

### บทคัดย่อ

มะนาวเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในประเทศไทย โดยมะนาวระยะที่เปลือกยังมีสีเขียวเป็นที่นิยมของผู้บริโภคเนื่องจากมีกลิ่นรสที่หอมเฉพาะตัว สำหรับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของผลมะนาวคือการเหลืองของเปลือกทำให้ไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคและมีอายุการวางจำหน่ายที่สั้น การศึกษานี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีในมะนาว 2 สายพันธุ์คือพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาฮีตี เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่ามะนาวพันธุ์ตาฮีตีมีการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ช้ากว่ามะนาวพันธุ์แป้น โดยการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและกิจกรรมของเอนไซม์ *chlorophyllase* และ *pheophytinase* ในมะนาวพันธุ์ตาฮีตีมีการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าในมะนาวพันธุ์แป้นซึ่งสังเกตได้จากมะนาวพันธุ์ตาฮีตีมีการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกจากสีเขียวไปเป็นสีเหลืองสมบูรณ์ใน 24 วัน ในขณะที่มะนาวพันธุ์แป้นมีการเปลี่ยนสีเปลือกภายใน 18 วัน โดยมะนาวพันธุ์ตาฮีตีมีการลดลงของค่า *Hue angle* ช้ากว่ามะนาวพันธุ์แป้น อย่างไรก็ตามมะนาวพันธุ์แป้นมีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณวิตามินซีทั้งหมดมากกว่ามะนาวพันธุ์ตาฮีตี

ในส่วนของการศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนไซม์ *chlorophyllase* และ *pheophytinase* เพื่อพิสูจน์ว่าเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดนี้เป็นเอนไซม์ต่างชนิดกัน โดยใช้ *ammonium sulfate* ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) ที่ความเข้มข้น 0-100 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามะนาวพันธุ์แป้น และมะนาวพันธุ์ตาฮีตีมีกิจกรรมเอนไซม์ *chlorophyllase* สูงสุดในช่วงระดับความเข้มข้นของ *ammonium sulfate* ที่ 20-40 เปอร์เซ็นต์ และมีกิจกรรมเอนไซม์ *pheophytinase* สูงสุดในช่วงระดับความเข้มข้นของ *ammonium sulfate* ที่ 40-50 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของ pH ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ *chlorophyllase* คือ pH เท่ากับ 7.0 ในขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์ *pheophytinase* มีกิจกรรมสูงสุดที่ pH เท่ากับ 8.0 และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการบ่มต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ *chlorophyllase* คือ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ *pheophytinase* เท่ากับ 40 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: การสลายตัวของคลอโรฟิลล์/คุณภาพมะนาว

### *Abstract*

*Lime fruit is an important economic crop grown in Thailand. The mature green fruit stage is the preferable stage for the consumer due to aromatic compounds and exotic flavors. Peel yellowing is a major problem of lime during the postharvest period and limits the marketable life. The objective of this research was to investigate the chlorophyll degradation and the changes of chlorophyll-degrading enzymes such as chlorophyllase and pheophytinase activities, and chemical and physical properties of lime cvs. Paan and Tahiti during storage at 25° C. The results showed that 'Tahiti' lime had lower chlorophyll degradation than 'Paan' lime. The changes of chlorophyll a and chlorophyll b contents, total chlorophyll content, chlorophyllase and pheophytinase activities of 'Tahiti' lime were less than that of 'Paan' lime. The development period of peel color from green stage to fully yellow stage of 'Tahiti' lime was 24 days whereas that of 'Paan' lime was 18 days. The 'Tahiti' lime showed the decrease of hue angle value lower than 'Paan' lime. However, 'Paan' lime had higher titratable acidity, total soluble solids and total ascorbic acid than 'Tahiti' lime.*

*The purification of chlorophyllase and pheophytinase was investigated to prove that these two enzymes are not the same enzyme by using ammonium sulfate ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) purification method at concentrations of 0-100 %. The results found that chlorophyllase and pheophytinase activities of 'Paan' and 'Tahiti' lime were highest at 20-40 % and 40-50 % of ammonium sulfate, respectively. The optimum pH of enzyme activity and optimum temperature for incubation of chlorophyllase were 7.0 and 30° C. Meanwhile, pheophytinase had the highest activity at pH 8.0 and 40° C. This can prove that chlorophyllase and pheophytinase are not the same enzyme even both enzymes share the same precursor.*

*Keywords: Chlorophyll degradation/Lime/ Quality*

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยทักษิณประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2558

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
รายการตาราง	ฉ
รายการรูปประกอบ	ช
<b>บทที่</b>	
<b>1. บทนำ</b>	<b>1</b>
1.1 ที่มาของงานวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 สมมุติฐาน	2
1.4 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
<b>2. การตรวจเอกสาร</b>	<b>4</b>
2.1 ลักษณะทั่วไปของมะนาว	4
2.2 พันธุ์มะนาว	5
2.3 ลักษณะทางสรีรวิทยาภายหลังการเก็บเกี่ยวผลมะนาว	6
2.4 โครงสร้างของผลมะนาว	6
2.5 การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมีของผลไม้	7
2.6 การปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวมะนาว	13
<b>3. วิธีการดำเนินงานวิจัย</b>	<b>16</b>
3.1 การเตรียมผลผลิต	16
3.2 การวางแผนการทดลอง	16
3.3 การบันทึกผลการทดลอง	17
3.4 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล	23

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. ผลการทดลอง	24
4.1 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาอิตี	24
4.2 ศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> และ <i>pheophytinase</i> ที่สกัดได้จากเปลือกมะนาว สายพันธุ์แป้น และสายพันธุ์ตาอิตี	34
5. วิจัยรณัผลการทดลอง	40
5.1 ศึกษาลักษณะทางเคมีและทางกายภาพของมะนาว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาอิตี	40
5.2 ศึกษาการทำปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> และ <i>pheophytinase</i> ที่สกัดได้จากเปลือกมะนาว สายพันธุ์แป้น และสายพันธุ์ตาอิตี	42
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	44
เอกสารอ้างอิง	47
ภาคผนวก	53
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์ทางสถิติ	53
ภาคผนวก ข วิธีคำนวณความเข้มข้น <i>Ammonium sulfate</i> $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	60

## รายการตาราง

ตาราง	หน้า
ก.1 การสูญเสียน้ำหนักสดของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	44
ก.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง $L^*$ value ของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	55
ก.3 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	55
ก.4 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตจากน้ำคั้นเนื้อของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	56
ก.5 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้จากน้ำคั้นของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	56
ก.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	57
ก.7 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของมะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	57
ก.8 ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	58
ก.9 กิจกรรมเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	58
ก.10 กิจกรรมเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	59
ข.1 ตารางแสดงค่าความเข้มข้นของ ammonium sulfate $(NH_4)_2SO_4$	62

## รายการรูปประกอบ

รูป	หน้า
2.1 พันธุ์มะนาว	5
2.2 ลักษณะทางกายวิภาคของพืชตระกูลส้ม	7
2.3 สูตรโครงสร้างของคลอโรฟิลล์	9
2.4 กลไกการสลายตัวของคลอโรฟิลล์	10
2.5 การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ที่เกิดจากกระบวนการ Oxidation	11
2.6 การเพิ่มขึ้นของอนุพันธุ์ pheophorbide a หลังจากการปฏิกิริยาของเอนไซม์ pheophytinase ในมะนาว	12
3.1 color chart	18
3.2 กราฟพีโปรตีนมาตรฐานกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร	23
4.1 การสูญเสียน้ำหนักของมะนาว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	24
4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง $L^*$ value ของมะนาว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	25
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่า Hue angle ของมะนาว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ มะนาวพันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	26
4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงสีเปลือกของมะนาว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ มะนาวพันธุ์แป้น และมะนาวพันธุ์ตาสีติ	26
4.5 ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตจากน้ำคั้นเนื้อของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	27
4.6 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้จากน้ำคั้นเนื้อของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	28
4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	29
4.8 ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้น และพันธุ์ตาสีติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	30
4.9 ปริมาณวิตามินซีทั้งหมดของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีติในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	31

## รายการรูปประกอบ (ต่อ)

รูป	หน้า
4.10 กิจกรรมเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	32
4.11 กิจกรรมเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส	33
4.12 การทำวิสุทธิเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีโดยใช้ <i>ammonium sulfate</i>	34
4.13 การทำวิสุทธิเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีโดยใช้ <i>ammonium sulfate</i>	35
4.14 การทำวิสุทธิเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีโดยใช้ <i>ammonium sulfate</i>	36
4.15 การทำวิสุทธิเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสีโดยใช้ <i>ammonium sulfate</i>	36
4.16 พืชที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสี	37
4.17 พืชที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสี	38
4.18 อุณหภูมิที่เสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>chlorophyllase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสี	38
4.19 อุณหภูมิที่เสถียรต่อการเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์ <i>pheophytinase</i> ของมะนาวพันธุ์แป้นและพันธุ์ตาสี	39