สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การคัดเลือกสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อแห้ว

Selection of Anti-browning Agents for Water Chestnut Flesh

ดร. ระจิตร สุวพานิช

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
SB
401
.C4
ร214ก

เลขหมู่ 131173
เลขทะเบียน
วัน,เดือน,ปี 22 พ.ค. 2557

b. 12602140
i.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การคัดเลือกสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อแห้ว
แหล่งทุน งบประมาณเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสบับสนุน 36,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ตุลาคม 2553 ถึงกันยายน 2554
หัวหน้าโครงการ และหน่วยงานต้นสังกัด
ดร. ระจิตร สุวพานิช สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ทำการศึกษาหาสารทดแทนสารประกอบซัลไฟต์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในขั้นตอนการปอกเปลือกแห้วก่อนผ่านการแปรรูป โดยแบ่งชุดทดลองออกเป็น 5 ชุดทดลอง คือ ชุดทดลองที่ 1ให้เป็นชุดควบคุม (แห้วที่ไม่ผ่านการแช่ภายหลังการปอกเปลือกแล้ว) ชุดทดลองที่ 2 คือ แช่ในน้ำประปา ชุดทดลองที่ 3 แช่ในสารละลาย 4 mM Salisylic Acid ชุดทดลองที่ 4 แช่ในสารละลาย 200 ppm Sodium metabisulphite และ ชุดทดลอง 5 แช่ในสารละลาย 0.01% 4-hexylresorcinol , 0.5 % ascorbic acid และ 1.0% calcium lactate (อัตราส่วนระหว่างแห้ว:สารละลาย 1 : 1) ทำการวัดการเปลี่ยนเปลี่ยนแปลงสี และกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ภายหลังการแช่เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากผลการศึกษาพบว่า แห้วที่แช่ในสารละลาย 4 mM Salisylic Acid จะมีการเปลี่ยนแปลงสีน้อยที่สุด สอดคล้องกับค่ากิจกรรมของแอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสต่ำกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

คำสำคัญ : แห้วจีน ยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Selection of Anti-browning Agents for Water Chestnut Flesh
Researcher: Dr. Rachit Suwapanich
Faculty: Agro-Industry **Department:** -

ABSTRACT

Determine sulfite substitutes compounds as a powerful anti-browning agent in fresh-cut Chinese water chestnut (CWC) was investigated. The fresh-cut CWC were dipped in tap water , 4 mM of Salisylic Acid, 200 ppm of Sodium metabisulphite, mix solution of 0.01% 4-hexylresorcinol, 0.5%. ascorbic acid and 1.0% calcium lactate and no dipped as control. Then placed in plastic bag stored at ambient temperature. Changes in color, activities of peroxidase and polyphenol oxidase were analyzed every 2 hours. The result shown the fresh-cut CWC dipped in 0.4 mM of salisylic acid significantly inhibited surface discoloration and enzyme activity.

Keywords : *Elecharis dulcis* Trin; browning inhibition

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2554

ขอขอบคุณ นายณัฐพล ประเทิงจิตต์ นักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร ที่ช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลงานวิจัย

ระจิตร สุวพานิช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	12
บทที่ 4 ผลการวิจัย	15
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	29
เอกสารอ้างอิง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงค่าสี (L*, a*, b*) ของแห้วที่ภายหลังการแช่ (ชม.)	16
ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอมไซม์ Peroxidase และ Polyphenoloxidsae	19
ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่าสี (L*, a*, b*) ของแห้วที่แช่ในสภาวะต่าง ๆ	23
ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้ว ภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 1 ลักษณะของต้นแห้ว	4
ภาพที่ 2 การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาเอนไซม์และการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของรีดิวซิงเอเจนต	6
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์	8
ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาการผันกลับของกรดแอสคอร์บิกและกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก	9
ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนซีสเทอีนในระหว่างเกิดปฏิกิริยา	10
ภาพที่ 6 โครงสร้างของ 4-เฮกซิลเรโซซินอล (4-Hexylresorcinol)	11
ภาพที่ 7. ค่าสีแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายทดแทนกำมะถัน	17
ภาพที่ 8. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายทดแทนกำมะถัน	20
ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายต่าง ๆ	21
ภาพที่ 10. ค่าสีแห้วภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ	24
ภาพที่ 11. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ	27
ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงสีของแห้วที่แช่ในสารละลายภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แห้วหรือแห้วจีน มีชื่อภาษาอังกฤษว่า วอเทอร์นัท (waternut) หรือไชนิส วอเทอร์เชสต์นัต (Chinese water chestnut) หรือ มาไต (Matai) ในประเทศทางแถบเอเชียตะวันออกมีการนำแห้วมาปลูกเป็นครั้งแรกในประเทศจีน สำหรับประเทศไทยมีแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญอยู่ที่จังหวัดสุพรรณบุรี ร้อยละ 75 ของผลิตทั้งหมดจะถูกส่งเข้าโรงงานเพื่อแปรรูปเป็นแห้วกระป๋อง ส่งจำหน่ายทั้งในและต่างประเทศ คิดเป็นมูลค่าประมาณ 150 ล้านบาทต่อปี

โรงงานกระป๋องจะรับซื้อแห้วที่ผ่านการปอกเปลือกแล้วจากชาวนาหรือพ่อค้าคนกลาง การปอกเปลือกแห้วส่วนใหญ่ทำโดยแรงงานคนซึ่งทำได้ช้า แห้วที่ถูกปลอกเปลือกแล้วจะถูกแช่ในน้ำ (ประปาหรือสารละลายเคมีเพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาล) จนได้ปริมาณแห้วมากพอที่จะส่งเข้าโรงงาน ซึ่งทำให้แห้วที่ปอกเปลือกแล้วถูกแช่ในน้ำเป็นเวลานานจนเกิดสีน้ำตาล ส่งผลให้คุณภาพและราคาของแห้วลดลง สารเคมีที่ใช้เพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในแห้วที่ปอกเปลือกแล้วยังไม่ปันที่แน่ชัด แต่ที่ใช้อย่างแพร่หลายคือการใช้สารประกอบซัลไฟต์ แต่สารชนิดนี้เป็นสารที่ต้องควบคุมปริมาณการใช้ เพราะมีผลกระทบต่อสุขภาพของผู้บริโภคบางคน โดยสามารถทำให้เกิดอาการหอบหืด และอาการแพ้อย่างรุนแรงได้

การวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาหาสารทดแทนสารประกอบซัลไฟต์ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในขั้นตอนการเตรียมแห้วก่อนการแปรรูป และในระหว่างการเก็บรักษา โดยคำนึงถึงความปลอดภัยและการยอมรับของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อคัดเลือกสารทดแทนกำมะถันที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในเนื้อแห้ว ก่อนการแปรรูป

2. เพื่อศึกษาหาวิธีการแช่เนื้อแห้วในสารละลายที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 คัดเลือกสารทดแทนกำมะถันที่มีศักยภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและโพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อแห้ว ก่อนนำไปแปรรูป

ตอนที่ 2 ศึกษาหาวิธีการแช่เนื้อแห้วในสารละลายที่เหมาะสม

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าได้รับ

1. ทราบชนิดและความเข้มข้นของสารที่ใช้ทดแทนกำมะถันในการยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของเนื้อแห้วก่อนและหลังการแปรรูป
2. ทราบวิธีการแช่เนื้อแห้วในสารละลายที่เหมาะสม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แห้วจีน

2.1.1 ประวัติความเป็นมาและแหล่งปลูก

แห้วหรือแห้วจีน มีชื่อภาษาอังกฤษว่า วอเทอร์นัท (waternut) หรือ ไชนิส วอเทอร์เชสต์นัต (Chinese water chestnut) หรือ มาไต (Matai) แห้วเป็นพืชดั้งเดิมของแถบร้อน ขึ้นเองตามธรรมชาติในประเทศทางแถบเอเชียตะวันออก มีการนำแห้วมาปลูกเป็นครั้งแรกในประเทศทางแถบอินโดจีนหรือจีนภาคตะวันออกก่อน ปัจจุบันมีการปลูกแห้วเป็นการค้าในประเทศจีน ฮ่องกง ฟิลิปปินส์ อินเดีย สหรัฐอเมริกา (รัฐฮาวาย) อเมริกาใต้ และประเทศไทยไม่ทราบแน่ชัด ว่ามีการปลูกแห้วเป็นการค้าในประเทศไทยเมื่อใด แต่มีผู้นำแห้วมาปลูกที่จังหวัดเชียงรายนานมาแล้ว และได้นำมาปลูกในเขต อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2493 ปรากฏว่าปลูกได้ผลดี ได้ผลผลิตหัวสดถึงไร่ละ 4000 กิโลกรัม ราคาในขณะนั้นกิโลกรัมละ 12-15 บาท ทำกำไรมากมายให้แก่ผู้ปลูก จึงมีการปลูกแห้วเพิ่มขึ้น ขยายเนื้อที่ออกไป ทำให้ราคาลดลงเรื่อยๆ จนเหลือราคากิโลกรัมละ 2 บาทในปี พ.ศ. 2510 การขยายเนื้อที่ปลูกจึงไม่กว้างขวางออกไปมากนัก แต่ก็ยังมีผู้นิยมปลูกแห้วกันอยู่มากพอสมควร ปัจจุบันมีการปลูกแห้วมากแถวสองฝั่งแม่น้ำท่าจีน เขตอำเภอเมือง อำเภอศรีประจันต์ อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี เนื้อที่ปลูกประมาณ 500-1000 ไร่ (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, 2534)

2.1.2 ลักษณะทั่วไป

แห้วเป็นพืชปีเดียวขึ้นในน้ำเหมือนข้าว ต้นเล็กเรียวคล้ายต้นหอม หรือใบกก หรือใบหญ้าทรงกระเทียม ใบน้อย หัวเป็นประเภทคอร์ม (corm) สีน้ำตาลไหม้ หัวกลมมีลักษณะคล้ายหอมหัวใหญ่ แต่ขนาดเล็กกว่ามาก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-4 เซนติเมตร เนื้อสีขาว (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, 2534)

2.1.3 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

แห้วจีนมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eleocharis Dulcis* Trin มีชื่ออื่นอีก ได้แก่ *E.uberosa* Schult. หรือ *Scirpus tuberosus* Roxb.อยู่ในตระกูล Cyperaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว เป็นกกชนิดหนึ่งคล้ายกับหญ้าทรงกระเทียม แต่เป็นคนละชนิด (specie) กัน แห้วจีนเป็นพืชปีเดียว ลำต้นแข็ง อวบ ลำต้นกลวง ตั้งตรง มีความสูง 90–110 เซนติเมตร ดอกเกิดที่ยอดของลำต้น ดอกตัวเมียเกิดเมื่อต้นสูง 15 เซนติเมตร เหนือน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.4 ชนิดของแห้วจีน

นอกจากแห้วซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ *E.dulcis* แล้ว ยังมีแห้วซึ่งมีรูปร่างคล้ายๆ กันนี้อีก 2 ชนิด ชนิดแรกเป็นแห้วป่าขึ้นอยู่ในน้ำนิ่ง หัวเล็กมาก สีเข้มเกือบดำ บางทีเรียกว่า *E. plantaginea* หรือ *E. plantaginoides* อีกชนิดหนึ่งเป็นชนิดที่ต้องปลูก แห้วชนิดนี้มีหัวใหญ่ มีรสหวาน เดิมทีเดียวจัดไว้ต่างชนิดออกไป คือ เรียกว่า *E.tuberosa* ปัจจุบันจัดเป็นชนิดเดียวกัน (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, 2534)

2.1.5 ประโยชน์ของแห้วจีน

หัวแห้วจีนประกอบด้วยส่วนที่กินได้ 46 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เป็นของแข็งประมาณ 22 เปอร์เซ็นต์ ในจำนวนนี้เป็นโปรตีน 1.4 เปอร์เซ็นต์ คาร์โบไฮเดรตและเส้นใยต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์หัวแห้วสด ประกอบด้วย ความชื้น 77.9 เปอร์เซ็นต์ โปรตีน 1.53 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 0.15 เปอร์เซ็นต์ ไนโตรเจน 18.9 เปอร์เซ็นต์ น้ำตาลร้อยล 1.94 เปอร์เซ็นต์ ซูโครส 6.35 เปอร์เซ็นต์ แป้ง 7.34 เปอร์เซ็นต์ เส้นใย 0.94 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 1.19 เปอร์เซ็นต์ แคลเซียม 2 – 10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ของส่วนที่กินได้ ฟอสฟอรัส 52.2 – 65 มิลลิกรัม เหล็ก 0.43 – 0.6 มิลลิกรัม ไทอามีน 0.24 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน 0.007 มิลลิกรัม ไนอาซิน 0.007 มิลลิกรัม กรดแอสโคบิก (ascorbic acid) 9.2 มิลลิกรัม นอกจากนี้แห้วจีนใช้รับประทานสด บรรจุกระป๋อง ต้มน้ำหรือต้มทำขนม หรือใช้ประกอบอาหารก็ได้ มักเป็นอาหารจีน นอกจากนี้ยังใช้ทำแป้งได้ด้วย หัวเล็ก ๆ ใช้เลี้ยงเป็ด ไก่ ได้ดี หัวแห้วบางชนิดใช้ทำยา ต้นแห้วใช้เลี้ยง ปศุสัตว์ ใช้ในการบรรจุหีบห่อผลไม้ ใช้ทำตะกร้า ทอเสื่อ เป็นต้น (โครงการสารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว, 2534; สำนักงานเกษตรอำเภอศรีประจันต์ จังหวัดสุพรรณบุรี, ม.ป.ป.)

2.2 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Browning reaction)

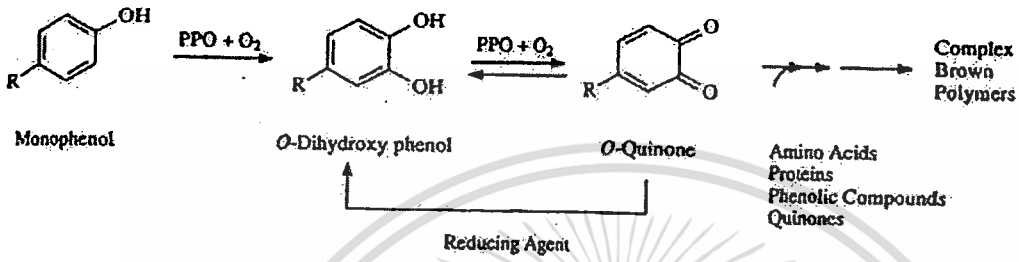
การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในอาหารแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ การเกิดสีน้ำ ตาล เนื่องจากปฏิกิริยาเอนไซม์ (enzymatic browning) และการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่มีปฏิกิริยาเอนไซม์เกี่ยวข้อง (non-enzymatic browning)

2.2.1 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำ ตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์

การเกิดสี น้ำตาล เนื่องจากปฏิกิริยาเอนไซม์เป็นปัญหาสำคัญที่พบในผักผลไม้สดและน้ำผลไม้มากกว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการแปรรูปด้วยความร้อน เนื่องจากความร้อนที่ใช้ในการแปรรูปจะทำให้ประสิทธิภาพของเอนไซม์เสียไปได้ (ศิวาพร, 2535) ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์จะเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อพืช เมื่อเซลล์ถูกทำลายทางกล เช่น การปอกเปลือก หรือการหั่นชิ้น ทำให้เกิดปฏิกิริยาของสารประกอบโมโนฟีนอลที่อยู่ ในเซลล์พืชสัมผัสกับออกซิเจนในอากาศและมีเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ทำให้ เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันได้เป็น *ออร์โท*-ไดฟี นอล (*o*-diphenol) สารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อให้ เป็น *ออร์โท*-ควิ โนน (*o*-quinine) เอนไซม์ PPO อาจมีชื่อ เรียกว่า โพลีฟีนอลเลส, ฟีนอเลส, ไทโรซิเนส, *ออร์ โท*-ไดฟีนอลออกซิเดส (*o*-diphenoloxidase) หรือแคทีคอลออกซิเดส (catechol oxidase) ควิโนนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO จะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ หรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำ ตาล (นิธิยา, 2549) ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากปฏิกิริยาเอนไซม์และการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลของรีดิวซิงเอเจนต์

ที่มา: Sapers (1993)

ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ในผักและผลไม้ คือ ความเข้มข้นของเอนไซม์ และสารประกอบฟีนอลที่เป็นสับสเตรท ความเป็นกรด-ด่าง ออกซิเจน และอุ ณหภูมิ เป็นต้น (ศิวาพร, 2535) สับสเตรทที่ถูกออกซิไดส์ได้ด้วยเอนไซม์ PPO ได้แก่ สารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในพืช ซึ่งเป็น สารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น แอนโทไซยานินลูโคแอนโทไซยานิดิน ฟลาโวนอล แคทีคอล กรดคาเฟอิก กรดคลอโรจินิก แคตีชิน เอสเทอร์ของกรดซินนามิ ก 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน (3,4 dihydroxy- phenylalanine หรือ DOPA) และไทโรซีน พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานเอนไซม์ PPO อยู่ในช่วงพีเอช 5-7 เอนไซม์นี้ไม่ค่อยคงตัวถูกทำลายได้ด้วยความร้อนและถูกยับยั้งได้ด้วยกรดแฮไลด์ (halides) กรดฟีนอล ซัลไฟต์คีเลติงเอเจนต์ (chelating agents) และรีดิวซิงเอเจนต์ เช่น กรดแอสคอร์บิก และซีสเทอีนเป็นต้น (นิธิยา, 2549)

2.2.2 การควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ในอาหาร

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์เมื่อเกิดขึ้นในอาหารจะทำให้อาหารมีสีเปลี่ยนไป และยังทำให้รสชาติของอาหารบางชนิดเปลี่ยนแปลงไปด้วย อาหารจึงมีคุณภาพลดลงไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การควบคุมไม่ให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์นี้ทำได้หลายวิธี จะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับอาหารแต่ละชนิด ตัวอย่าง เช่น

1. ใช้ความร้อนทำลายเอนไซม์ PPO หรือฟีนอเลส เช่น การลวกผักด้วยไอน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ใช้สารเคมียับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO หรือฟีนอเลส

3. เติมสารรีดิวซิงเอเจนต์ เช่น กรดแอสคอร์บิ ก ความเข้มข้นประมาณ 0.1 - 0.3 เปอร์เซ็นต์

4. กำจัดออกซิเจนโดยใช้ภาชนะบรรจุ ที่อากาศผ่านเข้าออกไม่ได้ หรือลดความดันของอากาศให้ต่ำกว่า 380 ทอร์ (torr) หรือเก็บรักษาในบรรยากาศที่มีออกซิเจนต่ำมากๆ

5. ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสับสเตรทที่มีอยู่ตามธรรมชาติ

2.2.3 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ หรือปฏิกิริยาเมลลาร์ด จะเกิดขึ้นเมื่ออาหารทุกชนิดได้รับความร้อนจะมีการสูญเสียน้ำ (dehydration) มีการสลายตัว (degradation) และมีการรวมตัวกัน (condensation) ของหมู่อะมิโนกับสารประกอบรีดิวซิงและพัฒนาเป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลและน้ำตาลแดง และทำให้อาหารมีกลิ่นและรสชาติเฉพาะการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดของอาหารแต่ละชนิดเมื่อได้รับความร้อนจะทำให้มีทั้งสีกลิ่นและรสชาติเกิดขึ้นแตกต่างกั น และปฏิกิริยานี้ จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูงและจะผันแปรตามระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ (นิธิยา, 2549)

2.2.4 การจำแนกชนิดของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ สามารถจำแนกย่อยออกได้เป็น 2 แบบ คือ

1. การเกิดคาราเมไลเซชัน (caramelization)

2. การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction)

2.3 การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

สารประกอบซัลไฟต์เป็นสารที่ใช้ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลลที่มีประสิทธิภาพดีมาก เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีความสำคั ญต่อวงการอุตสาหกรรมอาหารมาก (ศิวาพร, 2535) ได้มีการนำมาใช้ในรูปต่างๆ เช่น ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO2) โซเดียมซัลไฟต์ (Na2SO3) โซเดียมไบซัลไฟต์($NaHSO_3$) โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ($Na_2S_2O_5$) รวมทั้งเกลือในรูปของโพแทสเซียมด้ วย นิยมเรียกสารประกอบในกลุ่มนี้ว่า “Sulfiting agents” (สายสนม, 2546)

2.3.1 สารที่ใช้ทดแทนสารประกอบซัลไฟต์ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

จากที่ทราบแล้วว่าสารประกอบซัลไฟต์เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีประสิทธิภาพดี มากในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในอาหาร และในขณะเดียวกันยังช่วยยืดอายุ การเก็บของอาหาร และช่วยปรับปรุงคุณภาพของอาหารอีกหลายชนิด และที่สำคัญคือจะมีราคาถูกมาก แต่มีข้อเสีย คือ ไม่ปลอดภัยต่อผู้

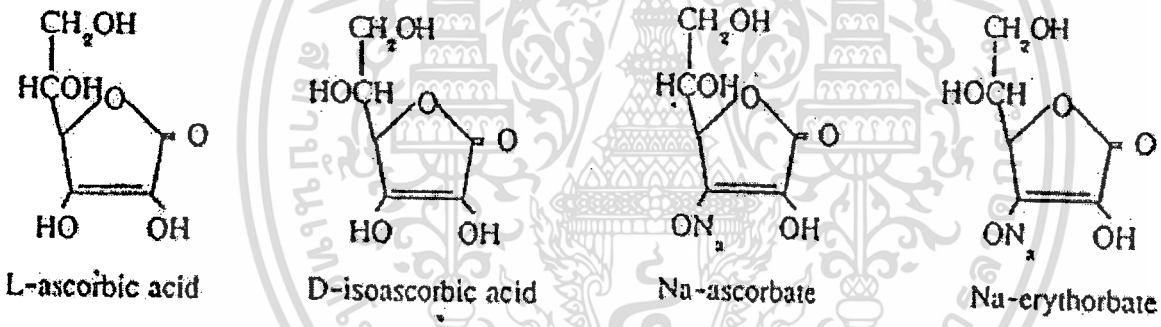
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บริโภค เนื่องจากอนุมูลซัลไฟต์ที่เหลือในอาหารถ้าหากมีอยู่ในปริมาณที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะผู้ที่เป็นโรคภูมิแพ้ต่าง ๆ เช่น โรคหืด เป็นต้น

ฉะนั้นจึงได้มีความพยายามในการหาสารที่ สามารถให้ประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับสารประกอบซัลไฟต์ ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และในขณะเดียวกันต้องปลอดภัยต่อผู้บริโภค และมีราคาถูกมาใช้แทนสารประกอบซัลไฟต์ (ศิวาพร, 2535) โดยตัวอย่างของสารที่ได้มี การทดลองนำมาใช้แทนสารประกอบซัลไฟต์ ได้แก่

2.3.2 สารรีดิวซิง (Reducing agents)

กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) หรือวิตามินซีเป็นสารที่รู้จักกันอย่างกว้างขวาง โครงสร้างประกอบด้วย Steriochemical isomer อีก 3 ชนิด แต่มีไอโซเมอร์ เพียงชนิดเดียวที่มีความสำคัญในอุตาสาหกรรมอาหารคือ D-isoascorbic acid หรื อ Erythorbic a

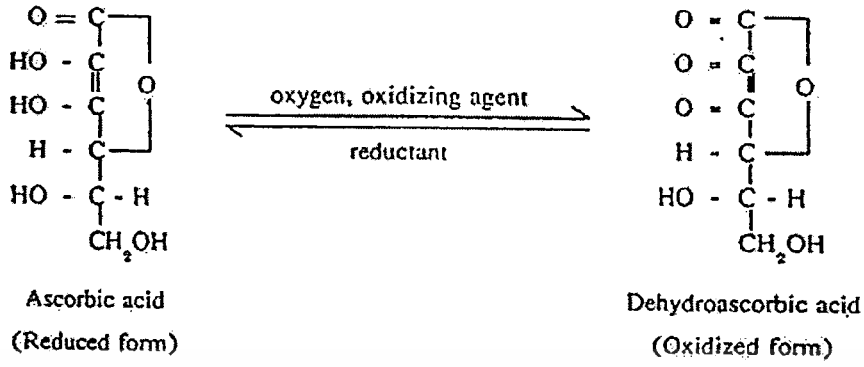


ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์

ที่มา: มณฑาทิพย์ (2539)

กรดแอสคอร์บิกอาจเป็นสารที่ใช้แทนซัลไฟต์ที่รู้จักกันดี ที่สุด เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพราะกรดแอสคอร์บิกสามารถรีดิวซ์สารควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอลด้วยการกระทำของ PPO ให้กลับมาอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลตามเดิม ก่อนที่สารควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4 ปฏิกิริยาการผันกลับของกรดแอสคอร์บิกและกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก

ที่มา : มณฑาทิพย์ (2539)

เมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดส์จนกลายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิ ก (Dehydroascorbic acid; DHAA) ทั้งหมดแล้ว ดังรูปที่ 3 สารคิวโนนก็จะเกิดสะสมมากขึ้น และดำเนินปฏิกิริยาไปจนเป็นสารสีน้ำตาลได้ และอีกอย่างคือตัว DHAA เองสามารถเกิดปฏิกิริยาให้สารสี

มีการใช้กรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ของมันคือกรดอีริทอร์บิก (D-isoascorbic or erythorbic acid) ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ในผลไม้สดและแช่แข็ง โดยเติมกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ของมันลงในน้ำเชื่อมหรือเตรียมเป็นสารละลายสำหรับเคลือบผลไม้ (ประสาร, 2538) โดยกรดแอสคอร์บิกและอีริทอร์เบตนั้นมีประสิ ทธิภาพในการเป็นสารที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและปฏิกิ ริยาสีน้ำตาลได้คล้ายกัน แต่อีริทอร์เบตไม่มีคุณสมบั ติเป็นวิตามินซีเท่านั้น (Borenstein, 1965; Sapers and Ziolkowski, 1987) การใช้กรดแอสคอร์บิกที่มีความเข้มข้นสูง ๆ นั้นจะสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสได้ (Vamos-Vigyazo, 1995) นอกจากนี้ยังมีการใช้ร่วมกับกรดซิตริก หรือเกลือแคลเซียมฟอสเฟตโซเดียมคลอไรด์ ซีสเทอีน หรือสารกันเสีย เช่น โซเดียมเบนโซเอท หรือโพแทสเซียมเบนโซเอทรวมทั้งมีการใช้ระบบสุญญากาศช่วยดูดอากาศออกจากช่องว่างของผลิตภัณฑ์เพื่อให้สารละลายของสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลกระจายอย่างทั่วถึงผลิตภัณฑ์ (ประสาร, 2538)

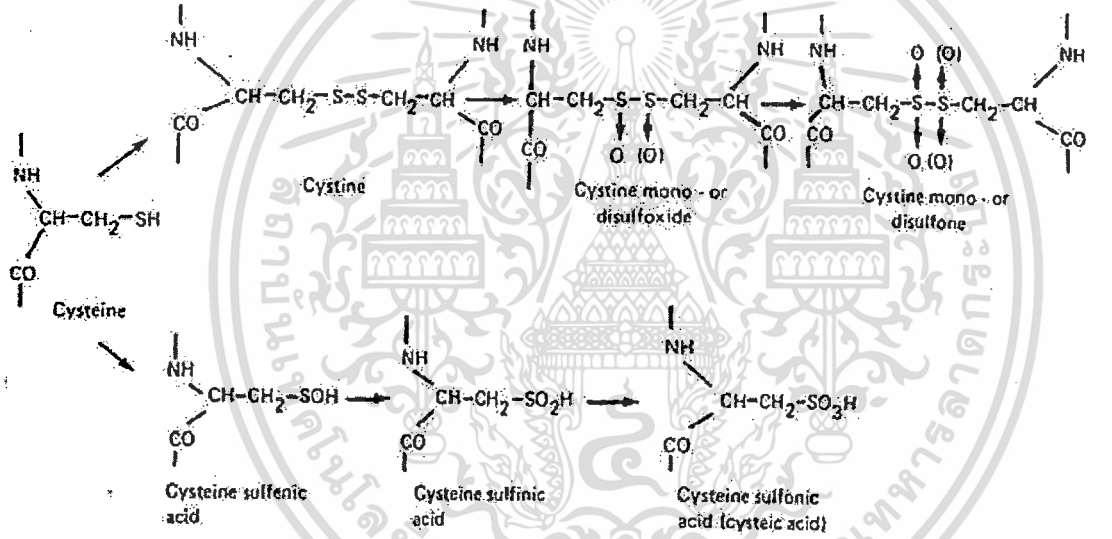
2.3.4 กรดอะมิโนที่ประกอบด้วยหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (Sulfhydryl-containing amino acid)

กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบสามารถช่วยป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้สดได้ดีมาก และได้มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมแอปเปิลสดตัดแต่ง มันฝรั่งปอกเปลือกลิ้นจี่ และน้ำผลไม้อย่างแพร่หลาย (George *et al.*, 1999; Gunes and Lee, 1997; Jiang and Fu, 1998; McEvily *et al.*, 1992) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาการใช้ซีสเทอีนในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจะมีมากกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ ซีสเทอีนเป็น สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล พบว่า ซีสเทอีนสามารถทำปฏิกิริยากับควิโนนซึ่งเป็

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นสารตัวกลางที่เกิดจากการออกซิเดชันของโพลีฟีนอล โดยมีโพลีฟีนอลออกซิเดสเป็นตัวเร่งทำให้ได้สารประกอบที่คงตัวและไม่ มีสี จึงไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหาร (Dudley and Hotchkiss, 1989) โดยซีสเทอีนสามารถยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้ด้วย (Robert *et al.*, 1996) และสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผลไม้ตัดแต่งได้ (Senesi and Pastine, 1996) ซึ่งสอดคล้องกับการใช้ซีสเทอีนในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งได้ (Gunes and Lee, 1997) ได้โดยไม่ใช้ปฏิกิริยาของเอนไซม์ (มณฑาทิพย์, 2539)

ซีสเทอีนจึงเป็นกรดอะมิโนที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลในผักและผลไม้แทนสารประกอบซัลไฟต์ (Saper, 2002) และอนุญาตให้มีการใช้ในทางการค้าได้ เนื่องจากภายในโครงสร้างของซีสเทอีนมีอะตอมของซัลเฟอร์อยู่ โดยหมู่ซัลไฮดริล (-SH) ในโครงสร้างจะสามารถจับกับหมู่คาร์บอนิล ทำให้สารคาร์บอนิลไม่ ถูกเปลี่ยนเป็นสารสีน้ำตาล



ภาพที่ 5 การเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนซีสเทอีนในระหว่างเกิดปฏิกิริยา

ที่มา : Damodar (1996)

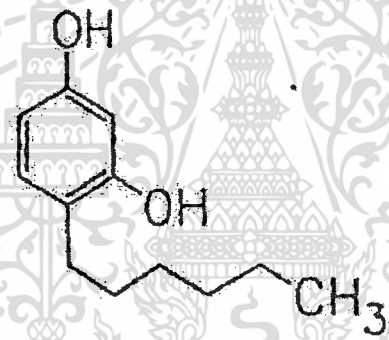
2.3.5 สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibitors)

กรดซินนามิค (cinnamic acid) และกรดเบนโซอิค (benzoic acid) จะให้ผลในการยับยั้งดีมาก เมื่อใช้ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกในผลิตภัณฑ์น้ำแอปเปิล และเมื่อเติมในรูปของ sodiumcinnamate (CINN) สามารถยับยั้ง PPO ได้ทั้งแบบ competition และ non-competition ขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรท แต่ก็ มี ปัญหาในการใช้เพราะบางครั้ง (CINN)- ก่อให้เกิ ดสีน้ำตาลได้อาจเนื่องจาก (CINN)- ถูกเปลี่ยนไปเป็น PPO substrate โดย cinnamate-hydroxylase และเอนไซม์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารประกอบโพลีฟี นอล (Walker, 1976) และพบว่ากรดโกจิค (kojic acid) ที่ได้จากเชื้อรามีคุณสมบัติในการไปยับยั้งการทำงานของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยจะไปขัดขวางการรับออกซิเจนของโพลี ฟีนอลออกซิเดส และยังรีดิวซ์สาร *ออโท*-ควิโนน ไปเป็นสารไดฟีนอล ทำให้ไม่สามารถสร้างสารสีน้ำตาล แต่สารนี้อาจทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ (ประสาร, 2538)

4-เฮกซิลเรโซซินอล (4-Hexylresorcinol) เป็นสารที่ใช้ในการยับยั้งเอนไซม์โพลีฟีนอลที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อป้องกั นการเปลี่ยนแปลงสีของกุ้ งสดและยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้บางชนิด โดยมีชื่อทางการค้าว่า EverfreshTm (McEvily *et al.*, 1991; Monsalve-Gonzalez *et al.*, 1993; Luo and Barbosa-Canovas, 1997) ซึ่งอนุพันธ์ของ resorcinol เป็นสารประกอบ *เมตา*-ไดฟี นอล (*m*-diphenols) ซึ่งจะไปยั บยั้งปฏิ กิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้โดยทำหน้าที่เป็นตัวยับยั้งแบบแข่งขัน (competition inhibitor) กับ PPO เนื่องจากมีโครงสร้างคล้ายกับฟีนอลิกที่เป็นสารตั้งต้น โครงสร้างของ 4-เฮกซิลเรโซซินอล แสดงดั งภาพที่ 6 โดยส่วนที่เป็นไฮโดรโฟบิก (hydrophobic) ในตำแหน่งที่ 4 ของ Aromatic resorcinol ring เช่น Hexyl Dodecylและ Cyclohexyl จะเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้ง PPO (Monsalve- Gonzalez *et al.*, 1995)



ภาพที่ 6 โครงสร้างของ 4-เฮกซิลเรโซซินอล (4-Hexylresorcinol)

ที่มา : Kleemann (1999)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์วิธีการ

การเตรียมวัตถุดิบ

คัดเลือกแห้ว (*Eleocharis dulcis*) ด้วยการลอยในน้ำเลือกผลที่จมน้ำ จากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด 2 ครั้ง ผึ่งให้ผิวของแห้วแห้ง ก่อนนำมาปอกเปลือก

วิธีการทดลองงานวิจัยนี้แบ่งวิธีการทดลองออกเป็น 2 ขั้นตอนดังนี้

ตอนที่ 1 คัดเลือกสารทดแทนกำมะถันที่มีศักยภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและโพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อแห้ว ก่อนนำไปแปรรูป

นำแห้วที่ได้ในขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบมาปอกเปลือกด้วยมีด จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายต่างๆ จำนวน 4 ชุดการทดลอง ดังตารางที่ 1 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ 1 สภาวะการทดลองที่ใช้ในการแช่เนื้อแห้ว

ชุดการทดลอง	**สภาวะการทดลอง**
ชุดควบคุม	ชิ้นแห้วที่ไม่ผ่านการแช่สารละลาย
ชุดทดลองที่ 1 (set 1)	ชิ้นแห้วที่ผ่านการแช่น้ำประปา
ชุดทดลองที่ 2 (set 2)	ชิ้นแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย 4 mM Salisylic Acid (Litao and Yueming, 2006)
ชุดทดลองที่ 3 (set 3)	ชิ้นแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย 200 ppm Sodium metabisulphite (อุไร และ คณะ 2543)
ชุดทดลองที่ 4 (set 4)	ชิ้นแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย 0.01% 4-hexylresorcinol, 0.5% ascorbic acid และ 1.0% calcium lactate (อัตราส่วนระหว่างแห้ว:สารละลาย = 1 : 1) แช่นาน 2 นาที (Dong *et al.*, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังการแช่สารละลายนำชิ้นแห้วมาบรรจุในถุงพลาสติกและเก็บที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ผลโดยสุ่มตัวอย่างออกมาวัดค่าสี และกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดสตามวิธีของ Flurkey and Jen (1978) เก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 ชั่วโมง ดังนี้คือ ที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8และ 10 ชั่วโมง ตามลำดับ คำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์และกิจกรรมของเอนไซม์ที่สามารถยับยั้งได้ และวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ว่าชุดการทดลองใดสามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดสได้ดีที่สุด

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

ก. การวัดสี วัดสีเนื้อแห้วที่ปั่นผสมรวมเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องวัดสี Color Quest รายงานผลเป็นค่า L* a* b* (ในระบบ CIE) และคำนวนค่า Hue (h°) และ Chorma (C) (ภาคผนวก)

การวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมี

ก. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส นำตัวอย่างเนื้อแห้วมาวิเคราะห์ ตามวิธีของ Flurkey and Jen (1978) (ภาคผนวก)

ข. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส นำตัวอย่างเนื้อแห้วมาวิเคราะห์ ตามวิธีของ Flurkey and Jen (1978) (ภาคผนวก)

ตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการแช่เนื้อแห้วในสารละลายที่เหมาะสม

นำแห้วที่ผ่านการแช่สารละลายที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลจากตอนที่ 1 มา 2 ชุดการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการแช่ 3 วิธี คือ

วิธีที่ 1 คือ แช่ในสภาวะปกติ 12 นาที

วิธีที่ 2 คือ แช่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิเมตรปรอท 10 นาที และแช่ต่อในสภาวะปกติ 2 นาที ดัดแปลงมาจากวิธีของ XIE (2004)

วิธีที่ 3 คือ แช่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับ 50 มิลลิเมตรปรอท 20 นาที และแช่ต่อในสภาวะปกติ 2 นาที ดัดแปลงมาจากวิธีของ XIE (2004)

ทำการทดลอง 2 ซ้ำ สุ่มตัวอย่างออกมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ชีวเคมี และเคมี เพื่อคัดเลือกวิธีการแช่ที่เหมาะสมมาใช้ในการทดลองตอนต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

ก. การวัดสี นำตัวอย่างเนื้อแห้วมาวิเคราะห์ เช่นเดียวกับตอนที่ 1

การวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมี

ก. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส นำตัวอย่างเนื้อแห้วมาวิเคราะห์ เช่นเดียวกับตอนที่ 1

ข. การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส นำตัวอย่างเนื้อแห้วมาวิเคราะห์เช่นเดียวกับตอนที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 คัดเลือกสารทดแทนกำมะถันที่มีศักยภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและโพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อแห้ว ก่อนนำไปแปรรูป

การเปลี่ยนแปลงค่าสี

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยของค่า L* ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ยกเว้นชุดแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) โดยมีค่าเฉลี่ยของค่า L* มากที่สุด (มีสีสว่างมากกว่า) มีค่าเท่ากับ 75.283 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ในส่วนของค่า C* เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยของค่า C* ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ยกเว้นชุดแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) โดยมีค่าเฉลี่ยของค่า C* น้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 21.821 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) และในส่วนของค่า h* นั้น เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยของค่า h* ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 1)

ชุดแห้วที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) นั้น ในระหว่างทดลองได้สังเกตพบว่าในระหว่างการแช่ และภายหลังการแช่ในชั่วระยะเวลาหนึ่ง ชิ้นแห้วที่ผ่านการแช่จะมีสีที่เข้มขึ้น โดยมีสีออกไปทางสีเหลือง และหลังจากทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่งสีของชิ้นแห้วจะกลับมาขาวเหมือนเดิม จึงเป็นสาเหตุให้ชุดแห้วที่ผ่านการแช่ด้วยสารชนิดนี้มีสีเข้มกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ในชั่วโมงที่ 0

จากภาพที่ 7 จะพบว่าแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงสีของแห้วนั้น แห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่สีสว่างขึ้น หรือซีดขึ้นในช่วงต้นของการวัดผลจนถึงชั่วโมงที่ 4 หลังจากนั้นจะเริ่มเปลี่ยนแปลงโดยมีสีคล้ำหรือเข้มขึ้น โดยจะมีแห้วชุดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) ที่มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

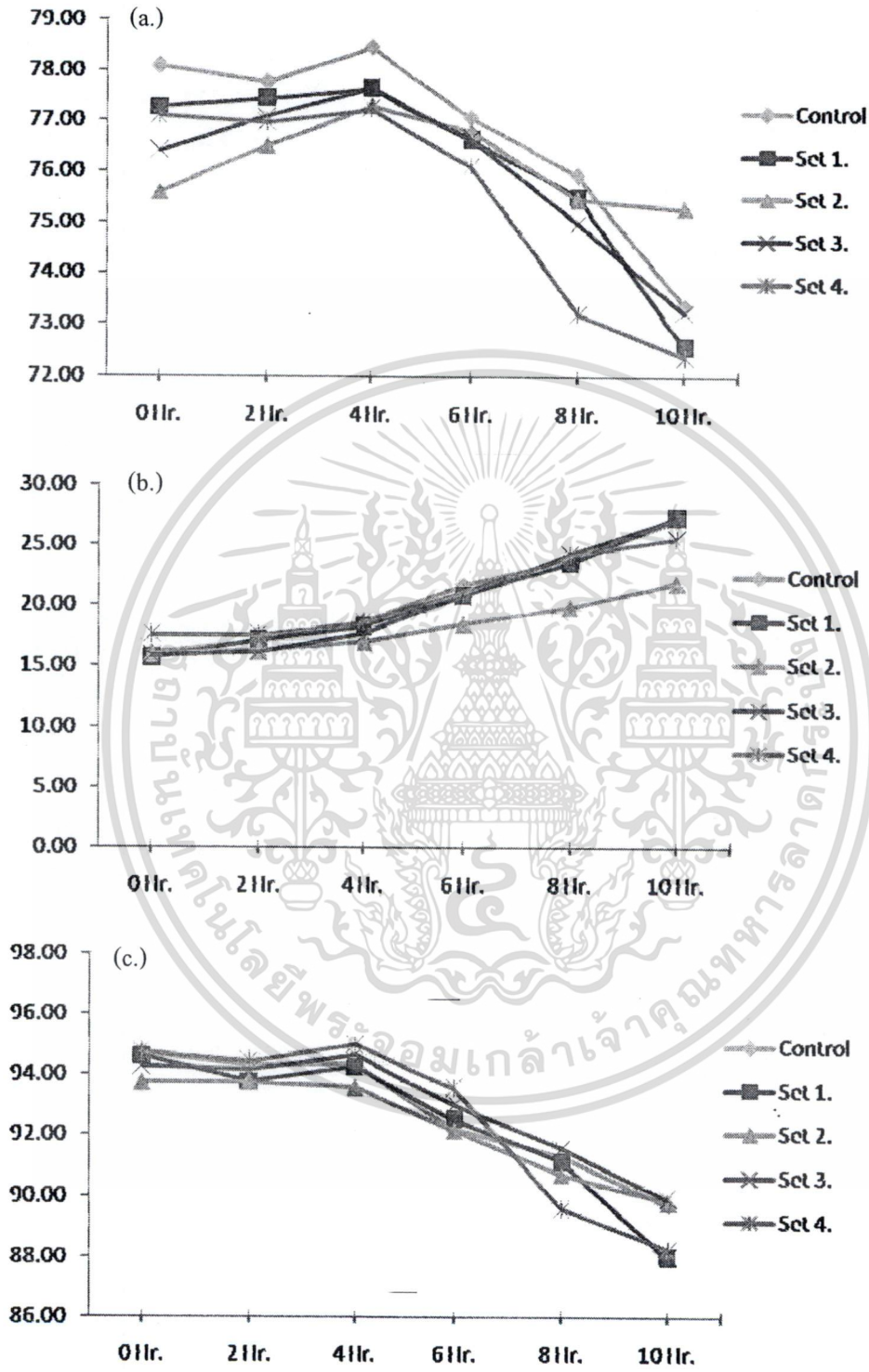
ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงค่าสี (L*, a*, b*) ของแห้วที่ภายหลังการแช่ (ชม.)

	Color value at different time (Hr.)					
	0	2 ns	4 ns	6 ns	8	10
L* value						
Control	78.084±0.39 a	77.770±0.59	78.459±0.50	77.078±0.85	75.939±0.48 a	73.375±0.41 b
Set 1.	77.267±1.06 ab	77.432±0.10	77.631±1.36	76.627±1.07	75.519±0.54 a	72.557±1.51 b
Set 2.	75.590±0.64 c	76.509±0.94	77.301±0.61	76.811±0.97	75.463±0.40 a	75.283±1.34 a
Set 3.	76.403±0.89 bc	77.091±0.25	77.653±0.09	76.655±0.45	74.989±0.41 a	73.224±0.49 b
Set 4.	77.089±0.51 ab	76.969±1.01	77.238±0.29	76.098±0.59	73.192±1.50 b	72.365±0.76 b
	0	2	4	6	8	10
C* value						
Control	16.051±0.66 b	17.032±0.46 ab	18.591±0.70 a	21.608±0.54 a	23.701±0.75 a	27.104±0.52 a
Set 1.	15.707±0.52 b	17.161±1.20 ab	18.332±0.63 a	20.852±1.57 a	23.510±1.13 a	27.421±1.17 a
Set 2.	15.981±0.49 b	16.245±0.19 b	16.991±0.68 b	18.456±0.95 b	19.823±1.19 b	21.821±0.90 b
Set 3.	15.841±0.81 b	16.135±0.48 b	17.698±0.64 ab	20.758±0.87 a	24.268±1.01 a	27.324±1.34 a
Set 4.	17.593±0.74 a	17.558±0.48 a	18.598±0.37 a	21.032±0.34 a	24.165±0.48 a	25.546±0.92 a
	0 ns	2 ns	4	6 ns	8	10 ns
h* value						
Control	94.706±0.80	94.296±0.78	94.336±0.61 ab	92.182±0.91	91.334±0.43 a	89.727±0.60
Set 1.	94.601±0.25	93.769±0.58	94.264±0.23 ab	92.509±0.61	91.164±0.11 a	87.955±1.42
Set 2.	93.717±0.24	93.735±0.03	93.580±0.12 b	92.155±0.34	90.691±0.49 a	89.817±0.29
Set 3.	94.257±0.90	94.152±0.54	94.649±1.14 ab	93.022±1.20	91.573±0.70 a	89.902±0.69
Set 4.	94.750±0.33	94.428±0.69	94.999±0.85 a	93.551±0.21	89.587±0.85 b	88.238±1.39

Values are means ± standard deviations; $n=3$. [abc] Mean values in the same column with different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$). [ns] Mean values in the same column show no significant differences ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่ 7. ค่าสีแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายทดแทนกำมะถัน

(a.) L* value at different time (Hr.)

(b.) C* value at different time (Hr.)

(c.) h* value at different time (Hr.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

131173

การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอมไซม์ Peroxidase และ Polyphenoloxidsae

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ในส่วนของการวัดกิจกรรมของเอนไซท์ Polyphenoloxidase เมื่อทำการวัดกิจกรรมที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วที่ผ่านการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) มีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity น้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.0225 unit/ml. ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) กับแห้วในชุดการทดลองอื่นๆ ยกเว้นชุดควบคุมที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 2)

จากภาพที่ 8 จะพบว่าแนวโน้มของกิจกรรมของเอนไซม์ในแห้วนั้น ในส่วนของเอนไซม์ peroxidase จะพบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกัน หรือมีความแตกต่างกันน้อยมาก และในส่วนของเอนไซม์ polyphenoloxidase ก็จะพบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันเช่นกัน โดยจะมีแห้วชุดที่ผ่านการแช่ด้วยสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ค่อนข้างน้อยกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ซึ่งเป็นไปได้ว่า จากการทดลองทำการแช่ในสารละลายเพียง 2 นาที จึงส่งผลให้ผลการทดลองนั้นไม่ค่อยชัดเจน โดยจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการใช้สารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) นั้นเป็นสารละลายที่ดีที่สุดที่สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและทดแทนสารกำมะถันได้

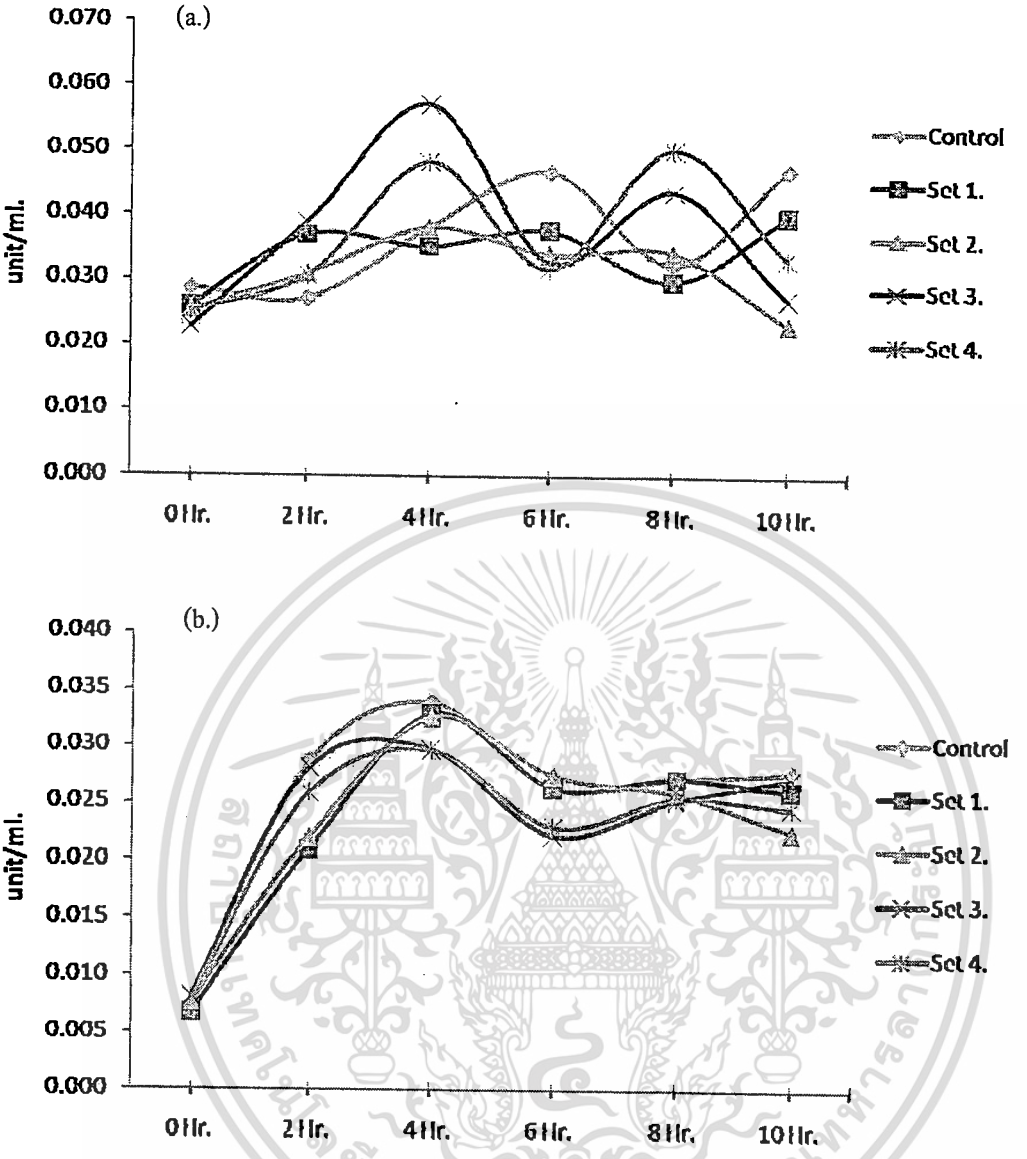
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอมไซม์ Peroxidase และ Polyphenoloxidsae

	Biochemical evaluation at different time (Hr.)					
	0[ns]	2[ns]	4	6[ns]	8[ns]	10[ns]
Peroxidase (unit/ml.)						
Control	0.0285±0.007	0.0270±0.013	0.0380±0.002[ab]	0.0467±0.025	0.0325±0.005	0.0472±0.011
Set 1.	0.0259±0.008	0.0369±0.013	0.0352±0.002[a]	0.0377±0.010	0.0298±0.012	0.0400±0.016
Set 2.	0.0252±0.006	0.0309±0.009	0.0382±0.015[ab]	0.0341±0.036	0.0344±0.014	0.0233±0.004
Set 3.	0.0227±0.030	0.0389±0.044	0.0572±0.016[b]	0.0328±0.015	0.0437±0.033	0.0273±0.019
Set 4.	0.0251±0.004	0.0306±0.002	0.0482±0.008[ab]	0.0317±0.014	0.0502±0.030	0.0334±0.012
	0[ns]	2	4[ns]	6[ns]	8[ns]	10
PPO (unit/ml.)						
Control	0.0071±0.005	0.0287±0.003[c]	0.0339±0.001	0.0264±0.002	0.0272±0.002	0.0277±0.004[b]
Set 1.	0.0067±0.001	0.0209±0.002[a]	0.0329±0.004	0.0263±0.001	0.0272±0.001	0.0261±0.003[ab]
Set 2.	0.0077±0.000	0.0220±0.002[ab]	0.0326±0.003	0.0274±0.004	0.0259±0.003	0.0225±0.001[a]
Set 3.	0.0081±0.001	0.0280±0.00[c]	0.0297±0.005	0.0221±0.002	0.0252±0.004	0.0272±0.001[ab]
Set 4.	0.0079±0.003	0.0259±0.003[bc]	0.0297±0.001	0.0229±0.004	0.0254±0.012	0.0246±0.002[ab]

Values are means ± standard deviations; $n=3$. [abc] Mean values in the same column with different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$). [ns] Mean values in the same column show no significant differences ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

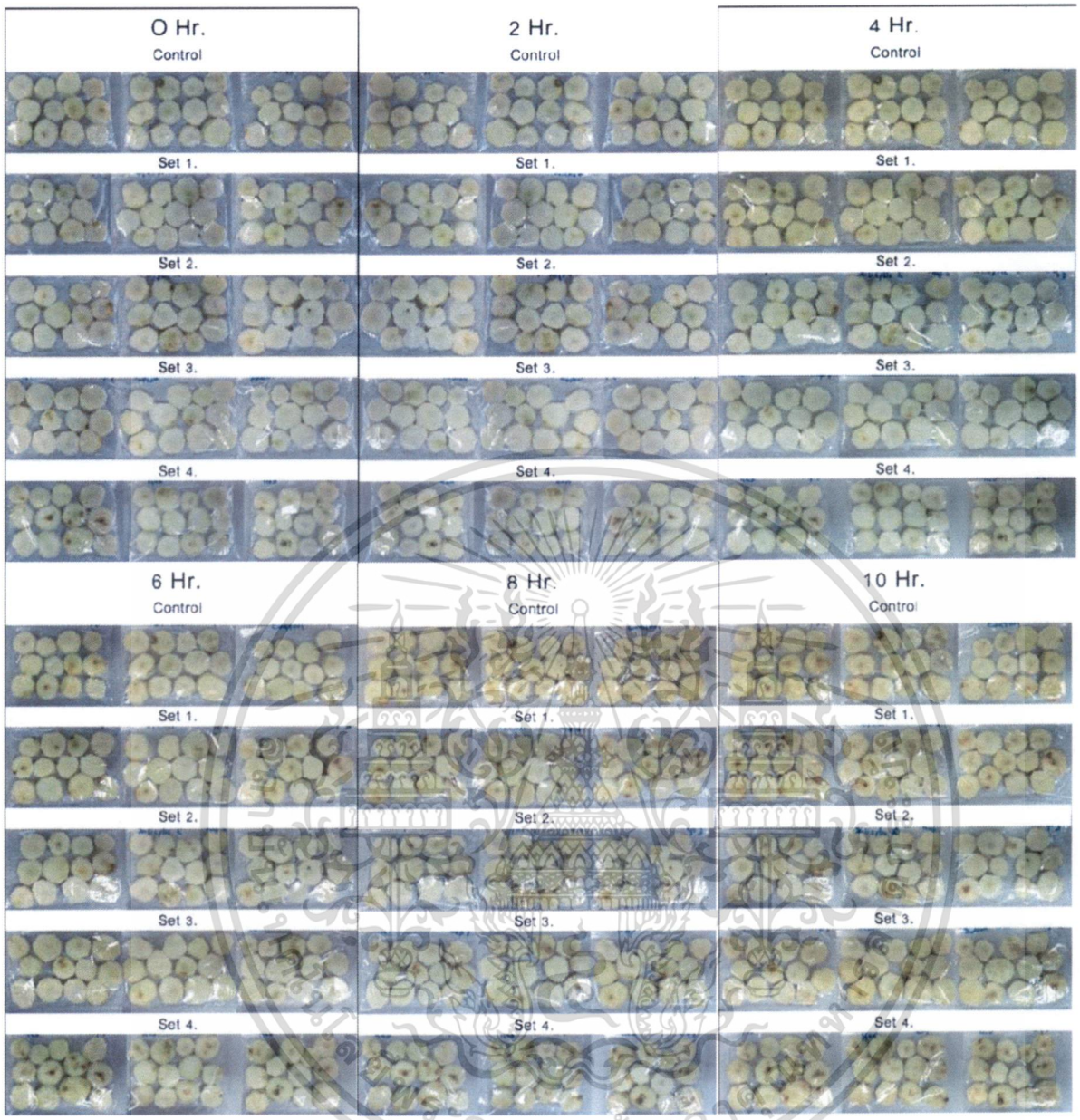


ภาพที่ 8. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายต่าง ๆ

(a.) Enzyme activity (Peroxidase) at different time (Hr.)

(b.) Enzyme activity (PPO) at different time (Hr.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 การเปลี่ยนแปลงลักษณะปรากฏของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลายต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตอนที่ 2 ศึกษาวิธีการแช่เนื้อแห้วในสารละลายที่เหมาะสม

จากผลการศึกษาตอนที่ 1 พบว่า การแช่แห้วในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในแห้วที่ปอกเปลือกแล้วได้ดีที่สุด จึงเลือกใช้สารดังกล่าวมาใช้ศึกษาสภาวะการแช่ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการแช่ 3 วิธีคือ

วิธีที่ 1 (Trt 1.) คือ แช่ในสภาวะปกตินาน 12 นาที

วิธีที่ 2 (Trt 2.) คือ แช่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับ 300 mmHg นาน 10 นาที และแช่ต่อในสภาวะปกตินาน 2 นาที ดัดแปลงจากวิธีของ XIE (2004)

วิธีที่ 3 (Trt 3.) คือ แช่ในสภาวะสุญญากาศที่ระดับ 300 mmHg นาน 20 นาที และแช่ต่อในสภาวะปกตินาน 2 นาที ดัดแปลงจากวิธีของ XIE (2004)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สุ่มตัวอย่างออกมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและชีวเคมี ได้ผลการทดลองดังนี้

การเปลี่ยนแปลงค่าสี

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วที่แช่ด้วยวิธีที่ 1 (Trt 1.) มีค่าเฉลี่ยของค่า L* ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของค่า L* มากที่สุด (มีสีสว่างมากกว่า) มีค่าเท่ากับ 74.554 และยังมีค่ามากที่สุดอย่างมีนัยในทุกๆ ช่วงเวลาที่ทำการวัดสี ในส่วนของค่า C* เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วที่แช่ด้วยวิธีที่ 1 (Trt 1.) มีค่าเฉลี่ยของค่า C* ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของค่า C* มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 24.816 และในส่วนของค่า h* นั้น เมื่อทำการวัดสีที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองมีค่าเฉลี่ยของค่า h* ที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 3)

จากภาพที่ 10 พบว่าแนวโน้มในการเปลี่ยนแปลงสีของแห้วนั้น แห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่คล้ายคลึงกัน คือค่อนข้างจะมีค่าที่คงที่ (ค่า L*, C*) เนื่องจากการใช้สาร Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) ในการแช่นั้นมีศักยภาพที่ดีที่สุดในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

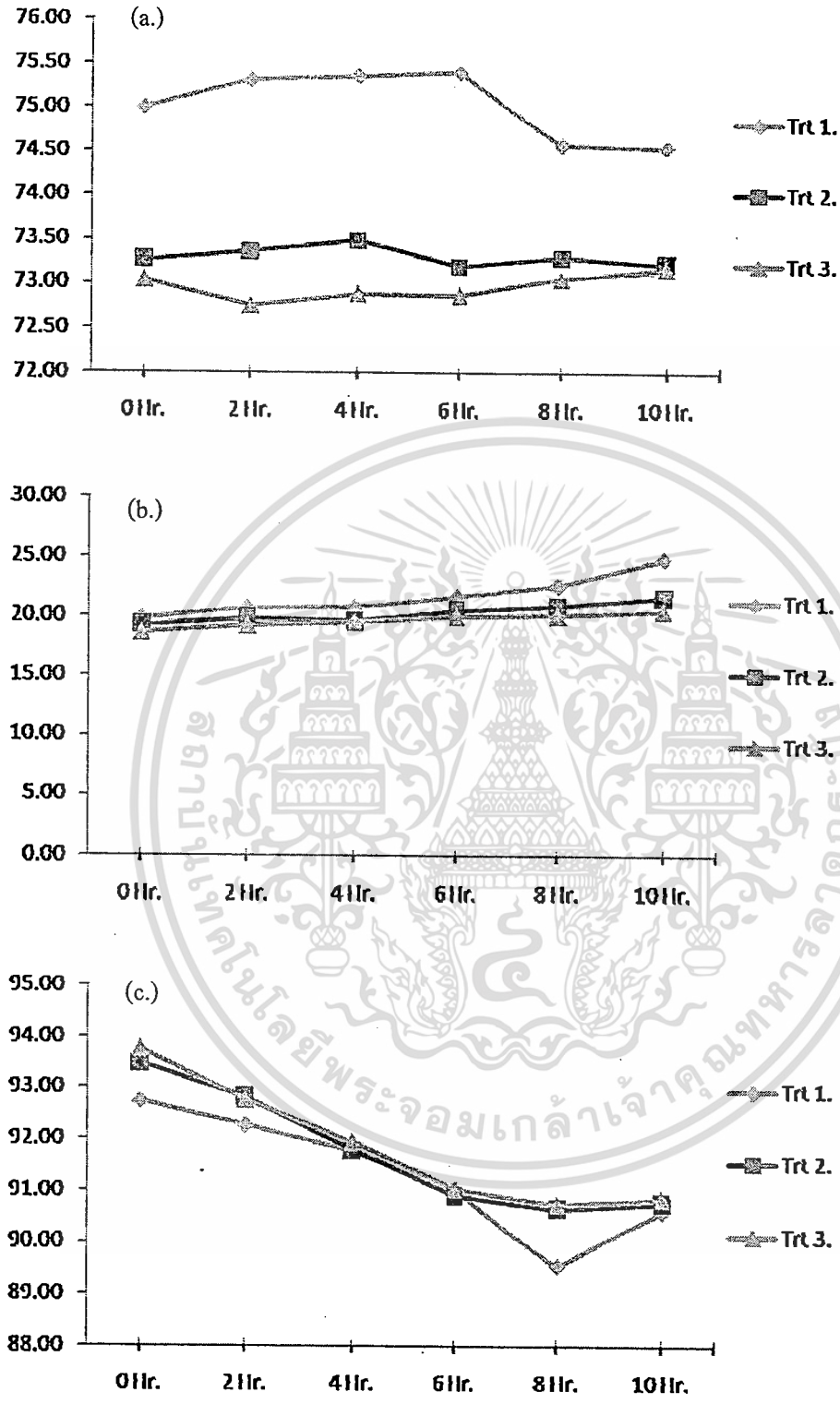
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงค่าสี (L*, a*, b*) ของแห้วที่แช่ในสภาวะต่าง ๆ

	Color value at different time (Hr.)					
	0	2	4	6	8	10
L* value						
Trt 1.	74.999±0.18^{a}	75.317±0.56^{a}	75.358±0.47^{a}	75.406±0.27^{a}	74.572±0.31^{a}	74.554±0.26^{a}
Trt 2.	73.266±0.63^{b}	73.362±1.00^{b}	73.490±1.03^{b}	73.191±0.74^{b}	73.296±0.82^{b}	73.226±1.04^{b}
Trt 3.	73.036±0.79^{b}	72.745±0.60^{b}	72.882±0.27^{b}	72.865±0.42^{b}	73.054±0.45^{b}	73.172±0.20^{b}
	0	2	4	6	8	10
C* value						
Trt 1.	19.775±0.18^{a}	20.601±0.58^{a}	20.731±0.56^{a}	21.642±0.19^{a}	22.564±0.50^{a}	24.816±1.39^{a}
Trt 2.	19.269±0.41^{ab}	19.842±0.46^{ab}	19.622±0.44^{b}	20.525±0.37^{b}	20.851±0.37^{b}	21.607±0.41^{b}
Trt 3.	18.655±0.47^{b}	19.250±0.55^{b}	19.555±0.46^{b}	20.066±0.55^{b}	20.115±0.84^{b}	20.517±0.81^{b}
	0	2^{ns}	4^{ns}	6^{ns}	8	10^{ns}
h* value						
Trt 1.	92.725±0.35^{b}	92.259±0.39	91.754±0.56	91.011±0.71	89.543±0.91^{b}	90.592±0.72
Trt 2.	93.464±0.22^{a}	92.803±0.15	91.770±0.17	90.886±0.35	90.629±0.27^{ab}	90.748±0.43
Trt 3.	93.749±0.25^{a}	92.753±0.21	91.930±0.39	91.024±0.27	90.722±0.25^{a}	90.835±0.42

Values are means ± standard deviations; $n=3$. ^{abc} Mean values in the same column with different letters indicate significant differences ($p\leq0.05$). ^{ns} Mean values in the same column show no significant differences ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10. ค่าสีแห้วภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ

(a.) L* value at different time (Hr.)

(b.) C* value at different time (Hr.)

(c.) h* value at different time (Hr.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอมไซม์ Peroxidase และ Popyphenoloxidase

จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ peroxidase ที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วที่แช่ด้วยวิธีที่ 1 (Trt 1.) มีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity น้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.0284 unit/ml. แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \geq 0.05$) กับแห้วในชุดที่แช่ด้วยวิธีที่ 2 (Trt 2.) ในส่วนของการวัดกิจกรรมของเอนไซท์ Polyphenoloxidase เมื่อทำการวัดกิจกรรมที่ชั่วโมงที่ 10 พบว่าแห้วที่แช่ด้วยวิธีที่ 1 (Trt 1.) มีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยของ enzyme activity น้อยที่สุด มีค่าเท่ากับ 0.0172 unit/ml. ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ตารางที่ 4)

จากภาพที่ 11 พบว่าแนวโน้มของกิจกรรมเอนไซม์ในแห้วนั้น ในส่วนของเอนไซม์ peroxidase จะพบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกัน หรือมีความแตกต่างกันน้อยมาก และในส่วนของเอนไซม์ polyphenoloxidase ก็จะพบว่าแห้วในทุกชุดการทดลองจะมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันเช่นกัน เนื่องจากใช้สารละลายชนิดเดียวกันในการแช่ คือ สารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) ซึ่งมีศักยภาพที่ดีที่สุดในการยั้บยั้งการเกิดสีน้ำตาล แต่แตกต่างกันที่วิธีการแช่ โดยจากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการใช้สารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM (Set 2.) และแช่ในสภาวะปกตินาน 12 นาที (Trt 1.) นั้นเป็นสภาวะที่ดีที่สุดที่สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและทดแทนสารกำมะถันได้ ซึ่งเป็นวิธีการแช่ที่ไม่ยุ่งยาก เหมาะสำหรับชาวบ้านที่มีอุปกรณ์ไม่มากก็สามารถปฏิบัติการได้

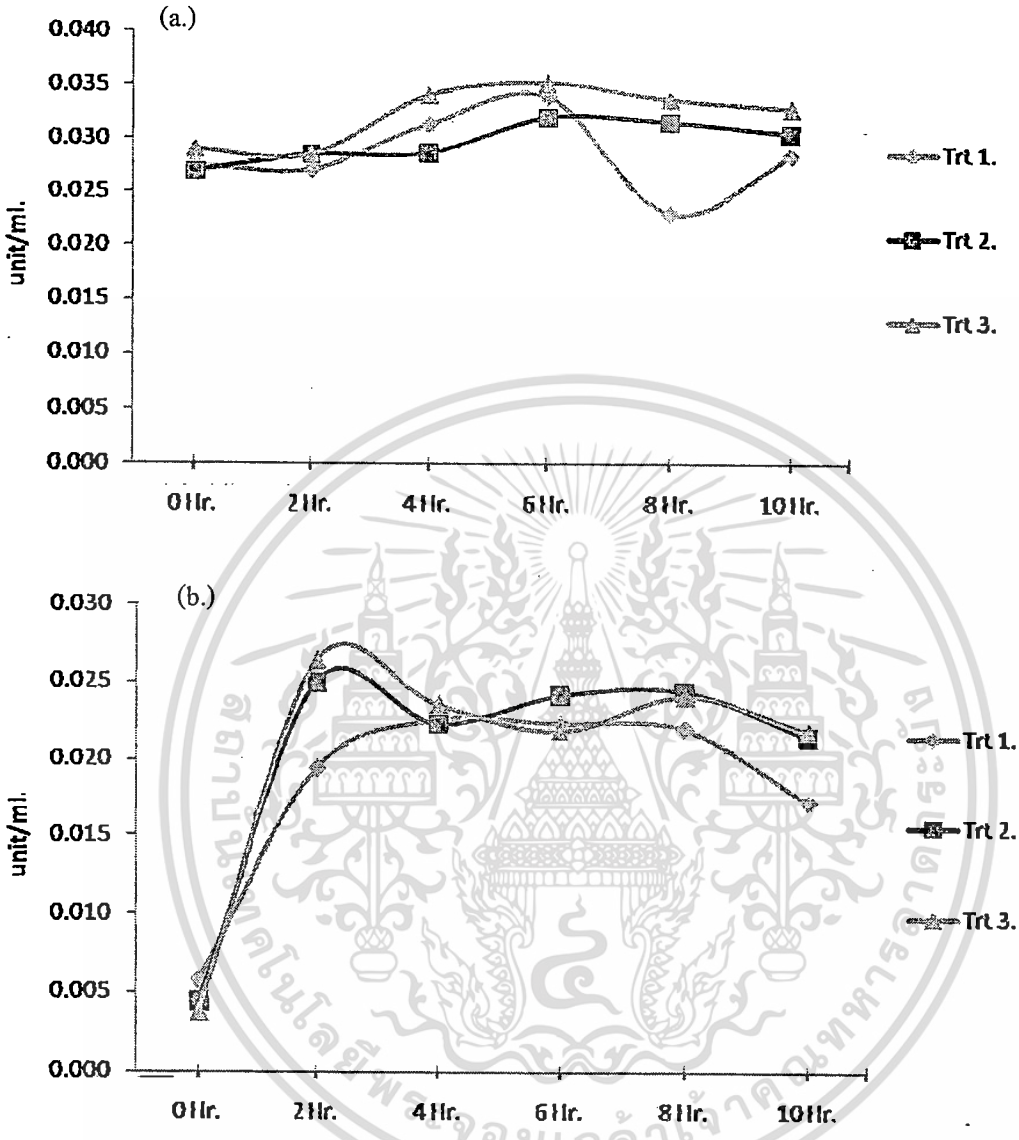
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ

	Biochemical evaluation at different time (Hr.)					
	0 ^{ns}	2 ^{ns}	4 ^{ns}	6	8 ^{ns}	10
oxidase						
Trt 1.	0.0275±0.000	0.0270±0.001	0.0313±0.001	0.0339±0.001^{b}	0.0230±0.017	0.0284±0.003^{a}
Trt 2.	0.0269±0.001	0.0284±0.003	0.0286±0.005	0.0320±0.001^{a}	0.0315±0.002	0.0305±0.000^{ab}
Trt 3.	0.0290±0.002	0.0285±0.001	0.0340±0.001	0.0352±0.001^{b}	0.0336±0.001	0.0328±0.001^{b}
	0 ^{ns}	2	4 ^{ns}	6 ^{ns}	8 ^{ns}	10
)						
Trt 1.	0.0057±0.002	0.0194±0.003^{a}	0.0226±0.002	0.0223±0.002	0.0220±0.001	0.0172±0.002^{a}
Trt 2.	0.0043±0.001	0.0250±0.004^{ab}	0.0223±0.001	0.0242±0.004	0.0244±0.000	0.0215±0.001^{b}
Trt 3.	0.0037±0.001	0.0264±0.001^{b}	0.0235±0.001	0.0218±0.001	0.0241±0.003	0.0218±0.001^{b}

Values are means ± standard deviations; $n=3$. ^{abc} Mean values in the same column with different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$). ^{ns} Mean values in the same column show no significant differences ($p>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

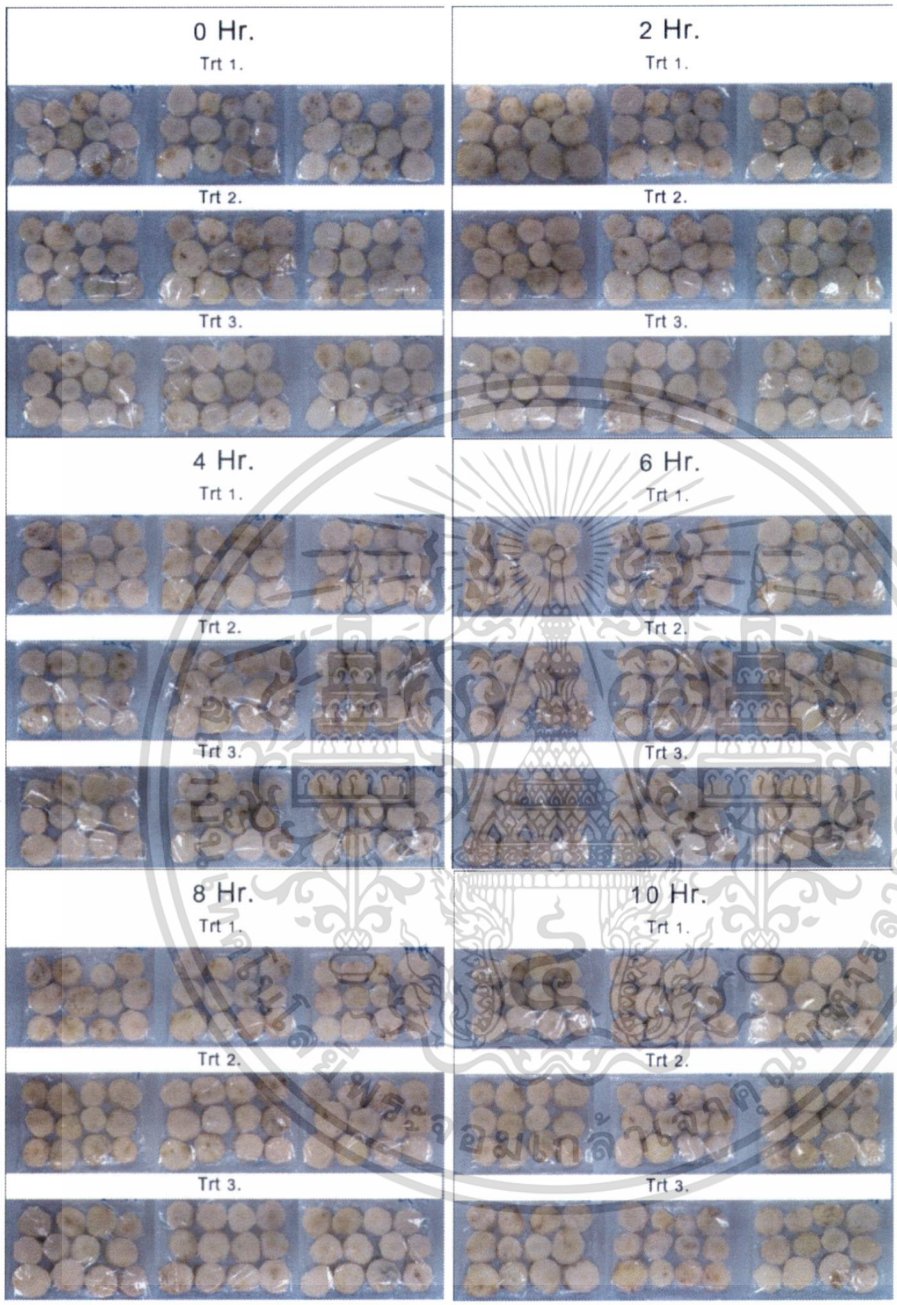


ภาพที่ 11. การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของ Peroxidase และ Popyphenoloxidase ของแห้วภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ

— (a.)Enzyme activity (Peroxidase) at different time (Hr.)

(b.) Enzyme activity (PPO) at different time (Hr.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงสีของแห้วที่แช่ในสารละลายภายหลังการแช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ที่สภาวะการแช่ต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

สารทดแทนกำมะถันที่มีศักยภาพในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสและโพลีฟีนอลออกซิเดสในเนื้อแห้วก่อนนำไปแปรรูปดีที่สุดในการศึกษานี้คือ การแช่แห้วที่ปอกเปลือกในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM นาน 2 นาที ในสภาวะปกติ

ในการศึกษาในครั้งนี้ พบว่า การใช้สารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM ในสภาวะการแช่ปกติในการแช่แห้วที่ปอกเปลือกแล้ว จะให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ต่ำกว่าการแช่ในสารละลายเกลือ 1 เปอร์เซนต์ ตามที่ผู้ประกอบการใช้ และแห้วที่แช่ในสารละลาย Salicylic acid เข้มข้น 4 mM มีอายุการเก็บรักษาได้น้อยกว่า 1 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ.

ประสาร สวัสดิ์ชิตัง. 2538. การเกิดสีน้ำตาลของอาหารและการควบคุมป้องกัน. วารสารอาหาร. 25(3): 160-169.

มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด. 2353. กรดแอสคอร์บิก และกรดอิริทรอบิก/แอนติออกซิแดนท์. วารสารอาหาร. 26(1) : 7-13.

ศิวพร ศิวเวชช. 2535. วัตถุเจือปนในอาหาร. ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม.

สายสนม ประดิษฐดวง. 2546. การถนอมอาหารด้วยสารเคมี. ใน วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

อุไร เผ่าสังข์ทอง พรศักดิ์ มนัสศิริเพ็ญ อารีย์ สมานมิตร กาญจนิจ วาจนะวินิจ และ กุลวดี ตรองพาณิชย์. 2543. Effect of anti-browning solutions on qualities of peeled water chestnut. IFRPD research report 1996-1999.

AOAC. 2000. Official Methods of AOAC International. 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists,

Borenstein, B. 1965. The comparative properties of ascorbic acid and erythorbic acid. *Food Techno* 19 : 1719-1724

Domadar, S. 1996. Amino acids, peptides and proteins. In *Food Chemistry*. 3rd ed. (Fennema, O.R. d ed.), Marcel Dekker, Inc., New York., pp. 322-425.

Dong, J., Wrolstad, R.E. and Sugar, D. 2000. Extending shelf life of fresh-cut pears. f *J. Food Sci.*, 65(1) : 181-186.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dudley, E.D. and Hotchkiss, J.H. 1989. Cysteine as an inhibition of polyphenol oxidase. *J. Food Biochem.*, 13 : 65-71.

Flurkey, W.H. and Jen, J.J. 1978. Peroxidase and polyphenoloxidase activities in developing peaches. *J. Food Sci.*, 43 : 1826-1831.

George, J.B., Harold, E.M., David, W.S. and Chem, Y.M. 1999. Extending storage life of fresh-cut apples using natural products and their derivatives. *J. Agric Food Chem.*, 47 : 1-6.

Gunes, G. and Lee, C.Y. 1997. Color of minimally processed potatoes as affected by modified atmosphere packaging and antibrowning agents. *J. Food Sci.*, 62 : 572-578.

Iyengar, R. 1993. Control of browning during storage of apple slices preserved by combined method,4-hexylresorcinol as anti-browning agent. *J. Food Sci.*, 58(4) : 797-800 , 826.

Jiang, Y. and Fu, J. 1998. Inhibition of polyphenol oxidase and the browning control of litchi fruit by glutathione and citric acid. *Food Chem.*, 62 : 49-51.

Kleemann, A., Engel, J., Kutscher, B. and Reichert, D. 1999. Pharmaceutical substances : syntheses, patents, applications. 3rd edition. Thieme Stuttgar d t, New York., pp. 950.

Litao Peng and Yueming Jiang. 2006. Exogenous salicylic acid inhibits browning of fresh-cut Chinese water chestnut . Food Chemistry. 94(4): 535-540.

Luo, Y., Barbosa-Canovas, G.V. 1997. Enzymatic browning and its inhibition on new apple cultivars slices using 4-hexylresorcinol in combination with ascorbic acid. *J. Food Sci Technol.* Int., 3 : 195-199.

McEvily, A.J., Iyengar, R. and Otwil, W.S. 1991. Sulfite alternative prevents shrimp melanosis. *Food Technol.*, 45(9) : 80-85.

McEvily, A.J., Iyengar, R. and Otwil, W.S. 1992. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverage. *Crit. Ref. Food Sci.*, 32 : 253-273.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Monsalve-Gonzalez, A., Barbosa-Canovas, G.V., Cavalieri, Ralph.P., McEvily, Arthur.J. and Robert, C., Richard-Forget, F., Rouch, C., Pabion, M. and Cadet, F. 1996. A kinetic study of the inhibition of palmilto polyphenol oxidase by L-cysteine. Intl. *J. Cell Biol.* 28 : 457-461.

Sapers, G.M. 1993. Browning of food : *Control by sulfite, antioxidants, and other means.* Food Technol., 47 : 75-84

Sapers, G.M. 2002. Browning of foods : control by sulfite, antioxidants and other means. *Food Technol.*, 47(10) : 75-84.

Sapers, G.M. and Ziolkowski, M.A. 1987. Comparison of erythorbic acids as inhibition of enzymatic browning in apple. *J. Food Sci.*, 52 : 1732-1737

Senesi, E. and Pastine, R. 1996. Pre-treatments of ready-to use fresh cut fruits. *Industries Almentari.* 35 : 1161-1167.

Vamos-Vigyazo. L. 1995. Prevention of enzymatic browning on fruits and vegetables : a review of principle and practice. *In Enzymatic Browning and Its prevention.* ACS Symposium series. 0097-6156, 600. American Chemical Society, Washington, D.C.

Xie, J. 2004. Use of vacuum impregnation to develop high quality and nutritionally fortified frozen strawberries. *J. Food Process Preserv.*, 28 : 117-132.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส

เอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส

เอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส หรืออาจเรียกว่า ไทโรซิเนส (tyrosinase) ออโทไดฟีนอลออกซิเดส (*o*-diphenol oxidase) และแคตีคอลออกซิเดส (catechol oxidase) เป็นต้น เป็นเอนไซม์ที่พบในเนื้อเยื่อของผลไม้ เช่น มะม่วง ฝรั่ง แห้ว เมื่อผลไม้เกิดบาดแผลหรือผ่าน กระบวนการแปรรูปต่างๆ เช่น การปอกเปลือกหรือหั่นชิ้น จะทำให้สารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในเซลล์ของเนื้อผลไม้สัมผัสกับออกซิเจนในอากาศ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยเอนไซม์พอลี ฟีนอลออกซิเดเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานี้ ทำให้เกิดเป็นสารสีน้ำตาล สามารถนำไปวัดค่าการดูดกลืน คลื่นแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตรได้ โดยสภาพพีเอชที่เหมาะสม ต่อการทำงานของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสคือ 4-7 (Severini *et al.*, 2003)

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

เป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มออกซิโตรีดักเตส มีความสัมพันธ์กับความผิดปกติ ของสีและรสชาติของผักหรือผลไม้ และเป็นเอนไซม์ที่สำคัญที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในผลไมหลายชนิด โดยการเกิดสีน้ำตาลมักจะเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล ที่เป็นสับสเทรตกลายเป็นออโทควิโนน แล้วรวมตัวกันกลายเป็นสารสีน้ำตาล โดยปฏิกิริยาหลักของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสคือ peroxidatic reaction ในการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนเปอร์ออกซิเดสส่วนใหญ่จะใช้ guaiacol assay เนื่องจากไม่ซับซ้อน สามารถเตรียมได้ง่าย รวดเร็ว และสามารถวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (optical density, OD) ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ได้ โดยตรงและต่อเนื่อง มีค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (optical density, OD) สูงสุดที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร โดยสภาพพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสคือ 5.5-7.5 (Robinson, 2000)

วิธีการสกัดเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

นำเนื้อแห้วปั่นละเอียดมา 1 กรัม ใส่ในโกร่งที่แช่เย็นจัด แล้วเติมสารละลายสกัดเอนไซม์ ได้แก่ สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (sodium phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 6.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 10 มิลลิลิตร บดเนื้อแห้วกับสารละลายสกัดให้เป็น เนื้อเดียวกันนำเข้าเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ใช้ส่วนใสที่สกัดได้ (supernatant) เป็นส่วนที่นำไปใช้ในการวิเคราะห์กิจกรรม ของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส

วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสโดยวิธีของ Flurkey และ Jen (1978)

ปีเปตส่วนใสที่สกัดได้ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายสับสเทรต ซึ่งประกอบด้วย สารละลายแคตีคอล ความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร และสาร ละลายโซเดียมฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (sodium phosphate buffer) ความเข้ มข้น 0.2 โมลาร์พีเอช 6.5 ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง(optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 3 นาที นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟ ระหว่างระยะเวลากับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสที่มีอยู่ในตัวอย่างในช่วงของกราฟที่มีความชันเป็นเส้นตรง

กำหนดให้กิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส 1 หน่วย (unit) เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอช 6.5

วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสโดยวิธีของ Flurkey และ Jen (1978)

ปีเปตส่วนใสที่สกัดได้ ปริมาตร 0.10 มิลลิลิตร ใส่ลงในสารละลายสับสเทรต ซึ่งประกอบด้วย สารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ (sodium acetate buffer) ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ พีเอช 6.0 ปริมาตร 2.40 มิลลิลิตร (ซึ่งประกอบด้วย guaiacol ความเข้มข้น 0.5% และ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H) ความเข้มข้น 0.1%) แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 5 นาที นำค่าที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างระยะเวลากับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ วิเคราะห์กิจกรรม ของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสที่มีอยู่ในตัวอย่างในช่วงของกราฟที่มีความชันเป็นเส้นตรง กำหนดให้กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส 1 หน่วย (unit) เท่ากับปริมาณเอนไซมที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอช 6.0 แล้วคำนวณหากิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (specific activity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสและเปอร์ออกซิเดส

ก) กิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากช่วงของกราฟที่มีความชันเป็นเส้นตรงมาคำนวณ หากิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส โดยกำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดส 1 หน่วยเท่ากับปริมาณ ของเอนไซม์ที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6.5 จะได้กิจกรรมของเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสเท่ากับ

$$\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้}}{0.001} = \text{C หน่วย/นาที} \quad \text{(Flurkey and Jen, 1978)}$$

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร (250 ไมโครลิตร) มีกิจกรรม เอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสเท่ากับ A หน่วย/นาที

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร มีกิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอล ออกซิเดสเท่ากับ A x 4 หน่วย = B หน่วย/นาที/มิลลิลิตร

แสดงว่า สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ มีกิจกรรมเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสเท่ากับ B หน่วย/นาที/มิลลิลิตร----------(1)

ข) กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากช่วงของกราฟที่มีความชันเป็นเส้นตรง มาคำนวณ หากิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส

โดยกำหนดให้กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส 1 หน่วยเท่ากับปริมาณของ เอนไซม์ที่ทำให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร เพิ่มขึ้น 0.001 หน่วย ในเวลา 1 นาที ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 จะได้กิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเท่ากับ

$$\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้}}{0.001} = \text{C หน่วย/นาที} \quad \text{(Flurkey and Jen, 1978)}$$

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (100 ไมโครลิตร) มีกิจกรรม เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเท่ากับ C หน่วย/นาที

สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะมีกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเท่ากับ C x 10 หน่วย = D หน่วย/นาที/มิลลิลิตร

แสดงว่า สารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้ มีกิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเท่ากับ D หน่วย/นาที/มิลลิลิตร----------(2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวัดสีโดยใช้เครื่อง Chroma Meter ระบบ CIELAB (L*, a*, b*)

วัดการเปลี่ยนแปลงของสีเนื้อแห้ว แต่ละชิ้น ค่าที่ได้จะแสดงเป็น L*, a*, b*

โดยกำหนด

ค่า L* คือ ค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าอยู่ในช่วง 0-100 สีขาว (L*=100) สีดำ (L*=0)

ค่า a* คือ ค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greeness) สีแดงเมื่อ a* มีค่าเป็นบวก (+), สีเขียวเมื่อ a* มีค่าเป็นลบ (-)

ค่า b* คือ เป็นค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน (Yellowness/Blueness) สีเหลืองเมื่อ b* มีค่าเป็นบวก (+), สีน้ำเงินเมื่อ b* มีค่าเป็นลบ (-)

นำค่า a* และ b* มาหาค่า Hue angle และ Chroma จากสูตร

$$Chorma\ (C*) = \sqrt{(a*^2) + (b*^2)}$$

$$Hue\ angle\ (H^\circ) = tan^{-1}(b*/a*)$$

ถ้า C^* มีค่าเข้าใกล้ศูนย์ หมายถึง วัตถุมีสีชืดจาง (เทา)

ถ้า C^* มีค่าเข้าใกล้ 60 หมายถึง วัตถุมีสีเข้ม

ถ้า H° มีค่าเข้าใกล้ศูนย์องศา หมายถึง วัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีแดง

ถ้า H° มีค่าเข้าใกล้ 90 องศา หมายถึง วัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเหลือง

ถ้า H° มีค่าเข้าใกล้ 180 องศา หมายถึ ง วัตถุจะอยู่ในกลุ่มสีเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้