



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของไนตริกออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนิลลาลานีน แอมโมเนียไลเอส
เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกอง

Effect of nitric oxide on phenolic content, phenylalanine amonalyase,
polyphenol oxidase and peroxidase in longkong pericarp

โดย ดร. อินทิรา ลิจันทรพร

พฤษภาคม 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ ผลของไนตริกออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนิลาลานีน แอมโมเนียไลเอส
เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกอง

Effect of nitric oxide on phenolic content, phenylalanine amonialyase,
polyphenol oxidase and peroxidase in longkong pericarp

ผู้วิจัย

สังกัด

ดร. อินทิรา ลิจันทรพร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว. และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรีไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่ให้งบประมาณสนับสนุนในการทำงานวิจัย โครงการวิจัย เรื่อง “ผลของไนตริกออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนิลลาลานีน แอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกอง” และขอขอบคุณ รศ. ดร. ศิริชัย กัลยาณรัตน์ ที่ปรึกษาหลักของโครงการวิจัยนี้ ขอขอบคุณ คุณเบญจมาพร มธุลาภรังสรรค์ ดร. ชัยรัตน์ เตชะวุฒิพร และเพื่อนๆ ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจ ขอขอบคุณ ผู้ทรงคุณวุฒิทุกท่าน ที่ช่วยตรวจสอบ ประเมิน เสนอแนะ ตลอดจนคำแนะนำต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ ทำให้โครงการวิจัยนี้เสร็จสิ้นสมบูรณ์ด้วยดี ขอขอบคุณ หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี และสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี ที่มีส่วนสำคัญทำให้งานวิจัยนี้เสร็จ ลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ

ดร. อินทิรา ลิจันทรพร

30 พฤษภาคม 2555

รหัสโครงการ: TRG5380011

ชื่อโครงการ: ผลของไนตริกออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนอลาซิเนส
แอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส
ในเปลือกผลลองกอง

ชื่อนักวิจัย: ดร. อินทิรา ลิจันทร์พร
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

E-mail Address: lintira@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ: 30 พฤษภาคม 2553 -30 พฤษภาคม 2555 (2 ปี)

บทคัดย่อ

จากการศึกษาผลของลองกองที่จุ่มไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1.0 และ 1.5 mM นาน 5 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90\pm 5\%$ พบว่าผลลองกองที่จุ่มไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25 mM ชะลอการเกิดสีน้ำตาล และเก็บรักษาได้นาน 12 วัน ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของกรดไนตริกออกไซด์เป็น 1.0 และ 1.5 mM ส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลมากขึ้น โดยมีค่า Browning index ค่า pH และค่า browning pigment สูงกว่าผลลองกองที่จุ่มกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0.25 mM และเก็บรักษาได้เพียง 9 วัน จากการศึกษาค้นคว้าของลองกองที่รมไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90\pm 5\%$ พบว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 90% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ชะลอการเกิดสีน้ำตาล โดยมีค่า L สูงกว่าชุดการทดลองอื่น และมีค่า Browning index ค่า pH และค่า Browning pigment ต่ำกว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 6 และ 12 ชั่วโมง จากการศึกษาค้นคว้าของลองกองที่จุ่มไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0.25 mM และรมไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่รมและไม่จุ่ม (ชุดควบคุม) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90\pm 5\%$ พบว่าผลของลองกองที่รมไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง ชะลอการเกิดสีน้ำตาล โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง และมีกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลาซิเนสแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกองในปริมาณน้อยกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0.25 mM และชุดควบคุม ดังนั้นการใช้ไนตริกออกไซด์จึงช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลและลดกิจกรรมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดสีน้ำตาลได้

คำหลัก: ลองกอง การเกิดสีน้ำตาล กรดไนตริก โพลีฟีนอลออกซิเดส

Project Code : TRG5380011
Project Title: Effect of nitric oxide on phenolic content, phenylalanine amonialyase, polyphenol oxidase and peroxidase in longkong pericarp
Investigator: Dr. Intira Lichanporn
Rajamangala University of Technology Thanyaburi
E-mail Address: lintira@yahoo.com
Project Period: 30 May 2010-30 May 2012 (2 years)

Abstract

Effect of nitric oxide on phenolic content, phenylalanine amonialyase, polyphenol oxidase and peroxidase in longkong pericarp was studied by dipping longkong fruits in 0 (control) 0.25, 0.5, 1.0 and 1.5 mM for 5 min, then stored at 13 °C, 90±5 % RH throughout experimental period. Treatment of 0.25 mM nitrix oxide showed the delay of pericarp browning and 12 d of storage life. Moreover, increasing the concentrations of nitric oxide up to 1.0 - 1.5 mM induced browning in pericarp which had much higher browning index, pH level and browning pigment than fruit dipped in 0.25 mM nitric oxide and had 9 d of storage life. Effect of nitric oxide vapor on delaying pericarp browning in longkong fruits was investigated by fumigating fruits with 90 % nitric oxide vapor for 0 (control), 3, 6, 12 and 24 h, then stored at 13 °C, 90±95 % RH throughout experimental period. Treatment of 3-min nitric vapor delayed the browning and showed higher L-value, lower browning index, pH level and browning pigment than other treatments. Effects of 0.25 mM-dipping treatment and 3-min nitric oxide vapor was determined, compared with untreated fruits (control), then stored at 13 °C, 90±95 % RH throughout experimental period. It was found that 3-min nitric oxide vapor delayed pericarp browning of longkong fruits which had higher phenolic compound, but lower phenylalanine amonialyase, polyphenol oxidase and peroxidase than treatment of 0.25 mM nitric oxide dipping and control fruits. Therefore, nitric oxide delayed the browning and reduced activities of browning enzymes in pericarp of longkong fruits.

Key words: Longkong, browning, nitric oxide, polyphenol oxidase

สารบัญ		หน้า
เรื่อง		
กิตติกรรมประกาศ		I
บทคัดย่อ		II
Abstract		III
สารบัญ		IV
สารบัญตาราง		VI
สารบัญรูป		VIII
บทที่ 1	บทนำ	1
1.1	ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2	วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
1.3	ขอบเขตของโครงการวิจัย	1
1.4	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2	ตรวจเอกสาร	3
2.1	ความสำคัญและถิ่นกำเนิด	3
2.2	พันธุ์ลองกอง	3
2.3	คุณค่าทางอาหารของผลลองกอง	4
2.4	การพัฒนาและการเจริญเติบโตของผลลองกอง	4
2.5	การเก็บเกี่ยวผลลองกอง	6
2.6	กลไกการเกิดสีน้ำตาล	7
2.7	ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล	9
2.8	การควบคุมการเกิดสีน้ำตาล	10
2.9	ไนตริกออกไซด์	10
2.10	ไนตรัสออกไซด์	11
บทที่ 3	วิธีดำเนินการวิจัย	12
3.1	การเตรียมวัสดุทดลอง	12
3.2	วิธีการทดลอง	12
3.3	สถานที่ทำการทดลอง	15
บทที่ 4	ผลการทดลอง	16
4.1	ผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกอง	16
4.2	ผลของการรมไนตรัสออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกอง	20

สารบัญ		
เรื่อง		หน้า
4.3	ผลของการรมด้วยไนตรัสออกไซด์และการจุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ต่อ สารประกอบฟีนอล และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลของ เปลือกผลลองกอง	24
บทที่ 5	วิจารณ์ผลการทดลอง	29
บทที่ 6	สรุปผลการทดลอง	32
เอกสารอ้างอิง		33
ภาคผนวก ก.	การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	38
Output	จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.	52
เอกสารแนบ		53

สารบัญตาราง

ตาราง		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางอาหารของเนื้อผลลองกองส่วนที่รับประทานได้ (100 กรัม)	4
2.2	การเจริญเติบโตของผลลองกอง	5
2.3	การเปลี่ยนแปลงของเนื้อและเปลือกลองกองในด้านคุณภาพ	5
2.4	การจัดชั้นคุณภาพของผลผลิตลองกอง	7
ภาคผนวก		
1	Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน	39
2	ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	40
3	ค่า pH ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	41
4	Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	42
5	Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	43
6	ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	44
7	ค่า pH ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	45
8	Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	46

สารบัญตาราง

ภาคผนวก	หน้า
9 Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	47
10 กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	48
11 กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	49
12 กิจกรรมเอนไซม์ฟีนิลลาลานีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	50
13 สารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	51

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
2.1	ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล และการเกิดสีน้ำตาล	8
4.1	Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	16
4.2	ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	17
4.3	ค่า pH ของเปลือกผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	18
4.4	Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	19
4.5	Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N ₂ O) ที่ความเข้มข้น 90 ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	20
4.6	ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N ₂ O) ที่ความเข้มข้น 90 ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	21
4.7	ค่า pH ของเปลือกผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N ₂ O) ที่ความเข้มข้น 90 ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	22
4.8	ค่า Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N ₂ O) ที่ความเข้มข้น 90 ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 % นาน 12 วัน	23

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
4.9	Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	24
4.10	กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	25
4.11	กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	26
4.12	กิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลลาซีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	27
4.13	สารประกอบฟีนอลทั้งหมดของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N ₂ O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5 %นาน 12 วัน	28

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ลองกองเป็นผลไม้เขตร้อนที่ได้รับความนิยมมากชนิดหนึ่ง ปัจจุบันลองกองสามารถปลูกได้ทั่วประเทศและมีบางช่วงที่มีจำหน่ายมากจนราคาต่ำ อีกทั้งลองกองเกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือก ผลเหี่ยว และร่วงหลุดจากข้อผลได้ง่ายและรวดเร็ว ไม่เป็นที่ดึงดูดสายตาของผู้บริโภคจนถึงหมดสภาพการซื้อขาย การเกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกมีสาเหตุมาจากสารประกอบฟีนอลที่มีเอนไซม์ฟีนิลลาลานีนแอมโมเนียไลเอส (phenylalanine ammonia lyase, PAL) เป็นตัวเร่งการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล โดยทั่วไปการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PAL จะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในเซลล์พืช ซึ่งสารประกอบฟีนอลเป็นสารตั้งต้นในการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase, PPO) หรือเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (peroxidase, POD) ในสภาพที่มีออกซิเจนได้เป็นสารควิโน ซึ่งจะรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ และเกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้น อย่างไรก็ตามได้มีการรายงานการใช้ไนตริกออกไซด์ทั้งวิธีการรมและวิธีการจุ่มในเปลือกลำไย โดยไปลดกิจกรรมเอนไซม์ PAL PPO และ POD ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล แต่ยังไม่มีการรายงานในผลลองกอง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของการรมไนตริกออกไซด์และการจุ่มไนตริกออกไซด์กับผลลองกองเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล ได้แก่ PAL PPO และ POD ในเปลือกผลลองกอง ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานและเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถแก้ไขปัญหาการเกิดสีน้ำตาลในผลลองกองหลังการเก็บเกี่ยวได้

1.2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลในผลลองกอง
- 1.2.2 เพื่อศึกษาผลของการรมไนตริกออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลในผลลองกอง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ทราบผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0 0.25 0.5 1.0 และ 1.5 mM นาน 5 นาที ที่มีต่อการเกิดสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงสี ค่า pH ของเปลือก ค่า browning pigment ในเปลือกผลลองกอง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส
- 1.3.2 ทราบผลของการรมไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 5 ระดับ คือ 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง ต่อการเกิดสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงสี ค่า pH ของเปลือก ค่า browning pigment ในเปลือกผลลองกอง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส
- 1.3.3 ทราบผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ และรมไนตริกออกไซด์ที่ได้จากการทดลองที่ 1 และ 2 ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนิลลาลานีนแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกองแล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทราบบทบาทของไนตรัสออกไซด์และไนตริกออกไซด์ทั้งแบบรวมและแบบจุ่มต่อการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกลองกองหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งสามารถบอกได้ว่าความเข้มข้นไหนส่งผลต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเกิดสีน้ำตาลมากที่สุด
- 1.4.2 ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับการลดการเกิดสีน้ำตาลด้วยไนตรัสออกไซด์และไนตริกออกไซด์ซึ่งนำไปสู่การแก้ไขปัญหาการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผลลองกองได้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 ความสำคัญและถิ่นกำเนิด

ลองกองมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aglaia dookkoo* Griff จัดเป็นผลไม้เมืองร้อน สกุดเดียวกับกลางสาต และทุก ลองกองจัดอยู่ในวงศ์ Meliales ตระกูล Meliaceae สกุล Aglaia ชนิด dookkoo (กรมวิชาการ เกษตร, 2540) ลองกองเป็นไม้ผลที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมากทั้งในประเทศ และต่างประเทศ เนื่องจากลองกองมีรสชาติดีมีกลิ่นหอมหวาน มีลักษณะเปลือกบาง เมล็ดน้อย ยางที่เปลือกไม่เหนียวติดมือ มีแนวโน้มเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในประเทศและต่างประเทศ (อภิชัย, 2541)

ถิ่นกำเนิดของลองกองอยู่ในแถบหมู่เกาะมลายู อินโดนีเซีย ซาฟิปปินส์ และประเทศไทย สำหรับประเทศไทยได้มีการกระจายพันธุ์ไปอย่างกว้างขวางในหลายจังหวัดทางภาคใต้ที่มีสภาพอากาศค่อนข้างชื้น เริ่มตั้งแต่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี นครศรีธรรมราช ยะลา ปัตตานี และนราธิวาส นอกจากนี้ยังได้กระจายไปสู่จังหวัดอื่น ๆ ที่มีอากาศชุ่มชื้นอีกหลายจังหวัดในตอนเหนือ เช่น อุตรดิตถ์ และภาคตะวันออกเฉียงใต้ จันทบุรี ระยอง ตรัง และปราจีนบุรี (ไพโรจน์, 2522; มงคล และคณะ, 2523)

2.2 พันธุ์ลองกอง

ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานีได้แบ่งพันธุ์ลองกองออกเป็น 3 สายพันธุ์ คือ

2.2.1 ลองกองแห้ง

เปลือกผลค่อนข้างหนา ผิวหยาบเล็กน้อย เมื่อสุกมีสีเหลืองคล้ำ เปลือกผลจะแข็งกว่าลองกองน้ำไม่มียางขาว ตรงข้อผลอาจจะมนกลมหรือค่อนข้างแหลมขึ้นอยู่กับการเบียดของผล ก้นผลมีรอยบุ๋มเล็กน้อยพอสังเกตเห็น เนื้อในผลมี 5 กลีบ บางผลมีกลีบใหญ่ 1 กลีบ กลีบใหญ่มักมีเมล็ด เมื่อสุกเต็มที่เนื้อผลจะใสเหมือนแก้ว มีลักษณะแห้งสนิท เนื้อมีรสหวาน กลิ่นหอมชวนรับประทาน ความหวานของเนื้อผลประมาณ 17-19 องศาบริกซ์ (อภิชัย, 2541)

2.2.2 ลองกองน้ำ

สีผิวของผลเมื่อสุกจะเหลืองจางกว่าลองกองแห้ง ผิวคล้ายกับลองกองแห้งมาก แต่ผลจะนุ่มกว่า ผลโตค่อนข้างกลมเป็นช่อยาวใหญ่ เปลือกค่อนข้างบางและเหนียว การแกะเปลือกออกจากเนื้อค่อนข้างลำบาก เนื้อในผลมี 5 กลีบ เนื้อสีขาวชุ่มมีน้ำมาก รสชาติไม่ค่อยหวาน ความหวานของเนื้อผลประมาณ 16-18 องศาบริกซ์ มีเมล็ดน้อย เมล็ดมีลักษณะกลมรี (อภิชัย, 2541)

2.2.3 ลองกองกาแลแม

ผลมีลักษณะค่อนข้างกลม ช่อผลที่สมบูรณ์จะยาวกว่าลองกองแห้ง เมื่อผลสุกเปลือกจะมีสีน้ำตาล ผิวละเอียด เปลือกบาง ไม่มียาง ผลอ่อนนุ่ม เนื้อในผลแห้งใสเป็นแก้ว กลีบผลมี 5 กลีบ เนื้อนิ่ม เนื้อมีรส

หวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นฉุนไม่หอมเหมือนลองกองแห้ง ความหวานของเนื้อผลประมาณ 16-19 องศาบริกซ์ เมล็ดมีน้อย และมีขนาดเล็กกว่าลองกองน้ำ ไม่ขม (อภิชัย, 2541; เกียรติเกษตร และคณะ, 2531)

2.3 คุณค่าทางอาหารของผลลองกอง

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางอาหารของเนื้อผลลองกองส่วนที่รับประทานได้ (100 กรัม)

องค์ประกอบ	ปริมาณ	
พลังงาน	57.00	มิลลิกรัม
คาร์โบไฮเดรต	15.2	มิลลิกรัม
แคลเซียม	19.0	มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	25.0	มิลลิกรัม
โปตัสเซียม	27.5	มิลลิกรัม
เหล็ก	1.10	มิลลิกรัม
วิตามินบี 1	0.07	มิลลิกรัม
วิตามินบี 2	0.04	มิลลิกรัม
วิตามินซี	3.00	มิลลิกรัม
ไขมัน	0.20	มิลลิกรัม
โปรตีน	0.90	มิลลิกรัม
ไนอาซีน	1.00	มิลลิกรัม

ที่มา: อภิชัย (2541)

2.4 การพัฒนาและการเจริญเติบโตของผลลองกอง

ระยะเวลาการพัฒนาของผล และการเจริญเติบโตของผลลองกองตั้งแต่เริ่มติดผลจนผลแก่เต็มที่พร้อมเก็บเกี่ยวได้ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมของพืช เช่น สภาพภูมิอากาศ สภาพพื้นที่ที่เป็นแหล่งปลูก และความสมบูรณ์ของดิน ระยะเวลาการพัฒนาของผลลองกองในจังหวัดจันทบุรีใช้เวลา 12-13 สัปดาห์ (นพรัตน์, 2528) ในขณะที่การพัฒนาของผลลองกองในจังหวัดนราธิวาสใช้เวลา 14-16 สัปดาห์ (สุธัญญา และสุรพงษ์, 2530) และในจังหวัดสุราษฎร์ธานี การพัฒนาของผลใช้เวลา 13-15 สัปดาห์ การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงด้านคุณภาพของผลลองกองสามารถแบ่งออกเป็น 3 ระยะ ดังตารางที่ 2.2 และ 2.3

ตารางที่ 2.2 การเจริญเติบโตของผลลองกอง

การเจริญเติบโต	สัปดาห์	การเปลี่ยนแปลง
ระยะที่ 1 เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโต ด้านน้ำหนักช้ำมาก	1-5 5-7	การพัฒนาของเปลือก การเจริญเติบโตด้าน น้ำหนักช้ำมาก อัตราส่วนการเปลี่ยนแปลงระหว่างน้ำหนักเนื้อ และน้ำหนักเปลือกสูงมาก (ร้อยละน้ำหนักเนื้อ เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และร้อยละน้ำหนักเปลือก จะลดลงในอัตราที่เท่ากัน) เนื่องจากเซลล์มีการ ขยายตัว (cell enlargement) ในอัตราที่สูงกว่า เซลล์ของเปลือกมาก
ระยะที่ 2 เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโต ทางด้านน้ำหนักอย่างรวดเร็ว	7-13	น้ำหนักผลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว น้ำหนักเปลือก เพิ่มขึ้นในอัตราที่คงที่และช้ากว่าน้ำหนักเนื้อ (เนื้อร้อยละ 74 เปลือกร้อยละ 24)
ระยะที่ 3 เป็นระยะที่มีการเจริญเติบโต ทางด้านน้ำหนักเล็กน้อย หรือคงที่	13-15	มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีภายในเปลือกและผล ความหนาเปลือกลดลง และน้ำหนักเปลือก ค่อนข้างคงที่ (เนื้อร้อยละ 80 เปลือกร้อยละ 20) ซึ่งเป็นระยะที่ผลแก่เต็มที่ และเป็นที่ยอมรับของ ตลาด

ที่มา: สุรกิตติ (2536)

ตารางที่ 2.3 การเปลี่ยนแปลงของเนื้อและเปลือกลองกองในด้านคุณภาพ

สัปดาห์	การเปลี่ยนแปลง
ระยะที่ 1 สัปดาห์ที่ 1-10	ผลอ่อนเปลือกสีเขียวเข้ม สีเนื้อขาวขุ่น และมีรสเปรี้ยว
ระยะที่ 2 สัปดาห์ที่ 10-13	เปลือกจะเปลี่ยนแปลงจากสีเขียวเป็นสีเหลือง บางผลในช้อยัง เป็นสีเขียวอยู่ สีเนื้อจะขุ่นเป็นฝ่ำสหวานไม่สนิท
ระยะที่ 3 สัปดาห์ที่ 13-ระยะ เก็บเกี่ยว	สีเปลือกเปลี่ยนเป็นสีเหลืองนวล และส้มน้ำ เนื้อในมีกลิ่น หอม และรสชาติหวานสนิท พร้อมเก็บเกี่ยวได้

ที่มา: สุรกิตติ (2536)

2.5 การเก็บเกี่ยวผลลองกอง

2.5.1 ดัชนีการเก็บเกี่ยว (นพรัตน์, 2528)

ผลลองกองเป็นผลไม้ประเภท non-climacteric เช่นเดียวกับกลางสาต ซึ่งมีอัตราการหายใจต่ำมาก ในระยะเก็บเกี่ยว คล้ายส้ม เงาะ และ ลิ้นจี่ ไม่สามารถนำมาบ่มได้ จึงเป็นสาเหตุให้เกิดปัญหาด้านคุณภาพ เนื่องจากการสุกที่ไม่พร้อมกันในส่วนเดียวกัน และในช่อเดียวกัน (สุรกิตติ, 2536) ดังนั้นดัชนีการเก็บเกี่ยวจึงเป็นตัวชี้ระยะสุกที่เหมาะสมของผลลองกอง ซึ่งมีหลายประการดังนี้

2.5.1.1 การเปลี่ยนแปลงสีผิวเปลือก เมื่อผลลองกองเปลี่ยนเป็นสีเหลืองทั้งช่อ และ เนื้อเริ่มเปลี่ยนเป็นสีขาวใสตลอดผล

2.5.1.2 การนับอายุของผล คือนับจากผลเริ่มเปลี่ยนสีประมาณ 15-25 วัน หรือนับ จากดอกเริ่มบานจนถึงผลสุกประมาณ 180-220 วัน

2.5.1.3 การเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของกลีบเลี้ยงและก้านช่อผล

2.5.1.4 การชิม และการอ่อนตัวของผล

2.5.1.5 การเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่อปริมาณกรดที่ ไตเตรทได้ อยู่ในช่วง 17.0-18.3 ซึ่งเป็นช่วงที่ผู้บริโภคมีความพอใจ

อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลลองกองคือระยะที่ผลสุก ร้อยละ 80-90 เนื่องจากการขนส่งไปยังตลาดที่ไกล ไม่ควรเก็บในช่วงผลสุกร้อยละ 100 จะทำให้ผลร่วงจากช่อมาก แต่ทั้งนี้ควรใช้หลาย ๆ วิธีร่วมกันในการเก็บเกี่ยว

2.5.2 วิธีการเก็บเกี่ยว (สุรกิตติ, 2536; ไพโรจน์, 2525)

2.5.2.1 การตัดช่อผลให้สอดคล้องกรไถ่เข้าไปในช่องที่พอมีระหว่างโคนช่อกับกิ่ง ในกรณี ผลลองกองอัดแน่นกับกิ่ง ควรเด็ดผลโคนช่อ 1-2 ผล

2.5.2.2 รับประทานผลที่เก็บเกี่ยวแล้ว มาวางในที่ร่มควรใช้กรรไกรตัดแต่งช่อผล ตัด หรือปลิดผลขนาดเล็ก ผลเน่า ผลที่สัตว์หรือแมลงเข้าทำลายออกจากช่อผล แล้วทำการคัดแยกช่อผลที่มี ขนาดต่างกัน บรรจุในตะกร้าหรือกล่องกระดาษ

2.5.3 การจัดชั้นคุณภาพลองกอง (อภิชัย, 2541)

การจัดชั้นคุณภาพของผลผลิตลองกองจะใช้ขนาดของผล ช่อผล และสีผิวของผลเป็นหลักในการ แบ่ง ซึ่งสามารถแบ่งได้ 4 แกรด ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 การจัดชั้นคุณภาพของผลผลิตลองกอง

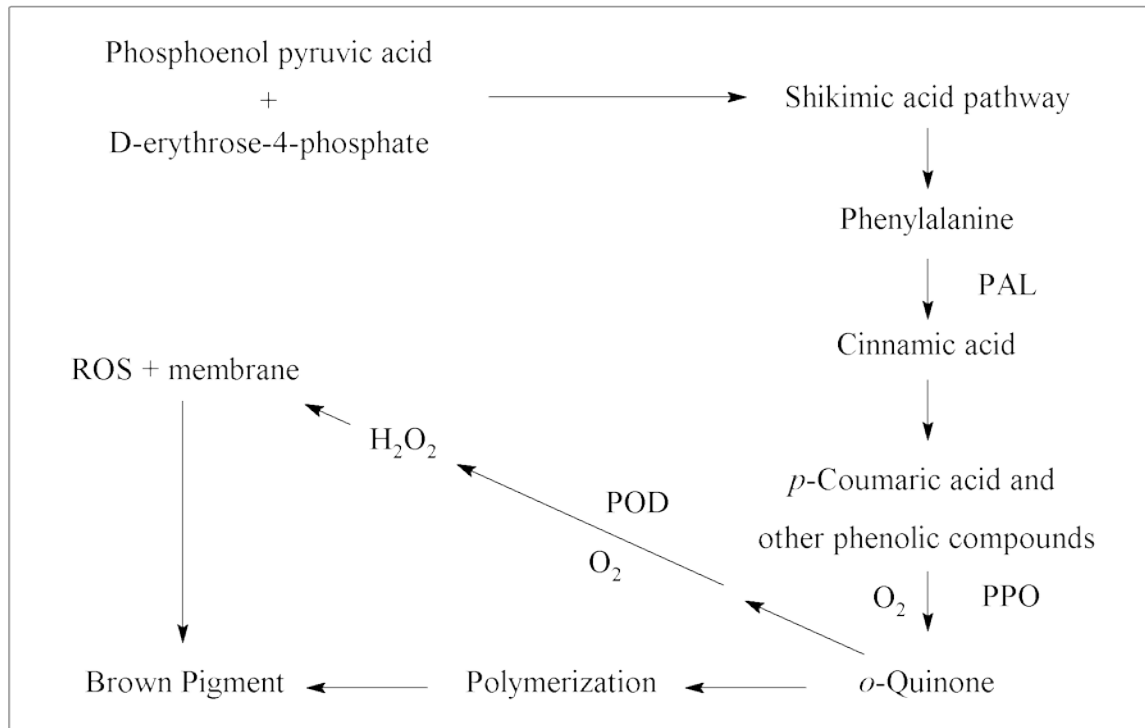
เกรด	ลักษณะของผลและข้อผล
A	ขนาดผลในช่อโตสม่ำเสมอ เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 3 เซนติเมตร น้ำหนักผลจำนวน 2-3 ผลต่อ 1 กรัม ข้อผลหนักตั้งแต่ 0.7 กิโลกรัมขึ้นไป ผลสุกสีเหลืองนวลหรือสีอิฐ เปลือกนํมมีรสชาติดหวานหอม ปลอดภัยจากโรคและแมลง เนื้อในสีใสเป็นแก้ว มองเห็นเมล็ด
B	ขนาดผลเล็กรองจากเกรด A เส้นผ่าศูนย์กลางมากกว่า 2-3 เซนติเมตร ข้อยาว 20-25 เซนติเมตร น้ำหนักผลจำนวน 4-5 ผลต่อ 1 กรัม ข้อผลหนักตั้งแต่ 0.7 กิโลกรัม ลงมา ผลสุกสีเหลืองนวลหรือสีอิฐ เปลือกนํมมีรสชาติดหวานหอม ปลอดภัยจากโรคและแมลง เนื้อในสีใสเป็นแก้ว
C	ขนาดผลโตไม่สม่ำเสมอ ข้อเล็กมีผลประมาณ 3-15 ผล ผลสุกสีเหลืองนวลหรือสีอิฐ เปลือกนํมมีรสชาติดหวานอมเปรี้ยว อาจมีร่องรอยของโรคและแมลงทำลายได้ เนื้อในมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย
เกรดต่ำ	เป็นผลลองกองร่วง ผลโตไม่สม่ำเสมอ มี 2 ชนิดคือ - ลองกองมีขั้วผล มีขั้วติดที่ผลในช่อมีผล 3-4 ผล ต่อข้อผล สีเหลืองนวล รสชาติดหวานหรือหวานอมเปรี้ยว มีร่องรอยของโรคและแมลงทำลายได้ - ลองกองไม่มีขั้วผล มีน้ำหวานไหลออกจากขั้วผล ผลสุกเต็มที่จนร่วงจากขั้วและข้อผล รสชาติดหวานหอม อาจมีร่องรอยของโรคแมลงทำลายเน่าเสียได้ง่าย เก็บไว้บริโภคภายใน 1-2 วัน

ที่มา: อภิชัย (2541); สุรจิตติ (2536)

การเสื่อมคุณภาพของผลลองกองเป็นลักษณะหนึ่งที่ผู้บริโภคไม่ต้องการ และไม่สามารถจำหน่ายได้ เป็นเหตุให้สูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค ลักษณะการเสื่อมคุณภาพของผลลองกอง ได้แก่ การเกิดสีน้ำตาลของผล การหลุดร่วงและการเกิดโรค ซึ่งการเกิดสีน้ำตาลจัดเป็นลักษณะที่ส่งผลให้ราคาขายลดต่ำลง และต้องขายอีกระดับราคาหนึ่ง สาเหตุของการเกิดสีน้ำตาลเกิดเนื่องมาจากการปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล ซึ่งอยู่ใน vacuole และ เอนไซม์ ที่อยู่ใน cytoplasm ในขณะที่มีก๊าซออกซิเจน แล้วเกิดเป็นสีน้ำตาลขึ้น

2.6 กลไกการเกิดสีน้ำตาล

กลไกการเกิดสีน้ำตาลเริ่มจากการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล โดยได้จากการรวมตัวกันของโมเลกุล phosphoenol pyruvate จาก glycolysis และ erythrose-4-phosphate จาก Calvin cycle หรือ pentose phosphate pathway เข้าสู่ shikimic acid pathway เพื่อสังเคราะห์เป็นสารประกอบฟีนอล ได้แก่



รูปที่ 2.1 ขั้นตอนการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอล และการเกิดสีน้ำตาล (จริงแท้, 2538; McEvily และคณะ, 1992).

สารประกอบที่มีฟีนอลเป็นองค์ประกอบสำคัญ และอาจมีหมู่เคมีอื่น ๆ เข้ามาเกาะที่ตำแหน่งต่าง ๆ เช่น cinnamic acid, caffeic acid, chlorogenic acid, anthocyanins และ tannin รวมทั้ง tyrosine และ phenylalanine โดย phenylalanine เป็นสารตั้งต้น (precursor) ของสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ โดยการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine ammonialyase (PAL) ดึงเอา amino group ออกจาก phenylalanine ได้เป็นกรด cinnamic acid (รูปที่ 2.1;จริงแท้, 2538) ต่อมาเมื่อเนื้อเยื่อพืชได้รับความเสียหาย เช่น การสูญเสียน้ำ เกิดบาดแผล การบอบช้ำ และการเสื่อมสภาพ เป็นผลให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลในเนื้อเยื่อพืช และเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) ในสภาพที่มีออกซิเจน สาร o-diphenols ถูกเติมหมู่ไฮดรอกซิล ซึ่งจะถูกรีดออกซิไดซ์ต่อไปเป็น o-quinone (Wakayama, 1995) ต่อมาจะรวมตัวกันอย่างรวดเร็วและอาจจะรวมหรือไม่รวมกับการดออะมิโนหรือกลุ่มซัลไฮดริล (sulfhydryl) ของโปรตีน (cystein) โดยจะรวมกันเป็นโมเลกุลใหญ่เกิดเป็นสารให้สีในที่สุด (Matheis, 1983) ในขณะเดียวกันเอนไซม์ peroxidase (POD) สามารถใช้สารประกอบฟีนอลเป็นสารตั้งต้น ได้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเมื่อมีมากในเซลล์พืชจะส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระ(ROS) และเซลล์เกิดเป็นสีน้ำตาลที่ผนังเซลล์มากขึ้นดังรูปที่ 2.1

2.7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล

1. สารประกอบฟีนอล

สารประกอบที่มี phenol เป็นองค์ประกอบสำคัญและอาจมีหมู่เคมีอื่น ๆ เข้ามาเกาะที่ตำแหน่งต่าง ๆ สารในกลุ่มนี้ได้แก่ cinnamic acid caffeic acid chlorogenic acid catechol anthocyanin และ tannin (จริงแท้, 2538) สารประกอบฟีนอลพบบริเวณ vacuole ซึ่งรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ในรูปที่ละลายน้ำ (tannins) หรือรวมกันอย่างสมบูรณ์ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ (lignins) (Macheix และคณะ, 1990) ในผล apricot การเกิดสีน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอล (Vamos-vigyazo และคณะ, 1979) และความรุนแรงในการเกิดสีน้ำตาลยังขึ้นกับความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วย ซึ่งพบในผลแอปเปิ้ลพันธุ์ Rome พันธุ์ Empire และพันธุ์ Golden Delicious (Heller, 1994)

2. เอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO)

เป็นเอนไซม์ที่สามารถเปลี่ยนโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลไปเป็นสาร quinone แล้วรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ขึ้น และมีสีน้ำตาล (จริงแท้, 2538; Kader และ Chordas, 1984) กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่ละลายอยู่ในเซลล์จะเพิ่มมากขึ้นในขณะที่ยังผลสุก โดยคาดว่าเอนไซม์ PPO อยู่ใน plastid และถูกปลดปล่อยสู่ cytoplasm (Mayer และ Harel, 1991) จากการศึกษาจุดกระสีน้ำตาลในผลกล้วยซึ่งกระจายอยู่ทั่วไปบนเปลือก โดยส่วนใหญ่เริ่มจากผิวหนังที่ติดกับขั้วผลก่อน จุดกระสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นผลเนื่องมาจากเอนไซม์ PPO ออกซิไดซ์ dopamine ซึ่งเป็นสารฟีนอลที่มีอยู่ทั่วไปในผลกล้วย (Andrews และ Pridham, 1967)

3. เอนไซม์ phenylalanine ammonialyase (PAL)

เอนไซม์ PAL เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกระบวนการสร้างสารประกอบฟีนอล โดยไปเร่งให้ phenylalanine เปลี่ยนไปเป็น cinnamic acid และสารประกอบฟีนอลอื่น ๆ โดยเอนไซม์ PAL จะอยู่บริเวณ cytoplasmic plastics mitochondria และ microbodies ส่วน pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 8.0-8.7 (Hanson และ Havir, 1981) โดยทั่วไปการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ PAL จะสัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอล ผลไม้ที่ยังอ่อนอยู่จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ PAL สูงสุดและลดลงอย่างรวดเร็วในผลที่กำลังพัฒนา (Macheix และคณะ, 1990) นอกจากนี้การเกิดบาดแผลสามารถชักนำให้กิจกรรมเอนไซม์ PAL และการสลายสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อพืช (Dixon และ Paiva, 1995) และต่อมาเกิดการรวมตัวกันเป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ใน cell wall เกิดเป็นสารสีน้ำตาลขึ้น (Macheix และคณะ, 1990)

4. เอนไซม์ Peroxidase (POD)

เอนไซม์ POD เป็นเอนไซม์ ที่ประกอบด้วยโลหะไอรอน และอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ oxidoreductase เอนไซม์ POD จะทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้เป็นสารอนุมูลอิสระซึ่งจะส่งผลให้เซลล์ผลไม้เกิดการเสื่อมสภาพ และเกิดเป็นสารสีน้ำตาลขึ้น นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ lignification, ethylene biosynthesis, praline hydroxylation, IAA degradation และอื่น ๆ (Pressey, 1990) เอนไซม์ POD พบในขณะที่เกิดบาดแผล สภาวะเครียด และขณะเกิดโรค นอกจากนี้

เอนไซม์ POD ยังสามารถเร่งขบวนการออกซิเดชัน โดยไปเร่งสารประกอบฟีนอลในขณะที่มีออกซิเจนอยู่ และส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลภายหลังการเก็บเกี่ยวผลไม้ เช่น แอปเปิ้ล (Richard-Forget และ Gauillard, 1997) สับปะรด (Selvarajah และคณะ, 1998) และผลท้อ (Sutte, 1989)

2.8 การควบคุมการเกิดสีน้ำตาล

กลไกการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลซึ่งมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ ได้แก่ การควบคุมการทำงานของเอนไซม์ PPO การควบคุมปริมาณ quinone การลดบทบาทของสารประกอบฟีนอล และการควบคุมปริมาณก๊าซออกซิเจน (Macheix และคณะ, 1990) การควบคุมการเกิดสีน้ำตาลด้วยวิธีการใช้สารเคมีซึ่งมีหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาล แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถนำมาใช้ในการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผัก และผลไม้ (Walker, 1975)

2.9 ไนตริกออกไซด์

ไนตริกออกไซด์ (NO) เป็นสารอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่มีสถานะเป็นก๊าซ ซึ่งเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่ามีการพบในสัตว์ แต่เพิ่งมีการพบในพืชในช่วงหลังของทศวรรษที่ 90 นี้เอง พืชสามารถสร้าง NO ขึ้นได้ทั้งปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์และไม่ใช้เอนไซม์ โดยที่ NO อาจจะเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาทางเคมีระหว่าง ไนโตรเจนออกไซด์ และสารต่างๆ เช่น ระหว่าง NO_2 และแคโรทีนอยด์ จากการสลายตัวของ nitrous oxide ภายในพืชหรือกระบวนการรีดิวซ์ของ nitrite (NO_2^-) ในสภาวะที่เป็นกรด สำหรับปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์ nitrate reductase (NR) โดยอาศัย NAD(P)H เข้าร่วมในการเร่งปฏิกิริยารีดิวซ์ NO_2^- เพื่อได้ NO ออกมา นอกจากนี้ในพืชยังพบกิจกรรมที่คล้ายกับกิจกรรมของเอนไซม์ nitrous oxide synthase (NOS) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ศึกษาในสัตว์มาก่อน เอนไซม์ที่เข้าเร่งปฏิกิริยาในการเปลี่ยน L-arginine ไปเป็น L-citrulline และ NO (จิ้งแท้, 2549)

อย่างไรก็ตาม ก็ได้มีหลายๆ งานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ NO กับผลิตผลสด จากการศึกษาพบว่า NO อาจจะเป็นสารสื่อสัญญาณในพืช เช่น ทำให้เกิดการแสดงออกของยีนที่เป็นกลไกในการป้องกันโรคของพืช ทำให้เซลล์ตาย การปิดของปากใบ การงอกของเมล็ด และการเจริญและการพัฒนาของรากพืช (Lamattina และคณะ, 2003; Neil และคณะ, 2003) นอกจากนี้ จากการศึกษาแสดงให้เห็นถึงการเป็นปฏิปักษ์กันระหว่าง NO กับ เอทิลีน (Leshem และคณะ, 1998; Leshem และ Pinchasov, 2000) ในขณะที่เอทิลีนก็มีบทบาทสำคัญในการสุกแก่และทำให้เกิดการเสื่อมของผลไม้ โดยพบว่าการใช้ NO สามารถชะลอการสุกและการเสื่อมสภาพของผลิตผลบางชนิดได้ โดย NO จะมีผลในการยับยั้งการผลิต เอทิลีน เช่น การรมด้วย NO สามารถช่วยยืดอายุหลังการเก็บเกี่ยวของ บร็อคโคลี่ ถั่วเขียว (Soegiarto และ Wills, 2004) และคาร์เนชั่น (Bowyer และคณะ, 2003) นอกจากนี้ Badiyan และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้สารประกอบที่ให้ NO มีประสิทธิภาพสูงในการยืดอายุการปักแจกันของ สแนฟดาร์กอน เบญจมาศ ทิวลิป เยอบีร่า ลิลลี่ กุหลาบ และ ไฮดรันเจีย อีกทางหนึ่ง NO อาจจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และชะลอการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อพืชได้ (Beligni และคณะ, 2002; Cheng และคณะ, 2002; Huang และ Kao, 2005; Guo และ Crawford, 2005) จากการศึกษาการใช้สารไซโตไคนนไนโตรพอสไซไซด์ ซึ่งเป็นสารที่ปลดปล่อยให้ NO มาใช้กับผลลำไยหลังการเก็บเกี่ยว พบว่าสารดังกล่าวสามารถช่วยลดกิจกรรมของ

เอนไซม์ PPO POD และ PAL ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ของเปลือกลำไย ได้ (Duan และคณะ, 2007) และจากการรมผักกาดหอมห่อแปรรูปพร้อมบริโภคด้วยก๊าซไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 500 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษา (Wills และคณะ, 2008) Pristijono และคณะ (2006) พบว่าก๊าซไนตริกออกไซด์มีผลต่อการพัฒนาการเกิดสีน้ำตาลของขึ้นแอปเปิ้ล และการรมด้วยก๊าซไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 10 ไมโครลิตรต่อลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จะลดการเกิดสีน้ำตาลได้ 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับขึ้นแอปเปิ้ลที่ไม่ได้รมด้วยไนตริกออกไซด์ จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้ทำการทดลองรม 1-Methylcyclopropene (1-MCP) กับช่อผล ลองกองพบว่าสามารถลดการหลุดร่วงได้เมื่อใช้ที่ความเข้มข้น 250 ppb ขณะที่ผลของ 1-MCP ต่อการเกิดสีน้ำตาลนั้นยังไม่ชัดเจน (Lichanporn and Kanlayanarat, 2003) ซึ่งการนำ NO มาศึกษาแทนการใช้ 1-MCP น่าจะเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดการเกิดสีน้ำตาล แต่อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลไม่มากนักที่รายงานผลการศึกษา NO ต่อการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ (Duan และคณะ, 2007) และยังไม่มียานวิจัยที่ศึกษาผลของ NO ต่อสารประกอบฟีนอล และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกผล ลองกอง

2.10 ไนตรัสออกไซด์

ไนตรัสออกไซด์ (N_2O) เป็นก๊าซธรรมชาติที่ผลิตจากแบคทีเรียในดินที่ต้องการออกซิเจนซึ่งแสดงการยับยั้งเอทิลีนในพืชชั้นสูง (Frontiera และคณะ, 1994; Gouble และคณะ, 1995; Leshem และ Wills, 1998) ไนตรัสออกไซด์มีลักษณะคล้ายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยมีโครงสร้างเป็นเส้นตรง isosteric ซึ่งมีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น มีความเสถียร และละลายน้ำได้สูงทั้งสองโมเลกุล (Leshem และ Wills, 1988; Benkeblia และ Varoquaux, 2003) การสังเคราะห์นี้เหมือนของ N_2O ไปเป็น CO_2 โดยอาจจะเข้าไปควบคุมเอทิลีนในสภาพควบคุมบรรยากาศของห้องเก็บรักษาผลไม้พวก climacteric (Leshem และ Wills, 1988) ในขณะที่ไนตรัสออกไซด์ไม่เป็นพิษ เคยใช้ในวงการแพทย์ เช่น ยาชา ยาสลบ (Gouble และคณะ, 1995) และอนุญาตให้ใช้เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร (Benkeblia และ Varoquaux, 2003) มีรายงานการใช้ N_2O กับผลิตภัณฑ์ เช่น มะเขือเทศ และ อะโวคาโด (Gouble และคณะ, 1995) เช่นเดียวกับในหัวหอม (Benkeblia และ Varoquaux, 2003) นอกจากนี้ยังมีการใช้ N_2O เพื่อยับยั้งการเน่าเสียของผลไม้ประเภท non-climacteric เช่น สตอเบอรี่ และส้ม และในผลไม้ประเภท climacteric เช่น ในแอปเปิ้ล พลัม และ มะเขือเทศ (Qudir และ Hashinaga, 2001) ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงเป็นการศึกษาผลของ NO และ N_2O ต่อสารประกอบฟีนอล เอนไซม์ฟีนอลแลซีนแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ในเปลือกผลลองกอง

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 การเตรียมวัสดุทดลอง

นำลองกองจากสวนในจังหวัดจันทบุรี เก็บเกี่ยวผลลองกองโดยนับอายุของผล คือนับจากผลเริ่มเปลี่ยนสีประมาณ 15-25 วัน หรือนับจากดอกเริ่มบานจนถึงผลสุกประมาณ 180-120 วัน (นพรัตน์, 2528) ใช้กรรไกรตัดขั้วช่อผลแล้วบรรจุลงในกล่องโฟม โดนขนส่งทางรถตู้ปรับอากาศ นำผลลองกองมาตัดเป็นลูก และคัดแยกผลที่มีตำหนิออก เลือกผลลองกองบริเวณกลางช่อผลที่มีขนาดผล 20-30 กรัม/ผล เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

นำผลลองกองที่เตรียมไว้จำนวน 2,000 ผล แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 400 ผล ตามชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 จุ่มผลลองกองในสารละลายไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 0 mM (ชุดควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 จุ่มผลลองกองในสารละลายไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 0.25 mM

ชุดการทดลองที่ 3 จุ่มผลลองกองในสารละลายไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 0.50 mM

ชุดการทดลองที่ 4 จุ่มผลลองกองในสารละลายไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 1.00 mM

ชุดการทดลองที่ 5 จุ่มผลลองกองในสารละลายไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 1.50 mM

จุ่มผลลองกองในสารไนตริกออกไซด์ ซึ่งอยู่ในรูปของสารโซเดียมไนโตรพรัสไซด์ (SNP) ไว้เป็นระยะเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้งแล้วนำเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวนทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำจะใช้ลองกองจำนวน 25 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ทุกๆ 3 วัน

การบันทึกผลการทดลอง

1. การให้คะแนนการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกผล

การเกิดสีน้ำตาลโดยการให้คะแนน (นพรัตน์, 2528) ตรวจการเกิดสีน้ำตาลของผลลองกองและให้คะแนน โดย

0 = ไม่เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกอง

2 = เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกองน้อยกว่า 25% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

4 = เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกอง 25% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

6 = เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกอง 26-49% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

8 = เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกอง 50% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

10 = เกิดสีน้ำตาลที่ผิวเปลือกผลลองกองมากกว่า 50% ของพื้นที่ผิวทั้งหมด

2. การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก

วัดสีโดยใช้เครื่องวัดสี (colorimeter) (ยี่ห้อ Minolta, รุ่น CR-300) โดยให้หัววัดแนบสัมผัสกับผิวหน้าของผลิตผลมากที่สุด และรายงานผลในระบบสี Hunter's scale ซึ่งประกอบด้วย

ค่า L เป็นค่าที่รายงานถึงความสว่างของสี มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 100

กรณีที่ ค่า L เท่ากับ 100 หมายถึง สีขาว

ค่า L เท่ากับ 0 หมายถึง สีดำ

3. ค่า pH ของเปลือกผล (Underhill และ Critchley , 1994)

นำตัวอย่างเปลือกผลลองกอง 4 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นดีไอออนซ์ ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ปั่นให้ละเอียดเป็นเวลา 1 นาที แล้วนำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter

4. ค่า browning pigment

นำตัวอย่างปริมาณ 5 กรัม ผสมกับสารละลาย sodium phosphate buffer 0.1 โมลาร์ ในเอทานอล 60 % (pH 6.8) จำนวน 17 มิลลิลิตร ใส่สาร polyvinyl pyrrolidone (PVP) จำนวน 0.5 กรัม ปั่นให้ละเอียดแล้ว นำไป centrifuge ที่แรงเหวี่ยง 4,500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 20 นาที กรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนใสที่ได้มาเจือจางในอัตราส่วน 1:4 กับ phosphate buffer จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของการรมไนตรัสออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

นำผลลองกองที่เตรียมไว้จำนวน 2000 ผล แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 400 ผล ตามชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 รมด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 2 รมด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 3 รมด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 6 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 4 รมด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 12 ชั่วโมง

ชุดการทดลองที่ 5 รมด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

รมผลลองกองด้วยก๊าซไนตรัสออกไซด์ ตามเวลาดังกล่าว ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ในภาชนะขนาด 43 ลิตรหลังจากนั้นนำผลลองกองไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) จำนวนทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำจะใช้ลองกองจำนวน 25 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ทุก ๆ 3 วัน บันทึกผลเหมือนการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ศึกษาผลของการรวมและการจุ่มไนตริกออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

นำผลลองกองที่เตรียมไว้จำนวน 2,000 ผล แบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 400 ผล ตามชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุม (ไม่จุ่ม และไม่รมด้วยไนตริกออกไซด์)

ชุดการทดลองที่ 2 ผลการทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1

ชุดการทดลองที่ 3 ผลการทดลองที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 2

นำผลลองกองไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวนทั้งหมด 4 ซ้ำ โดยในแต่ละซ้ำจะใช้ลองกองจำนวน 25 ผล ทำการสุ่มตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์ทุกๆ 3 วัน

การบันทึกผลการทดลอง

1. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) และเอนไซม์ peroxidase (POD) (Duan และคณะ, 2007)

นำตัวอย่างเปลือกผลลองกองจำนวน 20 ผล โดยเลือกเฉพาะส่วนกลางผลจำนวน 2 กรัมมาผสมกับสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (pH 7) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และ insoluble polyvinyl pyrrolidone จำนวน 0.2 กรัม แล้วนำไปปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำไป centrifuge ที่แรงเหวี่ยง $19,000 \times g$ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปหากิจกรรมเอนไซม์ PPO และ POD

การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ PPO ตามวิธีของ Jiang (2000) โดยนำสารละลายส่วนใสที่ได้มา 0.75 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย 4-methyl catchol ปริมาตร 0.12 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร ทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 30 ถึง 90 วินาที ซึ่งผลที่ได้นำไปคำนวณในหน่วย unit /mg protein

การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ POD ตามวิธีของ Zhang และคณะ (2005) โดยนำ สารละลายส่วนใส ที่ได้มา 25 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลายบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ pH 7.0 ปริมาตร 2.78 มิลลิลิตร เติม 0.1 มิลลิลิตร ของ 20 มิลลิโมล ของ H_2O_2 และ 0.1 มิลลิลิตร ของ 20 มิลลิโมล ของ guaiacol จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร ทุกๆ 30 วินาที เป็นเวลา 2 นาที โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 30 ถึง 90 วินาที ซึ่งผลที่ได้นำไปคำนวณในหน่วย unit /mg protein

2. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) (Jiang and Joyce, 2003)

นำตัวอย่างเปลือกผลลองกองจำนวน 20 ผล โดยเลือกเฉพาะส่วนกลางผลจำนวน 2 กรัมมาผสมกับสารละลาย Na borate buffer ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 8) ที่มี 0.2 กรัม ของ polyvinyl pyrrolidone 5 มิลลิโมล ของ β -mercaptoethanol และ 2 มิลลิโมล ของ EDTA นำไปปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำไป centrifuge ที่แรงเหวี่ยง $19,000 \times g$ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสที่ได้ไปหากิจกรรมเอนไซม์ PAL โดยนำ สารละลายส่วนใส ที่ได้มา 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Na borate buffer ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 8) ที่มี 3 มิลลิโมล ของ L-phenylalanine อยู่ บ่มในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 290 นาโนเมตร ผลที่ได้นำไปคำนวณในหน่วย unit /mg protein

3. ปริมาณ total phenol content ของเปลือกผล (Singleton และคณะ, 1999)

นำตัวอย่างเปลือกผลลองกองผสมกับสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 80% ในอัตราส่วน 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปั่นให้ละเอียดแล้วนำไปปั่นที่แรงเหวี่ยง $12,000 \times g$ นาน 20 นาที นำส่วนใส จำนวน 1 มิลลิลิตร มาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยทำให้เจือจางลง 10 เท่าแล้วทำการปิเปตสารตัวอย่างที่ทำการเจือจางนี้แล้วมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองและหลังจากนั้นเติมสารละลาย 0.2 N Folin-ciocalteu (สารละลาย Folin-ciocalteu ความเข้มข้น 2 นอร์มัลเจือจางลง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่น) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% (ละลายโซเดียมคาร์บอเนตจำนวน 75 กรัมด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นนำไปวางไว้ในอ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วย้ายไปวางในอ่างน้ำเย็นอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวางไว้ในที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid ความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.3 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี เลขที่ 2 ถนนพหลโยธิน 87 ซอย 2 ตำบลประชาธิปัตย์ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี 12130

บทที่ 4

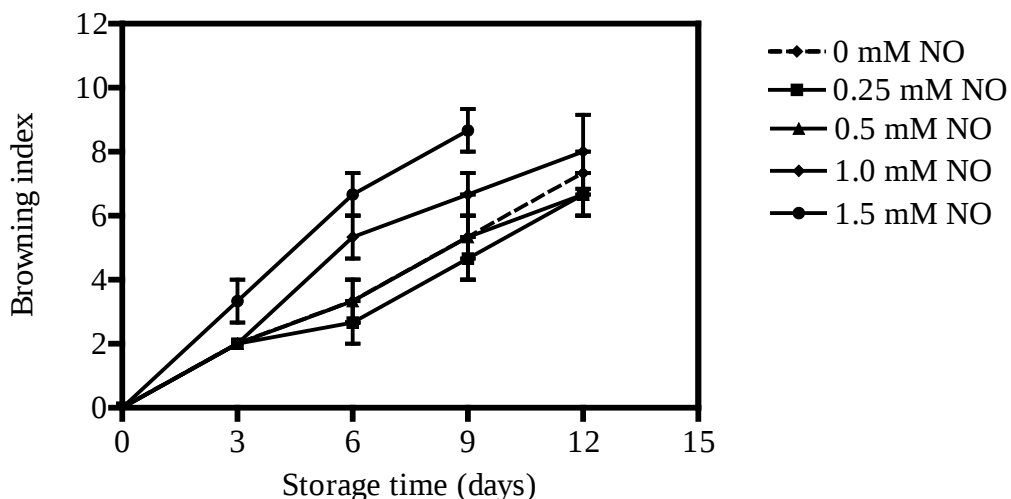
ผลการทดลอง

4.1 ผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

ผลจากการนำผลลองกองจุ่มไนตริกออกไซด์ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0 0.25 0.5 1.0 และ 1.5 mM นาน 5 นาที แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ ดังนี้

4.1.1 คะแนนการเกิดสีน้ำตาล (browning index)

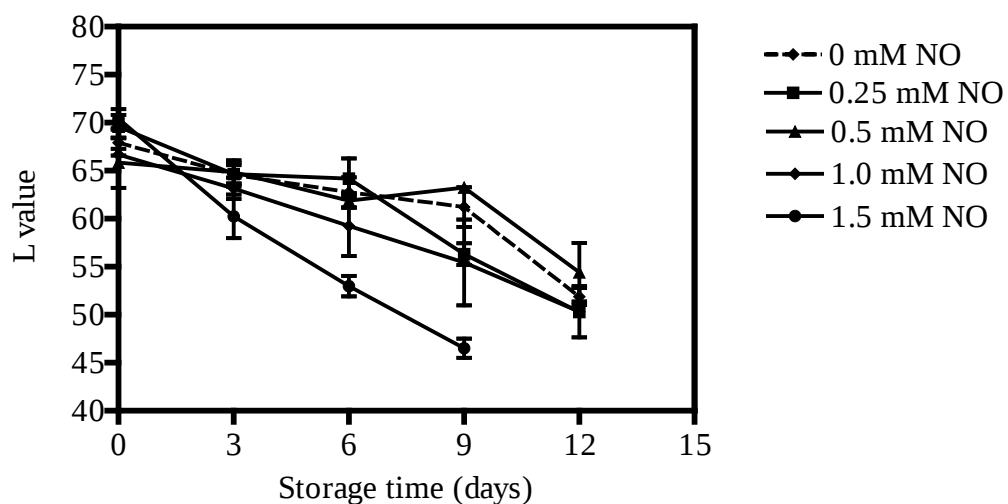
การเกิดสีน้ำตาลของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 นาน 12 วัน พบว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25 mM มีการเกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุด ในขณะที่ผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 1.5 1.0 และ 0.5 mM มีการเกิดสีน้ำตาลมากที่สุด และมีอายุการเก็บรักษา 6 9 และ 12 วัน ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.1 (ตารางภาคผนวกที่ 1)



รูปที่ 4.1. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.1.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก (L value)

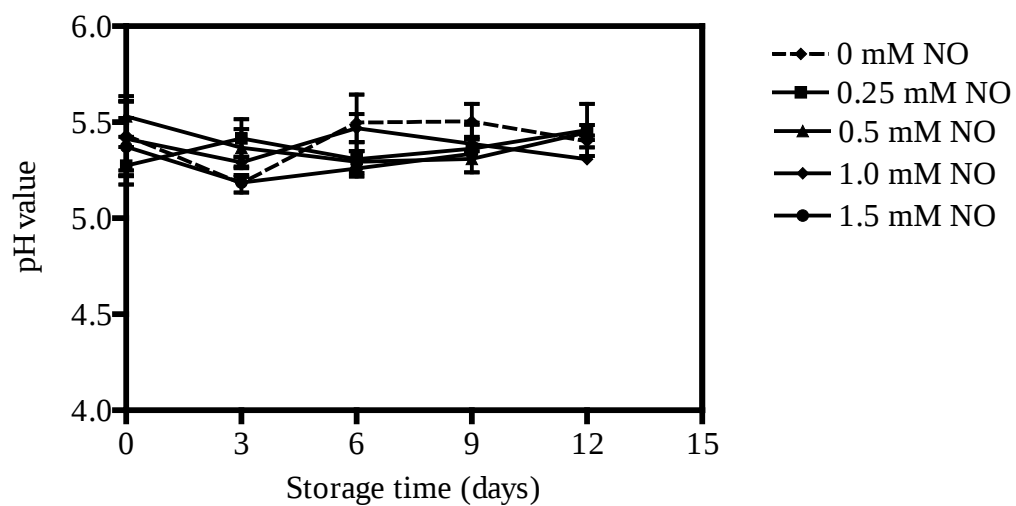
ผลลองกองมีค่า L ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดไนตริกออกไซด์พบว่าผลลองกองมีค่า L ลดลงอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 1.5 และ 1.0 mM และในวันสุดท้ายผลลองกองที่จุ่มกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 mM มีค่า L ใกล้เคียงกัน และไม่มี ความแตกต่างทางสถิติ รูปที่ 4.2 (ตารางภาคผนวกที่ 1)



รูปที่ 4.2. ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.1.3 ค่า pH ของเปลือก

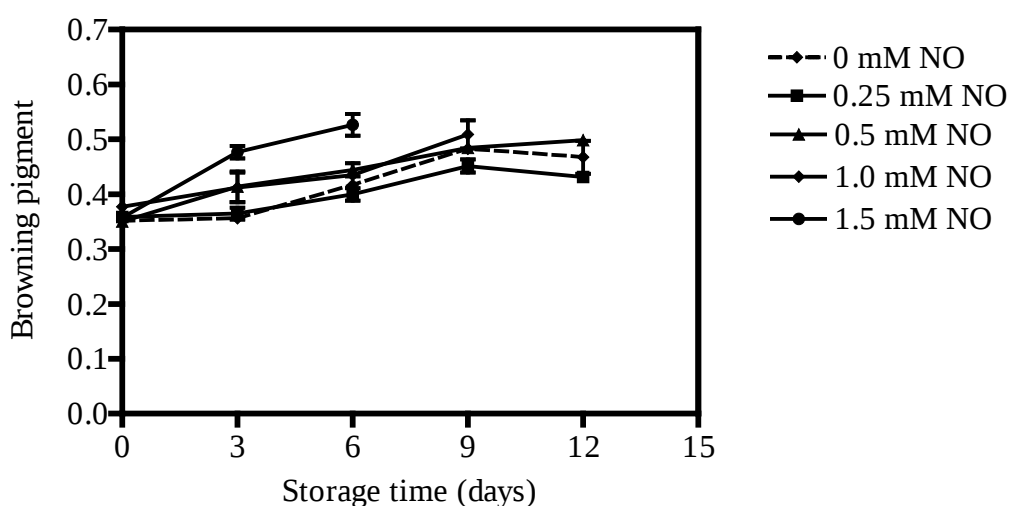
ผลลองกองทั้งที่จุ่มและไม่จุ่มกรดไนตริกออกไซด์มีค่า pH อยู่ในช่วง 5.17-5.50 และพบว่าตลอดอายุการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงค่า pH เล็กน้อย และไม่พบความแตกต่างทางสถิติ รูปที่ 4.3 (ตารางภาคผนวกที่ 3)



รูปที่ 4.3. ค่า pH ของเปลือกผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.1.4 ค่า browning pigment

ผลลองกองมีค่า browning pigment เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.5 mM มีค่า browning pigment เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 9 แตกต่างจากผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 1.0 0.5 0.25 และ 0 mM อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.25 และ 0.5 mM มีค่าใกล้เคียงกัน และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ รูปที่ 4.4 (ตารางภาคผนวกที่ 4)



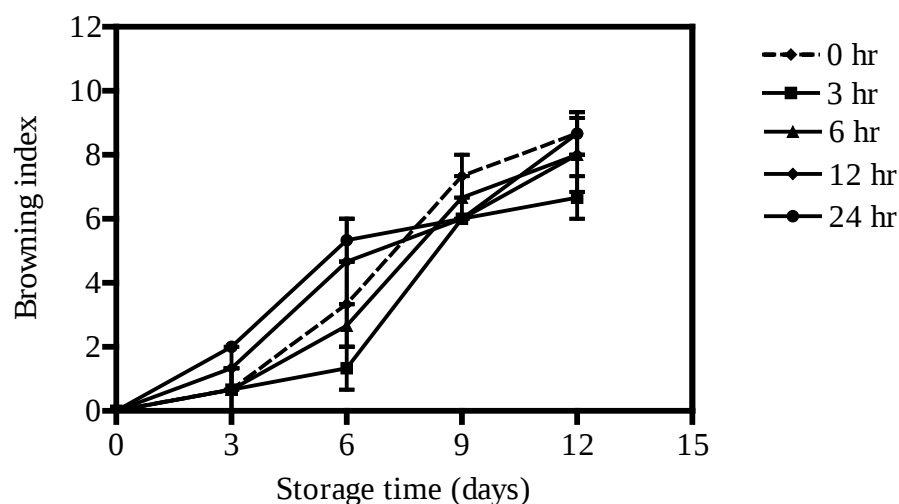
รูปที่ 4.4. Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.2 ผลของการรมไนตรัสออกไซด์ต่อการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

ผลของการนำผลลองกองรมไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 5 ระดับ คือ 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5%

4.2.1 คะแนนการเกิดสีน้ำตาล (browning index)

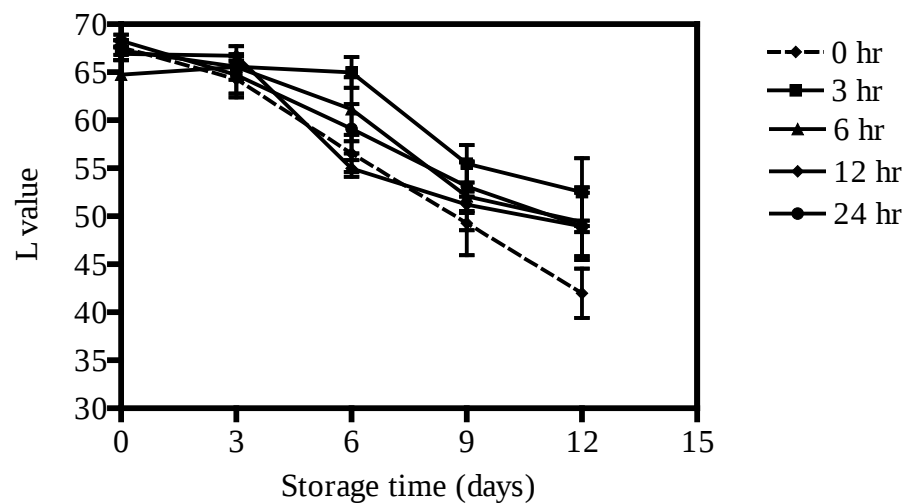
การเกิดสีน้ำตาลของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 9 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90% นาน 12 วัน พบว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% นาน 3 ชั่วโมง มีการเกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุด รองลงมาคือที่ระยะเวลา 6 ชั่วโมง ในขณะที่ผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง มีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 6 วันแรก และมากกว่าชุดการทดลองอื่นหลังจากนั้นการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นแต่น้อยกว่าชุดควบคุมจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ 90 ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาลต่ำสุด รองลงมาคือ 6 0 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่าดัชนีเท่ากับ 0.374 0.391 0.394 0.396 และ 0.401 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.5 (ตารางภาคผนวกที่ 5)



รูปที่ 4.5. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

3.2.2 การเปลี่ยนแปลงสีเปลือก (L value)

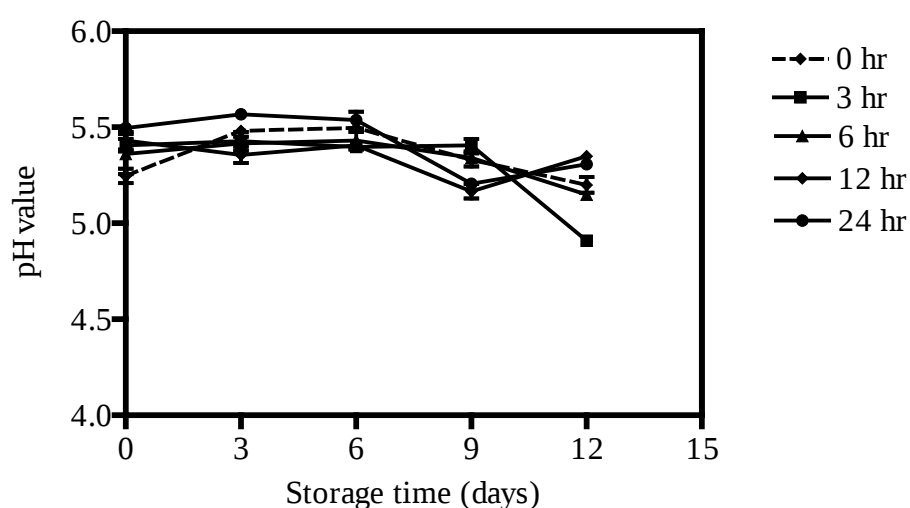
ผลลองกองมีค่า L ลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเพิ่มระยะเวลาการรมด้วย ไนโตรสออกไซด์พบว่าผลลองกองมีค่า L ลดลงอย่างรวดเร็ว ผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง มีค่า L มากกว่าชุดควบคุม โดยเฉพาะผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีค่า L มากที่สุด และในวันสุดท้ายผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ระยะเวลา 0 ชั่วโมงมีค่า L น้อยที่สุด รองลงมาคือที่ระยะเวลา 12 24 6 และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยมีค่า L เท่ากับ 41.99 46.95 48.96 และ 52.52 ตามลำดับ รูปที่ 4.6 (ตารางภาคผนวกที่ 6)



รูปที่ 4.6. ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนโตรสออกไซด์ (N_2O) ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

3.2.3 ค่า pH ของเปลือก

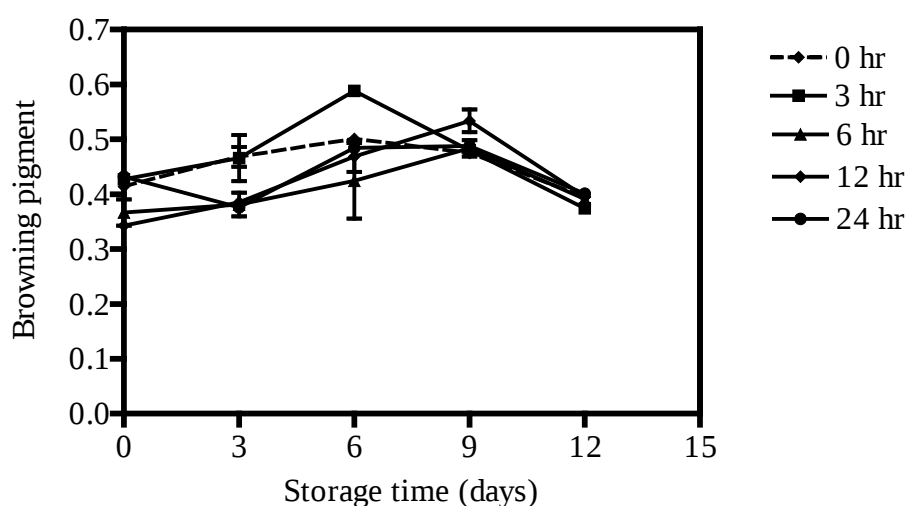
ผลลองกองทั้งที่รมและไม่รมไนตรัสออกไซด์มีค่า pH เริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.25-5.50 เมื่อเก็บรักษาผ่านไป 12 วัน พบว่าค่า pH มีค่าลดลงอยู่ในช่วง 4.91-5.35 โดยค่า pH ที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีค่าต่ำสุด รองลงมาคือระยะเวลา 6 0 24 และ 12 ชั่วโมง ซึ่งมีค่า pH เท่ากับ 4.91 5.15 5.20 5.31 และ 5.35 ตามลำดับ รูปที่ 4.7 (ตารางภาคผนวกที่ 7)



รูปที่ 4.7. ค่า pH ของเปลือกผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

3.2.4 ค่า browning pigment

ผลลองกองมีค่า browning pigment เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในวันที่ 6 และลดลงในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา โดยพบว่าผลลองกองที่รมไนตรัสออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง มีค่า browning pigment เพิ่มขึ้นสูงสุดในวันที่ 6 แตกต่างจากผลลองกองที่รมด้วยกรดไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 6 12 และ 24 ชั่วโมง ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา พบว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ทุกระยะเวลาไม่แตกต่างจากชุดควบคุม รูปที่ 4.8 (ตารางภาคผนวกที่ 8)



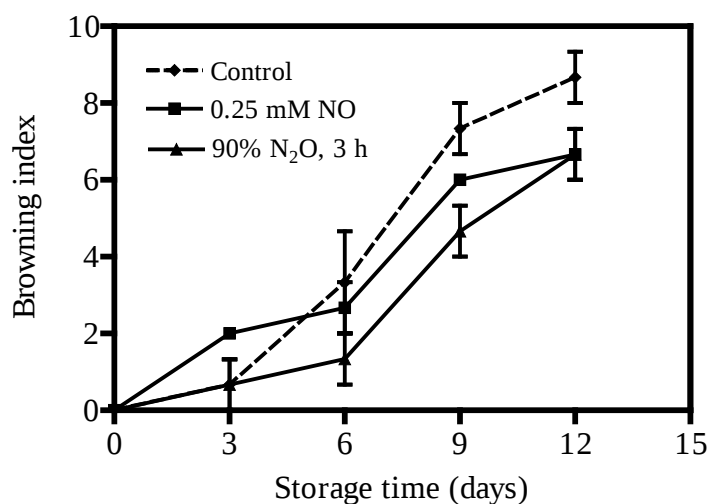
รูปที่ 4.8. ค่า Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ (N_2O) ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.3 ผลของการจุ่มไนตริกออกไซด์และการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ต่อสารประกอบฟีนอล และ เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกลองกอง

คัดเลือกผลลองกองที่จุ่มไนตริกออกไซด์ ความเข้มข้น 0.25 mM จากการทดลองที่ 1 และ ผลลองกองที่รมไนตรัสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% นาน 3 ชั่วโมง ที่ได้จากการทดลองที่ 2 แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ จากนั้นนำมาวิเคราะห์ผลดังนี้

4.3.1 คะแนนการเกิดสีน้ำตาล (Browning index)

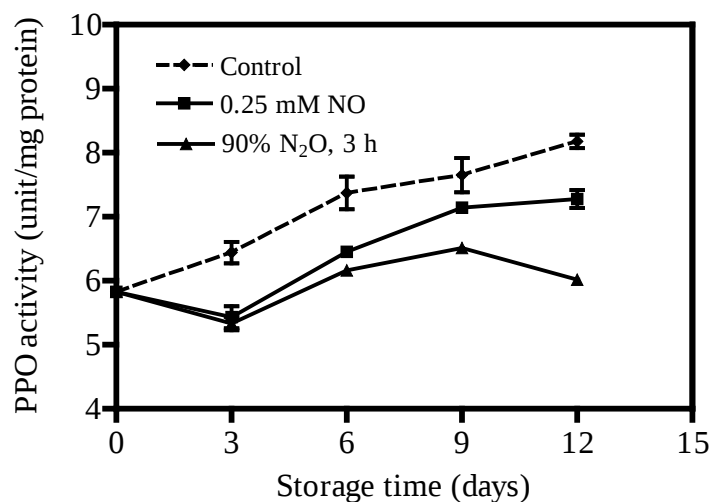
การเกิดสีน้ำตาลของผลลองกองมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์มีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วใน 3 วันแรกของการเก็บรักษาและมากกว่าชุดควบคุมและผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะค่อยๆ เพิ่มขึ้น โดยมีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลมากกว่าผลลองกองที่ผ่านการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ในขณะที่ชุดควบคุมมีการเกิดสีน้ำตาลมากที่สุด ส่วนผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีการเกิดสีน้ำตาลน้อยสุด เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา โดยผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีคะแนนการเกิดสีน้ำตาลน้อยกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 4.9)(ตารางภาคผนวกที่ 9)



รูปที่ 4.9. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

4.3.2 กิจกรรมเอนไซม์ PPO

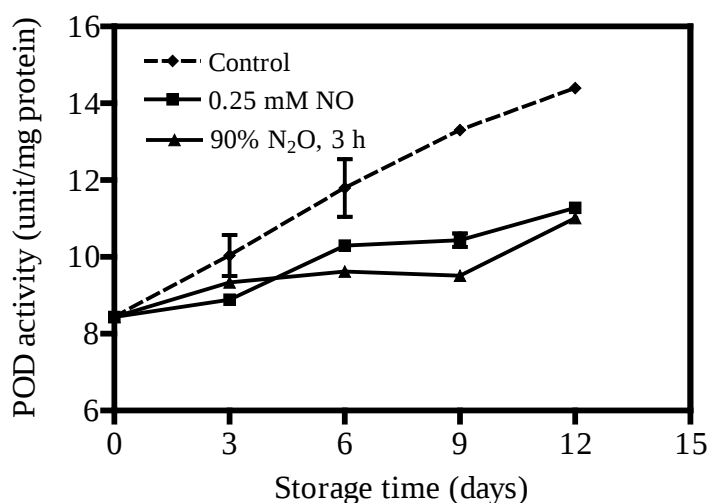
เอนไซม์ PPO ของเปลือกลองกองตลอดอายุการเก็บรักษาพบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยผลลองกองทั้งที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ และจุ่มด้วยไนตริกออกไซด์มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO น้อยกว่าชุดควบคุมตลอดอายุการเก็บรักษา โดยเฉพาะผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีกิจกรรมเอนไซม์น้อยที่สุด เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าผลลองกองมีกิจกรรมเอนไซม์ PPO แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งหลังการเก็บรักษาผ่านไป 3 วัน โดยพบว่าในวันสุดท้ายของการเก็บรักษาผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีกิจกรรมเอนไซม์ PPO ซึ่งมีค่าน้อยสุด แตกต่างจากผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ และชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ เท่ากับ 6.02 7.28 และ 8.17 unit/mg protein ตามลำดับ (รูปที่ 4.10) (ตารางภาคผนวกที่ 10)



รูปที่ 4.10. กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

4.3.3 กิจกรรมเอนไซม์ POD

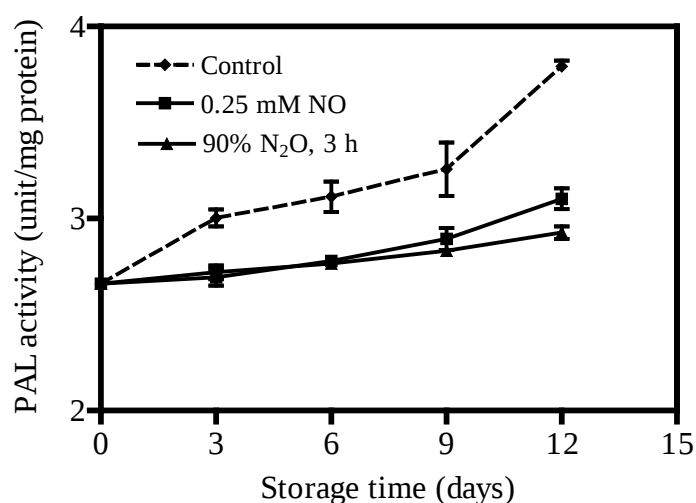
กิจกรรมเอนไซม์ POD ของเปลือกลองกองพบว่าในชุดควบคุมมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และมีปริมาณมากกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ และไนตรัสออกไซด์อย่างมีนัยสำคัญยิ่งหลังจากวันที่ 6 จนถึงวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ มีกิจกรรมเอนไซม์ POD น้อยกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ ตลอดอายุการเก็บรักษา โดยมีกิจกรรมเอนไซม์ POD เท่ากับ 11.02 11.28 และ 14.40 Units per g/FW ในผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ และชุดควบคุม ตามลำดับ (รูปที่ 4.11)(ตารางภาคผนวกที่ 11)



รูปที่ 4.11. กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

4.3.4 กิจกรรมเอนไซม์ PAL

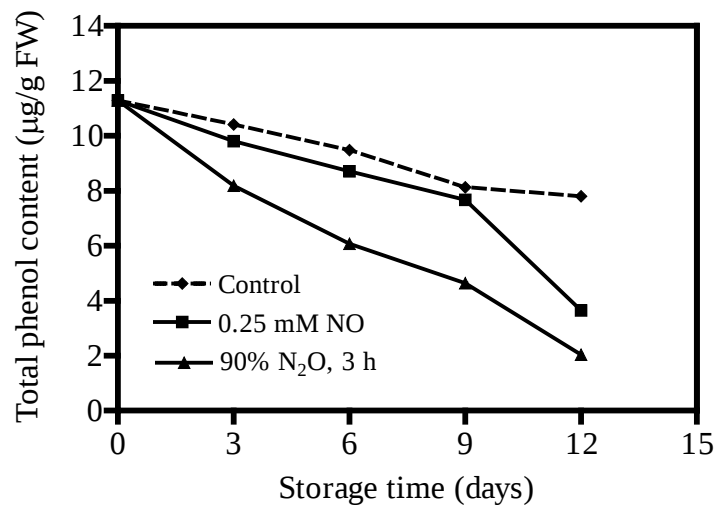
กิจกรรมเอนไซม์ PAL ในชุดควบคุมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันหลังการเก็บรักษา และเพิ่มขึ้นสูงสุดในวันสุดท้าย ในขณะที่ผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์และรมด้วยไนตรัสออกไซด์ มีกิจกรรมเอนไซม์ PAL เพิ่มขึ้นจากวันแรกเล็กน้อยและไม่แตกต่างกันจนถึงวันที่ 12 ของการเก็บรักษา แต่อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ และจุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ มีกิจกรรมเอนไซม์ PAL ต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 3.79, 3.10 and 2.93 unit/mg protein ตามลำดับ (รูปที่ 4.12) (ตารางภาคผนวกที่ 12)



รูปที่ 4.12. กิจกรรมเอนไซม์ฟีนิลลาลานีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

4.3.5 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

สารประกอบฟีนอลทั้งหมดของเปลือกลองกองมีปริมาณลดลงอย่างรวดเร็วตลอดอายุการเก็บรักษา โดยผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีสารประกอบฟีนอลลดลงอย่างรวดเร็วและต่ำกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ และชุดควบคุม ในขณะที่ผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงไม่แตกต่างจากชุดควบคุมหลังการเก็บรักษาผ่านไป 9 วัน และลดลงแตกต่างจากชุดควบคุมในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม ในวันที่สุดท้ายของการเก็บรักษาพบว่าผลลองกองในชุดควบคุม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด รองลงมาคือผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ และผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด เท่ากับ 16.33 14.79 และ 14.63 $\mu\text{g}/\text{FW}$ (รูปที่ 4.13) (ตารางภาคผนวกที่ 13)



รูปที่ 4.13. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนโตรออกไซด์ที่ความเข้มข้นสูง (1.0 และ 1.5 mM) ส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลที่เปลือกมากกว่าการใช้กรดไนโตรออกไซด์ที่ความเข้มข้นต่ำ (0.25 mM) เมื่อสังเกตจากค่า Browning index, ค่า L value, ค่า pH และค่า Browning pigment (รูปที่ 4.1-4.4) โดยมีอายุการเก็บรักษาเพียง 9 วัน ทั้งนี้ความเข้มข้นที่สูงอาจส่งผลให้ผิวเปลือกเกิดบาดแผลจากการใช้กรดที่มีความเข้มข้นสูง ส่งผลให้เซลล์เกิดการเสื่อมอย่างรวดเร็ว และไปกระตุ้นให้เกิดเอทิลีนมากขึ้น การใช้กรดไนโตรออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25 mM ช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้มากกว่าการจุ่มไนโตรออกไซด์ที่ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 mM รวมทั้งผลลองกองที่ไม่ได้จุ่มกรดไนโตรออกไซด์ (ชุดควบคุม) โดยมีอายุการเก็บรักษา 12 วัน ทั้งนี้เนื่องจากการใช้กรดไนโตรออกไซด์จากภายนอกพบว่าชะลอการเสื่อมสภาพของผลิตผลสด โดยไปยับยั้งการผลิตเอทิลีน เช่น ในผลสตอเบอรี่ (Wills และคณะ, 2000) แพร์ (Sozzi และคณะ, 2003) บล็อกโคลี ถั่วเขียว bok choy (Soegiarto และ Wills, 2004) และคาร์เนชั่น (Bowyer และคณะ, 2003) นอกจากนี้ Badiyan และคณะ. (2004) รายงานว่าการใช้ไนโตรมีประสิทธิภาพในการยืดอายุของ snapdragon, delphinium, chrysanthemum, tulip, gerbera, oriental lily, rose และ iris ขณะเดียวกันไนโตรอาจจะมีบทบาทเหมือนกับสารแอนติออกซิแดนท์โดยไปชะลอการเสื่อมสภาพของเนื้อเยื่อพืช (Beligni และคณะ, 2002; Cheng และคณะ, 2002; Huang และ Kao, 2005; Guo และ Crawford, 2005).

การรมด้วยไนตรัสออกไซด์ ชะลอการเกิดสีน้ำตาลในเปลือกลองกอง โดยการเกิดสีน้ำตาลของเปลือกเกิดขึ้นบริเวณกลางของผล (Lichanporn และคณะ, 2009) จากการทดลองพบว่าการรมผลลองกองด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ช่วยชะลอการเกิดสีน้ำตาล และมีอายุการเก็บรักษานาน 12 วัน โดยมีค่า Browning index ค่า pH และ Browning pigment ต่ำกว่าผลลองกองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ เป็นเวลา 6 12 และ 24 ชั่วโมง และการรมผลลองกองด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% เป็นเวลา 3 ชั่วโมงมีค่า L สูงกว่าชุดการทดลองอื่น (รูปที่ 4.5-4.8) ซึ่งแสดงว่าผลลองกองเกิดสีน้ำตาลช้า ทั้งนี้ไนตรัสออกไซด์มีการละลายในเซลล์ผลไม้ในอัตราสูง ประมาณ 77% ถึงแม้ว่าในเนื้อเยื่อเป็นการดูดซับแบบผันกลับอย่างสมบูรณ์ (Gouble และคณะ, 1995) มีรายงานว่ามีการรมด้วยไนตรัสออกไซด์ยืดอายุการเก็บรักษาหอมหัวใหญ่ และสตอเบอรี่โดยส่งผลต่อคุณภาพทางด้านสรีระและเคมีของผลไม้ (Qadir และคณะ, 2000) ต่อมา Gouble และคณะ. (1995) รายงานว่าการรมด้วยไนตรัสออกไซด์จะเพิ่มคุณภาพด้านสรีระและเคมีของโอวากาโดเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และ Benkeblia และ Varoquaux (2003) สังเกตว่าปริมาณน้ำตาลในหอมหัวใหญ่ที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย McMurchie และคณะ. (1972) พบว่ามี 2 ระบบที่ควบคุมการสังเคราะห์เอทิลีนในพืชชั้นสูง ระบบที่ 1 เกี่ยวข้องกับการผลิตเอทิลีนในผลไม้ที่ไม่มีการสุก ขณะที่ระบบที่ 2 จะชักนำทั้ง ACS และ ACO ระหว่างผลไม้ประเภท climacteric การผลิตเอทิลีนระหว่างการสุกของผลไม้ (Barry และคณะ, 2000) มีความเป็นไปได้ที่การรมด้วยไนตรัสออกไซด์อาจจะชะลอการเสื่อมสภาพโดยใช้กลไกทั้งสองระบบ (Gouble และคณะ, 1995; Bemish และคณะ, 1996): (1) ฟอรั่มที่จับกันของ N₂O-ethylene complex ในระบบที่ 1; หรือ (2) การยับยั้ง ACO

และ การสังเคราะห์ ACC synthase (ACS) synthesis และปฏิกิริยาในระบบที่ 2 การคล้ายกันของ ไนโตรสออกไซด์กับ CO₂ สามารถสังเกตได้จากการทำงานของสองโมเลกุล อาจจะคล้ายกัน อย่างไรก็ตามผลของ ไนโตรสออกไซด์ และคาร์บอนไดออกไซด์ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลสตรอเบอรี่ (Qadir และคณะ., 2000) ซึ่งไนโตรสออกไซด์อาจจะกระทำต่อกระบวนการสุกผ่านระบบที่ 2 ขึ้นอยู่กับกลไกของเอทิลีน เพราะการสุกของสตรอเบอรี่ไม่ขึ้นกับ ethylene climacteric (Perkins-Veazie และคณะ., 1995). ดังนั้นรูปแบบของสารประกอบเชิงซ้อนของ N₂O-ethylene สามารถยับยั้งระบบที่ 1 และการยับยั้งของปฏิกิริยานี้มีรายงานว่าชะลอการสุกการเสื่อมสภาพ (Klee, 2004) ถ้าไนโตรสออกไซด์จับกับเอทิลีน เอทิลีนจะไม่สามารถจับกับตัวรับได้จนกว่าการแสดงออกของเอทิลีนในระบบที่ 1 มีปริมาณต่ำ ต่อมากระบวนการสุกหรือการเสื่อมสภาพจึงจะเริ่มขึ้น เอทิลีนในระบบที่ 1 นี้มีลักษณะเหมือนกับไนโตรสออกไซด์ ซึ่งถูกรายงานว่า 60% CO₂ ไม่เหมือนไนโตรสออกไซด์ ซึ่งจะไปลดอัตราการหายใจแบบ climacteric เนื่องจากการยับยั้งของ ACO และการสังเคราะห์และการกระทำของ ACS แต่ไม่ชะลอการเสื่อมสภาพในช่วงแรก (Clendennen และ May, 1997)

การเกิดสีน้ำตาลในผักและผลไม้จะสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เช่น ในกล้วย (Nguyen และคณะ., 2003) ลิ้นจี่ (Jiang, 2000) และผักกาดหอมห่อ (Tomás-Barberán และคณะ., 1997) การเกิดสีน้ำตาลเป็นผลมาจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ PAL, PPO และ POD โดยเอนไซม์ PAL เป็นเอนไซม์ ที่เร่งการเปลี่ยน phenylalanine ไปเป็น trans-cinnamic acid ในขบวนการของ phenylpropanoid ซึ่งเป็นขั้นตอนแรกของการเกิดสีน้ำตาลในพืชชั้นสูง เอนไซม์ POD สามารถเร่งการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลในขณะที่มีออกซิเจน ส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นในผลไม้หลังการเก็บเกี่ยว เช่น แอปเปิ้ล (Richard และ Gauillard, 1997) สับปะรด (Selvarajah และคณะ., 1998) และลูกท้อ (Stutte, 1989) ในขณะเดียวกันเอนไซม์ PPO ใช้สารตั้งต้นฟีนอลิกในขบวนการเกิดสีน้ำตาล (McEvily และคณะ., 1992) จากการทดลองพบว่าค่า Browning index ของผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ความเข้มข้น 0.25 mM และการรมผลลองกองด้วยไนโตรสออกไซด์ความเข้มข้น 90% นาน 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่ได้จุ่มหรือรม (ชุดควบคุม) พบว่าการรมด้วยไนโตรสออกไซด์ ความเข้มข้น 90% นาน 3 ชั่วโมง ชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้อย่างมีนัยสำคัญในช่วง 9 วันแรกของการเก็บรักษา (รูปที่ 4.9) สอดคล้องกับการวัดกิจกรรมเอนไซม์ PPO ที่มีกิจกรรมต่ำ คือ 6.51 unit/mg protein เมื่อเทียบกับผลลองกองที่จุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25 mM และชุดควบคุม ซึ่งมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 7.14 และ 7.65 unit/mg protein ตามลำดับ (รูปที่ 4.10) กิจกรรมเอนไซม์ POD และ PAL ของผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ 90% นาน 3 ชั่วโมง มีค่าน้อยกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์และชุดควบคุม (รูปที่ 4.11-4.12) ในขณะที่สารประกอบฟีนอลของผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ 90% นาน 3 ชั่วโมง มีปริมาณสูงกว่าผลลองกองที่จุ่มด้วยไนตริกออกไซด์ และชุดควบคุมในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา (รูปที่ 4.13) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าทั้งไนโตรสออกไซด์ และกรดไนตริกออกไซด์ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของผลลองกองในช่วงแรก ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เปลือก โดยสารประกอบฟีนอลยังคงมีปริมาณสูง และกิจกรรมของเอนไซม์ PPO POD และ PAL มีกิจกรรมเกิดขึ้นน้อยในผลลองกองที่รมด้วยไนโตรสออกไซด์ และจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ ในอีกทางหนึ่งทั้งไนโตรสและกรดไนตริกออกไซด์มีผลโดยตรงในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ PPO และ POD จากรายงานของ Bogdan (2001) พบว่ากรดไนตริกออกไซด์สามารถจับกับ

ตำแหน่งของโลหะ เช่น เหล็ก ทองแดง และสังกะสี และ thiol-containing proteins เช่นเดียวกับรายงานของ Clark และคณะ (2000) และ Barcelo และคณะ. (2002) พบว่า ไนตริกออกไซด์ยับยั้ง haemcontaining enzymes, catalase และ peroxidases ซึ่งมีผลต่อระดับของ reactive oxygen species และการพัฒนา xylem ส่วนเอนไซม์ PAL เป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับขบวนการสร้างสารประกอบฟีนอลในผลไม้ และถูกชักนำโดยสภาวะที่มีความเครียด (Dixon และ Paiva, 1995) การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ PAL สัมพันธ์กันกับเนื้อเยื่อน้ำตาลในผักผลไม้ระหว่างการเก็บรักษา (Loaiza-Velarde และคณะ., 2003; Nguyen และคณะ., 2003; Fujita และคณะ., 2006) ในการศึกษาเนื้อที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ และจุ่มด้วยกรดไนตริกสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ PAL ในผลลองกองระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเกี่ยวข้องกับการลดค่าดัชนีการเกิดสีน้ำตาล (Browning index) ซึ่งสอดคล้องกับการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PAL ด้วยไนตรัสและไนตริกออกไซด์ มีรายงานใน *Taxus cells cultures* (Wang และ Wu, 2005) แต่หลังจากวันที่ 6 จนกระทั่งหมดอายุการเก็บรักษา ปริมาณสารประกอบฟีนอลไม่มีความแตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ PPO และ POD เร่งกระบวนการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลไปเป็น quinines และรวมตัวกับ tannins เป็นสีน้ำตาล ในระยะสุดท้ายของการเก็บรักษา กิจกรรมเอนไซม์ PPO และ POD จึงมีปริมาณเพิ่มขึ้น เป็นไปได้ว่ามีการเร่งการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลและต่อมาเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นในส่วนของเปลือกผลลองกอง

บทที่ 6

สรุปผลการทดลอง

1. จากการศึกษารสชาติของผลของกลองที่จุ่มในไตรออกไซด์ความเข้มข้น 0 0.25 0.5 1.0 และ 1.5 mM นาน 5 นาที แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส พบว่าผลของกลองที่จุ่มในไตรออกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.25 mM จะลดการเกิดสีน้ำตาล และเก็บรักษาได้นาน 12 วัน
2. จากการศึกษารสชาติของผลของกลองที่รมไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 3 6 12 และ 24 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส พบว่าผลของกลองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีการเกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับผลของกลองที่รมด้วยไนตรัสออกไซด์ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 0 6 และ 12 ชั่วโมง
3. จากการศึกษารสชาติของผลของกลองที่จุ่มในไตรออกไซด์ความเข้มข้น 0.25 mM และรมไนตรัสออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลของกลองที่ไม่รมและไม่จุ่ม (ชุดควบคุม) แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส พบว่าผลของกลองที่รมไนตรัสออกไซด์ที่ความเข้มข้น 90% ระยะเวลา 3 ชั่วโมง จะลดการเกิดสีน้ำตาล โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง และมีกิจกรรมเอนไซม์ฟีนอลลาสานินแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในเปลือกผลของกลองน้อยที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิชาการเกษตร, สถาบันวิจัยพืชสวน, 2540, เอกสารวิชาการมาตรฐานพันธุ์พืชสวน, 346 หน้า.
- เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์, มโนธรรม สัจจถาวร, อุดลย์ พงศ์สุวรรณ, บรรณ บุรณะ และลิขิต เอียดแก้ว, 2531, ลางสาด-ลองกอง, กลุ่มเกษตรสัญจร, 63 หน้า.
- นพรัตน์ พันธุวิช, 2528, การเจริญเติบโตของผลัดขึ้นการเก็บเกี่ยว และการปฏิบัติหลังการเก็บเกี่ยวของผลลองกอง, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 98 หน้า.
- จริงแท้ ศิริพานิช, 2538, สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวของผักและผลไม้, นครปฐม, โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ, 396 หน้า.
- จริงแท้ ศิริพานิช, 2549, ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม, 453 หน้า.
- ไพโรจน์ มาศผล, 2522, “ลองกอง,” วิทยาสารกองพืชสวน, ปีที่ 3, ฉบับที่ 3, หน้า 70-79.
- ไพโรจน์ จ้วงพานิช, 2525, หลักวิชาโรคพืช:วิทยาการก่อนและหลังการเก็บเกี่ยวลองกอง, บริษัทสารมวลชน, 393 หน้า.
- มงคล ศรีวัฒนวรชัย, พิมพ์พรรณ ตันสกุล และไพรัตน์ นาควิโรจน์, 2523, รายงานการวิจัยเรื่องการศึกษาสภาวะการออกดอกติดผล และคุณภาพของลองกองบางพันธุ์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 45 หน้า.
- สุธัญญา จันทาทักษิณภาส และสุรพงษ์ โกสิยะจินดา, 2530, “การเจริญเติบโตของลองกอง,” วารสารเกษตรศาสตร์, ปีที่ 21, หน้า 142-150.
- สุรกิตติ ศรีกุล, 2536, “วิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวลองกอง,” เรื่องเทคโนโลยีการผลิตและการเก็บเกี่ยวพืชสวนในภาคใต้เพื่อการส่งออก วันที่ 22-24 กันยายน 2536, ศูนย์วิจัยพืชสวนสุราษฎร์ธานี, สุราษฎร์ธานี, หน้า 53-78.
- อภิชัย พันธุมาศ, 2541, การปลูกลองกอง, อักษรสยามการพิมพ์, 88 หน้า.
- Andrews, R.S. and Pridham, J.B., 1967, “Melanins from DOPA containing plants,” *Phytochemistry*, Vol. 6, pp. 13-18.
- Badiyan, R.B.H. Wills and Bowyer, M.C., 2004, “Use of a nitric oxide donor compound to extend the vase life of cut flower”, *HortScience*, Vol. 39, pp. 1371–1372.
- Barcelo, A. R., Pomar, F., Ferrer, M. A., Martinez, P., Ballesta, M. C. and Pedreno, M. A., 2002. In situ characterization of a NO-sensitive peroxidase in the lignifying xylem of *Zinnia elegans*. *Physiologia Plantarum*, 114, 33–40.

- Barry C.S, Llop-Tous M.I and Grierson D., 2000. The regulation of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid synthase gene expression during the transition from system-1 to system-2 ethylene synthesis in tomato. *Plant Physiology* 123, 979–986.
- Bemish, R.J., Rhee, W.M. and Miller, R.E., 1996. The structure and intramolecular dynamics of the nitrous oxide-ethylene complex: Experiment and ab initio theory. *J. Chem. Phys.* 104, 4411.
- Beligni, M. V., Fath, A., Bethke, P. C., Lamattina, L. and Jones, R. L., 2002, Nitric oxide acts as an antioxidant and delays programmed cell death in Barley Aleurone ILayers, *Plant Physiology*, Vol. 129, pp. 1642-1650.
- Benkeblia, N. and Varoquaux, P., 2003. Effect of nitrous oxide (N₂O) on respiration rate, soluble sugars and quality attributes of onion bulbs *Allium cepa* cv. Rouge Amposta during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 161–168.
- Bogdan, C., 2001. Nitric oxide and the regulation of gene expression. *Trends in Cell Biology*, 11, 66–75.
- Bowyer, M. C., Wills, R. B. H., Badiyan, D. and Ku, V. V. V., 2003, Extending the postharvest life of carnations with nitric oxide-comparison of fumigation and in vivo delivery, *Postharvest Biology and Technology*, Vol. 30, pp. 281-286.
- Cheng, F. Y., Hsu, S.Y. and Kao, C.H., 2002, Nitric oxide counteracts the senescence of detached rice leaves induced by dehydration and polyethylene glycol but not by sorbitol, *Plant Growth Regulation*, Vol. 38, pp. 265–272.
- Clark J, Durner D, Navarre A. and Klessig DF., 2000, Nitric oxide inhibition of tobacco catalase and ascorbate peroxidase. *Mol Plant–Microbe Int* Vol,13,1380–1384.
- Clendennen, S.K., May, G.D., 1997. Differential gene expression in ripening banana fruit. *Plant Physiol.* 115, 463–469.
- Dixon, R.A. and Paiva, N.L., 1995, Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, Vol. 7, pp. 1085-1097
- Duan, X., Su, X., You, Y., Qu H., Li Y. and Jiang, Y., 2007, Effect of nitric oxide on pericarp browning of harvested longan fruit in relation to phenolic metabolism. *Food Chemistry* Vol. 104, pp. 571-576.
- Frontiera, M.S., Stabler, S.P., Kolhouse, J.F. and Allen, R.H., 1994. Regulation of methionine metabolism: effects of nitrous oxide and excess dietary methionine. *J. Nutr. Biochem.* 5, 28–38.
- Fujita, N., Tanaka, E. and Murata, M. 2006. Cinnamaldehyde inhibits phenylalanine ammonia-lyase and enzymatic browning of cut lettuce. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 70, 672–676.

- Gouble, H., Fath, D. and Pierre, S. 1995. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 5, 311–321.
- Guo, F.Q., and Crawford, N.M. 2005. Arabidopsis nitric oxide synthase1 is targeted to mitochondria and protects against oxidative damage and dark-induced senescence. *Plant Cell*, Vol. 17, pp. 3436–3450.
- Hanson, K.R. and Havir, E.A. 1981. Phenylalanine ammonia-lyase In *The Biochemistry of Plant*, Vol. 7, Edited by Conn, E.E., New York, Academic Press, p. 577.
- Heller, W. 1994. Topic in the biosynthesis of plant phenols. *Acta Horticulturae*, Vol. 381, pp. 46-73.
- Huang, K. T. and Kao, C. H. 2005. Nitric Oxide Counteracts the Senescence of Rice Leaves Induced by Hydrogen Peroxide. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, Vol. 46, pp. 21-28.
- Jiang, Y. M. 2000. Role of anthocyanins, polyphenol oxidase and phenols in lychee pericarp browning. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, Vol. 80, pp. 305–310.
- Jiang, Y. M. and Joyce, D. C. 2003. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulator*, Vol. 39, pp. 171-174.
- Kader, A.A. and Chordas, A. 1984. Evaluating the braing potential of peaches. *California Journal of Agricultural*, Vol. 38, pp. 14-15.
- Klee, H.J. 2004. Ethylene signal transduction. Moving beyond Arabidopsis. *Plant Physiol.* 135, 660–667.
- Lamattina, L., Garcia-Mata, C., Graziano, M. and Pagnussat, G. 2003. Nitric oxide: the versatility of an extensive signal molecule. *Annual Review of Plant Biology*, Vol. 54, pp.109-136.
- Leshem, Y. Y. and Pinchasov, Y. 2000. Non-invasive photoacoustic spectroscopic determination of relative endogenous nitric oxide and ethylene content stoichiometry during the ripening of strawberries *Fragaria anannasa* (Duch.) and Avocados *Persea Americana* (Mill.). *Journal of Experimental Botany*, Vol. 51, pp. 1471-1473.
- Leshem, Y. Y., Wills, R. B. H. and Ku, V. V. V. 1998. Evidence for the Function of the Free Radical Gas Nitric Oxide (NO) as an Endogenous Maturation and Senescence Regulating Factor in Higher Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, Vol. 36, pp. 825-833.
- Lichanporn, I. and Kanlayanarat, S. 2003. Effect of 1-Methylcyclopropene on quality and shelf life of longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.). In *Proceedings of the APEC Symposium on Postharvest Handling Systems*. Semtember 1-3, 2003. Bangkok, Thailand, 269-274.
- Lichanporn, I., Srilaong, V., Wongs-Aree, C. and Kanlayanarat, S. 2009. Postharvest physiology and browning of longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) fruit under ambient conditions. *Postharvest Biol. Technol.* 52, 294-299.

- Loaiza-Velarde, J. G., Mangrich, M. E., Campos-Vargas, R. and Saltveit, M. E. 2003. Heat shock reduces browning of fresh-cut celery petioles. *Postharvest Biology and Technology*, 27, 305–311.
- Macheix, I., Fleuriot, A. and Billot, J. 1990. *Fruit Phenolics*, Florida, CRC Press, p. 398.
- Matheis, G. 1983. Enzymatic Browning of Food. *Z. Lebensm, Unters. Forsch*, Vol. 176, p. 454.
- Mayer, A.M. and Harel, E. 1991. Phenoloxidase and their significance in fruits and vegetable. *Journal of Food Chemistry*, Vol. 1, pp. 373-398.
- McEvily, A. J., Iyengar, R. and Otwell, W. S. 1992. Inhibition of enzymatic browning in foods and beverages. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol. 32, pp. 253-273.
- McMurchie, E.J., W.B. McGlasson and I.L. Eaks. 1972. Treatment of fruit with propylene gas gives information about the biogenesis of ethylene. *Nature (London)* 237:235-236.
- Neil, S.J., Desikan, R. and Hancock, J.T. 2003. Nitric oxide signaling in plants. *New Phytologist*, Vol. 159, pp. 11–35.
- Nguyen TBT, Ketsa S and van Doorn WG. 2003. Relationship between browning and the activities of polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia lyase in banana peel during low temperature storage. *Postharvest Biol Technol*, Vol 30, 187–93.
- Perkins-Veazie, P.M., Huber, D.J. and Brecht, J.K. 1995. Characterization of ethylene production in developing strawberry fruit. *Plant Growth Reg.* 17, 33–39.
- Pressey, R. 1990. Anions activate the oxidation of indoleacetic acid by peroxidase from tomato and other sources. *Plant Physiology*, Vol. 93, pp. 798–804.
- Pristijono, P., Wills, R. B. H. and Golding, J. B., 2006, Inhibition of browning on the surface of apple slices by short term exposure to nitric oxide (NO) gas”, *Postharvest Biology and Technology*, Vol. 42, No.3, 256–259.
- Qadir, Altaf, Hashinaga, F., 2001. Fungistatic activity of nitrous oxide against selected postharvest pathogens. *HortScience*, (in press).
- Qadir, A., Karim, M.R., Hashinaga. F. 2000. Effect of nitrous oxide on non-climacteric tissue. In: *Improving postharvest technologies of fruits, vegetables and ornamentals*. IIR Conference, Murcia, Spain, 19/21 October, P114.
- Richard-Forget, F. and Gauillard, F.A., 1997, “Oxidation of chlorogenic acid, catechins, and 4-methylcatechol in model solutions by combinations of pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) polyphenol oxidase and peroxidase: a possible involvement of peroxidase in enzymatic browning”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 45, pp. 2472–2476.
- Selvarajah, S., Herath, H.M.W., Bandara, D.C. and Banda, D.M.G.A., 1998, “Effect of pre-harvest calcium treatment on post-harvest quality of pineapple”, *Tropical Agricultural research*, Vol. 10, pp. 214-224.

- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. *Methods in Enzymology*, Vol. 299, pp. 152-178.
- Soegiarto, L. and Wills, R. B. H., 2004. Short Term Fumigation with Nitric Oxide Gas in Air to Extend the Postharvest Life of Broccoli, Green Bean, and Bok Choy. *HortTechnology*, Vol. 14, pp. 538–540.
- Sozzi GO, Trinchero GF and Fraschina AA. 2003. Delayed ripening of 'Bartlett' pears treated with nitric oxide. *J Hort Sci Biotechnol*, Vol 78, 899–903.
- Stutte, G. W. 1989. Quantification of net enzymatic activity in developing peach fruit using computer video image analysis. *HortScience*, Vol. 24, pp. 113–115.
- Tomas-Barberan, F. A., Gil, M. I., Castaner, M., Artes, F. and Saltveit, M. E. 1997. Effect of selected browning inhibitors on phenolic metabolism in stem tissue of harvested lettuce. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 45, 583–589.
- Vamos-vigyazo, L., Nadudvari-Markus, V. and Gajzago, I. 1979. Polyphenol oxidase and peroxidase activities polyphenol complex of apricot cultivars. *Proc. Hung Annu. Mtg. Biochem*, Vol. 19, pp. 221-222.
- Underhill, S. J. R. and Critchley, C. 1994. Anthocyanin decolorisation and its role in lychee pericarp browning. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, Vol. 34, pp. 115–122.
- Wakayama, T. 1995. Polyphenol oxidase activity in Japanese apples. In *Enzymatic Browning and Its Prevention*, ACS Symposium Series 600, Edited by Lee, C.Y. and Whitaker, J.R., Washington, D.C., American Chemical Society, pp. 251-266.
- Walker, J.R.L. 1975. Enzymic browning in foods. *Enzyme Technology Digest*, Vol. 4, pp. 80-100.
- Wills, R. B. H., Ku, V. V. V. and Leshem, Y. Y. 2000. Fumigation with nitric oxide to extend the postharvest life of strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 18, 75–79.
- Wills, R. B. H., Pristijono, P. and Golding, J. B. 2008. Browning on the surface of cut lettuce slices inhibited by short term exposure to nitric oxide (NO). *Food Chemistry*. Vol.107, No.4, pp.1387–1392.
- Zhang, Z. Q., Pang, X. Q., Xuwu, X., Ji, Z. and Jiang, Y. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, Vol. 90, pp. 47-52.

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90 \pm 5\%$ นาน 12 วัน

Treatments	Browning index				
	Storage time (days)				
	0	3	6	9	12
0 mM NO	0.00	2.00 ^b	3.50 ^{cd}	5.00 ^b	7.00
0.25 mM NO	0.00	2.00 ^b	2.50 ^d	4.50 ^b	6.50
0.5 mM NO	0.00	2.00 ^b	5.00 ^{bc}	7.00 ^a	8.00
1.0 mM NO	0.00	3.00 ^{ab}	6.50 ^b	8.50 ^a	-
1.5 mM NO	0.00	3.50 ^a	8.50 ^a	-	-
F-test	-	*	**	**	NS
C.V. (%)	0	27.32	19.86	17.28	18.01

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 2. ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	L value				
	Storage time (days)				
	0	3	6	9	12
0 mM NO	68.44	65.07 ^a	63.27 ^a	60.48 ^a	51.52
0.25 mM NO	68.24	63.95 ^{a b}	62.49 ^a	59.47 ^a	52.07
0.5 mM NO	65.87	63.91 ^{ab}	60.28 ^a	57.24 ^a	51.61
1.0 mM NO	69.46	60.17 ^{bc}	54.06 ^b	45.80 ^b	-
1.5 mM NO	64.71	57.11 ^c	48.86 ^b	-	-
F-test	NS	**	**	**	NS
C.V. (%)	3.66	4.17	6.92	8.56	7.55

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 3. ค่า pH ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์(NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	pH value				
	Storage time (days)				
	0	3	6	9	12
0 mM NO	5.36	5.25	5.49	5.44	5.36
0.25 mM NO	5.48	5.43	5.25	5.36	5.50
0.5 mM NO	5.40	5.26	5.44	5.37	5.35
1.0 mM NO	5.40	5.17	5.26	5.35	-
1.5 mM NO	5.42	5.28	5.37	-	-
F-test	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	4.60	2.10	2.43	2.39	2.13

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 4. Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วยกรดไนตริกออกไซด์ (NO) ที่ความเข้มข้น 0, 0.25, 0.5, 1.0, 1.5 mM แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ $90\pm 5\%$ นาน 12 วัน

Treatments	Browning pigment				
	Storage time (days)				
	0	3	6	9	12
0 mM NO	0.35	0.36 ^b	0.42 ^{bc}	0.48	0.47
0.25 mM NO	0.36	0.36 ^b	0.40 ^c	0.45	0.43
0.5 mM NO	0.35	0.41 ^b	0.44 ^b	0.48	0.50
1.0 mM NO	0.38	0.41 ^b	0.43 ^{bc}	0.51	-
1.5 mM NO	0.36	0.48 ^a	0.53 ^a	-	-
F-test	NS	**	**	NS	NS
C.V. (%)	3.49	7.99	4.72	5.24	6.65

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 5. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	Browning index				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
90% N ₂ O, 0 h	0.00	0.67	3.33	7.33	8.67
90% N ₂ O, 3 h	0.00	0.67	1.33	6.00	6.67
90% N ₂ O, 6 h	0.00	0.67	2.67	6.67	8.00
90% N ₂ O, 12 h	0.00	1.33	4.67	6.00	8.00
90% N ₂ O, 24 h	0.00	2.00	5.33	6.00	8.67
F-test	-	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	-	96.82	49.40	11.41	15.81

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 6. ค่า L ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	L value				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
90% N ₂ O, 0 h	67.58	64.28	56.55	49.27	41.99
90% N ₂ O, 3 h	67.29	65.59	64.98	55.47	52.52
90% N ₂ O, 6 h	64.76	65.55	61.14	52.08	49.43
90% N ₂ O, 12 h	66.92	66.73	54.98	51.20	48.95
90% N ₂ O, 24 h	68.30	64.71	59.12	53.13	48.96
F-test	NS	NS	NS	NS	NS
C.V. (%)	1.92	3.78	6.49	8.75	10.68

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 7. ค่า pH ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่ แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	pH value				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
90% N ₂ O, 0 h	5.25	5.48 ^{ab}	5.5 ^{ab}	5.33 ^a	5.2 ^b
90% N ₂ O, 3 h	5.41	5.43 ^{bc}	5.4 ^b	5.41 ^a	4.91 ^c
90% N ₂ O, 6 h	5.36	5.42 ^{bc}	5.43 ^b	5.34 ^a	5.15 ^b
90% N ₂ O, 12 h	5.43	5.36 ^c	5.41 ^b	5.17 ^b	5.35 ^a
90% N ₂ O, 24 h	5.5	5.57 ^a	5.54 ^a	5.21 ^b	5.31 ^a
F-test	NS	*	*	**	**
C.V. (%)	1.81	1.03	0.97	0.95	0.72

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 8. Browning pigment ของผลลองกองที่ผ่านการรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 0, 3, 6, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	Browning pigment				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
90% N ₂ O, 0 h	0.414 ^a	0.468 ^a	0.501	0.475 ^b	0.394 ^a
90% N ₂ O, 3 h	0.427 ^a	0.466 ^a	0.588	0.48 ^b	0.374 ^b
90% N ₂ O, 6 h	0.367 ^b	0.381 ^b	0.424	0.484 ^b	0.391 ^a
90% N ₂ O, 12 h	0.343 ^b	0.385 ^b	0.469	0.534 ^a	0.396 ^a
90% N ₂ O, 24 h	0.432 ^a	0.376 ^b	0.484	0.488 ^b	0.401 ^a
F-test	**	*	NS	*	*
C.V. (%)	5.38	9.60	11.80	4.25	2.07

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 9. Browning index ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	Browning Index				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
Control	0.00	0.67	3.33	7.33 ^a	8.67
0.25 mM NO	0.00	2.00	2.67	6.00 ^{ab}	6.67
90% N ₂ O, 3 h	0.00	0.67	1.33	4.67 ^b	6.67
F-test	NS	NS	NS	*	NS
C.V. (%)	0	84.85	66.80	15.71	15.74

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 10. กิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	PPO activity (unit/mg protein)				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
Control	5.83	6.44 ^a	7.37 ^a	7.65 ^a	8.17 ^a
0.25 mM NO	5.83	5.43 ^b	6.45 ^b	7.14 ^a	7.28 ^b
90% N ₂ O, 3 h	5.83	5.33 ^c	6.16 ^c	6.51 ^b	6.02 ^c
F-test	NS	**	**	**	**
C.V. (%)	0	4.59	3.88	3.83	2.41

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 11. กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	POD activity (unit/mg protein)				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
Control	8.44	10.04	11.80 ^a	13.30 ^a	14.40 ^a
0.25 mM NO	8.44	8.89	10.29 ^{ab}	10.44 ^b	11.28 ^b
90% N ₂ O, 3 h	8.44	9.34	9.62 ^b	9.51 ^c	11.02 ^b
F-test	NS	NS	*	**	**
C.V. (%)	0	5.81	7.29	1.69	1.22

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวนอนที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 12. กิจกรรมเอนไซม์ฟีนิลลาลานีนแอมโมเนียไลเอส (PAL) ของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรม แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	PAL activity (unit/mg protein)				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
Control	2.66	3.00 ^a	3.11 ^a	3.26 ^a	3.79 ^a
0.25 mM NO	2.66	2.69 ^b	2.78 ^b	2.89 ^b	3.10 ^b
90% N ₂ O, 3 h	2.66	2.72 ^b	2.77 ^b	2.83 ^b	2.93 ^c
F-test	NS	**	**	*	**
C.V. (%)	0	2.53	2.74	5.03	2.12

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

ตารางภาคผนวกที่ 13. สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผลลองกองที่ผ่านการจุ่มด้วย 0.25 mM NO และรมด้วย 90% N₂O เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับผลลองกองที่ไม่จุ่มหรือรมแล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90±5% นาน 12 วัน

Treatments	Total phenolic content (µg/g FW)				
	Days after storage				
	0	3	6	9	12
Control	11.96	14.16 ^a	13.81	15.51	16.33
0.25 mM NO	9.69	9.50 ^b	13.69	15.82	14.79
90% N ₂ O, 3 h	12.21	15.16 ^a	12.05	18.69	14.63
F-test	NS	**	NS	NS	NS
C.V. (%)	18.75	10.02	9.67	11.29	27.06

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยในแนวดิ่งที่ตามด้วยอักษรที่แตกต่างกันมีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

NS = ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

* = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95

** = มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ

1.1 เรื่อง Relationship between enzymatic browning and nitric oxide or nitrous oxide in longkong (*Aglaia dookkoo* Griff) fruit (รอกการตีพิมพ์ในวารสาร Postharvest Biology and Technology)

1.2 เรื่อง Inhibition of browning in longkong fruit by short term exposure to nitrous oxide (N_2O) ผลงานตีพิมพ์ในที่ประชุมระดับนานาชาติ Southeast Asia Symposium (SEAsia2011) on the Quality Management in Postharvest Systems, to be held during 21-24 February 2012 at Golden Tulip Sovereign Hotel Bangkok (ภาคโปสเตอร์) (รอกการตีพิมพ์ในวารสาร Acta Horticulturae) ตามเอกสารแนบ

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

2.1 เชิงวิชาการ โดยการนำไนตริกออกไซด์ และไนตรัสออกไซด์ ไปใช้ยืดอายุในการเก็บรักษา มะนาว ใช้เป็นหัวข้อวิทยานิพนธ์ของนักศึกษาปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

เอกสารแนบ

Inhibition of browning in longkong fruit by short term exposure to nitrous oxide (N₂O)

I. Lichanporn¹, C. Techavuthiporn² and S. Kanlayanarat²

¹Division of Food science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Thanyaburi, Pathum Thani, Thailand

²Division of Postharvest Technology, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, Thailand

Keywords: browning, nitrous oxide, short term exposure, longkong fruit

Abstract

Longkong (*Aglaia dookkoo* Griff), a famous tropical fruit of Southeast Asia, has a very short postharvest life due to rapid peel-browning. The effect of nitrous oxide (N₂O) treatment on browning on peel of longkong after harvesting was investigated. Longkong fruit was exposed with 90% N₂O for 0 (control), 3 and 6 h and then stored at 13°C and 90% RH. The results showed that exposure to N₂O delayed the onset of browning on peel longkong. Treatment with N₂O for 3 and 6 h significantly delayed the increase in browning index comparing to the control. This result was correlated to the higher L value (lightness index) of treated fruit with N₂O, while of untreated fruit was lower. Moreover, no significant difference of pH value in peel of longkong was found among untreated and treated fruit with N₂O during storage. However, the most significant effective treatment was fumigation with 90% N₂O for 3 h.

INTRODUCTION

Longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) is a subtropical fruit, which can be grown in various parts of Thailand. It is one of the most popular fruits in term of flavor due to the sweet and slightly sour taste as well as unique aroma. It is also the economically important fruit, distributed to consumers all over the country. However, the major problems of longkong are a rapid pericarp browning and desiccation after a few days of harvest. Postharvest browning of longkong is primarily attributed to the oxidation of phenolic compounds by polyphenol oxidase (PPO) and/or peroxidase (POD). Nitrous oxide (N₂O) is a naturally occurring atmospheric gas principally produced by aerobic denitrifying bacteria in soil, which has been demonstrated to inhibit ethylene action and synthesis in higher plants (Frontiera et al, 1994; Gouble et al., 1995; Leshem and Wills, 1998). N₂O, like CO₂, has an isosteric linear structure that confers similar physical properties such as relative stability and high solubility to both molecules (Leshem and Wills, 1998; Benkeblia and Varoquaux, 2003). This biophysical similarity of N₂O to CO₂ might be pertinent to the control of ethylene in the controlled atmosphere storage of postharvest climacteric fruit (Leshem and Wills, 1998). In addition, N₂O is not toxic, is used in medical practice as an anaesthetic (Gouble et al., 1995), and is a permitted additive for food (Benkeblia and Varoquaux, 2003). The objective of this research was to investigate the inhibition of browning in longkong fruit by short term exposure to nitrous oxide (N₂O).

MATERIALS AND METHODS

Freshly harvested bunches of Longkong with full yellow fruits were procured from a commercial orchard. Each longkong was separated into individual bunch, which were placed at 20°C into sealed plastic chambers with 90% N₂O for 0, 3 or 6 hours at 20°C. After treatment, the fruits were stored at 13°C with 90±5% relative humidity. The treatments were replicated four times with 25 fruit bunch per replicate. Standard procedures were followed in measuring

browning index, L value and pH. Degree of browning was scored using a scale of 0-10 in which 0-no browning, 2-<25%, 4-25-50%, 6->50-75%, 8->75-<10% and 10-100% of peel surface brown. Lightness (L value) of the peel was also measured using a Minolta chromameter. The pH was measured with a standard pH-meter.

RESULTS AND DISCUSSION

The fruit peel increasingly turned brown with storage (Figure 1). Browning occurred more rapidly in the untreated control than in N₂O-treated fruits. The degree of delay in browning by N₂O did significantly vary with concentration. Longkong fruit in N₂O for 3 h slowed delay the browning. It has been reported that 80% N₂O treatment inhibits the onset of ethylene synthesis and lowers the rate of ethylene synthesis and lowers the rate of ethylene production in tomato when ripening has commenced, whilst in avocado it delays the ethylene climacteric without reducing the rate of the ethylene rise once initiated (Gouble et al., 1995). Peel color parameter L* decreased with storage corresponding to the increasing of browning index (Figure 2). The decrease in L* values was more rapid in the control than in N₂O-treated fruits. Consequently, the control had consistently lower L* values than the treated fruits throughout the storage period. N₂O might delay fruit ripening by two main different mechanisms (Gouble et al., 1995; Bemish et al., 1996): (1) formation of a N₂O-ethylene complex in system 1; or (2) inhibition of ACO and ACC synthase (ACS) synthesis and action in system 2. However, the common effect of N₂O and CO₂ in extending the storage life of strawberry (Qadir et al., 2000) suggests that N₂O might also act on browning through a system 2 ethylene-independent mechanism, because longkong browning does not depend on an ethylene climacteric (Perkins-Veazie et al., 1995). N₂O did not influence the pH parameters of longkong fruit assessed in our experiments with regard to the control treatment,

CONCLUSION

Exposure to nitrous oxide delayed the onset of browning on the longkong peel with the most effective treatment being fumigation with 90% N₂O for 3 h.

Literature Cited

1. Bemish, R.J., Rhee, W.M., Miller, R.E., 1996. The structure and intramolecular dynamics of the nitrous oxide-ethylene complex: Experiment and ab initio theory. *J. Chem. Phys.* 104, 4411.
2. Benkeblia, N., Varoquaux, P., 2003. Effect of nitrous oxide (N₂O) on respiration rate, soluble sugars and quality attributes of onion bulbs *Allium cepa* cv. Rouge Amposta during storage. *Postharvest Biol. Technol.* 30, 161–168.
3. Frontiera, M.S., Stabler, S.P., Kolhouse, J.F., Allen, R.H., 1994. Regulation of methionine metabolism: effects of nitrous oxide and excess dietary methionine. *J. Nutr. Biochem.* 5, 28–38.
4. Gouble, B., Fath, D., Soudain, P., 1995. Nitrous oxide inhibition of ethylene production in ripening and senescing climacteric fruits. *Postharvest Biol. Technol.* 5, 311–321.
5. Leshem, Y.Y., Wills, R.B.H., 1998. Harnessing senescence delaying gases nitric oxide and nitrous oxide: a novel approach to postharvest control of fresh horticultural produce. *Biol. Plant.* 41, 1–10.
6. Perkins-Veazie, P.M., Huber, D.J., Brecht, J.K., 1995. Characterization of ethylene production in developing strawberry fruit. *Plant Growth Reg.* 17, 33–39.
7. Qadir, A., Karim, M.R., Hashinaga, F., 2000. Effect of nitrous oxide on non-climacteric tissue. In: International Institute of Refrigeration (Ed.), *Improving Postharvest Technologies of Fruits, Vegetables and Ornaments*, October 19–21, 2000. Murcia, Spain, pp. 189.

Figures

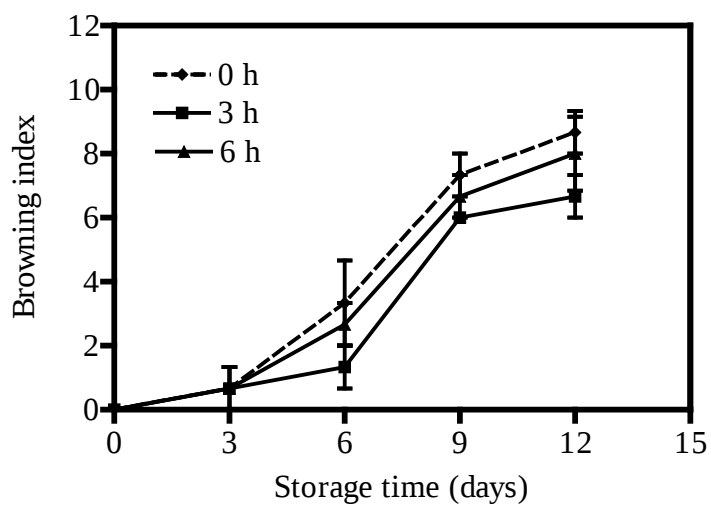


Fig. 1. Change in browning index of longkong exposed with 90% nitrous oxide for 0, 3 and 6 h and then stored at 13°C and 90%RH.

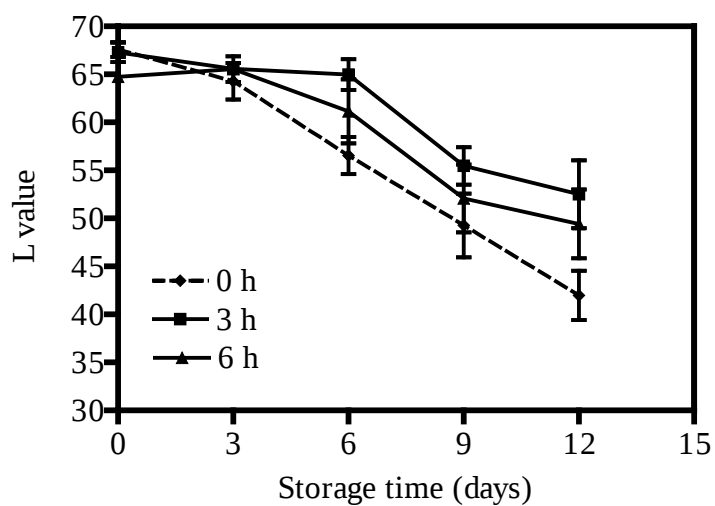


Fig. 2. Change in L value of longkong exposed with 90% nitrous oxide for 0, 3 and 6 h and then stored at 13°C and 90%RH.

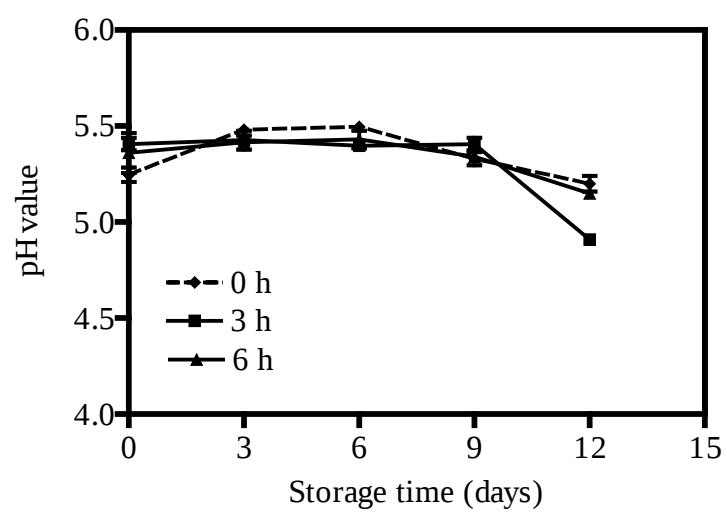


Fig. 3. Change in pH value of longkong exposed with 90% nitrous oxide for 0, 3 and 6 h and then stored at 13°C and 90%RH.