

บทที่ 2

สาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลิ้นจี่

ลิ้นจี่เป็นผลไม้ในเขตกึ่งร้อน (sub-tropical) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chinensis* Sonn. สกุล *Nephelium* วงศ์ *Sapindaceae* ไม้สกุลเดียวกันได้แก่ เงาะ ลำไย และคอแลน ลิ้นจี่มีชื่อสามัญต่างๆ เช่น Litchi Lichee Laichi Leechee และ Lychee แต่ชื่อที่นิยมเรียกกันมากคือ Litchi และ Lychee (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

แหล่งเพาะปลูกที่สำคัญของโลก ได้แก่ ประเทศจีน ซึ่งเป็นแหล่งปลูกลิ้นจี่มากที่สุดในโลก โดยเฉพาะที่เมืองกวางตุ้งและฟูเจียน ประเทศที่ปลูกรองลงมา คือ อินเดีย นอกจากนี้ ยังมีที่ได้หวั่นไทย ปากีสถาน เวียดนาม อินโดนีเซีย พม่า ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ บราซิล เวสต์อินดีส ฮอนดูรัส ออสเตรเลีย มาดากัสการ์ และอเมริกา (สำนักงานพาณิชย์จังหวัดเชียงใหม่, 2538; Kadam and Deshpande, 1995) สำหรับแหล่งเพาะปลูกลิ้นจี่ในประเทศไทยปลูกกันมากและได้ผลดีในเขตที่มีอากาศค่อนข้างหนาวเย็น เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และปลูกในเขตที่มีอากาศร้อนในจังหวัดสมุทรสาคร และสมุทรสงคราม

2.1.1 พันธุ์ลิ้นจี่

พันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกมากในประเทศไทย แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่

1. กลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกและเจริญเติบโตให้ผลดีในเขตที่มีอากาศร้อน ได้แก่ พันธุ์กะโหลก ช่อระกำ แห้ว ค่อม เขียวหวาน ลำไยแก้ว ลำไยยก และสาแหรกทอง พันธุ์ลิ้นจี่เหล่านี้ให้ผลผลิตมีคุณภาพค่อนข้างต่ำคือ เนื้อมีน้ำมากและไม่ค่อยมีกลิ่นหอม เมื่อนำไปปลูกทางภาคเหนือจะให้ผลผลิตแต่คุณภาพไม่ดี คือมีรสเปรี้ยวและเนื้อเฉะ

2. กลุ่มพันธุ์ลิ้นจี่ที่ปลูกและเจริญเติบโตให้ผลดีในเขตที่มีอากาศหนาว ได้แก่ พันธุ์หอมหม่อง (หงฮวย) โอวเฮียะ กิมเจง กิมจี้ และจักรพรรดิ ลิ้นจี่พันธุ์เหล่านี้ส่วนใหญ่จะมีรสชาติหวาน หรือหวานอมเปรี้ยว กลิ่นหอมและเนื้อแห้ง ถ้าปลูกในภาคกลางจะเจริญเติบโตได้ดีแต่ไม่มีผล

พันธุ์ลิ้นจี่ที่ทดลองในงานวิจัยนี้คือ พันธุ์หงฮวยเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุดทางภาคเหนือ เนื่องจากมีลักษณะเด่นที่โตเร็ว สามารถติดผลได้เกือบทุกปี ซึ่งนพดล และคณะ (2543) รายงานว่า ลิ้นจี่พันธุ์หงฮวย โตเร็ว ทรงพุ่มใหญ่ ใบหนาสีเขียว ขอบใบชัดเจน สีเหลืองอ่อนปนเขียว จัดเป็นพันธุ์กลาง ออกดอกประมาณเดือนธันวาคมถึงเดือนมกราคม ผลแก่เดือนพฤษภาคม ติดผลดี

สมำเสมอ ผลดก ผลผลิตสูง ผลโต ขนาดผลกว้าง 3.44 เซนติเมตร ยาว 3.83 เซนติเมตร ผลหนัก ประมาณ 25–35 กรัม ผลทรงหัวใจออกยาว หนามเกิดห่าง เปลือกบาง ผิวสีแดงอมชมพู เนื้อผล สีขาวขุ่น รสหวานอมเปรี้ยว คุณภาพดี เมล็ดโต ความหวานประมาณ 17 °Brix (รูป 2.1)



รูป 2.1 ลิ้นจี่พันธุ์สงขลา

2.1.2 ลักษณะและองค์ประกอบโดยทั่วไปของลิ้นจี่

ลิ้นจี่จัดเป็นไม้ผลประเภท non-climacteric ที่หลังการเก็บเกี่ยวแล้วไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีมาก และเอทิลีนไม่มีผลต่อการสุกหรือเรียกว่าเป็นผลไม้ที่ไม่สามารถบ่มให้สุกได้ ดังนั้น การเก็บเกี่ยวลิ้นจี่จึงควรเก็บเกี่ยวในระยะผลแก่เต็มที่เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพดี โดยทั่วไปการเก็บเกี่ยวลิ้นจี่จะดูการเปลี่ยนสีของเปลือกเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจ สังเกตได้จากเปลือกของลิ้นจี่จากสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเขียวมชมพู สีชมพูหรือสีแดง ซึ่งเกณฑ์การเปลี่ยนสีอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาพแวดล้อม และการดูแลรักษา เป็นต้น เกณฑ์อีกลักษณะหนึ่งที่ใช้ในการประกอบการตัดสินใจ คือ การดูหนามของผลซึ่งลิ้นจี่ที่มีผลแก่หนามบนผิวเปลือกจะห่างออกจากกัน และลิ้นจี่ที่มีคุณภาพดีควรมีสัดส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่อปริมาณกรดอยู่ระหว่าง 30–40 องศาประกอบ และลักษณะทางสรีรวิทยาที่สำคัญบางลักษณะของผลลิ้นจี่ที่สุกแก่แล้ว (ตาราง 2.1)

ตาราง 2.1 องค์ประกอบและลักษณะทางสรีรวิทยาของผลลีนจี่ที่สุกแก่

องค์ประกอบ/ลักษณะทางสรีรวิทยา	ความเข้มข้น/ปฏิกิริยา
คลอโรฟิลล์ที่ผิวเปลือก	
คลอโรฟิลล์เอ	25 μg . 100 mg^{-1}
คลอโรฟิลล์บี	14 μg . 100 mg^{-1}
น้ำตาลในเนื้อ	
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้	13–20 °brix
ฟรุกโตส	1.6–3.1 g. 100 g^{-1} น้ำหนักสด
กลูโคส	5.0 g. 100 g^{-1} น้ำหนักสด
ซูโครส	8.5 g. 100 g^{-1} น้ำหนักสด
กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid)	40–50 mg. 100 g^{-1} น้ำหนักสด
การสร้างเอธิลีน (C_2H_4)	1–5 $\mu\text{l.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ที่ 25 °C
อัตราการหายใจ (CO_2)	25 $\mu\text{l.kg}^{-1}.\text{h}^{-1}$ ที่ 25 °C

ที่มา : นพดล และคณะ, 2543

2.1.3 ส่วนประกอบทางเคมีของผลลีนจี่

ลีนจี่แต่ละพันธุ์จะมีส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อแตกต่างกัน นอกจากนั้นยังอาจผันแปรเนื่องจากภูมิประเทศ ฤดูกาล การจัดการระหว่างการปลูก และระยะเวลาแก่ก่อนหลังการเก็บเกี่ยว นิธิยา และคณัย (2533) กล่าวถึงส่วนประกอบทางเคมีในผลลีนจี่ มีดังนี้

1. ความชื้นหรือปริมาณน้ำ ผลลีนจี่มีน้ำ 77-87% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์
2. โปรตีน ผลลีนจี่มีโปรตีนเล็กน้อยคือ 0.8–0.9% และปริมาณสูงที่สุดที่เคยมีรายงาน

ไว้ประมาณ 1.5% โปรตีนที่พบมักอยู่ในรูปของเอนไซม์มากกว่ารูปอื่นๆ

3. ไขมัน ลีนจี่มีไขมันน้อยกว่า 1% ไขมันส่วนใหญ่จะเป็นส่วนประกอบในเยื่อหุ้มเซลล์และไขเคลือบผิว

4. ปริมาณน้ำตาล เป็นส่วนประกอบทางเคมีมี 20–60% โดยอยู่ในรูปของน้ำตาลซูโครส และน้ำตาลรีดิซ (reducing sugar) คาร์โบไฮเดรตในผลลีนจี่ ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมด 15.3% เป็นน้ำตาลรีดิซ 81.7% และน้ำตาลซูโครส 18.3% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ลีนจี่ที่ปลูกในประเทศได้หวั่นจำนวน 23 สายพันธุ์ Somogyi (1996) รายงานว่ามีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 14.0 – 20.3 °Brix และลีนจี่สายพันธุ์ Brewster มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 16.8% ประกอบด้วยซูโครส 51.1% กลูโคส 30.1% และฟรุกโตส 18.8%

ตาราง 2.2 แสดงส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของถั่วลิสง ถั่วลิสงแห้ง และถั่วลิสงในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋องในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

ส่วนประกอบ	ถั่วลิสง	ถั่วลิสงแห้ง	ถั่วลิสงในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง	
			น้ำและเนื้อ	เนื้อ
พลังงาน (แคลอรี)	65.0	233.0	63.0	67.0
ความชื้น (g/100g)	82.9	35.9	82.5	81.4
ไขมัน (g/100g)	0.4	1.9	0.2	0.3
คาร์โบไฮเดรต (g/100g)	16.3	57.6	16.7	17.5
โปรตีน (g/100g)	0.8	3.0	0.3	0.4
เส้นใยอาหาร (g/100g)	0.2	1.0	0.2	0.4
เถ้า (g/100g)	0.4	1.6	0.2	0.2
แคลเซียม (mg/100g)	10.0	25.0	5.0	7.0
ฟอสฟอรัส (mg/100g)	29.0	58.0	8.0	8.0
เหล็ก (mg/100g)	0.3	40.4	0.3	0.7
โซเดียม (mg/100g)	3.0	49.0	34.0	35.0
โปแตสเซียม (mg/100g)	170.0	568.0	46.0	68.0
วิตามินบี1 (mg/100g)	0.05	0.01	tr.	tr.
วิตามินบี2 (mg/100g)	0.06	0.57	0.04	0.08
ไนอะซิน (mg/100g)	0.6	3.1	0.1	0.1
กรดแอสคอร์บิก (mg/100g)	50	183	63	68

หมายเหตุ tr มีเล็กน้อย (trace)

ที่มา : U.S. Department of Health, Education, and Welfare (1978)

5. กรด ชนิดของกรดที่พบมากในถั่วลิสงคือ กรดมาลิก และรองลงมาคือ กรดซิตริก กรดซัคซินิก กรดฟอสฟอริก กรดกลูตามิก กรดมาโลนิก และกรดแลคติก ปริมาณกรดในผลถั่วลิสงผันแปรไม่แน่นอน ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่นภูมิประเทศและอุณหภูมิ เป็นต้น ปริมาณกรดในผลถั่วลิสงจะลดลงเมื่อผลสุกและระหว่างการเก็บรักษา Somogyi *et al.* (1996) รายงานสายพันธุ์ Brewster มีปริมาณกรดทั้งหมด 0.52% โดยมีกรดมาลิกมากถึง 80.0% นอกจากนี้ยังพบปริมาณกรดอินทรีย์ที่ระเหยไม่ได้ ซึ่งประกอบด้วยกรดซิตริก 10.0% กรดแอสคอร์บิก 5.0%

6. วิตามินและเกลือแร่ วิตามินที่พบมากในผลลิ้นจี่คือกรดแอสคอร์บิก มีปริมาณ 40-90 mg/100g และปริมาณกรดแอสคอร์บิกจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้น (Kadam and Deshpande, 1995) ปริมาณแร่ธาตุในผลลิ้นจี่ พบว่าโปตัสเซียมมีมากที่สุด ส่วนแคลเซียม แมกนีเซียม และฟอสฟอรัสมีปริมาณไม่แตกต่างกัน

สำหรับลิ้นจี่พันธุ์ของฮวยมีส่วนประกอบทางกายภาพและทางเคมีดังนี้ เปลือก 15.18% เมล็ด 16.48% เนื้อ 68.36% ค่าสี L* 43.56 ค่าสี a* 29.37 ค่าสี b* 22.35 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 17.93 °Brix ค่า pH 4.51 และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดมาลิก 0.39% (รัตนาคณะ, 2544)

2.2 รงควัตถุของฟลาโวนอยด์

รงควัตถุในผักผลไม้ถูกจำแนกออกเป็น 3 ประเภทที่สำคัญคือ แคนโทนอยด์ คลอโรฟิลล์ และฟลาโวนอยด์ ซึ่งในงานวิจัยนี้จะขอกล่าวถึงรงควัตถุของลิ้นจี่ที่อยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ดังนี้

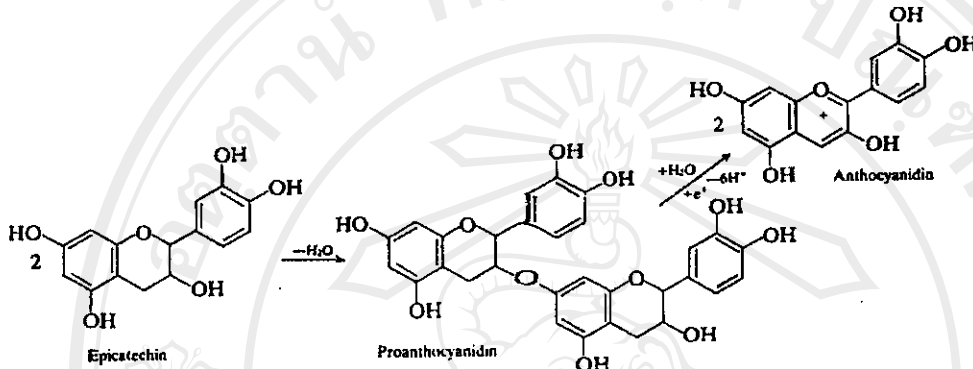
ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) หมายถึง รงควัตถุกลุ่มที่มีสีแดง สีม่วง สีเหลือง สีครีม และสีน้ำตาลในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น หัวผักกาดแดง สตรอเบอร์รี่ แห้ว กะหล่ำปลีสีม่วง มันเทศ เป็นต้น (รูป 2.2) ฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำและจำแนกตามสีที่ปรากฏออกเป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. แอนโทไซยานิน (anthocyanins) หมายถึง รงควัตถุในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีสีแดง สีม่วง หรือสีม่วงที่พบในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น มะเขือม่วง กะหล่ำปลีสีม่วง แอปเปิล สตรอเบอร์รี่ เป็นต้น ระหว่างการแปรรูปและการถนอมอาหารนั้นพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่า pH อุณหภูมิ และการปนเปื้อนของอนุมูลโลหะบางชนิดจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน เป็นเหตุให้สีของผักผลไม้ต่างๆ เปลี่ยนไปจากเดิม

2. แอนโทแซนทิน หรือ ฟลาโวน (anthoxanthins หรือ flavones) หมายถึง รงควัตถุในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ในธรรมชาติจะมีสีขาว สีครีม หรือสีเหลืองอ่อนเป็นส่วนใหญ่ ในระหว่างการแปรรูปและการถนอมอาหารนั้นพบว่า การเปลี่ยนแปลงค่า pH และการปนเปื้อนของอนุมูลโลหะบางชนิดจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของแอนโทแซนทินได้เป็นอย่างมาก

3. แทนนิน (tannins) เป็นสารสีที่ตามธรรมชาติจะใสไม่มีสี แต่สามารถเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลแดงได้ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สารประกอบที่เป็นอนุพันธ์ของแทนนินที่พบมากในธรรมชาตินั้นได้แก่ ลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) แคเทชิน (catechin) และ กรดไฮดรอกซี (hydroxy acid) บางชนิด เช่น กรดแคเฟอิก (caffeic) กรดคลอโรจีนิก

(chlorogenic acid) เป็นต้น แทนนินพบมากในเปลือกของผักและผลไม้ เช่น แอปเปิล ท้อ องุ่น พลับ เป็นต้น ในระหว่างการแปรรูปและการถนอมอาหารนั้นอาจพบการเปลี่ยนแปลงของแทนนิน ตัวอย่างเช่น แทนนินในกลุ่มลิวโคแอนโทไซยานิน สามารถเปลี่ยนไปเป็นไซยานิดิน (cyanidin) ที่มีสีแดงแกมชมพูได้ เมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรด มีน้ำตาลและอุณหภูมิสูง การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้ เกิดขึ้นในการทำลูกแพร์กระป๋อง (สินธนา, 2542)



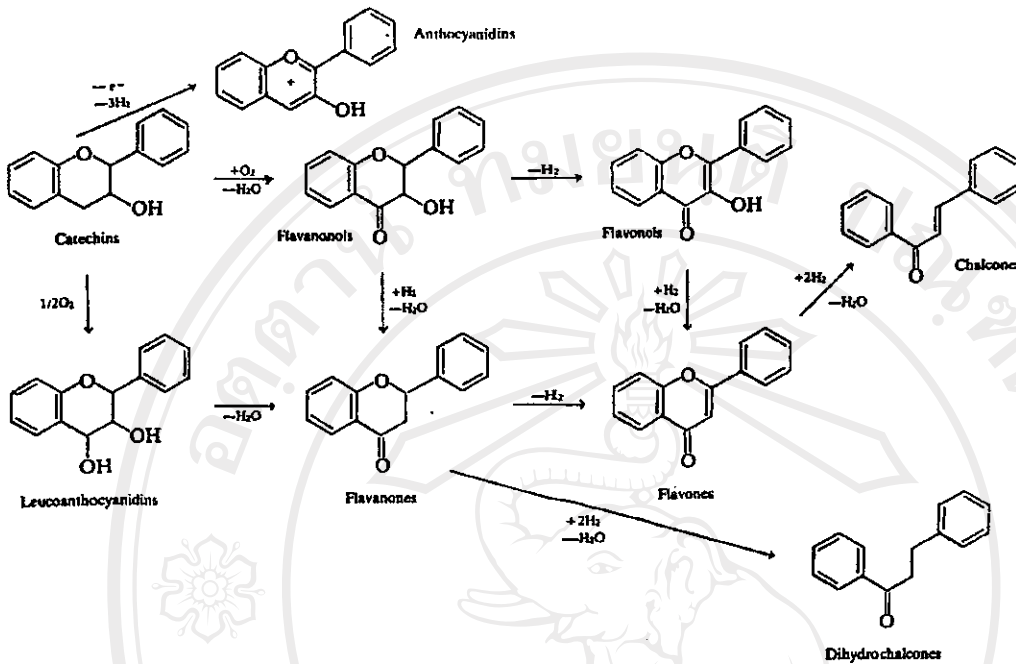
รูป 2.2 Interconversion of flavonoid

ที่มา : Davidek *et al.* (1990)

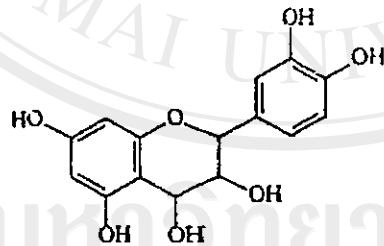
2.2.1 โพรแอนโทไซยานิน (Proanthocyanin)

โพรแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ไม่มีสี สูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) มีความสำคัญในกระบวนการผลิตอาหาร เมื่อถูกความร้อนในสภาวะที่เป็นกรดจะเปลี่ยนรูปโครงสร้างเป็นแอนโทไซยานิดิน รงควัตถุที่มีสี (รูป 2.3)

สารที่สร้างแอนโทไซยานิดิน เช่น เพลาโกนิน (pelargonidin) ไซยานิดิน (cyanidin) เพทูนิน (petunidin) หรือ เดลฟินิดิน (delphinidin) เป็นต้น นอกจากโพรแอนโทไซยานินจะมีชื่อเรียก ลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidins) หรือ ลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanin) ยังมีชื่ออื่นๆ อีก คือ แอนโทแซนทิน (anthoxanthins) แอนโทไซยาโนเจน (anthocyanogens) ฟลาโวลาน (flavolans) และ ฟลาโวลอเจน (flavylagens) แต่ชื่อที่นิยมเรียกมากที่สุดคือโพรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) โครงสร้างของลิวโคแอนโทไซยานิดินหรือลิวโคแอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปของ monomeric flavan-3,4-diols ซึ่งเป็นพื้นฐานในการก่อตัวเป็นโพรแอนโทไซยานิน ในรูปไดเมอร์ (dimer) ไตรเมอร์ (trimer) หรือ higher polymer โดยเชื่อมต่อพันธะคาร์บอนตำแหน่งที่ 4→8 หรือ 4→6 (รูป 2.4)



รูป 2.3 Conversion of proanthocyanidins into anthocyanidins
ที่มา : Davidek *et al.* (1990)



flavan -3,4-diol (leucoanthocyanidin)

รูป 2.4 Basic structure of proanthocyanidin
ที่มา : Von Elbe and Schwartz (1996)

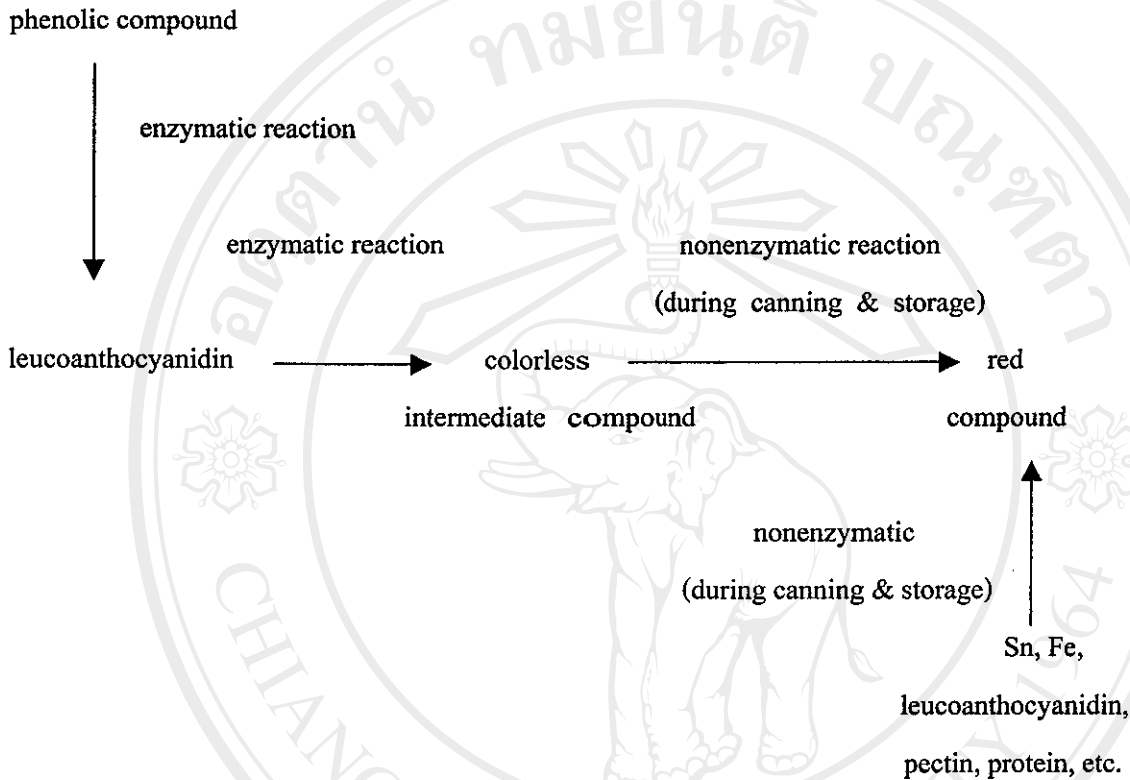
โปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidins) พบครั้งแรกในเมล็ดโกโก้โดยให้ความร้อนภายใต้สภาวะเป็นกรด จะถูกย่อยสลายเป็นไซยานิดิน (cyanidin) และ (-) epicatechin สำหรับโปรแอนโทไซยานิดินที่พบใน แอปเปิ้ล ลูกแพร์ ลูกนัท เมล็ดโกโก้ hawthorn berries และผลไม้อื่นๆ จะเป็นโครงสร้างแบบ dimer ของ two 1-epicatechin เชื่อมต่อด้วยพันธะ C4-C8 (Fennema, Von Elbe and Schwartz, 1996)

2.3 การเกิดสีชมพูในลีนจี้กระป๋อง

Cheng and Hwang (1986) ได้เสนอขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงที่เป็นไปได้ (possible pathway) ของการสร้างสีชมพูในลีนจี้กระป๋อง (รูป 2.5) คือ ขั้นตอนแรก phenolic compounds จะถูกเปลี่ยนแปลงไปเป็นลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidin) และถูกเปลี่ยนต่อเป็น intermediate compound ที่ไม่มีสีโดยเอนไซม์ และสารนั้นจะรวมตัวกับโปรตีน เพคติน คีบุก และเหล็ก เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนโมเลกุลใหญ่สีชมพู (หรือออกแดง) ระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาในเวลาต่อมา

Somogyi *et al.* (1996) อ้างรายงานของ Wu (1970) พบอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อและ pH มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเป็นสีชมพูในลีนจี้บรรจุกระป๋อง ซึ่งเป็นผลโดยตรงจากการถูกไฮโดรไลสของสารพวก condensed tannin ที่มีอยู่ในเนื้อลีนจี้เปลี่ยนเป็นแคเทชิน (catechin) และ ลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanin) ซึ่งจะสลายตัวกลายเป็น anthocyanin ส่วน Woodroof and Luh (1975) ได้อ้างรายงานของ Wu (1970) พบว่าการใช้ความร้อนที่มากเกินไปในกระบวนการผลิตลีนจี้ อาจมีผลต่อการละลายของสารฟีนอล แอนโทไซยานิน และฟลาโวนอล (flavanols) ในน้ำเชื่อม ซึ่งเป็นสาเหตุของการเปลี่ยนเป็นสีชมพูในผลิตภัณฑ์ลีนจี้กระป๋อง ซึ่งระดับลิวโคแอนโทไซยานินในลีนจี้ อาจมีความสัมพันธ์กับสาเหตุการเกิดสีชมพู ดังนั้นในการผลิตจึงควรหลีกเลี่ยงการใช้ความร้อนที่มากเกินไปและความล่าช้าในการหล่อเย็นผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ Somogyi *et al.* (1996) ได้อ้างรายงานของ Wu (1992) ได้แยกเอนไซม์ในเนื้อลีนจี้สดเป็นผลสำเร็จ คือ เอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase และ dihydroquercetin-4-reductase ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญในการสังเคราะห์ของลิวโคแอนโทไซยานิน (biosynthesis of leucoanthocyanin) ในระหว่างกระบวนการผลิตลีนจี้กระป๋อง ผลิตภัณฑ์เกิดการเปลี่ยนเป็นสีชมพู หลังจากปอกเปลือกคว้านเมล็ดออกฟลาโวนอน (flavonones) ในเนื้อลีนจี้สดจะเปลี่ยนเป็น eriodictyol และต่อมาถูกเอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase ไฮโดรไลสเป็นลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidin) (สารไม่มีสี) เปลี่ยนเป็นไซยานิดิน (cyanidin) (สารมีสี) ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ลีนจี้กระป๋องจึงเกิดเป็นสีชมพู

Macrae *et al.* (1993) รายงานว่าในระหว่างกระบวนการให้ความร้อนลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanidin) จะถูกเปลี่ยนเป็นแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งสาเหตุของ pink discoloration เกิดจากลิวโคแอนโทไซยานินรวมตัวกับโลหะพวกดีบุกและเหล็กจากกระป๋อง



รูป 2.5 possible pathway ของการสร้างสีชมพูในลินจี้กระป๋อง
ที่มา : Cheng and Hwang (1986)

อรอนุช (2535) ได้ศึกษาปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดสีชมพูในลินจี้กระป๋องได้แก่ ระดับความสุกของลินจี้ 3 ระดับ คือ เริ่มสุก สุกปานกลาง และสุกมาก ชนิดของกระป๋องที่ใช้บรรจุคือ กระป๋องดีบุก และกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ ระดับของความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ คือ 90°C 15 นาที และ 100°C 10 นาที สภาวะในการผลิต คือ การฆ่าเชื้อโดย continuous cooker still retort และกระบวนการผลิตที่มีความล่าช้า นอกจากนี้ได้ศึกษาแนวทางลดการเกิดสีชมพูในลินจี้กระป๋อง โดยการใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ 100 และ 200 ppm ในน้ำเชื่อมร่วมกับการผันแปรระดับของความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ และการลวกลินจี้ (ทั้งเปลือก) ที่ 100°C 1 นาที ก่อนการบรรจุกระป๋อง ร่วมกับการผันแปรระดับของความร้อนที่ใช้ฆ่าเชื้อ จากนั้นเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 เดือน

สุ่มตัวอย่างมาตรวจทุก 2 เดือน วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ pH ความเป็นกรด (acidity) ความเข้มข้นของน้ำตาล และปริมาณลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanidin) และประเมินผลทางประสาทสัมผัสโดยใช้ scoring test ผลการทดลองพบว่าลีนี่ที่มีความสุกมากทำให้เกิดสีชมพูมากที่สุด กระจกเคลือบแลคเกอร์ทำให้ลีนี่เกิดสีชมพูมากกว่ากระจกดีบุก การฆ่าเชื้อที่ 90°C 15 นาที ช่วยลดการเกิดสีชมพูลงได้ และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือ การใช้ continuous cooker ในกระบวนการที่ไม่มีเวลาแช่ และการป้องกันการเกิดสีชมพูอาจใช้โซเดียมไบซัลไฟต์ 100-200 ppm ซึ่งถ้าใช้มากจะทำให้ลีนี่มีสีขาวซีดผิดปกติ และมีกลิ่นรสที่แปลกปลอม ส่วนการลวกลีนี่ก่อนบรรจุจะชะลอการเกิดสีชมพูได้ เมื่อฆ่าเชื้อที่ 90°C 15 นาที

Hulme (1971) รายงานว่าการเกิดสีชมพูอาจพบได้ในผลไม้บรรจุกระจก ได้แก่ แอปเปิล ลูกพีช ลูกแพร์ ถั่วฝักยาว ฝรั่ง และเกอซเบอรี่ (gooseberries) เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนของลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) เป็นแอนโทไซยานิน (anthocyanin) เมื่อได้รับความร้อนภายใต้สภาวะเป็นกรด การเกิดสีชมพูในผลไม้แต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน เช่น ลูกแพร์ พันธุ์ Bartlett พบว่าสีชมพูไม่เกิดบ่อยนัก แต่พันธุ์ Packam และ Bon Chretien จะเกิดสีชมพูเป็นประจำ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดสีชมพูของผลิตภัณฑ์ได้แก่ ปัจจัยในกระบวนการผลิต เช่น การให้ความร้อนที่มากเกินไปและความล่าช้าในการหล่อเย็น นอกจากนี้ยังมีปัจจัยการเพาะปลูก เช่น ภูมิประเทศ การรับแสงอาทิตย์ของรากพืช และการสุกเต็มที่ของผลไม้ เป็นต้น สำหรับสาเหตุที่สนับสนุนการเกิดสีชมพู คือ ผลิตภัณฑ์มี pH ต่ำ ปริมาณความเข้มข้นของลิวโคแอนโทไซยานิน ปริมาณออกซิเจนในกระจก และปริมาณดีบุกจากการกักคร่อนภายในกระจก ผลไม้กระจกดีบุกสีชมพูอาจเปลี่ยนเป็นสีม่วงโดยปฏิกิริยาของ metal ion

Woodroof and Luh (1975) อ้างรายงานของ Luh *et al.* (1960) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดสีชมพูในลูกแพร์กระจก พบว่าลูกแพร์ที่มีความเป็นกรด และแทนนินสูง ทำให้ลูกแพร์เกิดสีชมพูหลังจากผ่านกระบวนการผลิต โดยเฉพาะการใช้ความร้อนมากเกินไปและความล่าช้าในกระบวนการหล่อเย็น

Jethro *et al.* (1988) ได้ศึกษาผลิตภัณฑ์ฝรั่งบรรจุในภาชนะแก้วหรือกระจกดีบุก ลักษณะจีนของฝรั่งและฝรั่งที่ปอกเปลือกคว้านเมล็ดออก เกิดสีชมพูจากลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanidin) และลิวโคเดลฟินิดิน (leucodelphinidin) ทั้งนี้พบว่าสาเหตุเกิดจาก polymerization ของลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) ซึ่งเพิ่มขึ้นตามเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา

2.4 วิธีป้องกันการเกิดสีชมพูในลีนจี้กระป๋องและผลิตภัณฑ์ผลไม้

Chakraborty *et al.* (1974) ได้ศึกษาการป้องกันการเกิดสีชมพูในลีนจี้กระป๋องโดยเติมกรดซิตริก 0.1-0.15% ในน้ำเชื่อมความเข้มข้น 30 °Brix (pH มีค่า 4.4-4.5) และใช้เวลาฆ่าเชื้อในน้ำเดือดประมาณ 10 นาที รวมทั้งใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO₂) 300 ppm สามารถป้องกันการเกิดสีชมพูในผลิตภัณฑ์ได้แต่ผลิตภัณฑ์จะมีกลิ่นกำมะถัน Somogyi *et al.* (1996) อ้างรายงานของ Hwang and Cheng (1986) พบว่าการแช่ลีนจี้สดในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์ (sodium bisulfite) ก่อนกระบวนการให้ความร้อนเป็นวิธีที่ช่วยลดการเกิดสีชมพูในผลิตภัณฑ์ลีนจี้ได้ Wu and Fang (1993) พบว่าการเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 30 °Brix และปรับความเป็นกรดด้วยซิตริกผสมกับโพลีฟอสเฟต (polyphosphate) 0.2% สามารถเร่งการเกิดสีชมพูได้ ดรุณี (2545) พบว่าเนื้อลีนจี้ขึ้นแตกและเนื้อลีนจี้ตีปนบรรจุกระป๋อง โดยใช้สารละลายกรดซิตริกเติมเพื่อปรับ pH ของผลิตภัณฑ์ให้ได้ pH สุดท้ายไม่ต่ำกว่า 3.95 ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมที่ไม่ทำให้เนื้อลีนจี้เกิดสีชมพู

Rangana *et al.* (1966) พบว่าการบรรจุรังกระป๋องโดยเติมน้ำเชื่อมที่มีกรดซิตริก 0.06% และกรดแอสคอร์บิก 0.125 % สามารถชะลอการเกิดสีชมพูได้ Guyer and Erickson (1954) พบว่าป้องกันการเปลี่ยนสีของเนื้อกล้วยตีปน (banana puree) โดยปรับค่า pH เป็น 4.2 ส่วน Clegg (1967) พบว่าซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่ระดับ 200 ppm สามารถป้องกันการเกิดสีชมพูในเนื้อลูกแพร์ตีปน (pear puree) ถึงแม้ว่าผลิตภัณฑ์จะผ่านการต้มเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง นอกจากนี้ Furia (1968) ใช้เกลือไดโซเดียม (disodium salt) ของกรดเอธิลีนไดเอมีนเตตระอะซีติก (ethylene-diaminetetraacetic acid) ซิเตรต (citrate) หรือฟอสเฟต (phosphate) ปริมาณ 100-500 ppm ในลูกแพร์กระป๋อง พบว่าสามารถยับยั้งการเกิดสีชมพูได้ นอกจากนั้นยังพบการปนเปื้อนของโลหะซึ่งมีปริมาณเล็กน้อย

2.5 การเกิดสีน้ำตาลของผลิตภัณฑ์

การเกิดสีน้ำตาลในอาหารมีสาเหตุหลักๆ อยู่ 2 อย่าง คือ

1. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ (enzymatic browning) เป็นการเกิดสีน้ำตาลที่มีผลมาจากการที่สารประกอบพวกโมโนฟีนอล (monophenol) ในพืชหรือสัตว์ในสภาพที่มีออกซิเจนและเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO) เติมหมู่ไฮดรอกซิลจะเกิดเป็นสารอโทไดฟีนอล ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นอโทควิโนน สารควิโนนที่เกิดขึ้นจะเปลี่ยนแปลงและทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอล กรดอะมิโน และสารอื่นๆ โดยไม่ใช้เอนไซม์แล้วเกิดเป็นสารมีสีที่มีโครงสร้างซับซ้อน (ประสาร, 2538) ผลิตภัณฑ์ผลไม้กระป๋องที่ผ่านการต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเป็นเวลานาน ทำให้เอนไซม์ที่มีอยู่ในผลไม้ถูกทำลายหมด เนื่องจากอุณหภูมิมีผลต่อ

ความคงตัวของกิจกรรมเอนไซม์ หากอุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้โปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ และมีผลทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์สูญเสียไปด้วย เอนไซม์ส่วนใหญ่มีความคงตัวอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 20-35°C และในการแปรรูปผักและผลไม้ นิยมตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการลวกในการทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีอยู่ในเซลล์ของผักและผลไม้ต่างๆ เนื่องจากเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่มีความทนต่อความร้อนได้สูง สำหรับเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงสีในผลิตภัณฑ์ผักผลไม้แช่แข็งและอบแห้ง เอนไซม์นี้จะถูกทำลายอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 85°C ขึ้นไป และเอนไซม์ฟีนอลเลสเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C เพียงระยะเวลาสั้นๆ หรือเขย่าสารละลายเอนไซม์อย่างรุนแรงในอากาศ จะทำให้เสียสภาพธรรมชาติได้ (นิธิยา, 2543)

2. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) การเกิดสีน้ำตาลของกรดแอสคอบิก (ascorbic acid browning) และ การเกิดคาราเมลไลเซชัน (caramelization) (Dominic, 1989) ซึ่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของเมลลาร์ด และการเกิดสีน้ำตาลของกรดแอสคอบิกมีความสัมพันธ์กัน คือปฏิกิริยาเมลลาร์ดเกิดขึ้นเมื่ออาหารได้รับความร้อนมีการสูญเสียน้ำ (condensation) การสลายตัว (degradation) และการรวมตัวกัน (condensation) พัฒนาเป็นสารสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาล และน้ำตาลแกมแดง มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะ การเปลี่ยนสีเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของหมู่คาร์บอนิลและหมู่อะมิโนที่เป็นอิสระทำให้เกิดเม็ดสีน้ำตาลของเมลานอยดิน ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นที่อุณหภูมิสูง เช่น ในระหว่างการคั่วเมล็ดกาแฟ ถั่วลิสง เมล็ดโกโก้ การไหม้ของน้ำตาล การทอด การอบเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ การปิ้งและย่างอาหาร เป็นต้น ถึงแม้ว่าการเกิดสีน้ำตาลระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโนหรือโปรตีนจะมีความสำคัญในผลิตภัณฑ์หลายอย่าง แต่ยังมีปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เป็นผลมาจากการเสื่อมสลายของน้ำตาลเอง หรือเกิดจากการออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก แล้วเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบคาร์บอนิลโดยผ่านขบวนการอัลโดคอนเดนเซชัน (aldo condensation) หรือเกิดปฏิกิริยากับหมู่อะมิโนให้ผลิตภัณฑ์เป็นสีน้ำตาลลักษณะที่เกิดขึ้นทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ลดลง ได้แก่ ผักและผลไม้อบแห้ง น้ำผักและผลไม้ และผลิตภัณฑ์จากส้ม (ประสาร, 2538; นธิยา, 2543) และการเกิดสีน้ำตาลในอาหารอาจเกิดจากกรดแอสคอร์บิกในผลิตภัณฑ์อาหารถูกออกซิไดส์ไปเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก แล้วทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารสีน้ำตาลโดยปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่นเดียวกับรายงานของณรงค์ (2538) การเกิดสีน้ำตาลอีกชนิดหนึ่งเกิดจากวิตามินคือการเกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารอาหารบางชนิด เช่น กรดอะมิโน การเกิดสีผิดปกติเช่นนี้มักพบในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม เมื่อเก็บไว้นานจะมีสีเข้มมากขึ้น สันนิษฐานว่าเกิดจากกรดแอสคอร์บิกเปลี่ยนไปเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก เมื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนที่หลงเหลืออยู่ในกระป๋องหรือขวด หลังจากนั้นกรดแอสคอร์บิกจะทำปฏิกิริยา

กับกรดอะมิโนให้สารประกอบสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงเช่นนี้จะเกิดขึ้นเร็วมากถ้ามีทองแดงอยู่ด้วย ในสถานะที่ไม่มีออกซิเจน หรือหลังจากที่ออกซิเจนถูกใช้หมดไปแล้วกรดแอสคอร์บิกจะทำให้เกิดสีคล้ำได้ แต่จะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ โดยกรดแอสคอร์บิกจะถูกเปลี่ยนไปเป็นสารเฟอเฟอรอล (furfural) ซึ่งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อมีกรดอะมิโนอยู่ด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำตาลฟรุคโตสมีผลทำให้ปฏิกิริยาเกิดเร็วขึ้น

2.5.1 ขั้นตอนของปฏิกิริยาเมลลาร์ดมีดังนี้

1. น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งคีโตสและแอลโดส จะรวมตัวกับหมู่อะมิโนได้เป็นกลัยโคซิลเอมีน
2. เกิดปฏิกิริยาคีไฮเดรชันได้เป็นอิมีน (imines หรือ schiff base) และมีการเรียงตัวใหม่ซึ่งเรียกว่า amadori rearrangement ได้เป็นแอลโดสเอมีน (aldoseamine) หรือคีโตสเอมีน (ketoseamine) เรียกว่า amadori product ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องได้ เมื่อมี pH 5 หรือต่ำกว่า
3. เกิดปฏิกิริยา enolization ของ amadori products ได้เป็นไดคีโตสเอมีนหรือไดอะมิโนซูการ์
4. เกิดปฏิกิริยาคีไฮเดรชันต่อไดอะมิโนของฟูแรน (furan) ถ้าเป็นน้ำตาลเฮกโซส ไดอะมิโนฟูแรน คือ 5-ไฮดรอกซีเมทิล-2-เฟอรัลดีไฮด์ หรือ HMF
5. ไดอะมิโนฟูแรนวงแหวน เช่น HMF จะเกิดโพลีเมอร์ไรซ์อย่างรวดเร็วได้เป็นสารสีน้ำตาลที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยและไม่ละลายน้ำ ซึ่งต่างจากการเกิดคาราเมลไลเซชันซึ่งมีน้ำตาลเพียงอย่างเดียว สารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเรียกว่าเมลานอยดิน (melanoidins) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาโมลต่อ โมล (mole per mole reaction)

ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด จึงมีทั้งโพลีเมอร์ที่ละลายและไม่ละลายน้ำ และพบได้ในอาหารที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ กรดอะมิโน โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ อยู่รวมกัน และได้รับความร้อน ข้อเสียของปฏิกิริยาเมลลาร์ดคือทำให้กรดอะมิโนไลซีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนจำเป็นทั้งที่อยู่ในรูปอิสระและที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของโปรตีนลดน้อยลง ซึ่งทำให้คุณค่าทางโภชนาการของอาหารลดลงด้วย (นิธิยา, 2543) ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (รูป 2.6)

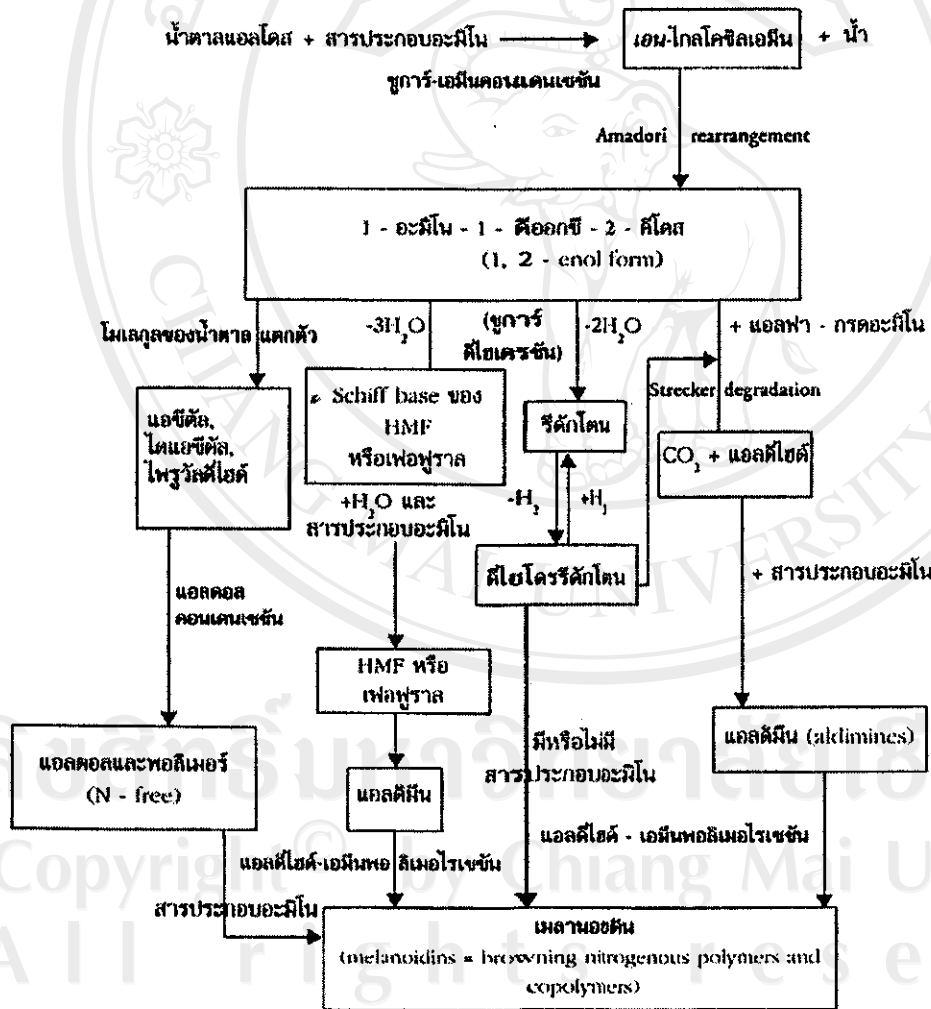
2.5.2 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด

1. ชนิดของสารประกอบคาร์บอนิล สารประกอบคาร์บอนิลที่มีความคงตัวต่ำและสลายตัวได้ง่าย จะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้ที่อุณหภูมิห้องเช่น ระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร อาหารที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้อย่างรวดเร็ว น้ำตาลเพนโตสจะเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าน้ำตาลเฮกโซสและน้ำตาลเฮกโซสเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นไดแซคคาไรด์

สำหรับน้ำตาลอนรีดิวิซ์ เช่น น้ำตาลซูโครสจะเกิดปฏิกิริยาได้ภายหลังถูกไฮโดรไลซ์เป็นน้ำตาลรีดิวิซ์แล้ว สำหรับน้ำตาลรีดิวิซ์แต่ละชนิด น้ำตาลฟรุคโตสเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุด ส่วนน้ำตาลแอลโดเฮกโซสการเกิดปฏิกิริยามอลลาร์ด น้ำตาลแมนโนส > กาแลคโตส > กลูโคส

น้ำตาลทรายหรือน้ำตาลซูโครสนิยมใช้ในการเตรียมน้ำเชื่อมบรรจุผลไม้กระป๋อง เนื่องจากหาได้ง่ายมีราคาก่อนข้างต่ำกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ แม้น้ำตาลทรายจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ซึ่งมีประสิทธิภาพของการแทรกผ่านเนื้อเยื่อผลไม้ต่ำกว่ากลูโคสหรือฟรุคโตส แต่เมื่อผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนและประกอบกับกรดที่มีในผลไม้ จะทำให้เกิดการสลายตัวของน้ำตาลทราย (acid hydrolysis) บางส่วนไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุคโตส (สินธนา, 2542)

แผนภูมิแสดงขั้นตอนของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Maillard reaction)



รูป 2.6 ขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์
ที่มา : นิธิยา (2543)

2. ชนิดของกรดอะมิโนก็มีผลต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาเมลลาร์ด กรดอะมิโนชนิดแอลฟา (α -amino acid) กลัยซีนจะเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดได้เร็วที่สุด เมื่อกรดอะมิโนมีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น จะเกิดปฏิกิริยาช้าลง สำหรับกรดอะมิโนชนิดโอเมกา (ω -amino acid) จะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วขึ้น เมื่อความยาวของสายในโมเลกุลเพิ่มขึ้น สำหรับกรดอะมิโนที่อยู่ในโมเลกุลของโปรตีนหมู่อะมิโนในโมเลกุลของไลซีนจะเกิดปฏิกิริยาได้เร็วที่สุด กรดอะมิโนที่มีสมบัติเป็นด่าง เช่น ไลซีน และกรดอะมิโนที่เป็นอนุพันธ์เอไมด์ เช่น แอสปาราจีนและกลูตามีน จะเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่ากรดอะมิโนที่มีสมบัติเป็นกรดและเป็นกลาง

3. pH ปฏิกิริยาระหว่างคาร์บอนิลกับเอมีนสามารถยับยั้งได้เมื่อลดค่า pH ให้ต่ำลง เช่น ที่ pH เท่ากับ 3 น้ำตาลจะมีความคงตัวมากที่สุด เมื่อ pH ลดลงจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาช้าลง ดังนั้นการสูญเสียกรดอะมิโนซึ่งมีสมบัติเป็นด่างในปฏิกิริยาเมลลาร์ด จะเป็นการยับยั้งปฏิกิริยาด้วยตัวเองได้ (self inhibition)

4. อุณหภูมิ อัตราเร็วของปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ดังนั้นภาวะที่สารมีความเข้มข้นสูงและอุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาเร็วที่สุด เนื่องจากเกิด autocatalytic อัตราเร็วของปฏิกิริยานี้จะเพิ่มขึ้นเป็น 2-3 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุกๆ 10°C ถ้าในอาหารมีน้ำตาลฟรุกโตสจะ ทำให้อัตราเร็วเพิ่มขึ้นเป็น 5-10 เท่า เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุกๆ 10°C และเพิ่มเร็วขึ้นเมื่อมีปริมาณน้ำตาลมากขึ้น ความเข้มข้นของสีน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นการเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิต่ำจะชะลอปฏิกิริยาเมลลาร์ดให้ช้าลงได้

5. น้ำหรือ a_w ก็มีผลต่อปฏิกิริยาเมลลาร์ด เช่น ในภาวะแห้งน้ำตาลกลูโคสกับกรดอะมิโน กลัยซีนจะคงตัวและไม่เกิดปฏิกิริยาถึงแม้จะมีอุณหภูมิสูงถึง 50°C แต่เมื่อมีน้ำเพียงเล็กน้อยปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะเกิดขึ้นทันที แต่ที่อุณหภูมิสูงการสูญเสียน้ำออกจากโมเลกุลของน้ำตาลจะเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดเพราะทำให้มีน้ำเกิดขึ้น อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะช้าลงเมื่อมีน้ำมากจนทำให้ สัมประสิทธิ์เจือจาง ซึ่งปริมาณน้ำสูงสุดสำหรับปฏิกิริยา คือ ประมาณ 30%

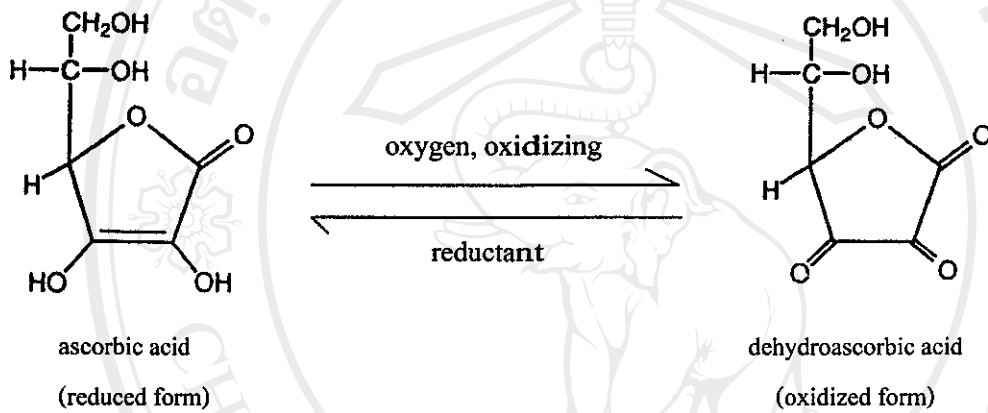
6. อื่นๆ เช่น ออกซิเจนไม่มีผลต่อปฏิกิริยาเมลลาร์ดนอกจากออกซิเจนจะช่วยออกซิไดส์ สารอื่นให้อยู่ในรูปที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ส่วนแร่ธาตุที่มีผลต่อปฏิกิริยาเมลลาร์ด ได้แก่ อีออน ทองแดง เหล็กและสังกะสี

2.5.3 การสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid degradation)

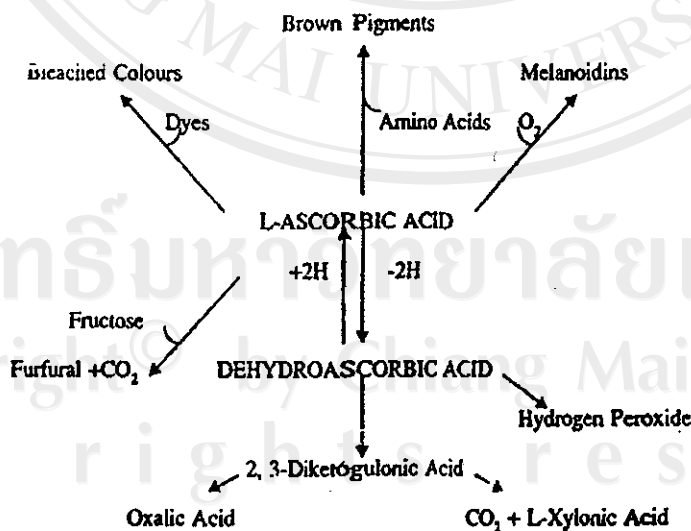
ธรรมชาติของกรดแอสคอร์บิกอยู่ในรูป L-ascorbic acid และ กรดแอสคอร์บิกมีเสถียรภาพ (stables) เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นของแข็ง แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นสารละลายจะถูกออกซิไดส์ได้ง่าย กลายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) และเมื่ออยู่ในรูปกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก

สามารถถูกออกซิไดส์ได้ง่ายและจะเปลี่ยนเป็นกรดไดคีโตกลอนิก (diketogulonic acid) ความไม่เสถียรภาพในการละลายน้ำนี้ เริ่มตั้งแต่ค่า pH เท่ากับ 4 และจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น การที่กรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดส์ได้ง่าย จึงเชื่อว่ากรดแอสคอร์บิกจัดเป็นกรดแอสคอร์บิกที่ไม่เสถียร และบ่อยครั้งที่เรียกกรดแอสคอร์บิกว่า Unstable Vitamin

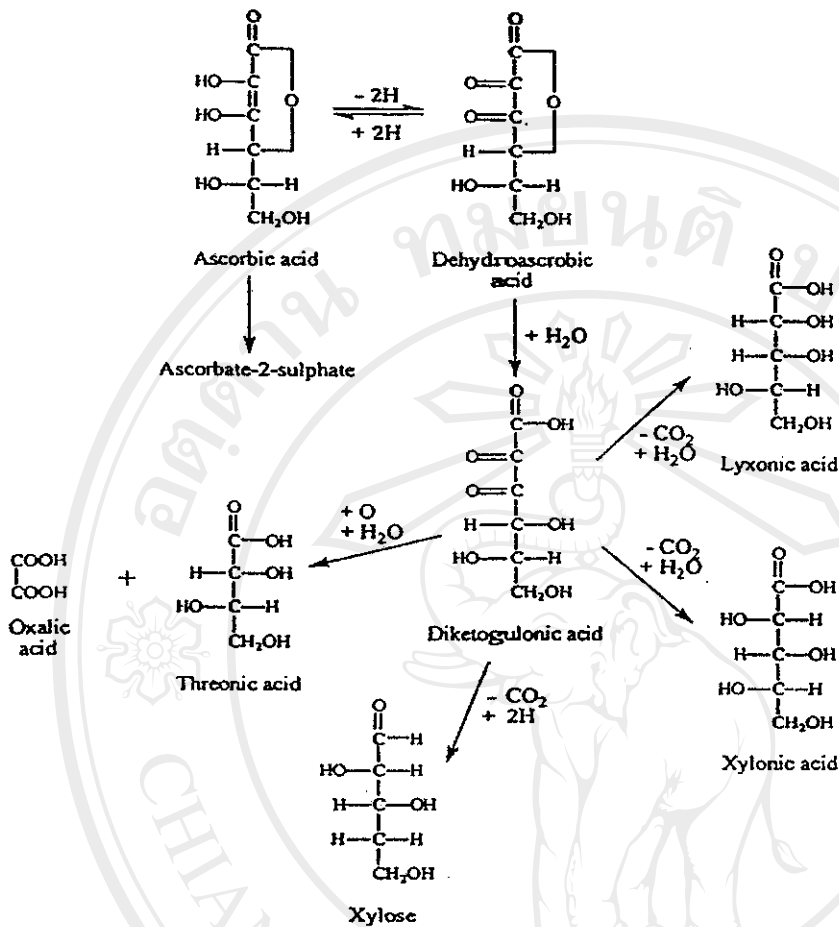
กรดแอสคอร์บิกอยู่ในสภาพของสารที่มีประสิทธิภาพ 2 สาร คือ L-ascorbic acid และกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) ถ้าอยู่ในรูปของ L-ascorbic acid เป็น reduced form ส่วนกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกเป็น oxidized form ทั้ง 2 สภาพนี้สามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาซึ่งกันและกันได้ (รูป 2.7)



รูป 2.7 การผันกลับในปฏิกิริยารีดอกซ์ของกรดแอสคอร์บิกและกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก
ที่มา : Ronald and Landen (1999)



รูป 2.8 การสลายของกรดแอสคอร์บิก
ที่มา : Consell and Hom (1982)



รูป 2.9 โครงสร้างทางเคมีของการสลายกรดแอสคอร์บิก

ที่มา : Basu และ Schorah (1982)

การเปลี่ยนจาก L-ascorbic acid ไปเป็นกรดคีโตนไฮโดรแอสคอร์บิกอาศัยสารเร่งต่างๆ เช่น ทองแดง เหล็ก เหล็ก คิวโนน (quinone) แอสคอร์บิกออกซิเดส (ascorbic oxidase) โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) และในการเปลี่ยนจากกรดคีโตนไฮโดรแอสคอร์บิกไปเป็น L-ascorbic acid อาศัย DPN TPN กลูตาไธโอน (glutathione) และสารที่มี sulhydryl group อยู่ในโมเลกุล เมื่อกรดแอสคอร์บิกเปลี่ยนเข้าระยะเป็น 2,3 diketogulonic acid แล้วจะหมด ประสิทธิภาพของการเป็นกรดแอสคอร์บิก จากกรดนี้จะเปลี่ยนต่อไปเป็นกรดออกซาลิก และ L-xylonic acid

2.5.4 ปฏิกิริยาการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก (Reaction of ascorbic acid degradation)

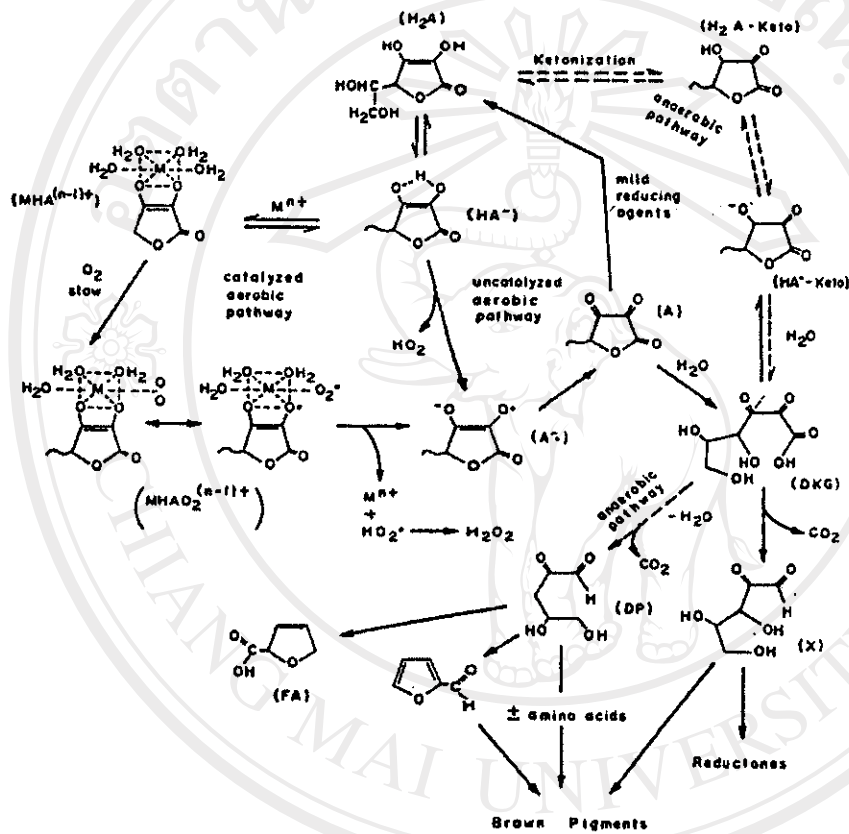
ในกระบวนการผลิตอาหารและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ มีผลต่อปริมาณของกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกเป็นสารรีดิวซ์อย่างแรง (strong reducing) มีความคงตัวน้อยที่สุด ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายด้วยออกซิเจนในอากาศ เป็นผลให้เกิดการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกมาก การสูญเสียกรดแอสคอร์บิกจากการทำลายของเอนไซม์ในกระบวนการผลิตอาหารเป็นไปได้น้อยที่สุด ส่วนใหญ่ การสูญเสียกรดแอสคอร์บิกเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Dominic, 1989; Richardson and Finley, 1997) โดยปฏิกิริยาการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกมีดังนี้

1. การสลายตัวในสภาพที่มีออกซิเจน (oxidative degradation) ในกระบวนการผลิตอาหารมีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกได้ง่าย โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันมีออกซิเจนเป็นตัวออกซิไดส์ เมื่อกรดแอสคอร์บิกถูกออกซิไดส์โดยออกซิเจนจะเปลี่ยนเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) และถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็น 2,3 diketogulonic acid จะทำให้เกิดการสูญเสียกรดแอสคอร์บิก เนื่องจาก 2,3 diketogulonic acid ไม่มีคุณสมบัติเป็นกรดแอสคอร์บิก ส่วนมากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกมักเกิดภายใต้สภาวะที่มีตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst) ได้แก่ เอนไซม์ และโมเลกุลของโลหะหนักบางชนิด เอนไซม์ที่พบในผักและผลไม้ซึ่งสามารถออกซิไดส์กรดแอสคอร์บิก ได้แก่ ascorbic acid oxidase ไซโตโครมออกซิเดส (cytochrome oxidase) และเปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นต้น อย่างไรก็ตามในกรณีที่กรดแอสคอร์บิกละลายอยู่ในน้ำปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกสามารถเกิดได้แม้ไม่มีตัวเร่งปฏิกิริยา ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเรียกว่า auto-oxidation โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลายที่กรดแอสคอร์บิกละลายอยู่ อัตราการเกิดปฏิกิริยาดำเมื่อสารละลายเป็นกรด และเพิ่มขึ้นเมื่อสารละลายมีความเป็นด่าง

2. การสลายตัวในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (nonoxidative degradation) ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นช้า และสามารถเร่งให้เกิดเร็วขึ้น เมื่ออยู่ใน pH ต่ำ โดยเกิดปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (dehydration) และไฮโดรไลซิส (hydrolysis) ต่อไปจนได้สารเฟอเฟอราล (furfural) และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารเฟอเฟอราลจะเกิดการ polymerize จนได้สารสีเหลืองขึ้นมา การสูญเสียโดยกลไกที่ไม่ใช้ออกซิเจนพบในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงและมีสารอื่นๆ อยู่ด้วย เช่น น้ำตาลฟรุกโตสและอนุพันธ์ของกรดอะมิโน โดยกลไกนี้ก่อให้เกิดสารสีน้ำตาล (brown pigment) และเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ของอนุพันธ์ของสารพวกคาร์บอนิล (รูป 2.10)

3. Strecker degradation เป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของอาหารระหว่างกรดดีไฮโดร-แอสคอร์บิกและกรดอะมิโน ที่เข้าไปในกระบวนการเริ่มต้นของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล แต่การเกิดสีน้ำตาลในอาหารอาจเกิดจากกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิกเพียงอย่างเดียว โดยไม่มีสารประกอบของอะมิโนก็ได้ ปฏิกิริยาเริ่มต้นของ Strecker degradation เกิดจากผลิตภัณฑ์เริ่มต้น 2 ลักษณะ คือ

เกิดจาก α -amino acid และ dehydro-L-ascorbamic acid ให้ผลิตภัณฑ์ขั้นต้นเป็น intermediate compound เพื่อเปลี่ยนเป็น polymerization ต่อไป และอีกลักษณะหนึ่งของปฏิกิริยาเริ่มต้นของ Strecker degradation เกิดจาก schiff base ของ HMF หรือเฟอราลาถูกไฮโดรไลสได้อัลดีไฮด์และกรดแอสคอร์บามิก (ascorbamic acid) ซึ่งจะเกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่ต้องการ (off-flavour) อาหารที่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะเช่นนี้ ได้แก่ น้ำส้ม น้ำมะนาว และอาหารอบแห้ง เช่น ขนมะปราง เป็นต้น (Ming and Paul, 1978; Dominic, 1989)



รูป 2.10 Major reaction of ascorbic acid degradation

[ascorbic acid, H_2A ; ascorbic acid monoanion, HA^- ; keto tautomers, H_2A -keto and HA^- -keto; dehydroascorbic acid, A; dehydroascorbate anion radical, A^- ; metal ion catalyst, M^{n+} ; 2,3-diketo-gulonic acid, DKG; 3-deoxypentose, DP; xylosone, X; 3,4-dihydro-2-furancarboxylic acid, FA]

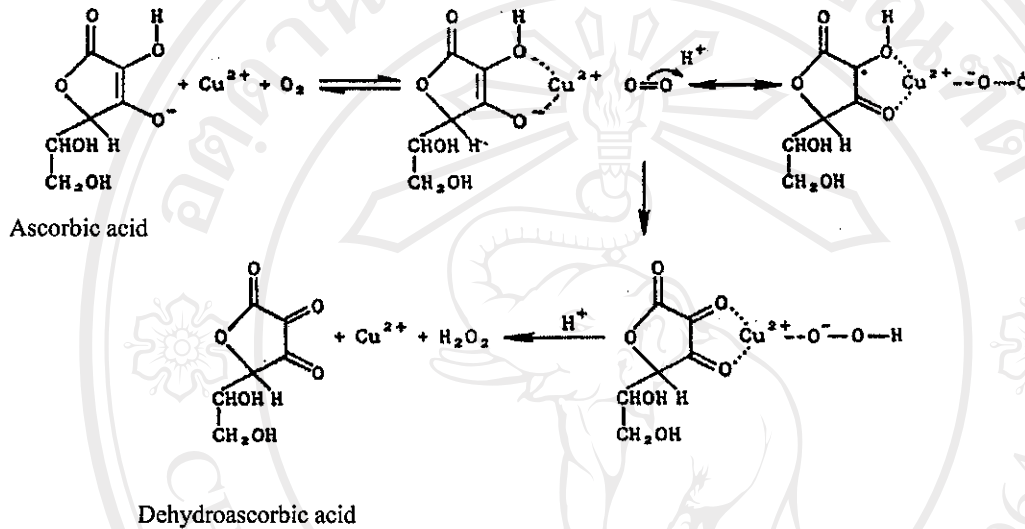
ที่มา : Richardson and Finley (1997)

4. Reaction with metal ions การสลายตัวที่เกิดจากการเร่งปฏิกิริยาของโลหะหนักบาง

ชนิด กรดแอสคอร์บิกสามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยมีโมเลกุลของโลหะหนัก ได้แก่ Cu^{2+} เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (รูป 2.11) โดย Cu^{2+} จะเป็นตัวกลางในการเชื่อมโมเลกุลของกรดแอสคอร์บิกเข้ากับ

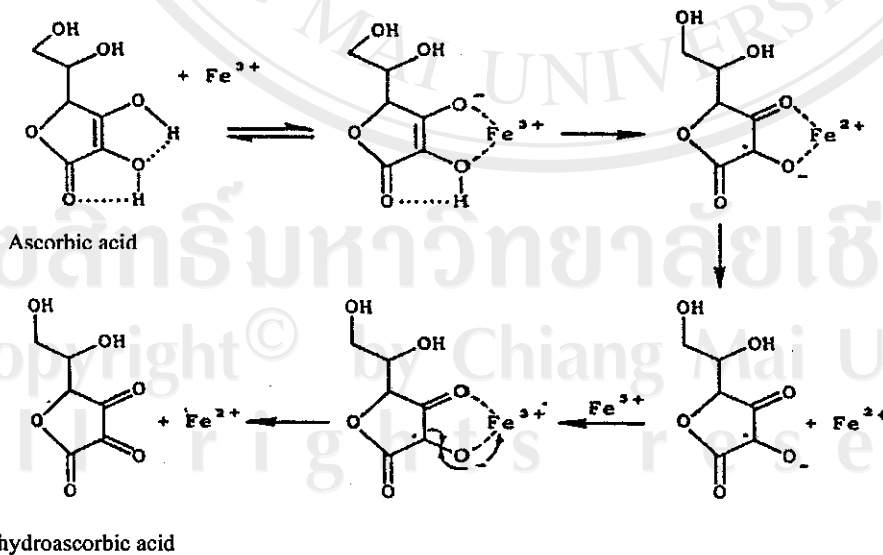
โมเลกุลของออกซิเจน จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอะตอมของไฮโดรเจนบริเวณที่จับกับ Cu^{2+} จะหลุดออกมาได้กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) Cu^{2+} และ H_2O_2

นอกจาก Cu^{2+} แล้วยังมีโมเลกุลของโลหะหนักอื่นๆ ได้แก่ Fe^{3+} และ Ag^+ ที่มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกได้เช่นกัน (รูป 2.12) เป็นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกโดย Fe^{3+} จะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนกรดแอสคอร์บิกเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก



รูป 2.11 การเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกโดย Cu^{2+}

ที่มา : Richardson and Finley (1997)



รูป 2.12 การเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกโดย Fe^{3+}

ที่มา : Richardson and Finley (1997)

2.5.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก

1. อุณหภูมิเก็บรักษา มีผลโดยตรงต่ออัตราการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกในผักและผลไม้ การเพิ่มอุณหภูมิเก็บรักษาจะทำให้กรดแอสคอร์บิกสลายตัวมากขึ้น
2. ระยะเวลาการเก็บรักษา การเก็บรักษาเป็นเวลานานจะทำให้เกิดการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้น
3. การหั่นและการตัดแต่งผักและผลไม้ ทำให้เกิดการสูญเสียกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกในเซลล์พืชมีโอกาสสัมผัสกับออกซิเจนซึ่งเป็นตัวออกซิไดส์ได้มากกว่า
4. บรรยากาศที่เก็บรักษา โดยการลดปริมาณออกซิเจนในบรรยากาศที่ใช้เก็บรักษาผักผลไม้สดและน้ำคั้น สามารถชะลอการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกได้ เนื่องจากออกซิเจนทำหน้าที่เป็นตัวออกซิไดส์กรดแอสคอร์บิกเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก (dehydroascorbic acid) และ 2,3-diketogulonic acid เมื่อมีออกซิเจนน้อยลงจึงทำปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดได้น้อยลง
5. ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) กรดแอสคอร์บิกอยู่ในสารละลายที่เป็นกรดจะมีอัตราการสลายตัวต่ำกว่ากรดแอสคอร์บิกที่อยู่ในสารละลายที่มีสถานะเป็นด่างหรือเป็นกลาง มีผลต่อความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Cu^{2+} โดยส่วนมากพบว่าอัตราการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกในผลไม้สดและน้ำคั้นจะช้ากว่าในผัก อาจเนื่องจากผลไม้และน้ำคั้นมีความเป็นกรดสูงกว่าในผัก
6. การเติมสารเคมี ในกลุ่มฮาโลเจน เช่น คลอไรด์หรือโบรไมด์มีผลชะลอการลดลงของกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากสารในกลุ่มฮาโลเจนไปลดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยยับยั้งการจับกันระหว่าง Cu^{2+} กับ กรดแอสคอร์บิก
7. การแปรรูปผักผลไม้ โดยการแช่แข็งสามารถชะลอการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกได้ สำหรับการลวกน้ำร้อนและการพาสเจอร์ไรส์นั้น สามารถชะลอการลดลงของกรดแอสคอร์บิก ระหว่างการเก็บรักษาได้ เนื่องจากการลวกน้ำร้อนและการพาสเจอร์ไรส์มีผลทำลายเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิก

2.6 งานวิจัยการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) ในน้ำผลไม้

Gestur *et al.* (1969) ได้ศึกษาความคงตัวของโปรแอนโทไซยานิดิน (proanthocyanidin) ในน้ำแอปเปิล ในระหว่างเก็บรักษาโดยเติมกรดแอสคอร์บิก โดยโปรแอนโทไซยานิดินเป็นสารที่ไวต่อการเกิดการเปลี่ยนแปลงได้ง่ายจากปฏิกิริยา enzymatic nonenzymatic oxidative และ polymerization ซึ่งการเกิด enzymatic oxidation ระหว่างขั้นตอนการบดโม้และคั้นน้ำทำให้โปรแอนโทไซยานิดินลดลง ได้มีการทดลองเติมกรดแอสคอร์บิกในน้ำแอปเปิลเพื่อป้องกันการเกิด oxidative ระหว่างการ

บดไม่ ทำให้สีของน้ำแอปเปิลดีขึ้น และมีกลิ่นดีกว่ากระบวนการผลิตที่ไม่ได้เติมกรดแอสคอร์บิก แต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบการเปลี่ยนแปลงของน้ำแอปเปิลโดยโปรแอนโทไซยานิน (proanthocyanin) และค่าความขุ่นตะกอนลดลง แต่สีของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นและยังเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 37°C ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของสีเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) ของกรดแอสคอร์บิกที่ถูกออกซิไดส์เป็นกรดไฮโดรแอสคอร์บิก

Babsky *et al.* (1986) ได้ศึกษาการเก็บรักษาของน้ำแอปเปิลเข้มข้น พบว่าน้ำแอปเปิลเข้มข้นเก็บที่อุณหภูมิ 37°C ระยะเวลา 111 วัน ทำให้สูญเสียกรดอะมิโน 87% ซึ่งได้แก่กรดกลูตามิก แอสพาราจีน และกรดแอสพาทิก ในกระบวนการเมลลาร์ด ยังพบว่าซูโครสถูกไฮโดรไลสไปเป็นน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้น นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เพิ่มขึ้นจาก 0.149 เป็น 0.215 กรัม/ 100 กรัม ปริมาณของ Hydroxymethylfurfural (HMF) เพิ่มขึ้นสูงสุดเป็นเมื่อเก็บรักษาไว้ 100 วัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาลชัดเจน

Burdurlu and Karadeniz (2002) รายงานว่าน้ำแอปเปิลเข้มข้นมีคุณภาพลดลง เกิดจากสาเหตุที่สำคัญคือ ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) ส่วนสาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ (enzymatic browning) จะถูกกำจัดออกไปโดยการให้ความร้อนในระหว่างการผลิต ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) จะรวมถึงการเมไลเซชัน (caramelization) การสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid degradation) และปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ซึ่ง คาราเมลเซชันเกิดขึ้นเมื่อน้ำตาลได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูง ส่วนการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกเกิดขึ้นโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน สำหรับปฏิกิริยาเมลลาร์ด เกิดขึ้นระหว่าง α -amino group และน้ำตาลรีดิวซ์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดสีน้ำตาลในน้ำแอปเปิลเข้มข้น ปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นสาเหตุของการเกิด 5-HMF และ 5-HMF ซึ่งเป็นดัชนีบ่งชี้การให้ความร้อนอย่างรุนแรงในระหว่างการผลิตน้ำผลไม้ HMF จะก่อรูปขึ้นโดย enolization ของน้ำตาลรีดิวซ์และกรดอะมิโน หลังการเกิด amadori rearrangement จากนั้นจะ condense ด้วย nitrogenous compound และ polymerize ให้สารสีน้ำตาล (brown pigment) นอกจากนี้ HMF ยังเกิดจากการสลายตัวของกลูโคสและฟรุคโตสในสภาพที่เป็นกรด

Lee and Nagy (1988) ศึกษาผลของอุณหภูมิ (10 20 30 40 และ 50°C) เก็บรักษาต่อคุณภาพของน้ำเกรฟฟรุต (grapefruit juice) บรรจุกระป๋อง เป็นเวลา 15 สัปดาห์ พบว่าปริมาณ 5-hydroxymethyl furfural (HMF) และเฟอเฟอราล (furfural) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออุณหภูมิในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 10°C ปริมาณ HMF ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 50°C ปริมาณของ HMF จะเพิ่มขึ้น การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 30°C เวลา 6 สัปดาห์ พบว่าน้ำตาลซูโครสถูกไฮโดรไลส 50% ที่อุณหภูมิ 50°C มีการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกมากกว่า

98% สูญเสีย น้ำตาลทั้งหมด (total sugar) 9% และค่าสี L (lightness) ของน้ำเกรฟฟรุตลดลงอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเก็บรักษา

Roig *et al.* (1999) ศึกษาคุณภาพของน้ำส้มและน้ำเกรฟฟรุตที่บรรจุกล่อง TetraBrik จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 5°C และอุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 12 เดือน พบว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 5°C มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) ช้ากว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง สำหรับการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) เนื่องจาก carbonyl compounds จากการสลายตัวของ L-ascorbic acid ส่วนปฏิกิริยาของ sugar-amino มีผลเพียงเล็กน้อย พบว่าปริมาณของน้ำตาลทั้งหมดมีค่าคงที่ ยังพบการสลายตัวของ L-ascorbic acid ไปเป็น furaldehyde และ 5-hydroxymethyl-furaldehyde (HMF)

Robertson and Samaniego (1986) ศึกษาการเก็บน้ำมะนาว (lemon juice) ที่อุณหภูมิ 36°C ระยะเวลา 42 วัน พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และระดับของ dissolve oxygen มีผลทำให้ปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลง ค่า browning index hydroxymethylfurfural (HMF) และเฟอเฟอร์าลเพิ่มขึ้น โดยมีปริมาณเริ่มต้นของ dissolve oxygen ที่ระดับความแตกต่างกันคือ 0.41 1.44 และ 3.74 มิลลิกรัม/ลิตร กรดแอสคอร์บิกที่เหลือในปริมาณ 50.5 50.3 และ 47.1% การเกิดสีน้ำตาลเท่ากับ 0.189 0.196 และ 0.200 abs. ปริมาณ HMF เท่ากับ 4.51 4.64 และ 5.09 มิลลิกรัม/ลิตร และเฟอเฟอร์าลเท่ากับ 5.31 5.47 และ 5.77 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ การสลายตัวของกรดแอสคอร์บิก การเกิด HMF และเฟอเฟอร์าลเป็นผลมาจากระดับของออกซิเจนที่แตกต่างกัน ความสัมพันธ์ของกรดแอสคอร์บิก การเกิดสีน้ำตาล HMF และเฟอเฟอร์าลมีผลมากต่ออัตราของปฏิกิริยาเคมีของน้ำมะนาว แสดงใน zero first and second order kinetic model ยังพบว่าการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกและการเกิดสารสีน้ำตาลในน้ำมะนาวเป็นผลให้กลิ่นและรสของน้ำมะนาวเปลี่ยนไป

Kaanane *et al.* (1988) ศึกษาการสูญเสียคุณภาพของน้ำส้ม (orange juice) พาสเจอร์ไรส์ บรรจุขวด และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 22.5 35 และ 45°C เป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่าค่า pH ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) ปริมาณกรดและปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ไม่มี ความแตกต่างกัน ในระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาณของกรดแอสคอร์บิก น้ำตาลรีดิคซ์ และเฟอเฟอร์าลมีการเปลี่ยนแปลงอย่างเห็นได้ชัด โดยปริมาณของเฟอเฟอร์าลเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลง โดยปริมาณกรดแอสคอร์บิกเหลืออยู่ 97% ที่อุณหภูมิ 4°C และน้อยกว่า 50% ที่อุณหภูมิ 45°C หลังจากเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ 96 วัน ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิคซ์เพิ่มขึ้นหลังจากเก็บไว้ที่ 14 สัปดาห์ มีน้ำตาลรีดิคซ์เพิ่มขึ้น 8±5 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 4°C และเพิ่มขึ้น 50±5 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิ 45°C ซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นเป็นส่วนที่สำคัญของการเกิด ปฏิกิริยา

การเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (nonenzymatic browning) ตาม pseudo-zero order reaction kinetics

ลัดดา (2539) อ้างรายงานผลของ Camara *et al.* (1994) ว่าสภาวะการเก็บรักษามีผลต่อคุณสมบัติของน้ำสับประคด น้ำสับประคดบรรจุขวดซึ่งประกอบด้วยกรด ซึ่งมีกรดแอสคอร์บิก (ปริมาณต่ำสุด 400 มิลลิกรัม/ลิตร) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (20-25°C) ในที่มีแสงและไม่มีแสงเป็นเวลา 6 เดือน วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมี เดือนละครั้ง พบว่าน้ำหนัก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ความเป็นกรดต่ำ สารประกอบเพคติน โปแตสเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส และน้ำตาลทั้งหมด เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนปริมาณสารแขวนลอย สังกะสี กรดแอสคอร์บิก และซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดแอสคอร์บิกลดลงอย่างมาก (จาก 61.02 เป็น 22.39 กรัม / 100 มิลลิลิตร) และค่าของสีลดลงอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน

2.7 การใช้แอนติออกซิแดนซ์ (antioxidant) ป้องกันการเปลี่ยนสีของผลิตภัณฑ์

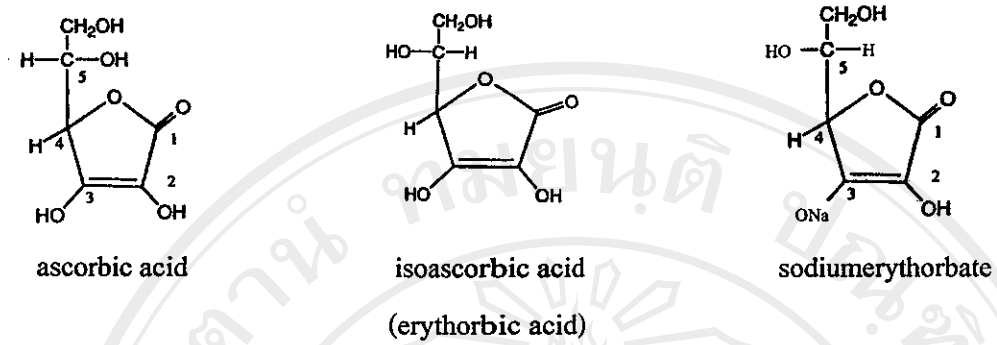
แอนติออกซิแดนซ์ที่นิยมใช้ในการป้องกันการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์มี 3 ชนิด ดังนี้

1. กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) หรือวิตามินซี
2. โซเดียมเอริทอร์เบท (sodium erythorbate)
3. โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (sodium hexametaphosphate)

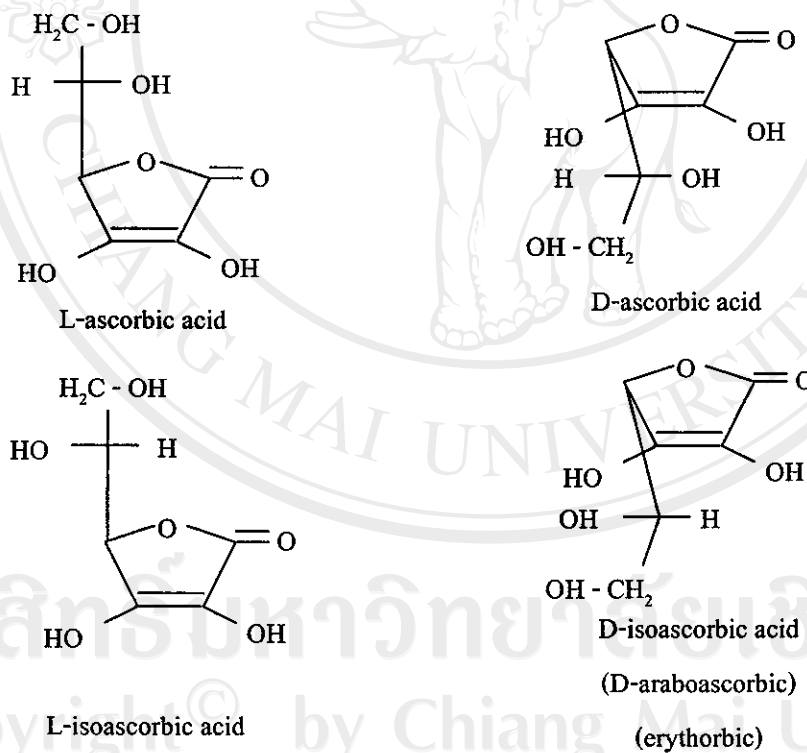
2.7.1 กรดแอสคอร์บิกและโซเดียมเอริทอร์เบท

กรดแอสคอร์บิกเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลเฮกโซส ลักษณะของกรดแอสคอร์บิกเป็นผลึก รูปเข็ม สีเหลืองอ่อนหรือสีขาว มีรสเปรี้ยว ละลายได้ดีในน้ำ สูตรโมเลกุลของกรดแอสคอร์บิกและกรดเอริทอร์บิกเหมือนกันคือ $C_6H_8O_6$ ส่วนโซเดียมเอริทอร์เบทมีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_7O_6Na \cdot H_2O$ (รูป 2.13)

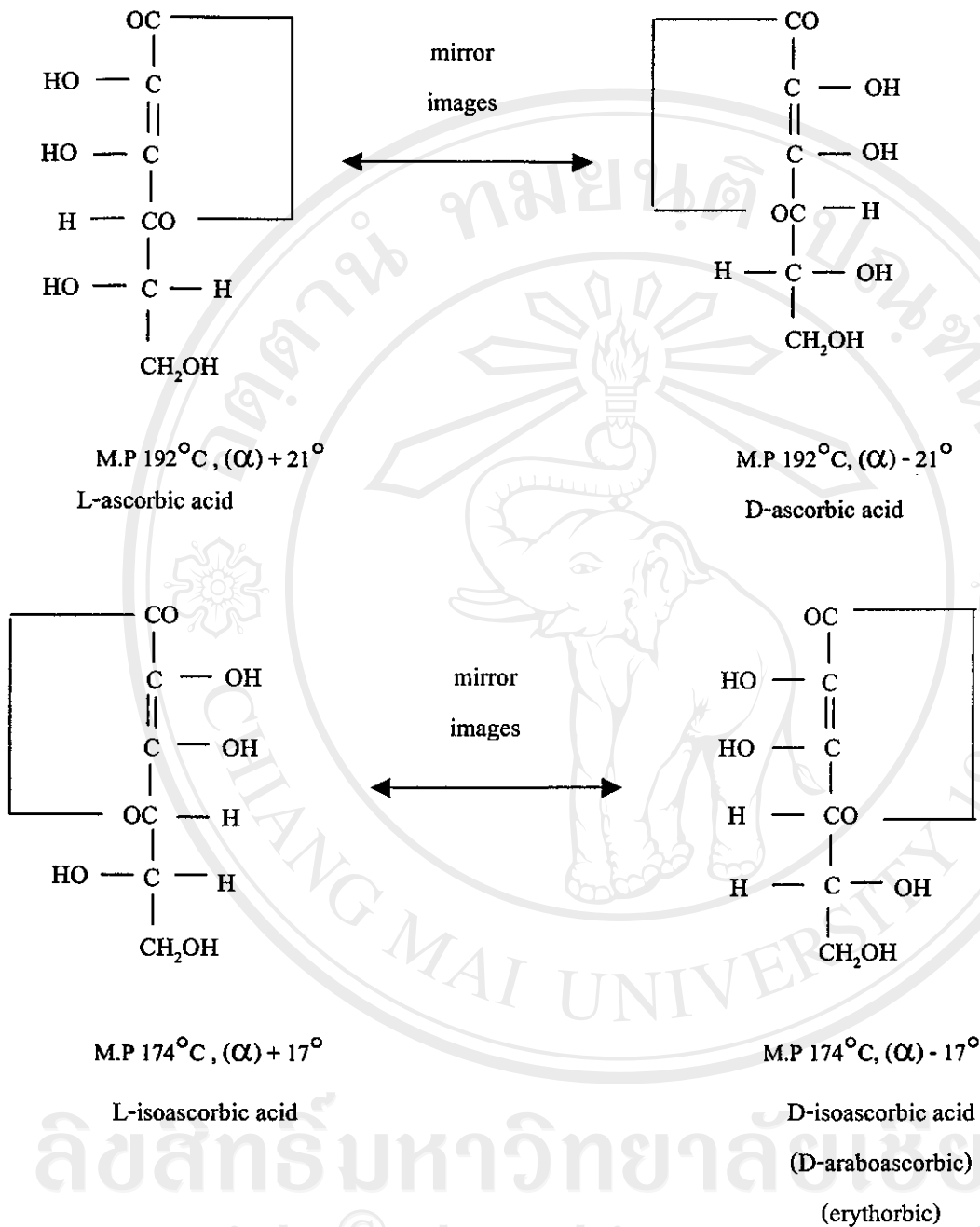
กรดแอสคอร์บิกสามารถพบได้ในธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ โดยกรดแอสคอร์บิกมี chiral center ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 และ 5 จึงมีรูปโครงสร้างทั้งหมด 4 stereoisomer ได้แก่ L-ascorbic acid D-ascorbic acid L-isoascorbic acid (L-Erythorbic acid) และ D-isoascorbic acid (D-Erythorbic acid) (รูป 2.14 และ รูป 2.15) แสดงโครงสร้างทางเคมีของกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ สำหรับรูปโครงสร้างตามธรรมชาติของกรดแอสคอร์บิกส่วนใหญ่อยู่ในรูป L-ascorbic acid และไอโซเมอร์ที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมคือ D-isoascorbic acid เพื่อป้องกันการสับสนของชื่อจึงเรียกว่า D-araboascorbic acid หรือ erythorbic acid ส่วน sodium isoascorbic acid เรียกว่า sodium erythorbate (มณฑาทิพย์, 2539 ; Ronald and Landen, 1999)



รูป 2.13 โครงสร้างทางเคมีของกรดแอสคอร์บิก กรดอีริทอร์บิก และ โซเดียมอีริทอร์เบท
ที่มา : Ronald and Landen (1999)



รูป 2.14 โครงสร้างทางเคมีแบบวงแหวนของกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์
ที่มา : Dennis (1998)



รูป 2.15 โครงสร้างทางเคมีแบบเส้นตรงของกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์

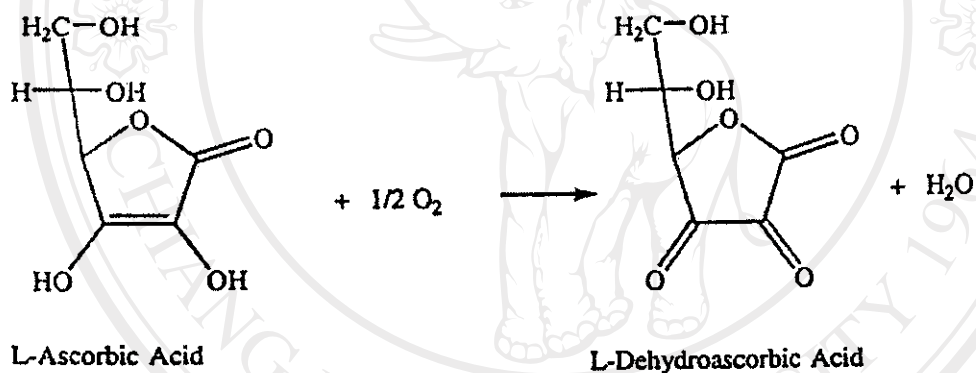
ที่มา : Borenstein (1965)

2.7.2 หน้าที่ของกรดแอสคอร์บิกและอิริทอร์บิก

หน้าที่ของกรดแอสคอร์บิกและอิริทอร์เบทในการเป็นแอนติออกซิแดนท์ในอาหาร คือ

(Borenstein, 1965; Dennis, 1998; นิธิยา, 2543)

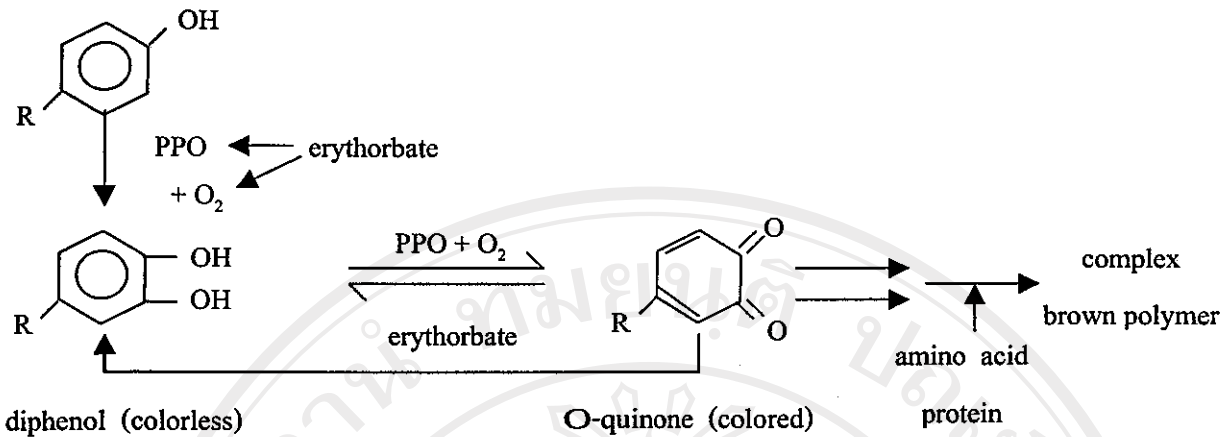
1. เป็นสารที่สามารถจับออกซิเจนได้ดี กรดแอสคอร์บิกทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์ (reducing agent) โดยกรดแอสคอร์บิกจะถ่ายเวไฮโดรเจนอะตอม ดังนั้นกรดแอสคอร์บิกจึงถูกออกซิไดส์ได้ง่ายเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก ซึ่งสามารถทำหน้าที่เป็นสารออกซิไดซ์ได้ โดยรับไฮโดรเจนอะตอมจากสารรีดิวซ์อื่นๆ เช่น จากสารที่มีหมู่ซัลไฟไฮดริล (sulfhydryl ; -SH) ดังนั้นกรดแอสคอร์บิกและกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิก จึงสามารถเปลี่ยนกลับไปมาได้ ในผลิตภัณฑ์อาหารบรรจุกระป๋องหรือขวดมักจะมีโมเลกุลของออกซิเจนหลงเหลืออยู่ ซึ่งออกซิเจนสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ของอาหารทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีอาหาร จึงมีการเติมกรดแอสคอร์บิกเพื่อช่วยกำจัดออกซิเจน (รูป 2.16)



รูป 2.16 ปฏิกิริยาของกรดแอสคอร์บิกกับโมเลกุลของออกซิเจน

ที่มา : Dennis (1998)

2. เป็นสารควบคุมการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ (enzymatic browning) ของผักและผลไม้ในกระบวนการแปรรูปได้ ผลไม้ที่มีสารพวกโพลีฟีนอล เช่น กรดคลอโรเจนิก ลิวโคแอนโทไซยานิน โพลีฟีนอลออกซิเดส ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีน้ำตาลในส่วนของเนื้อผลไม้ที่เกิดจากรอยถลอก รอยตัด ปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีเป็นผลเนื่องจากเอนไซม์กับออกซิเจนในบรรยากาศเกิดการโพลีเมอไรซ์ของสารโพลีฟีนอล ทำให้เกิดสารควิโนนซึ่งมีสีน้ำตาล กรดแอสคอร์บิก จะทำหน้าที่ป้องกันการเปลี่ยนสีน้ำตาลโดยการรีดิวซ์สารประกอบควิโนนทำให้เป็นสารไม่มีสี (มณฑาทิพย์, 2539) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เช่นเดียวกับกรดอิริทอร์บิก (รูป 2.17)



รูป 2.17 ปฏิกริยาการเปลี่ยนสี (color formation)

ที่มา : มณฑาทิพย์ (2539)

3. เป็น chelating action กรดแอสคอร์บิกจะรวมตัวกับโลหะหนักซึ่งเป็นตัวส่งเสริมให้เกิดออกซิเดชันได้เร็วขึ้น เมื่อกรดแอสคอร์บิกจับกับโลหะหนักแล้วทำให้สูญเสียคุณค่าทางชีวภาพได้ด้วย

4. เป็นสารช่วยเสริมฤทธิ์ กรดแอสคอร์บิกสามารถช่วยเสริมฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันอื่นๆ ได้เช่น BHA BHT และกรดแอสคอร์บิก ดังนั้นการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกันต้านออกซิเดชันเหล่านี้ จะป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ดีขึ้น

5. สารป้องกันการเกิด oxidative rancidity กรดแอสคอร์บิกบางครั้งยังใช้เติมลงในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อป้องกันการหืน เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาหารหลายชนิด เช่น เนยถั่วลิสง (peanut butter) มันฝรั่งทอด ไขมันและน้ำมัน เครื่องดื่ม น้ำผลไม้ และ citrus oil

การใช้ประโยชน์กรดอิริทอร์บิกในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น เริ่มแรกนักอุตสาหกรรมอาหารในสหรัฐอเมริกาต้องการลดต้นทุนในการผลิตสินค้า จึงนำกรดอิริทอร์บิกมาใช้ทดแทนกรดแอสคอร์บิกเพราะมีราคาถูกกว่า ถึงแม้ว่าสารประกอบทั้งสองมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกัน แต่ก็ยังมีคุณสมบัติหลายประเภทที่แตกต่างกัน นอกจากจะแตกต่างทางโครงสร้างทางเคมีแล้ว ยังมีความแตกต่างอื่นๆ (มณฑาทิพย์, 2539) คือ

1. กรดแอสคอร์บิกเป็นสารที่เกิดขึ้นในอาหารตามธรรมชาติ แต่กรดอิริทอร์บิกเป็นสารที่ไม่ได้เกิดขึ้นในอาหารตามธรรมชาติ ผลิตได้จาก Ca-2-keto-d-gluconate ด้วยกระบวนการหลายขั้นตอน

2. กิจกรรมทางชีวภาพของกรดอิริทอร์บิกเบตมีน้อยกว่ากรดแอสคอร์บิก 20 เท่า จึงไม่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และไม่สามารถใช้กรดอิริทอร์บิกเป็นสารเสริมคุณภาพ (enrichment) หรือ fortification ในอาหาร

3. กรดแอสคอร์บิกมีคุณสมบัติทางชีวเคมีและมีคุณสมบัติป้องกันโรคลักปิดลักเปิด แต่กรดอิริทอร์บิกสามารถป้องกันโรคลักปิดลักเปิด ได้ 5% เท่านั้น (Borenstein, 1965)

4. คุณสมบัติทางกายภาพ แสดงดังตาราง 2.3

ตาราง 2.3 คุณสมบัติต่างๆ ทางกายภาพของกรดแอสคอร์บิกและกรดอิริทอร์บิก

	กรดแอสคอร์บิก	กรดอิริทอร์บิก
น้ำหนักโมเลกุล		
กรดอิสระ	176.13	176.13
เกลือ โซเดียม	198.11	216.12 (H ₂ O)
จุดหลอมเหลว		
กรดอิสระ	190-192 °C	164-169 °C
เกลือ โซเดียม	200 °C	200 °C
การละลาย (กรัม/น้ำ 100 มล. ที่ 25 °C)		
กรดอิสระ	30	40
เกลือ โซเดียม	77	16
plane rotation	+21 °	-17 °
รสชาติ	เป็นกรด	เป็นกรดเล็กน้อย

ที่มา : มณฑาทิพย์ (2539)

2.7.3 การใช้กรดแอสคอร์บิกและโซเดียมอิริทอร์เบทในผลิตภัณฑ์ผลไม้

กรดแอสคอร์บิกและอนุพันธ์กรดอิริทอร์บิก และโซเดียมอิริทอร์เบท ใช้เป็นแอนติออกซิแดนซ์เพื่อช่วยรักษาสี กลิ่นรส Lambrecht (1995) รายงานว่าสารที่อยู่ในกลุ่มของอิริทอร์เบท กรดอิริทอร์บิก และ โซเดียมอิริทอร์เบทมีหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนซ์ซึ่งสารเหล่านี้เป็น reducing agent ป้องกัน oxidative ของกลีโคลและการเปลี่ยนสี ซึ่งอิริทอร์เบทสามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ เช่นเดียวกับประสาร (2538) ได้รายงานการใช้กรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ของกรดแอสคอร์บิก คือกรดอิริทอร์บิกช่วยในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเอนไซม์ในผลไม้สดและแช่แข็ง เช่น แอปเปิลและท้อ โดยเติมกรดแอสคอร์บิกและไอโซเมอร์ของมันลงในน้ำเชื่อมหรือเตรียมสารละลายสำหรับเคลือบผลไม้ ดังรายงานของ Reyes and Luh (1962) ได้ทดลองเปรียบเทียบผลของกรดแอสคอร์บิกและกรดอิริทอร์บิกที่ความเข้มข้นเท่ากับ คือ 0.15% โดยน้ำหนักของน้ำเชื่อม เพื่อลดการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ในการทดลองเก็บลูกพีชแช่แข็งเป็นเวลา 30 วัน

พบว่าอัตราการเกิดสีน้ำตาลของลูกพีชที่เติมกรดทั้งสองไม่แตกต่างกัน แต่กรดแอสคอร์บิกมีความคงตัวดีกว่ากรดอิธิทอร์บิก การที่สารช่วยป้องกันการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากสารมีความสามารถในการรีดิวซ์สารออกโทควิโนนไปเป็นสารรูปออกโทฟิโนริค เมื่อไรที่ปริมาณของกรดแอสคอร์บิกหรือกรดอิธิทอร์บิกลดลง สารควิโนนสามารถรวมตัวกันเป็น โมเลกุลใหญ่ขึ้นทำให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นได้ นิธิยา (2543) กล่าวว่ากรดแอสคอร์บิกมีความสามารถในการจับออกซิเจนที่ไม่ได้อยู่ในสารละลายได้ จึงนิยมใช้กรดแอสคอร์บิกในอาหารบรรจุกระป๋องหรือขวด โดยเฉพาะเครื่องคั้นบรรจุกระป๋องที่มีช่องว่างเหนืออาหาร (head space) สอดคล้องกับ Benjamin (1987) รายงานว่ากรดแอสคอร์บิกมีประโยชน์อย่างมากต่อการบรรจุผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิท เนื่องจากกรดแอสคอร์บิกมีความสามารถช่วยจับอากาศที่หลงเหลืออยู่บริเวณภายในกระป๋องและจากการทดลองของ Cort ในปี 1974 พบว่าในภาชนะที่ปิดสนิทนั้น ต้องใช้กรดแอสคอร์บิก 7 มิลลิกรัม เพื่อไปจับแต่ละมิลลิลิตรของอากาศที่หลงเหลืออยู่ในช่องว่างเหนือระดับอาหารภายในกระป๋อง ปริมาณของกรดแอสคอร์บิกที่ต้องใช้นั้นอาจผันแปรไปตามความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารและอุณหภูมิ การคำนวณทางทฤษฎีปริมาณอากาศที่ต้องใช้ในการเปลี่ยน 1 โมลของกรดแอสคอร์บิกแล้ว จะต้องใช้กรดแอสคอร์บิก 3 มิลลิกรัม เพื่อจับแต่ละมิลลิลิตรของอากาศที่หลงเหลืออยู่ในช่องว่างเหนืออาหารในกระป๋อง และ Hope (1961) ได้ศึกษาการใช้แอนติออกซิแดนซ์ในผลิตภัณฑ์แอปเปิลผ่าซีกบรรจุกระป๋อง โดยการเปรียบเทียบระหว่างการใช้กรดแอสคอร์บิกและกรดอิธิทอร์บิกที่ปริมาณความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกและกรดอิธิทอร์บิก 300 มิลลิกรัมต่อปอนด์ของแอปเปิล พบว่ากรดแอสคอร์บิกมีความสามารถในการจับออกซิเจนดีกว่ากรดอิธิทอร์บิก คือสามารถจับออกซิเจนได้ถึง 96% ขณะที่กรดอิธิทอร์บิกจับได้เพียง 75% ซึ่งการใช้ปริมาณกรดทั้งสองที่ความเข้มข้นนี้ สามารถป้องกันการเปลี่ยนสีน้ำตาลของแอปเปิลได้ เมื่อเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนสีและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ พบว่ากรดแอสคอร์บิกมีการเปลี่ยนสีและกลิ่นรสน้อยกว่ากรดอิธิทอร์บิก

Borenstein (1965) อ้างรายงานของ Esselen *et al.* (1945) ว่ากรดอิธิทอร์บิกสามารถออกซิไดส์ได้เร็วกว่า กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid) ในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยการเติมกรดอิธิทอร์บิกในน้ำมะเขือเทศสามารถป้องกันการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกที่มีตามธรรมชาติได้ในระหว่างการเก็บรักษา การทดลองน้ำองุ่นโดยเติมทั้งกรดแอสคอร์บิกและกรดอิธิทอร์บิก พบว่ากรดอิธิทอร์บิกออกซิไดส์ได้เร็วกว่า และจากการทดลองของ Yourga *et al.* ในปี 1944 พบว่ากรดอิธิทอร์บิกออกซิไดส์ได้เร็วกว่ากรดแอสคอร์บิกในสารละลายบัฟเฟอร์ นอกจากนี้ Borenstein ยังอ้างรายงานของ Schulte and Schillinger (1952) รายงานว่า kinetic of oxidation ของกรดแอสคอร์บิกและกรดอิธิทอร์บิกใน aqueous model system ใน pH ระหว่าง 3-9 พบว่าการ oxidation ตาม first order kinetic ใน pH ระหว่าง 3-7 ที่มีปริมาณทองแดง (copper) เพียงเล็กน้อย เช่น 1-7 ppm พบว่ากรดอิธิทอร์บิกออกซิไดส์ได้เร็ว

กว่ากรดแอสคอร์บิก 25-100% ภายใต้งี้ออนไขเด็วกัน ผลของการทดลองสอดคล้องกับงานของ Esselen *et al.* ในปี 1945 คือสารประกอบท้สองจะเสถียรมากขึ้น เมื่ออยู่ใน pH 3-4.5 มากกว่าเมื่ออยู่ใน pH 5-7 ความคงทนจะเพิ่มขึ้นโดยการลดปริมาณของทองแดง (ppm) อย่างไรก็ตามการออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกและกรดอิริทอร์บิกที่ปริมาณทองแดงเพียงเล็กน้อยสามารถเร่งปฏิกิริยาได้

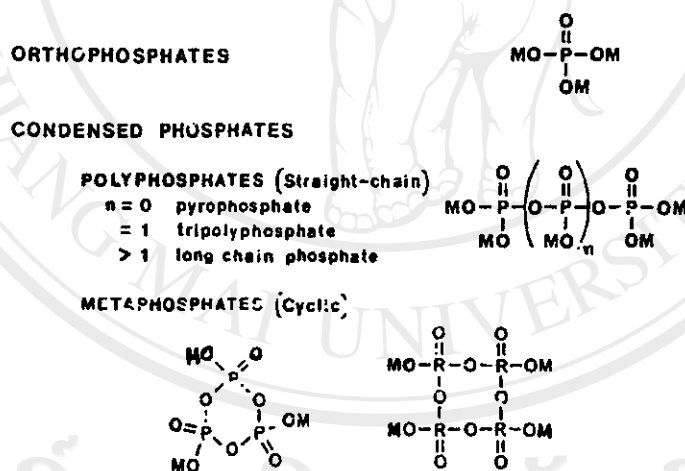
มณฑาทิพย์ (2539) รายงานปริมาณการใช้กรดอิริทอร์บิกในน้ำผลไม้ 50-200 ppm และผลไม้บรรจุกระป๋องและผลไม้แช่แข็ง 250-450 ppm ขณะเดียวกัน ปริมาณของการใช้กรดแอสคอร์บิกในผลไม้กระป๋องประมาณร้อยละ 0.25-0.50 Sapers and Miller (1998) ได้ศึกษาการเกิดสีน้ำตาลของลูกแพร์ (pears) ที่หั่นขึ้นโดยจุ่มในสารละลาย sodium erythorbate 4% calcium chloride 0.2% และ 4-hexylresorcinol 50-100 ppm เป็นเวลา 1 นาที แล้วบรรจุสภาพตัดแปลงบรรยากาศ (MAP) จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4°C พบว่าสามารถเก็บไว้ได้นาน 14 วัน โดยไม่เกิดสีน้ำตาลที่ผิวลูกแพร์หั่นขึ้นและไม่เกิดการเสื่อมเสียด้านกลิ่นรสและเนื้อสัมผัส เช่นเดียวกับกรทดลองของ Dong *et al.* (2000) ศึกษาการยืดอายุเก็บรักษาของลูกแพร์สดหั่นขึ้น 3 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ Bartlett พันธุ์ Bose พันธุ์ Anjon แล้วจุ่มด้วยสาร 4-hexylresorcinol (4HR) 0.01% กับ ascorbic acid 0.5% และ calcium lactate 1.0% เป็นเวลา 2 นาที แล้วบรรจุภายใต้สุญญากาศและเก็บที่อุณหภูมิ 2 - 5°C ช่วยให้ยืดอายุการเก็บได้ 15-30 วัน โดยไม่เกิดสีน้ำตาล

รัตนจิภา ชานะมัย (2535) ศึกษาผลของกรดแอสคอร์บิกและโซเดียมอิริทอร์เบทต่อการละลายของคีนุกจากกระป๋องชนิดต่างๆ ที่ใช้บรรจุสับประรด โดยใช้สับประรดชั้นเคลือบบรรจุในน้ำสับประรดที่เติมกรดแอสคอร์บิก 700 ppm หรือโซเดียมอิริทอร์เบท 700 ppm หรือกรดแอสคอร์บิกร่วมกับโซเดียมอิริทอร์เบทอย่างละ 750 ppm บรรจุกระป๋องคีนุก กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ epoxy phenolic ชั้นเดี่ยวและสองชั้น เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 เดือน พบว่าการเติมกรดแอสคอร์บิกและ/หรือโซเดียมอิริทอร์เบท ทำให้คุณภาพของสับประรดกระป๋องแตกต่างกันในกระป๋องทั้งสามชนิด โดยสับประรดที่เติมกรดแอสคอร์บิกมีอัตราการลดลงของกรดแอสคอร์บิก และการเติมกรดแอสคอร์บิกช่วยลดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล ให้ปริมาณของการเกิดสารสีน้ำตาล (hydroxy-methyl furfural) ต่ำ แต่มีปริมาณคีนุกละลายออกมามีมากกว่า การเติมโซเดียมอิริทอร์เบทอย่างเดียว หรือการเติมโซเดียมอิริทอร์เบทร่วมกับกรดแอสคอร์บิก มีปริมาณคีนุกที่ละลายออกมาสูงสุด 130 ppm ในกระป๋องที่ไม่ได้เคลือบแลคเกอร์ และจากการทดสอบประสาทสัมผัส พบว่าสับประรดที่เติมกรดแอสคอร์บิก โซเดียมอิริทอร์เบท หรือเติมกรดแอสคอร์บิกร่วมกับโซเดียมอิริทอร์เบท มีคุณภาพดีกว่าสับประรดที่ไม่ได้เติมสารเหล่านี้ แต่กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ให้กลิ่นและรสชาติที่แปลกปลอมไม่เป็นที่ยอมรับหลังจากเก็บนานเกิน 6 เดือน

2.7.4 โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต

สารประกอบฟอสเฟตหรือโพลีฟอสเฟตจัดเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีความสำคัญต่อกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด ซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมผลิตอาหารได้มีการนำสารประกอบฟอสเฟตมาใช้อย่างแพร่หลายได้แก่ ผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์ธัญพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ไข่ ผลิตภัณฑ์น้ำมันและไขมัน ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์อาหารทะเล อุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล อุตสาหกรรมผลิตแป้ง เป็นต้น

ประโยชน์สารประกอบฟอสเฟตที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แบ่งประเภทตามโครงสร้างของสารประกอบฟอสเฟต ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของฟอสเฟตทั้งหมดอยู่ในรูป orthophosphate โดยทั่วไปเรียกว่า กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) หรือกรดออร์โธฟอสฟอริก (orthophosphoric acid) (H_3PO_4) มักจะใช้ในอาหารเพื่อปรับสภาพให้เป็นกรด ส่วนสารประกอบฟอสเฟตที่ใช้กันมากในอุตสาหกรรมอาหาร จัดอยู่ในประเภท straight-chain polyphosphate มีฟอสเฟตอยู่ในช่วง 10-15 หน่วย ที่ใช้กันมากได้แก่ โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (sodium hexametaphosphate) (SHMP) มีสูตรโมเลกุลคือ $(NaPO_3)_6$ (วารกรณ์, 2531)



รูป 2.18 โครงสร้างของฟอสเฟต

ที่มา : Dominic (1989)

ข้อดีของการใช้โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (SHMP) มีดังนี้

1. เนื่องจาก SHMP เป็นเกลือซึ่งมีสมบัติเป็นกลาง จึงไม่ทำให้เกิดกลิ่นหรือรสที่เป็นกรดหรือด่าง
2. SHMP ปลอดภัยสำหรับการบริโภคเหมือนวัตถุเจือปนในอาหารที่มีอยู่ใน Generally Recognized As Safe (GRAS)

3. สามารถใช้ผสมกับอาหารก่อนบรรจุกระป๋องหรือเค็มลงในขณะบรรจุ
4. สามารถใช้ในรูปแบบสารละลายหรือในรูปแบบผงก็ได้ซึ่งให้ผลเหมือนกัน
5. ใช้ในปริมาณเพียงเล็กน้อยสามารถป้องกันการเกิดผลึก struvite ได้ คือในช่วง 0.13-0.22% ของผลิตภัณฑ์ทั้งหมด

2.7.5 การใช้สารประกอบฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้

ตามธรรมชาติในผักและผลไม้จะมีฟอสฟอรัสอยู่จำนวนหนึ่ง ฟอสฟอรัสที่อยู่ในน้ำและเนื้อเยื่อจะอยู่ในรูปของกรดฟอสฟอริก และ phosphate anion ในพืชบางชนิดเช่น citrus fruit จะมี dihydrogen phosphate สูงถึง 2.7%

สิวาพร (2529) ; วราภรณ์ (2531) ได้ศึกษาการแปรรูปผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ โดยมีการเติมสารประกอบฟอสเฟตเพื่อวัตถุประสงค์ต่างๆ ดังนี้

1. เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผักและผลไม้สด เมื่อนำผักหรือผลไม้จุ่มลงในสารประกอบฟอสเฟต พบว่าสารประกอบฟอสเฟตทำหน้าที่เป็น detergents ในการกำจัดสิ่งต่างๆ ที่ติดอยู่กับผิวของผักหรือผลไม้ หรือ waxy coating ของผักและผลไม้ทำหน้าที่เป็นตัวขยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ จากการทดลองพบว่า การจุ่มผลไม้ลงในสารละลายของไตรโซเดียมฟอสเฟต (trisodium phosphate) หรือ ไดโซเดียมฟอสเฟต (disodium phosphate) แล้วทำให้แห้ง จะเกิดฟิล์มของสารประกอบนี้เคลือบอยู่เมื่อทำการเก็บผลไม้ได้นั้นไว้ พบว่าผลไม้ได้นั้นจะเน่าเสียช้ากว่าผลไม้ที่ไม่ได้จุ่ม นอกจากนี้สารประกอบฟอสเฟตยังมีส่วนช่วยเสริมประสิทธิภาพของวัตถุกันเสียด้วย จากการทดลองพบว่า apple cider ที่ใส่เบนโซเอท (benzoate) หรือซอร์เบท (sorbate) ร่วมกับสารประกอบฟอสเฟตนั้น สามารถเก็บได้นานเป็น 2 เท่าของ apple cider ที่ใส่แต่เบนโซเอทหรือซอร์เบทเพียงอย่างเดียว

2. เพื่อเป็นวัตถุกันหืนหรือสารเสริมฤทธิ์วัตถุกันหืนในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ จากการทดลองพบว่า การเติมสารประกอบฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ จะสามารถช่วยชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิดช้าลง เช่น ในน้ำส้มคั้นชนิดที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลนั้น เติมโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตหรือกรดเมตาฟอสฟอริก (metaphosphoric acid) ลงไป จะสามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกได้

3. เพื่อช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้คงตัว ในผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ได้นั้น ถ้ามีเหล็กอยู่เพียง 0.1 - 1.0 ppm พบว่าจะเป็นตัวเร่งให้เกิดออกซิเดชันของ O-diphenolic compounds ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้สีของผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้เปลี่ยนแปลงไป จากการทดลองใช้โซเดียมซัลเฟต (sodium sulfate) ผสมกับ sodium acid pyrophosphate และ เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต (tetrasodium pyrophosphate) พบว่าจะช่วยให้สีของผลิตภัณฑ์คงที่ หรือมีการเปลี่ยนแปลงน้อย

มาก ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตสามารถช่วยยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสีได้ นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงสีของมันฝรั่งที่มักจะเกิดขึ้นหลังกรรมวิธีการแปรรูป จากการออกซิเดชันของ O-diphenol compounds โดยมีเหล็กเป็นตัวเร่งปฏิกิริยานั้น ถ้าแอมันฝรั่งในสารละลายฟอสเฟต เช่น sodium acid pyrophosphate จะป้องกันการเกิดปฏิกิริยานี้ เนื่องจากสารประกอบฟอสเฟตนี้ทำปฏิกิริยากับเหล็กให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนได้

4. เพื่อช่วยให้ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้มีลักษณะดีขึ้น ผักและผลไม้ส่วนมากจะมีเปลือกเหนียว และบางชนิดพบว่าจะเหนียวมากขึ้นถ้าสุกมากเกินไป ความเหนียวของเปลือกผักและผลไม้จะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วน โดยตรงกับการเพิ่มของปริมาณแคลเซียม ซึ่งอาจจะเป็นแคลเซียมที่มีอยู่ตามธรรมชาติ หรือแคลเซียมที่ได้จากการลวกผักและผลไม้ด้วยน้ำกระด้าง การเติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (sodium tripolyphosphate) หรือโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตลงในน้ำที่ใช้ในการลวกถั่วต่างๆ หรือน้ำเกลือที่ใส่ในถั่วฝักยาวกระป๋อง จะสามารถลดความเหนียวของเปลือกถั่วลง ส่วนในผลิตภัณฑ์มะเขือเทศนั้นพบว่า การเติม โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตลงในมะเขือเทศก่อนการแปรรูปนั้น จะทำให้ซอสมะเขือเทศที่ได้ขึ้นข้นกว่าเดิม และยังสามารถช่วยควบคุมความหนืดของเนื้อมะเขือเทศตีปั่น (tomato puree) และปริมาณน้ำที่สกัดได้ด้วย

ศิวพร และคณะ (2545) ได้ศึกษาผลของสารจับโลหะในการยืดอายุการเก็บน้ํามะนาวโดยวิธีการเติมสารเคมีเพื่อช่วยรักษาคุณภาพของน้ํามะนาว โดยเก็บเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง ปรากฏว่าตัวอย่างน้ํามะนาวที่เติมสารจับโลหะ คือ โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (sodium hexametaphosphate) ที่ระดับความเข้มข้น 0.7% และตัวอย่างน้ํามะนาวที่เติม ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกันจะช่วยรักษาคุณภาพทางเคมีได้ดีที่สุด ส่วนในด้านการเปลี่ยนแปลงสีของน้ํามะนาว พบว่าตัวอย่างน้ํามะนาวที่เติมโซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต ที่ระดับความเข้มข้น 0.7% จะช่วยรักษาสีของตัวอย่างน้ํามะนาวให้ใกล้เคียงน้ํามะนาวสดได้มากที่สุด เนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลในน้ํามะนาวส่วนใหญ่เกิดจากการออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกเป็น dehydroascorbic acid (DHA) และถ้าในน้ํามะนาวมีอนุพลของโลหะ เช่น ทองแดงหรือเหล็ก 2-3 ppm ก็จะเร่งให้ DHA เปลี่ยนเป็น 2-3 diketogulonic acid และสารนี้จะเกิดการจับเรียงตัวใหม่เป็นสารประกอบเฟอเฟอร์อล และเมื่อเกิดการรวมตัวกับสารประกอบไนโตรเจน ซึ่งมีอยู่ในน้ํามะนาวจะเกิดโพลีเมอร์ไรส์ เป็นสารสีน้ำตาลได้ ดังนั้นค่าการดูดกลืนแสงจึงเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บน้ํามะนาว

นอกจากการใช้สารประกอบฟอสเฟตในผลิตภัณฑ์แปรรูปผักและผลไม้แล้ว ยังมีการนำสารประกอบฟอสเฟตมาช่วยปรับปรุงคุณภาพของน้ำที่ใช้ในการแปรรูปอาหาร เนื่องจากน้ำที่ใช้ในการผลิตหรือแปรรูปอาหารนั้น มักจะมีโลหะพวก alkali-earth และโลหะทรานซิชันปนอยู่ ในระหว่างกรรมวิธีการแปรรูปโลหะต่างๆ เหล่านี้ มักจะเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ และ

ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพต่ำ สารประกอบฟอสเฟตที่นิยมใช้น้ำในกระบวนการผลิต ได้แก่ โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟต (sodium hexametaphosphate) โซเดียมเฮกซะเมตาฟอสเฟตร่วมกับด่าง โพลีฟอสเฟตสายสั้น เช่น ออร์โทฟอสเฟต (orthophosphate) (ศิวาพร, 2529; วราภรณ์, 2531)

2.8 ภาชนะบรรจุ

ในงานวิจัยนี้ได้เลือกภาชนะบรรจุ 3 ชนิด คือ กระป๋องดีบุก กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ และ ขวดแก้ว เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์ลีนจี้ในภาชนะบรรจุและปริมาณดีบุกที่ละลายออกมาจากภาชนะบรรจุมีผลอย่างไรต่อการเปลี่ยนแปลงสีของลีนจี้ ซึ่งความนิยมในการเลือกใช้ภาชนะบรรจุสำหรับผลิตภัณฑ์ผลไม้ที่มีค่า pH 3.0-4.5 ได้แก่ กระป๋องดีบุก (plain can) ใช้กับผลไม้ที่มีสีจางหรือสีอ่อน เช่น สับปะรด เงาะ ลีนจี้ และลำไย ปริมาณของดีบุกที่ละลายในผลิตภัณฑ์เพียงเล็กน้อย จะช่วยให้ผลไม้มีสีสดน่านรับประทาน สำหรับกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ (lacquer can or lacquer tinplate can) เป็นกระป๋องที่ทำจากแผ่นเหล็กเคลือบดีบุกหรือแผ่นเหล็กที่นำมาเคลือบแลคเกอร์ ซึ่งแลคเกอร์จะทำหน้าที่เคลือบผิวโลหะเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเคมีระหว่างโลหะกับอาหาร และแลคเกอร์ที่นำมาเคลือบแผ่นเหล็กต้องมีความปลอดภัยต่ออาหาร เช่น oleoresinous resin, phenolic resin และ epoxy phenolic resin (วารุณี, 2544) ส่วนภาชนะบรรจุขวดแก้วมีคุณลักษณะที่ดี คือมีลักษณะเป็นกลางไม่ทำปฏิกิริยากับอาหารหรือดูดกัศกร่อน ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยในการบริโภค

2.8.1 งานวิจัยศึกษาภาชนะบรรจุของผลิตภัณฑ์ผลไม้กระป๋อง

อรอนุช (2535) ได้ศึกษาผลของกระป๋องที่ใช้บรรจุลีนจี้กระป๋อง โดยใช้กระป๋องเคลือบดีบุกและกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ขนาด 307x409 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ($28-36^{\circ}\text{C}$) ที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่าลีนจี้ที่บรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์จะเกิดสีชมพูมากกว่าลีนจี้ที่บรรจุในกระป๋องดีบุก และยังมีกลิ่นแปลกปลอมจากแลคเกอร์ที่ละลายออกมาด้วย ลีนจี้ที่บรรจุในกระป๋องดีบุกจะมีปริมาณดีบุกมากกว่าลีนจี้ที่บรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ ปริมาณดีบุกที่ละลายออกมาจากกระป๋องดีบุกและกระป๋องเคลือบแลคเกอร์เท่ากับ 64.07 และ 4.47 ppm ตามลำดับ

รัตนจิภา (2535) ศึกษาชนิดของกระป๋องที่ใช้บรรจุสับปะรดกระป๋อง โดยใช้กระป๋องดีบุก กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ epoxy phenolic 1 ชั้น และ 2 ชั้น เก็บที่อุณหภูมิห้อง ($25-30^{\circ}\text{C}$) ระยะเวลา 12 เดือน พบว่า ปริมาณดีบุกที่ละลายจากกระป๋องดีบุก กระป๋องเคลือบแลคเกอร์ 1 ชั้น และ 2 ชั้น มีปริมาณการละลายของดีบุกสูงสุดเท่ากับ 130 28 และ 32 ppm ตามลำดับ สับปะรดที่บรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ 1 ชั้น และ 2 ชั้น มีปริมาณการเกิดสีน้ำตาล (hydroxymethylfurfural) มาก

กว่าสับปรดที่บรรจุในกระป๋องดีบุก และผลการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ผู้บริโภคให้การยอมรับสับปรดกระป๋องเคลือบแลคเกอร์น้อยกว่ากระป๋องดีบุก เนื่องจากสับปรดบรรจุกระป๋องเคลือบแลคเกอร์มีกลิ่น รสชาติที่แปลกปลอม และมีสีคล้ำกว่าสับปรดบรรจุกระป๋องดีบุก

พรรรัตน์ และคณะ (2541) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของมะละกอบรรจุกระป๋องดีบุกและกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ ขนาด 307x309 เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-36°C) ที่ระยะเวลา 12 เดือน พบว่าผลิตภัณฑ์มะละกอบรรจุกระป๋องดีบุกและเคลือบแลคเกอร์ มีปริมาณการละลายของดีบุกมีค่าเท่ากับ 93 และ 4 ppm ตามลำดับ ผลของการประเมินผลทางประสาทสัมผัสพบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ในด้านสีและกลิ่นรสของมะละกอบรรจุกระป๋องดีบุกมากกว่าที่บรรจุในกระป๋องเคลือบแลคเกอร์

พงษ์เทพ (2541) ศึกษากระบวนการผลิตมังคุดกระป๋องในน้ำเชื่อม โดยใช้กระป๋องดีบุกขนาด 307x409 ที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลา 1 เดือน ผลการทดสอบประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทางด้านกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัสได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

Serm Sri *et al.* (1982 - 1985) ศึกษาปริมาณโลหะในอาหารกระป๋อง พบว่าปริมาณของดีบุกเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้เป็นระยะเวลานานซึ่งเกิดจากการกัดกร่อนภายในกระป๋องอย่างช้าๆ ถึงแม้ว่าแผ่นเหล็กเคลือบดีบุกจะมีการพัฒนาโดยการเคลือบแลคเกอร์หรือเรซินที่ทนต่อการกัดกร่อนบนผิวหน้าของแผ่นเหล็ก จากการศึกษาตัวอย่างของผักและผลไม้กระป๋อง จำนวน 7 ตัวอย่าง บรรจุกระป๋องดีบุกและเคลือบแลคเกอร์ พบว่ามีปริมาณดีบุกละลายจากกระป๋องดีบุก 0 – 106.3 ppm และกระป๋องเคลือบแลคเกอร์ 0 – 43.8 ppm และการกัดกร่อนของโลหะในอาหารชนิดเดียวกันมีปริมาณโลหะไม่เท่ากัน อาจเนื่องจากปริมาณและชนิดของ organic acid, oxidizing และ reducing agent และอุณหภูมิการเก็บรักษา (ตาราง 2.4) นอกจากนี้อุณหภูมิและอายุการเก็บรักษา ยังมีผลต่อปริมาณดีบุกที่ละลายออกมา จากการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง (30-32°C) และอุณหภูมิ 18°C พบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิสูงปริมาณดีบุกจะมีมากกว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำ

ตาราง 2.4 แสดงปริมาณเตี๋บุก (ppm) ในผลิตภัณฑ์ผลไม้บรรจุกระป๋องเตี๋บุกที่เก็บรักษา
0 – 12 เดือน

ผลิตภัณฑ์ในน้ำเชื่อม	pH	ปริมาณเตี๋บุก (ppm)		
		เริ่มต้น	6 เดือน	12 เดือน
1. ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 1	4.6	0	68.1	212.1
ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 2	4.6	0	50.7	98.3
2. ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 1	4.9	10.0	40.1	63.7
ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 2	4.9	17.5	42.2	102.4
3. ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 1	4.0	57.4	139.6	203.2
ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 2	4.0	53.0	130.4	158.6
4. ถั่วงอกใส่ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 1	4.0	39.1	50.7	98.8
ถั่วงอกใส่ถั่วงอก ตัวอย่างที่ 2	4.0	0	13.1	30.7

ที่มา : Sermsri *et al.* (1982 - 1985)