตริก 5.0% และชุดที่แข็งในสารละลายน้ำโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดซิตริก 5.0% ตามลำดับ ผลการทดลองนี้เป็นไปในทำนองเดียวกับในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น ในผลแอปเปิลพันธุ์ Red Delicious ตัดแบ่งชิ้นที่พบว่าการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดอินทรีย์ เช่น กรดซิตริก กรดออกชาลิก กรดซินนามิก และกรดชาลิไซลิก สามารถชะลอการลดลงของค่า L* ได้ดี และมีค่า L* สูงกว่าการใช้โซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซินนามิกสามารถชะลอการลดลงของค่า L* ได้ดีที่สุด และมีค่า L* สูงที่สุด รองลงมาคือ โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดชาลิไซลิก โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซิตริก และโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดออกชาลิก ตามลำดับ (Lu *et al.*, 2007) เช่นเดียวกับในผลแอปเปิลพันธุ์ Fuji ตัดแบ่งชิ้น พบว่าการใช้กรดออกชาลิกร่วมกับกรดอิตรอบิก หรือกรดแอกโซร์บิก หรือกรดซิตริกสามารถชะลอการลดลงของค่า L* ได้ดี และมีค่า L* สูงกว่าการใช้กรดออกชาลิกเพียงชนิดเดียว โดยกรดออกชาลิกร่วมกับกรดอิตรอบิก หรือกรดออกชาลิกร่วมกับกรดแอกโซร์บิกสามารถชะลอ

การลดลงของค่า L* ได้ดีที่สุด และมีค่า L* สูงที่สุด รองลงมาคือกรดออกซอลิกร่วมกับกรดซิตริก (Son *et al.*, 2001)

คุณภาพของผลลัพธ์ในชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกและกรดซิตริกและชุดควบคุมมีคุณภาพผลในด้านกลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อผล และความแน่นเนื้อลดลง ตลอดการเก็บรักษาไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีการใช้โซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิก และกรดซิตริกความเข้มข้นต่ำ จึงไม่ส่งผลกระทบต่อคุณภาพผล อย่างไรก็ตามคุณภาพด้านการยอมรับพบว่าชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ กรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริกมีคุณภาพดีกว่าชุดควบคุม ใน 48 ชั่วโมงแรกของการเก็บรักษา โดยมีการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าชุดควบคุม ทั้งนี้กลไกในการลดการเกิดสีน้ำตาลโดยโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริกนั้นจะกล่าวในตอนต่อไป

ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของเนื้อเยื่อเปลือกผลที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริกมีค่าต่ำกว่าชุดควบคุมและชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ อย่างเดียว โดยชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดซิตริกมีค่าต่ำกว่าชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิก ทั้งนี้เนื่องมาจากกรดซิตริกมีคุณสมบัติเป็น acidulant โดยมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด-เบส (pH) ของสารละลายลดลงมากกว่า และที่สำคัญกรดซิตริกมีค่าการแตกตัวของกรดเมื่อละลายน้ำ (K_a) สูงกว่ากรดแอกซอร์บิก (กัญญาภรณ์, 2548) เช่นเดียวกับข้างต้น นั่นคือ การลดการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลัพธ์โดยโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิก หรือกรดซิตริกนี้ อาจไม่เกี่ยวข้องโดยตรงกับระดับความเป็นกรดของสารละลายในเปลือกผล

ตอนที่ 2 ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริกต่อการเปลี่ยนแปลง กิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดของเปลือกผลลัพธ์ดอ

การแข็งผลในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริกมีผลช่วยลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ได้ดีกว่าการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรต์เพียงชนิดเดียว โดยชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกซอร์บิก 2.5 และ 5% มีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ต่ำที่สุดและไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา รองลงมาคือชุดที่แข็งในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ที่ 0.01% ร่วมกับกรดซิตริก 5% ลดลงลึกลงกับงานวิจัยในผลลัพธ์โดยพันธุ์ดอ ซึ่งมีรายงานว่ากรดแอกซอร์บิกมีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ในเปลือกผลลัพธ์ได้ดีกว่ากรดซิตริก (Pongsakul *et al.*, 2006) การใช้

โฉเดิมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกซอร์บิกหรือกรดซิตริก จึงส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ดียิ่งขึ้น

กรดแอกซอร์บิกสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD โดยมีคุณสมบัติเป็น chelating agent โดยการรวมตัวกับไอออนโลหะของเอนไซม์ PPO คือ ทองแดงทำให้เอนไซม์เปลี่ยนสภาพเป็น inactive form ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นส่งผลให้การเกิดสีน้ำตาลลดลงด้วย (Marshall *et al.*, 2000) นอกจากนี้กรดแอกซอร์บิกยังมีคุณสมบัติเป็น reducing agent โดยทำการรีดิวช์สารออร์โซ-ควิโนนให้เปลี่ยนกลับไปเป็นสารไคฟีนอลก่อนทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารประกอบสีน้ำตาล (Walker, 1997) โดยกรดแอกซอร์บิกที่สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้เป็นเวลานานนั้นต้องอยู่ในรูป reduced form เพื่อพร้อมทำการเปลี่ยนสารควิโนนให้กลับไปเป็นสารประกอบฟีนอลโดยทันที รวมทั้งกรดแอกซอร์บิกยังทำหน้าที่เป็น antioxidant โดยทำการถ่ายเท่าไหร่จะเร่งออกซิเจนจากโมเลกุลของกรดแอกซอร์บิกให้กับออกซิเจน ทำให้ออกซิเจนไม่สามารถนำไปใช้ในปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เร่งโดยเอนไซม์ PPO และ POD จึงไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาลต่อไปได้ (นิธิยา, 2539) ทั้งนี้ประสิทธิภาพของกรดแอกซอร์บิกในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลนั้นแตกต่างกันไปตามชนิดและพันธุ์ของพืช โดยการศึกษาในเห็ดที่ฟิลาเดลเฟียพบว่าการเกิดสีน้ำตาลลดลงเมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้น 10 mM ซึ่งในสภาพน้ำพุ Cu^+ เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง (Hsu *et al.*, 1988) ส่วนในผลของอะโวคาโดพันธุ์ Boot 1 และพันธุ์ Julio Millan พบว่ามีการเกิดสีน้ำตาลลดลงทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ที่ลดลง เมื่อใช้ความเข้มข้นของกรดแอกซอร์บิก 0.5 mM (Gomez-López, 2002) และในผลพลัมพันธุ์ Stanley สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อผลได้เมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้นสูง 97% เมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้น 20 mM (Siddig *et al.*, 1992) ในผลแอปเปิลพันธุ์ Winesap และ Red Delicious สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อผลได้เมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้นสูง 1.6% (Saper and Ziolkowski, 1987) ส่วนในพันธุ์ Golden Delicious ให้ผลยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลเช่นเดียวกันเมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้น 1.8 mM (Özoglu and Bayindirh, 2002) ในผลฝรั่งพันธุ์กลมสาลีพบว่าระดับการเกิดสีน้ำตาลลดลงเมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้น 1.0 และ 1.5% ซึ่งสัมพันธ์กับการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ POD (บัวหลวง, 2545) และในผลสตรอเบอร์รี่พันธุ์ Selva พบการเกิดสีน้ำตาลที่ต่ำมาก เมื่อใช้กรดแอกซอร์บิกความเข้มข้น 1 mM ซึ่งการใช้ความเข้มข้นของกรดสูงเป็นการยืดช่วงเวลาการเกิดสีน้ำตาลให้นานมากขึ้น และทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ POD ต่ำลง เนื่องจากความเข้มข้นของ H_2O_2 ที่ลดลง (Martinez *et al.*, 2001) นอกจากนี้ในแคนตาลูปพันธุ์ Reticulatus Naud กรดแอกซอร์บิกก็สามารถ

ลดการเกิดสีน้ำตาลได้เช่นกัน โดยลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO เมื่อใช้ความเข้มข้น 1.25 mM (Lamikanra and Watson, 2001)

การซิตริกมีคุณสมบัติเป็น acidulant โดยมีผลลดค่าความเป็นกรด-เบสของสารละลายของเปลือกผลให้ลดลงซึ่งเป็นการเพิ่มไฮโดรเจนไอออน (H^+) ให้กับหมู่คาร์บอเนตในโมเลกุลของเอนไซม์ เป็นการเปลี่ยนแปลงประจุบนหมู่อะมิโนบนโมเลกุลของเอนไซม์ ถ้ามีการลดลงค่าความเป็นกรด-เบสสูง อาจทำลายโครงสร้างของเอนไซม์ให้เสียสภาพรวมชาติลงได้ นอกจากนี้สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO และ POD โดยทำหน้าที่เป็น chelating agent โดยจับกับโลหะทองแดง และเหล็กซึ่งเป็นโภคเตอร์ของเอนไซม์ PPO และ POD ตามลำดับ ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถจับกับสารตั้งต้นส่งผลให้ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ โดยประสิทธิภาพของการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในกรดซิตริกอาจแตกต่างกันตามชนิดและพันธุ์พืช ดังการศึกษาในฝรั่งพันธุ์กลมสาลีการใช้กรดซิตริกความเข้มข้น 1.5% สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ โดยมีผลลดกิจกรรมของเอนไซม์ POD ลง (สนธยา, 2546) ในผลสัมของจีนกรดซิตริกความเข้มข้น 3.20 g/l สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD ได้ดีเช่นกัน (Yang *et al.*, 2000)

นอกจากนี้ยังพบว่าการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ร่วมกับกรดแอกโซร์บิกหรือกรดซิตริก มีผลช่วยรักษาปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดได้ดีกว่าการใช้สารละลายโซเดียมคลอไรต์ เพียงชนิดเดียว โดยชุดที่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกโซร์บิก 2.5 และ 5% มีปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งเมื่อดูความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และ POD กับปริมาณสารประกอบฟินอลทั้งหมดแล้ว พบว่าในชุดการทดลองที่แช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรต์ 0.01% ร่วมกับกรดแอกโซร์บิก 2.5 และ 5% มีปริมาณสารประกอบฟินอลสูงสัมพันธ์กับกิจกรรมของเอนไซม์ ทั้งสองชนิดที่ต่ำ ซึ่งเป็นผลมาจากการคุณสมบัติบางประการของโซเดียมคลอไรต์ กรดแอกโซร์บิก และกรดซิตริกในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดสีน้ำตาลดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงมีผลทำให้สารประกอบฟินอลทั้งหมดยังคงมีปริมาณสูง