บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับกล้วย

กล้วย มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Musa sapientum* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Musaceae กล้วยเป็นพืชที่มีการบริโภคและจำหน่ายสูงสุดในกลุ่มไม้ผลเมืองร้อนในระดับนานาชาติ เนื่องจากมีรสชาติที่ดีและมีคุณค่าทางโภชนาการ มีการเพาะปลูกทั่วไปในประเทศเขตร้อนและเขตอบอุ่น เช่น ทวีปเอเชีย ทวีปอเมริกาใต้ และทวีปแอฟริกา ซึ่งสามารถจำแนกได้หลายชนิดตามลักษณะทางพันธุกรรม สำหรับในประเทศไทยพันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมทอง กล้วยไข่ และกล้วยหักมุก (พานิชย์ ยศปัญญา, 2541)

กล้วยน้ำว้า [*Musa* (ABB group) 'Kluai Nam Wa'] ผลมีขนาดเล็ก เมื่อผลสุกผิวจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองปนน้ำตาล เนื้อสีขาว มีรสหวาน เป็นกล้วยที่นิยมบริโภคมากในทุกๆ ภาค มีการปลูกเป็นการค้าทั่วไปในภาคกลาง ภาคเหนือปลูกมากที่จังหวัดพิษณุโลก เรียกว่าพันธุ์มะลิอ่อง กล้วยน้ำว้ามีคุณค่าทางอาหารมาก ซึ่งนอกจากนิยมบริโภคในรูปผลสดแล้ว ยังมีการนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลายชนิด เช่น ขนมกล้วย กล้วยทอด กล้วยบวชชี กล้วยฉาบ กล้วยตาก กล้วยกวน โดยเฉพาะกล้วยตากนั้นได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มขึ้นในปัจจุบัน และเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2538)

ขั้นตอนในการสุกของกล้วย

CRISO (1972) ได้แบ่งระยะการสุกของกล้วยส่วนใหญ่ ดังนี้

ระยะที่1 เปลือกเขียว ผลแข็ง ไม่มีการสุก
ระยะที่ 2 เริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวออกเหลืองนิดๆ
ระยะที่ 3 เริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวออกเหลืองมากขึ้น แต่ยังมีสีเขียวมากกว่าเหลือง
ระยะที่ 4 เริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวออกเหลืองมากขึ้น และมีสีเหลืองมากกว่าเขียว
ระยะที่ 5 เปลือกเป็นสีเหลืองแต่ปลายยังเป็นสีเขียว
ระยะที่ 6 ทั้งผลมีสีเหลือง (ผลสุก)
ระยะที่ 7 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดน้ำตาล (สุกเต็มที่ มีกลิ่นหอม)
ระยะที่ 8 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดน้ำตาลมากขึ้น (สุกมากเกินไป เนื้อเริ่มอ่อนตัวและมีกลิ่นแรง)

ในช่วงการสุกของกล้วยจะมีการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีและกายภาพต่างๆ รวมทั้งคุณค่าทางอาหาร โดยเฉพาะแป้งซึ่งมีปริมาณมากในช่วงผลกล้วยดิบจะมีปริมาณลดลงเมื่อกล้วยสุกมากขึ้น แต่มีปริมาณน้ำตาลมากขึ้น ทำให้กล้วยมีรสหวานมากขึ้น ในกล้วยที่มีรหัสสารพันธุกรรม

(ยีโนม) AA, AAA เช่น กล้วยไข่ กล้วยหอม ปริมาณแป้งจะลดลงอย่างมากเมื่อกล้วยสุก ส่วนปริมาณกรดตั้งแต่ดิบถึงสุกค่อนข้างจะต่ำ ส่วนกล้วยที่มียีโนม ABB เช่น กล้วยน้ำว้า กล้วยหักมุก เมื่อกล้วยดิบจะมีปริมาณแป้งอยู่มาก และเมื่อสุกจะมีปริมาณแป้งลดลงแต่ไม่มากเท่ากลุ่มแรก การมีปริมาณแป้งอยู่สูงในช่วงสุก จึงทำให้กล้วยมีความเหนียว และมีความหวานน้อยกว่ากล้วยในกลุ่มแรก แต่มีปริมาณกรดค่อนข้างสูง จึงทำให้เมื่อสุกแล้วมีรสเปรี้ยวเล็กน้อย

กล้วยตาก เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำกล้วยที่แก่และสุกพอดี ปอกเปลือกแล้วทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจนได้ปริมาณความชื้นที่เหมาะสม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2528) ทำให้สามารถเก็บไว้บริโภคได้นาน ผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจมีทั้งลักษณะทั้งผล, ท่อน, ลูกเต๋า หรือหั่นเป็นชิ้นบาง วิธีที่นิยมใช้ในการอบแห้งกล้วยในทางอุตสาหกรรม ได้แก่ การใช้ลมร้อน (hot air drying) และการใช้พลังงานแสงอาทิตย์ (solar drying) (Brekke และ Allen, 1967; Sankat, Castaigne และ Maharaj, 1996; Phoungchandang และ Woods, 2000) ซึ่งการใช้ลมร้อนในการอบแห้งยังเป็นวิธีที่นิยมใช้อยู่ในปัจจุบัน เนื่องจากใช้ระยะเวลาในการทำแห้งสั้นและเสียค่าใช้จ่ายไม่สูงนัก ในประเทศไทย กล้วยตากเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมบริโภคกันมากในทุกเพศทุกวัย รวมทั้งยังเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้กับประเทศ กล้วยที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นกล้วยตากเพื่อบริโภคภายในประเทศและส่งออกได้แก่ กล้วยน้ำว้า นอกจากนี้ยังมีการนำกล้วยพันธุ์อื่นๆ เช่น กล้วยหอม กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง มาแปรรูปเป็นกล้วยตากเพื่อให้เกิดความหลากหลายของผลิตภัณฑ์ เมื่อเปรียบเทียบมูลค่าการส่งออกของกล้วยตากกับผลิตภัณฑ์ผลไม้อบแห้งชนิดอื่นๆ ของไทยที่มีการส่งออก พบว่ากล้วยตากมีมูลค่าการส่งออกอยู่ในลำดับ 1 ใน 5 ของผลไม้อบแห้งของไทยที่มีมูลค่าการส่งออกมาก (ผลไม้อบแห้งชนิดอื่นๆ ที่มีมูลค่าการส่งออกมาก ได้แก่ ลำไยอบแห้ง มะขามแห้ง และสับปะรดอบแห้ง) ในการส่งออกกล้วยตากไปยังต่างประเทศ ต้องคำนึงถึงมาตรฐานที่แต่ละประเทศได้กำหนดไว้ เช่น ในตลาดยุโรป ได้กำหนดมาตรฐานของกล้วยตากไว้ คือ ควรมีสีเหลืองทอง สม่ำเสมอ ไม่มีสิ่งปนเปื้อน มีเนื้อแน่น รสหวาน ไม่มีน้ำตาลเคลือบ ไม่มีเชื้อรา แบคทีเรีย และแมลงปะปน ส่วนการบรรจุ นิยมบรรจุในถุงพลาสติกหรือกล่องพลาสติก ในปัจจุบันกล้วยตากเป็นที่ต้องการของตลาดโลกมากขึ้น ประเทศที่นำเข้าส่วนใหญ่ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา แคนาดา ฝรั่งเศส อังกฤษ เยอรมัน อิตาลี เนเธอร์แลนด์ สวิตเซอร์แลนด์ สิงคโปร์ ฮ่องกง และซาอุดิอาราเบีย เป็นต้น ประเทศที่เป็นคู่แข่งที่สำคัญของประเทศไทยในการส่งออกกล้วยตาก ได้แก่ ฟิลิปปินส์ (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2538; กรมส่งเสริมการส่งออก, 2545) เมื่อพิจารณาปริมาณและมูลค่าการส่งออกกล้วยตากของประเทศไทยตั้งแต่ปีพ.ศ. 2539 ถึง พ.ศ. 2545 (ตารางที่ 2.1) พบว่ามูลค่าการส่งออกมีแนวโน้มลดลงถึงแม้ว่าจะมีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่ากล้วยตากมีราคาที่ต่ำลง สาเหตุอาจเกิดจากคุณภาพของกล้วยตากยังไม่ได้มาตรฐาน และมีคู่แข่งที่สำคัญในการส่งออก

ตารางที่ 2.1 ปริมาณและมูลค่าการส่งออกกล้วยตากของประเทศไทย

ปีพ.ศ	ปริมาณ (เมตริกตัน)	มูลค่า (ล้านบาท)
2539	74	20.60
2540	99	27.30
2541	89	22.30
2542	225	43.10
2543	202	24.70
2544	237	32.40
2545	511	31.85

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2545)

ปัญหาที่สำคัญต่อคุณภาพและการจำหน่ายกล้วยตาก ได้แก่ การเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาลคล้ำ ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา ซึ่งส่งผลให้เกิดปัญหาในด้านคุณภาพของผลิตภัณฑ์ คือ นอกจากจะเกิดการเปลี่ยนสีไปเป็นสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลดำคล้ำแล้ว ยังทำให้มีกลิ่นรสเปลี่ยนแปลงไป สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ (โดยสูญเสียกรดอะมิโน, โปรตีนที่ไปทำปฏิกิริยากับ *o*-quinone ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส) และมีอายุการเก็บสั้น (โดยปกติแล้วกล้วยตากจะมีอายุการเก็บอยู่ในระยะ 2 - 3 เดือน) และส่งผลให้เกิดปัญหาในด้านการจำหน่าย คือ ทำให้มีปริมาณการจำหน่ายและมูลค่าการตลาดลดลง มีอายุการวางจำหน่ายสั้นลง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ความสนใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ลดลง และมีคู่แข่งที่สำคัญโดยเฉพาะคู่แข่งในการส่งออก (Brekke และ Allen, 1967; Krokida, Maroulis และ Saravacos, 2001)

2.2 การเกิดสีน้ำตาลคล้ำในผลิตภัณฑ์กล้วยตาก

สาเหตุเกิดจากปฏิกิริยาสีน้ำตาล ซึ่งอาจเกิดปฏิกิริยาได้ทั้งแบบที่อาศัยเอนไซม์ ซึ่งเกิดจากเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) และแบบที่ไม่อาศัยเอนไซม์ ชนิดปฏิกิริยา Maillard (มายล์ลาร์ด) (Krokida, Maroulis และ Saravacos, 2001)

2.2.1 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO ในกล้วย

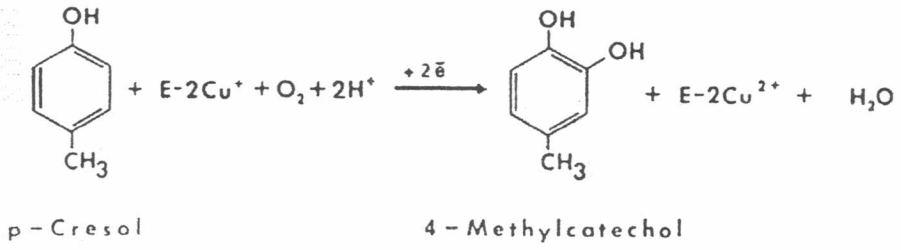
เป็นผลมาจากเอนไซม์ PPO ในกล้วยเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา การเกิดสีน้ำตาลแบบที่อาศัยเอนไซม์นี้เป็นปัญหาเริ่มต้นตั้งแต่ในขั้นเตรียมวัตถุดิบ คือ กล้วยจะเกิดสีน้ำตาลขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อมีการปอกและหั่นกล้วย เพื่อเตรียมเป็นวัตถุดิบไว้ใช้ในการแปรรูปขั้นต่อไป และกล้วยจะเกิด

สีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้นตามเวลาถ้าไม่มีการควบคุมและป้องกันที่ดี ซึ่งจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลคล้ำด้วย

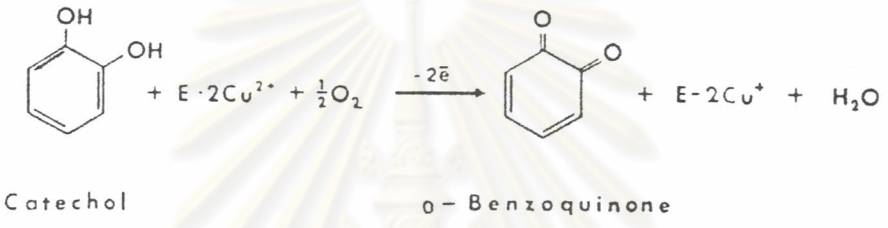
เอนไซม์ PPO เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreductase ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบพวก *o*-diphenol ให้เกิดเป็นสารพวก *o*-quinone และเกิดปฏิกิริยาต่อได้สารสีน้ำตาลที่เรียกว่า melanins เอนไซม์ PPO เป็นเอนไซม์ที่มี copper เป็นองค์ประกอบ โดย copper จะอยู่ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ และเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เอนไซม์ทำงานได้เป็นปกติ เอนไซม์ PPO นี้พบได้ทั่วไปในผักผลไม้ เช่น กล้วย แพร์ แอปเปิ้ล มันฝรั่ง เห็ด นอกจากนี้ยังสามารถพบเอนไซม์ PPO ได้ในสัตว์ เช่น กุ้ง ปู (Zawistowski, Biliaderis และ Eskin, 1991)

ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้จะเกิดเมื่อผักผลไม้มีรอยช้ำ และเนื้อเยื่อเกิดการฉีกขาดจากการปอกและหั่นผักผลไม้ในขั้นเตรียมวัตถุดิบเพื่อนำไปแปรรูปในขั้นต่อไป เนื่องจากในธรรมชาติทั้งเอนไซม์และ substrate ซึ่งคือสารประกอบฟีนอล จะพบรวมอยู่ในผักผลไม้ แต่อยู่ต่างระดับเนื้อเยื่อจึงไม่เกิดสีน้ำตาล แต่เมื่อเนื้อเยื่อเกิดการฉีกขาดเสียหายและสัมผัสกับออกซิเจน เอนไซม์กับ substrate จะมาทำปฏิกิริยากัน ดังนั้นการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์จึงมักเป็นปัญหาสำคัญที่พบในผักผลไม้ที่มีการปอกและหั่นเพื่อจำหน่าย หรือในขั้นเตรียมวัตถุดิบเพื่อแปรรูปต่อไป (Iyengar และ McEvily, 1992)

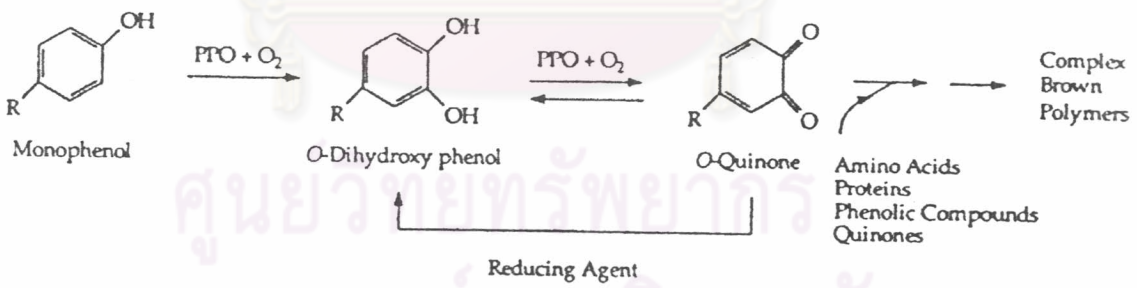
การทำงานของเอนไซม์จะขึ้นกับชนิดของเอนไซม์ที่พบในผักและผลไม้ ซึ่งอาจจะเป็น monophenolase หรือ diphenolase โดยเอนไซม์ในกลุ่ม monophenolase จะเปลี่ยน monophenol ไปเป็น *o*-diphenol ตัวอย่างปฏิกิริยา เช่น ปฏิกิริยา hydroxylation ของ *p*-cresol ไปเป็น 4-methylcatechol ดังแสดงในรูปที่ 2.1 จากนั้นจะเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของ *o*-diphenol ได้ *o*-quinone ส่วนเอนไซม์ในกลุ่ม diphenolase จะเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของ *o*-diphenol ไปเป็น *o*-quinone ตัวอย่างปฏิกิริยา เช่น การออกซิไดส์ catechol ไปเป็น *o*-quinone ดังแสดงในรูปที่ 2.2 *o*-quinone ซึ่งเป็นสารตัวกลาง (intermediates) ที่เกิดขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันของ PPO จะทำปฏิกิริยาต่อไปกับกรดอะมิโน โปรตีน สารประกอบฟีนอล หรือ quinone ที่มีอยู่ในผักและผลไม้ แล้วเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดเป็นพอลิเมอร์ของสารสีน้ำตาล (melanins) (Sapers,1993) ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.1 ปฏิกิริยา hydroxylation ของ monophenol ไปเป็น *o*-diphenol
ที่มา : Zawistowski, Biliaderis และ Eskin (1991)



รูปที่ 2.2 ปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของ *o*-diphenol ไปเป็น *o*-quinone
ที่มา : Zawistowski, Biliaderis และ Eskin (1991)



รูปที่ 2.3 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO
ที่มา : Sapers (1993)

ดังนั้นโดยสรุปแล้ว เอนไซม์ PPO มีบทบาทต่อการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ โดยในสภาวะที่มีออกซิเจน เอนไซม์ PPO จะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบประเภทฟีนอลในผักผลไม้ไปเป็น *o*-quinone ซึ่ง *o*-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปกับกรดอะมิโน โปรตีน และสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในผักและผลไม้ แล้วเกิดปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดเป็นพอลิเมอร์ของ

สารสีน้ำตาล (melanins)

เอนไซม์ PPO อาจมีสมบัติแตกต่างกันขึ้นกับ ชนิด สายพันธุ์ของผักผลไม้ และแหล่งที่ปลูก นอกจากนี้ผักและผลไม้ต่างชนิดกันหรือต่างสายพันธุ์กัน จะมีปริมาณ PPO และปริมาณ substrate ที่แตกต่างกัน จึงทำให้ผักและผลไม้แต่ละชนิดเกิดสีน้ำตาลได้มากน้อยไม่เท่ากัน (Sapers,1993) ดังนั้นจึงมีงานวิจัยต่างๆ ที่ศึกษาสมบัติของ PPO ในผักและผลไม้หลากหลายชนิด เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการควบคุม และป้องกันการเกิดสีน้ำตาล

สมบัติของเอนไซม์ PPO ในกล้วย

กล้วยเป็นผลไม้ที่เกิดสีน้ำตาลได้อย่างรวดเร็วเมื่อมีรอยช้ำ หรือมีการปอกและหั่น จึงเป็นปัญหาที่สำคัญต่อโรงงานอุตสาหกรรมผลไม้แปรรูป โดยเฉพาะในขั้นเตรียมวัตถุดิบเพื่อนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น กล้วยหั่นแว่นพร้อมบริโภค กล้วยบรรจุกระป๋อง น้ำกล้วย และกล้วยตาก ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมการผลิตที่ดีเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการให้เกิดสีน้ำตาล ได้แก่ กล้วยหั่นแว่นพร้อมบริโภค กล้วยบรรจุกระป๋อง ส่วนกล้วยตากเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้มีสีน้ำตาลในระดับนึงที่พอเหมาะ ไม่มากเกินไป คือมีสีน้ำตาลอมเหลือง แต่ไม่ต้องการให้มีสีน้ำตาลดำคล้ำเกินไป จากปัญหาดังกล่าวจึงมีงานวิจัยต่างๆ ที่ศึกษาสมบัติของ PPO ในกล้วยสายพันธุ์ต่างๆ เพื่อที่จะนำข้อมูลที่ได้มาใช้ควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในกล้วย

Galeazzi, Sgarbieri และ Constantinides (1981a) ได้ทำการแยกเอนไซม์ PPO จากกล้วยหอมเขียวค่อม (Dwarf cavendish) และนำมาทำให้บริสุทธิ์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีพิสิกส์ของเอนไซม์ โดยมี catechol เป็นsubstrate เมื่อทดสอบด้วย SDS-PAGE พบว่าเอนไซม์บริสุทธิ์ประกอบด้วย isozyme 4 ตัว มีน้ำหนักโมเลกุล 31,000$\pm$1,000 ดาลตัน และมีน้ำหนักโมเลกุล 62,000$\pm$2,000 ดาลตัน เมื่อทดสอบด้วยวิธี sucrose gradient ultracentrifugation มี isoelectric point เท่ากับ 5.2 เอนไซม์จะสูญเสีย activity มากกว่า 90% เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 5 นาที และถูกยับยั้งการทำงานอย่างสมบูรณ์เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 5 นาที

Galeazzi และ Sgarbieri (1981b) ได้ศึกษา substrate จำเพาะ และสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ PPO จากกล้วยหอมเขียวค่อม (Dwarf cavendish) ซึ่งพบว่าค่า K_m ใน dopamine, epinephine และ norepinephrine มีค่าต่ำ และสารที่สามารถยับยั้ง activity ของเอนไซม์ได้คือ กรดแอสคอร์บิก รองลงมาได้แก่ ซิสเตอีน และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ตามลำดับ

Yang และคณะ (2000) ได้ศึกษาลักษณะของเอนไซม์ PPO จากกล้วย *Musa sapientum* L. โดยนำมาทำให้บริสุทธิ์ก่อนศึกษา ซึ่งพบว่ามีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 41,000 และ

42,000 เมื่อทดสอบโดยใช้วิธี gel filtration และวิธี SDS-PAGE ตามลำดับ เอนไซม์ออกซิไดส์ dopamine อย่างรวดเร็วและมีค่า K_m เท่ากับ 2.8 mM เอนไซม์ทำงานได้ดีที่ pH 6.5 และมีความเสถียรในช่วง pH 5-11 ที่ 5 °C 48 ชั่วโมง อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือ 30 °C และเอนไซม์มีความเสถียรที่อุณหภูมิสูง โดยการทำงานยังคงดำเนินต่อไปถึงแม้จะให้ความร้อนที่ 70 °C เป็นเวลา 30 นาที สารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก ซิสเตอีน กรดซิตริก และกรดอะซีติก

2.2.2 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์

ปฏิกิริยามายล์ลาร์ด เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิลอิสระของน้ำตาลรีดิวซ์ และหมู่อะมิโนอิสระของกรดอะมิโน โปรตีน หรือเปปไทด์ แล้วเกิดเป็นพอลิเมอร์ของสารสีน้ำตาล (melanoidins) ดังรูปที่ 2.4 ปฏิกิริยานี้อาจเกิดได้ทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา และทำให้ผลิตภัณฑ์ผักผลไม้เกิดสีน้ำตาลมากขึ้นเมื่อได้รับความร้อน ถ้าไม่มีการควบคุมและป้องกันที่ดี ก็จะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลคล้ำ และอาจจะเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เก็บรักษาด้วย ดังนั้นจึงมักจะเป็นปัญหาที่พบบ่อยในผักผลไม้อบแห้ง และน้ำผักผลไม้ (Bolin และ Steele, 1987)

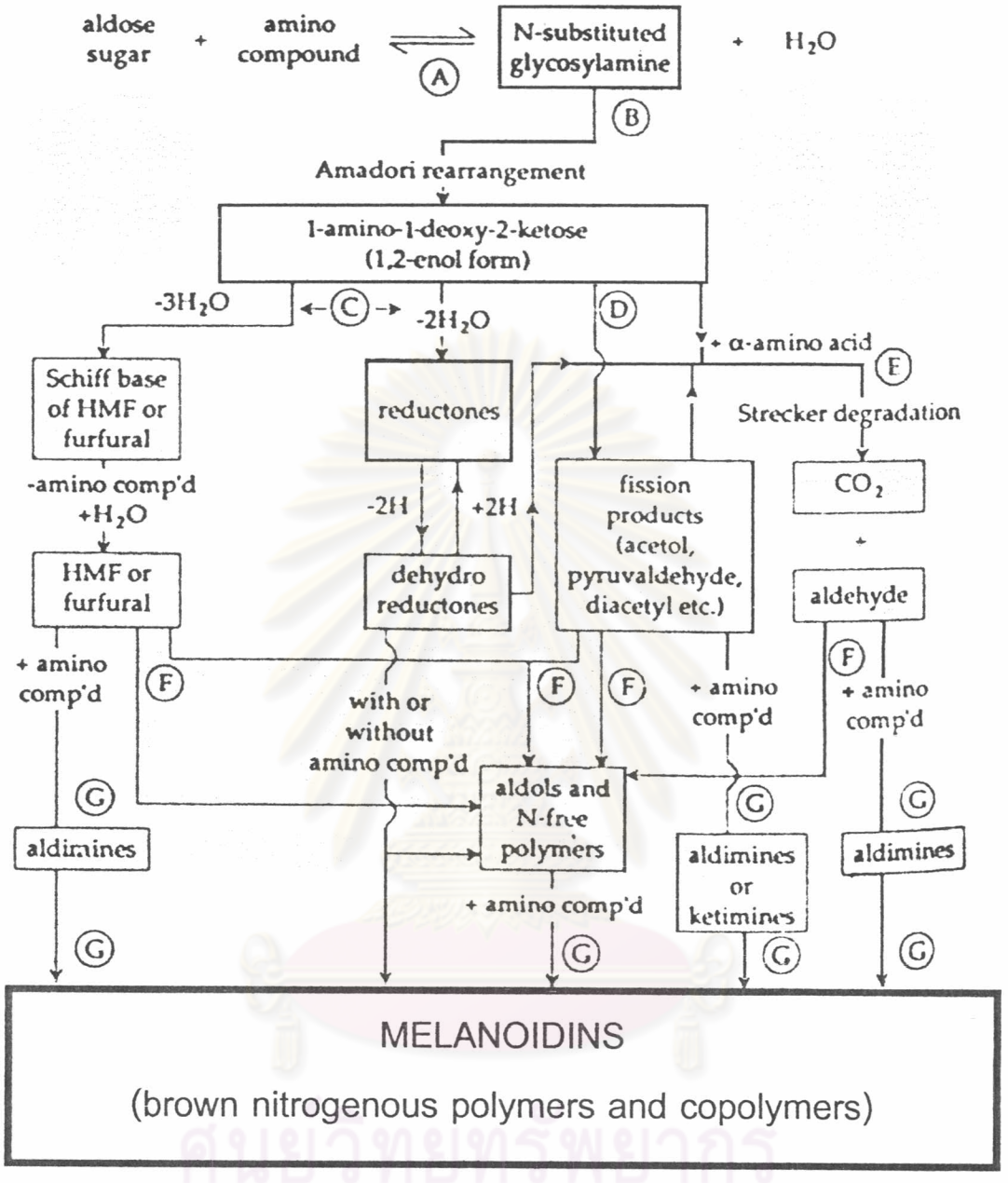
2.3 วิธีการควบคุมและป้องกันปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO

หลักการในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO คือ ขัดขวางหรือยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ กำจัด substrate หรือเปลี่ยนรูป substrate กำจัดหรือลดออกซิเจน หรือเติมสารที่มีผลต่อทั้งเอนไซม์และ substrate

วิธีการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO มีหลายวิธี ดังนี้

2.3.1 การให้ความร้อนหรือการลวก

จากงานวิจัยที่มีการศึกษาลักษณะและสมบัติของเอนไซม์ PPO ในผักผลไม้ชนิดต่างๆ จึงกล่าวได้ว่าสามารถใช้ความร้อนในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ เนื่องจากความร้อนจะทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนเสียสภาพตามธรรมชาติ ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ จึงไม่เกิดสีน้ำตาลโดย PPO จากผักผลไม้ต่างชนิดก็จะมีเสถียรภาพต่อความร้อนแตกต่างกัน ดังนั้นอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการลวกอาจจะแตกต่างกันไป แต่การใช้ความร้อนหรือการลวกอาจทำให้เนื้อผลไม้นิ่มเละ และกลิ่นรสเปลี่ยนแปลงไป จึงอาจใช้วิธีอื่นแทน



รูปที่ 2.4 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ (ปฏิกิริยามายล์ลาร์ด)

A = sugar – amine condensation
B = Amadori rearrangement
C = sugar dehydration
D = sugar fragementation
E = Strecker degradation of amino acid moiety
F = aldol condensation
G = aldehyde–amine polymerization and formation of heterocyclic nitrogen compounds

ที่มา : Sapers (1993)

2.3.2 การกำจัดหรือลดออกซิเจน

เนื่องจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO นี้ จะเกิดได้ก็ต่อเมื่อมีออกซิเจน ดังนั้นจึงสามารถยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิกิริยาได้โดยการแยกออกซิเจนออกจากการสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ โดยอาจเติมสารละลายน้ำตาล หรือน้ำเชื่อมเพื่อลดการละลายของออกซิเจนในเนื้อผลไม้ และลดการแพร่ของออกซิเจนจากอากาศเข้าสู่เนื้อผลไม้ หรืออีกวิธีหนึ่งคือ การบรรจุผักผลไม้และผลิตภัณฑ์ในสภาพดัดแปลงบรรยากาศ เช่น บรรจุแก๊สผสมระหว่าง CO_2 ในปริมาณ 20% และ N_2 ในปริมาณ 80% ก็จะช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ (Sapers, 1993)

2.3.3 การใช้สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล (Antibrowning agent)

สารที่สามารถป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO มีหลายชนิด ได้แก่

2.3.3.1 สารประกอบพวกซัลไฟต์

สารประกอบพวกซัลไฟต์ เช่น sulfur dioxide, sodium sulfite, sodium bisulfite, potassium bisulfite, sodium metabisulfite และ potassium metabisulfite สารเหล่านี้ถูกนำมาใช้เป็นเวลานานแล้วเพื่อวัตถุประสงค์ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลทั้งแบบที่อาศัยเอนไซม์ และแบบที่ไม่อาศัยเอนไซม์ โดยสารประกอบพวกซัลไฟต์ มีหน้าที่ในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลดังนี้

บทบาทของสารประกอบพวกซัลไฟต์ในการควบคุมปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

ก. เป็น reducing agent คือ จะรีดิวซ์ *o*-quinone ให้กลับมาอยู่ในรูปสารประกอบฟีนอลตามเดิม ก่อนที่ *o*-quinone จะทำปฏิกิริยาต่อไปจนกลายเป็นสารสีน้ำตาล ดังรูปที่ 2.3

ข. ทำปฏิกิริยากับ *o*-quinone จึงทำให้ *o*-quinone ไม่สามารถทำปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลได้

ค. เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ PPO โดยสารประกอบพวกซัลไฟต์จะทำปฏิกิริยากับ disulphide bonds ที่อยู่ในเอนไซม์ ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างของ PPO เปลี่ยนไป PPO จึงทำงานได้ไม่ดี

ปัญหาจากการใช้สารประกอบพวกซัลไฟต์คือ สารประกอบพวกซัลไฟต์มีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยทำให้ผู้บริโภคบางคนเกิดการแพ้ที่รุนแรง โดยเฉพาะผู้ป่วยโรคหอบหืด ซึ่งถึงแม้จะเกิดอันตรายกับผู้บริโภคส่วนน้อย แต่ก็ทำให้ผู้บริโภคทั่วไปตระหนักถึงความเสี่ยงในการบริโภคผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมสารประกอบพวกซัลไฟต์ และส่งผลให้มีข้อจำกัดในการใช้ซัลไฟต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

มากขึ้น FDA ของสหรัฐอเมริกาได้กำหนดปริมาณสารตกค้างของ sulfur dioxide ไว้สูงสุดที่ 300, 500 และ 2,000 ppm ในน้ำผลไม้, มันฝรั่งแห้ง และผลไม้แห้ง ตามลำดับ และกฎที่เสนอโดย FDA ของสหรัฐอเมริกาในปี 1988 คือ ต้องการให้มีการบอกปริมาณซัลไฟต์บนฉลากอาหารเมื่อตรวจพบตั้งแต่ 10 ppm ขึ้นไป และสารประกอบพวกซัลไฟต์ไม่จัดเป็น GRAS ในการใช้กับผักผลไม้ที่ใช้บริโภคสดหรือจำหน่ายสดแก่ผู้บริโภค จากการที่มีการจำกัดการใช้ซัลไฟต์มากขึ้น จึงเป็นเหตุให้นักวิจัยและผู้ผลิตสารเคมีที่ใช้กับอาหารพยายามค้นหาสารใหม่ทดแทนซัลไฟต์ สารที่นิยมใช้ เช่น กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก โดยนิยมนำสารหลายชนิดมาใช้ร่วมกันเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ (Sapers, 1993)

2.3.3.2 สารทดแทนสารประกอบพวกซัลไฟต์

ก. สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล

สารทดแทนสารประกอบพวกซัลไฟต์มีหลายชนิด เช่น กรดแอสคอร์บิก, กรดซิตริก, ซิสเตอีน (cysteine), glutathione, 4–hexylresorcinol แต่สารที่นิยมใช้ได้แก่ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริก

กรดแอสคอร์บิก ทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) จึงช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้ อย่างไรก็ตามเมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกใช้ในการรีดิวซ์หมดแล้ว สาร *o*-quinone ก็จะเกิดสะสมมากขึ้น และดำเนินปฏิกิริยาต่อไปจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาล แต่ที่ระดับความเข้มข้นสูง กรดแอสคอร์บิกสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ได้โดยตรง คือมีผลทำให้โครงสร้างของ PPO เปลี่ยนไป ดังนั้นจึงควรกำหนดปริมาณกรดแอสคอร์บิกให้เพียงพอที่จะลดการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล และอาจใช้ร่วมกับสารชนิดอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ สารที่นิยมใช้ร่วมกับกรดแอสคอร์บิกคือ กรดซิตริก

กรดซิตริก ทำหน้าที่ 2 อย่าง คือ เป็นสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในกลุ่ม acidulant ซึ่งจะทำหน้าที่ลด pH เมื่อลด pH ให้ต่ำกว่า 4 หรือต่ำกว่า optimum pH ของเอนไซม์ จะทำให้เอนไซม์ทำงานได้ไม่ดี นอกจากนี้กรดซิตริกยังเป็น chelating agent โดยจะจับกับ copper ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ เนื่องจาก copper เป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เอนไซม์ทำงานได้อย่างปกติ เมื่อ copper ถูกดึงออกไป ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถทำงานได้ (Iyengar และ McEvily, 1992)

Pizzocaro, Torreggiani และ Gilardi (1993) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ต่อ activity ของเอนไซม์ PPO ในแอปเปิ้ลพันธุ์ Golden Delicious ที่หั่นเป็นรูปลูกเต๋า (14 mm.) พบว่าการจุ่มแอปเปิ้ลลงในกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 10 g/l ร่วมกับ กรดซิตริกความเข้มข้น 2 g/l หรือกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น

10 g/l ร่วมกับ เกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.5 g/l นาน 5 นาที จะช่วยยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในแอปเปิ้ลได้ 90 – 100 %

Laurila และคณะ (1997) ศึกษาสารทดแทนสารประกอบไบซัลไฟต์ ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งที่หั่นเป็นชิ้น พบว่าการใช้กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.1% - 0.5 % ร่วมกับกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1% - 0.5 % พร้อมทั้งการบรรจุแก๊สผสมระหว่าง CO_2 ปริมาณ 20% และ N_2 ปริมาณ 80% ลงในภาชนะบรรจุ จะสามารถรักษาคุณภาพของมันฝรั่งชิ้นได้หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 7 วัน

Weller และคณะ (1997) ได้ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลแบบที่อาศัยเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในมะเฟืองทั้งลูกและที่หั่นเป็นชิ้นในระหว่างเก็บรักษาในภาชนะบรรจุ ที่อุณหภูมิ 4.4 °C เป็นเวลา 4 อาทิตย์ ซึ่งพบว่ามะเฟืองที่เพิ่งหั่นเป็นชิ้นจะเกิดสีน้ำตาลเล็กน้อยเมื่อสัมผัสอากาศ ในขณะที่มะเฟืองที่หั่นเป็นชิ้นที่เก็บรักษาไว้ในภาชนะบรรจุเป็นเวลา 2 อาทิตย์หรือมากกว่านั้น จะเกิดสีน้ำตาลอย่างรวดเร็วภายใน 6 ชั่วโมงหลังจากนำออกจากภาชนะบรรจุให้สัมผัสอากาศ ส่วนมะเฟืองทั้งลูกซึ่งเก็บรักษาไว้มากกว่า 6 อาทิตย์ขึ้นไป เมื่อนำมาหั่นพบว่าเกิดสีน้ำตาลเล็กน้อย โดยในระหว่างเก็บรักษา พบว่ามะเฟืองทั้งลูกและมะเฟืองหั่นชิ้นมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลง และมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มากขึ้น โดยมะเฟืองที่เก็บรักษาทั้งลูกจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO น้อยกว่ามะเฟืองที่หั่นชิ้น การใช้กรดแอสคอร์บิกความเข้มข้น 0.25% ร่วมกับกรดซิตริกความเข้มข้น 1% หรือ 2.5% แช่มะเฟืองก่อนที่จะบรรจุและเก็บรักษาจะมีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

ข. สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลที่ได้จากธรรมชาติ

(Natural antibrowning agent)

เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคห่วงใยในสุขภาพมากขึ้น จึงมีความต้องการให้ใช้สารจากธรรมชาติในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลสูงขึ้น ทำให้มีการศึกษาสารธรรมชาติต่างๆ ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล เช่น น้ำสับปะรด น้ำผึ้ง น้ำ rhubarb

Oszmianski และ Lee (1990) พบว่าน้ำผึ้งสามารถยับยั้งเอนไซม์ PPO และควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลชิ้น และน้ำองุ่นได้ และจากการศึกษาในระบบจำลอง (model system) ของ caffeoyl tartrate และ epicatechin พบว่าอัตราการเกิดสีน้ำตาลจะเป็นสัดส่วนกลับกับความเข้มข้นของน้ำผึ้งที่เติม สารประกอบในน้ำผึ้งที่มีผลในการยับยั้งเอนไซม์ PPO เป็นเปปไทด์ ขนาดเล็ก มีน้ำหนักโมเลกุล ประมาณ 600 ดาลตัน โดยเปปไทด์จะควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้โดยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO โดยตรง หรือทำปฏิกิริยากับ quinonoid products ที่เกิดขึ้นจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ PPO

McLellan และคณะ (1995) ศึกษาผลของน้ำผึ้งในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในการผลิตลูกเกดสีเหลืองทอง (light raisin) ผลของการวัดสีด้วยระบบ Hunter พบว่าการใช้น้ำผึ้ง 10% หรือ 20 % มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในการผลิตลูกเกด โดยทำให้ได้ลูกเกดที่มีสีอ่อนกว่าและเหลืองกว่าการใช้แก๊สซัลเฟอร์หรือสารละลายซัลไฟต์ และเมื่อทดสอบความชอบของผู้บริโภค โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ฝึกฝน 18 คน พบว่าลูกเกดที่ควบคุมการเกิดสีน้ำตาลด้วยน้ำผึ้งได้รับความชอบมากที่สุด

Chen และคณะ (2000) ศึกษาการใช้น้ำผึ้งในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ PPO ในมันฝรั่ง แอปเปิ้ล และแพร์ ที่ homogenate พบว่าน้ำผึ้งสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงได้ 2 – 45 % ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของค่า browning index 2.5 –12 units โดยประสิทธิภาพของน้ำผึ้งจะแตกต่างกันขึ้นกับแหล่งของน้ำผึ้ง เนื่องจากมีปริมาณและส่วนประกอบของ antioxidant แตกต่างกัน ซึ่งในงานวิจัยนี้สันนิษฐานว่าส่วนประกอบของ antioxidant บางตัว มีผลในการยับยั้งเอนไซม์ PPO และควบคุมการเกิดสีน้ำตาล เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำผึ้งกับสารป้องกันการเกิดสีน้ำตาลทางการค้าคือ เมตาไบซัลไฟต์ และกรดแอสคอร์บิก พบว่าน้ำผึ้งมีประสิทธิภาพน้อยกว่า อย่างไรก็ตามการเติมน้ำผึ้งผสมลงในเมตาไบซัลไฟต์ หรือกรดแอสคอร์บิก จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลของสารทั้งสองได้ น้ำผึ้งจึงเป็นสารธรรมชาติที่สำคัญที่จะใช้ควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้

de Gonzalez และคณะ (1993) ศึกษาผลของการใช้น้ำสับปะรดในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลสดและแห้ง ซึ่งพบว่าน้ำสับปะรดมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลทั้งในแอปเปิ้ลสดและแห้ง เมื่อนำน้ำสับปะรดมาแยกส่วน โดยใช้วิธีการต่างๆ แยกสารประกอบที่มีขนาดโมเลกุลและประจุที่ไม่ต้องการออก พบว่า fraction ทั้งหมดสามารถยับยั้งเอนไซม์ PPO ที่สกัดจากแอปเปิ้ลได้อย่างน้อย 26% จากผลการทดลองพบว่าสารประกอบในน้ำสับปะรดที่มีผลในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลเป็นสารประกอบที่เป็นกลาง มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ

Moline, Buta และ Newman (1999) พบว่าถ้าต้องการชะลอการเกิดสีน้ำตาลในกล้วยหั่นเป็นแว่นในช่วงเวลา 2 - 3 ชั่วโมง เช่น ในขั้นตอนการเตรียมสลัด การใช้น้ำสับปะรดก็เพียงพอที่จะลดการเกิดสีน้ำตาลได้ ซึ่งในงานวิจัยนี้สันนิษฐานว่าสารประกอบในน้ำสับปะรดที่มีผลในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลอาจเป็นกรดซิตริก และน้ำตาล

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ และวิธีการป้องกัน

(Sapers, 1993; Joubert, Wium และ Sadie, 2001)

2.4.1 ปริมาณสารตั้งต้น สารตั้งต้นที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาคือ ปริมาณอะมิโนและน้ำตาลในผักผลไม้ ถ้ามีปริมาณสารตั้งต้นมาก อัตราการเกิดปฏิกิริยาก็จะเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น ดังนั้นอาจควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้โดยควบคุมปริมาณของกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวส์ของวัตถุดิบ เช่น การกำหนดระยะการสุกของผลไม้ที่จะนำมาแปรรูป

2.4.2 อุณหภูมิ ถ้าอุณหภูมิและเวลาในระหว่างการผลิตและเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาก็จะเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของสารตั้งต้นเคลื่อนที่มาทำปฏิกิริยากันได้เร็วขึ้น ดังนั้นการลดอุณหภูมิในระหว่างการผลิตและเก็บรักษา จะทำให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลช้าลง

2.4.3 ความชื้น / Aw ปฏิกิริยามายล์ลาร์ดจะเกิดได้ดีในผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นสูง เนื่องจากน้ำจะทำให้สารตั้งต้นเคลื่อนที่ได้เร็ว จึงทำปฏิกิริยากันได้มากขึ้น ดังนั้นในผลิตภัณฑ์ที่เป็นของแข็งอาจควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้โดยทำแห้งเพื่อลดความชื้นของผลิตภัณฑ์ และควบคุม Aw ในผลิตภัณฑ์แห้ง เนื่องจากจะลดการเคลื่อนที่ของสารตั้งต้น โอกาสที่สารตั้งต้นจะทำปฏิกิริยากันก็จะน้อยลง จึงทำให้ลดการเกิดสีน้ำตาลได้ ส่วนในผลิตภัณฑ์ที่เป็นสารละลาย อาจเติมน้ำให้เจือจาง เนื่องจากโอกาสที่สารตั้งต้นจะมาเจอกันและทำปฏิกิริยากันจะลดลง

2.4.4 pH ปฏิกิริยามายล์ลาร์ดจะเกิดได้ดีในสภาวะที่เป็นด่าง เนื่องจากในสภาวะด่างหมู่อะมิโนจะอยู่ในรูป RNH_2 ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลได้ดี ส่วนในสภาวะที่เป็นกรดหมู่อะมิโนจะอยู่ในรูป RNH_3^+ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่คาร์บอนิลได้ไม่ดี ดังนั้นอาจลดการเกิดสีน้ำตาลได้โดยการลด pH

2.4.5 ออกซิเจน ถึงแม้ออกซิเจนจะไม่ใช่สารตั้งต้นที่ทำให้เกิดปฏิกิริยา แต่จะส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลได้ โดยจะทำให้เกิดการออกซิเดชันของลิพิด ซึ่งสารที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดจะทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ ต่อไปส่งผลให้เกิดปฏิกิริยามายล์ลาร์ดได้ ดังนั้นอาจควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้โดยบรรจุผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศเพื่อกำจัดออกซิเจน หรือบรรจุผลิตภัณฑ์โดยเติมแก๊สเฉื่อย (inert gas)

2.4.6 สารป้องกันการเกิดสีน้ำตาล การเติมสารบางชนิดสามารถป้องกันปฏิกิริยามายล์ลาร์ดได้ เช่น สารประกอบพวกซัลไฟต์, กรดอะมิโนที่ประกอบด้วยกลุ่มซัลฟ์ไฮดริล (sulfhydryl containing amino acids) เช่น ซิสเตอีน โดยสารทั้ง 2 ชนิดสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้โดยจะไปทำปฏิกิริยากับสารตัวกลางที่มีกลุ่มคาร์บอนิล (carbonyl intermediate) เช่น reductone จึงสามารถป้องกันไม่ให้ปฏิกิริยาดำเนินต่อไปจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลได้