

การศึกษาความเป็นไปได้ของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในการตรวจสอบ  
การเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด  
Feasibility Study of Coating Solution of Chitosan Mixed with AMP and Anthocyanin for  
Investigation of Anaerobic Conditions in Fresh Produce Container Model

จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล<sup>1</sup> กฤษญา เนตรประไพ<sup>1</sup> และ พริมา พิริยางกูร<sup>2</sup>  
Poubol, J.<sup>1</sup>, Netpraphai, K.<sup>1</sup> and Phiriyangkul, P.<sup>2</sup>

### Abstract

The properties of chitosan mixed with CO<sub>2</sub> adsorbent (aminomethyl propanol; AMP) and anthocyanin for investigation of anaerobic condition in fresh produce container models were studied. Filter papers were coated with a mixture solution of 0.5% chitosan, 10% AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2% anthocyanin. They were dried at 60°C for 1 hour and kept in desiccator for 24 hours. CO<sub>2</sub> adsorption and discoloration of filter papers packed in airtight plastic box with 5% CO<sub>2</sub> atmosphere and stored at 37°C were tested. The results showed that filter paper became more light blue as anthocyanin concentrations were increased. Filter paper thickness was in the range of 174-203 μm. Filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 1% anthocyanin was the best CO<sub>2</sub> absorption, which the filter paper color was changed from light blue to green-blue. This filter paper can be placed in the fresh produce container to be used as an index to investigate the anaerobic respiration conditions of fresh produce in the container.

**Keywords:** chitosan, AMP, anthocyanin, CO<sub>2</sub>

### บทคัดย่อ

ศึกษาคุณสมบัติของไคโตซานผสมสารดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (อะมิโนเมทิลโพรพานอล; เอเอ็มพี) และแอนโทไซยานินเพื่อการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด โดยเคลือบสารละลายผสมไคโตซานร้อยละ 0.5 เอเอ็มพีร้อยละ 10 และแอนโทไซยานินร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 บนกระดาษกรอง นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เก็บในโถดูดความชื้นนาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการเปลี่ยนสีของกระดาษกรองที่บรรจุในกล่องพลาสติกสุญญากาศในสภาวะที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ผลพบว่ากระดาษกรองมีสีฟ้าอ่อนที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน โดยมีความหนาอยู่ในช่วง 174-203 ไมครอน กระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 1.0 ดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ดีที่สุดและมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าอ่อนเป็นสีฟ้าอมเขียว ซึ่งแผ่นกระดาษกรองนี้สามารถนำไปบรรจุลงในภาชนะบรรจุผลิตผลสดเพื่อใช้เป็นดัชนีในการตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบที่ไม่ใช้ออกซิเจนของผลิตผลสดในภาชนะบรรจุได้

**คำสำคัญ:** ไคโตซาน เอเอ็มพี แอนโทไซยานิน คาร์บอนไดออกไซด์

### คำนำ

ไคโตซานเป็นอะมิโนโพลีแซคคาไรด์ที่ไม่เป็นพิษ สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ จึงมีการนำมาประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในด้านการเกษตร อาหารและยา รวมไปถึงอาหารเสริม (Duan และคณะ, 2019) นอกจากนี้ไคโตซานยังมีคุณสมบัติในการขึ้นรูปเป็นฟิล์มและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงนิยมนำมาใช้ในการเคลือบผิวผักและผลไม้สดซึ่งพบว่าสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ (Romanazzi และคณะ, 2017) เอเอ็มพี (2-amino 2-methyl 1-propanol) เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของ alkanolamine (Xiao และคณะ, 2000) มีคุณสมบัติในการช่วยจับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Sartori และ Savage, 1983) ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรจุภัณฑ์ผักและผลไม้สดได้ ส่วนแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุให้

<sup>1</sup> สาขาวิชาจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Division of Microbiology, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

<sup>2</sup> สาขาวิชาชีวเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Division of Biochemistry, Department of Science, Faculty of Liberal Arts and Science, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

สีที่พบในธรรมชาติ มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงสีได้ตามค่าความเป็นกรด-ด่าง และตามชนิดของสารระเหยที่เกิดขึ้นในระหว่างที่มีการเสื่อมสภาพของอาหาร ดังนั้นจึงมีการนำไปประยุกต์ใช้เป็นตัวชี้วัดในการตรวจวัดการเน่าเสียของอาหาร (Abolghasemia และคณะ, 2016; Salju และ Pergola, 2018; Vo และคณะ, 2019) งานวิจัยนี้ศึกษาคุณสมบัติของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน เพื่อใช้ตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 1. การเตรียมสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน

งานวิจัยนี้เตรียมสารเคลือบโดยใช้ไคโตซานชนิด low molecular weight (Sigma-Aldrich, USA) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ผสมกับ AMP (PanReac Applichem, Germany) ความเข้มข้นร้อยละ 10 (จุฑาทิพย์ และคณะ, 2562) และแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน (AP Operations Co., Ltd, Thailand) ความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 จากนั้นเติม glycerol ความเข้มข้นร้อยละ 5 เพื่อช่วยในการขึ้นรูปฟิล์ม แล้วเคลือบลงบนกระดาษกรอง (Whatman No.2 Ø90 mm.) โดยใช้สารละลาย 500 ไมโครลิตร นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และเก็บในโถดูดความชื้นนาน 24 ชั่วโมง ทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในการตรวจสอบการเกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสด โดยเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 5 (Air balance) ลงในกล่องพลาสติกสุญญากาศปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นต่าง ๆ ขนาด 2x2 ตารางเซนติเมตร จำนวน 1 แผ่น เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 ชั่วโมง

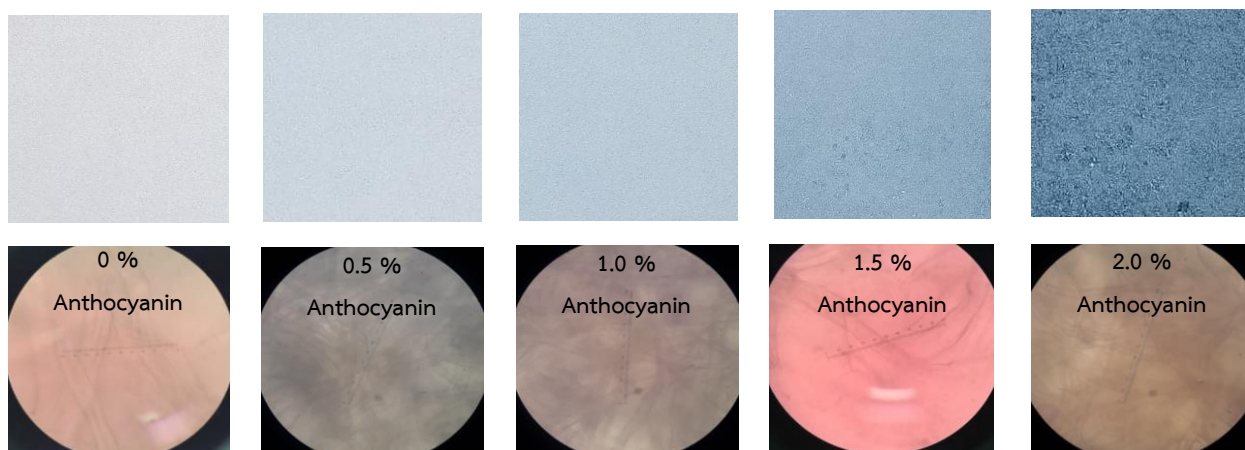
#### 2. การศึกษาลักษณะทางกายภาพและการเปลี่ยนแปลงของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานิน

ศึกษาลักษณะทางกายภาพของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพี และแอนโทไซยานินความเข้มข้นต่าง ๆ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope กำลังขยาย 100x (CX31RBSFA, Olympus Corporation, Japan) วัดความหนาโดยใช้ Hand-held micrometer (IP65 coolant proof, 0-25 mm, Mitutoyo, Japan) วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (NR200, Shenzhen 3NH Technology Co., Ltd, China) และวัดความเข้มข้นของ  $O_2$  และ  $CO_2$  ภายในภาชนะบรรจุด้วยเครื่องวัดก๊าซ (DP-28 MAP, Nanosens Sp. z.o.o., Poland) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติโดย Duncan's New multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### 1. ลักษณะทางกายภาพของสารเคลือบไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินบนกระดาษกรอง

กระดาษกรองในชุดควบคุมซึ่งไม่ได้ผสมแอนโทไซยานินมีสีขาวครีม ในขณะที่กระดาษกรองชุดที่ผสมแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 มีสีฟ้าอ่อนที่เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน (Figure 1) สอดคล้องกับค่าสี  $L^*$   $a^*$  และค่า  $b^*$  ที่ลดลง (Table 1) โดยกระดาษกรองมีความสว่างลดลง มีสีเขียวและสีน้ำเงินที่เพิ่มมากขึ้นตามลำดับ กระดาษกรองในทุกชุดการทดลองมีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นใยยาวหนาและใสเช่นเดียวกัน (Figure 1 lower) โดยกระดาษกรองที่ยังไม่ได้ผ่านการเคลือบมีความหนาเท่ากับ 149 ไมโครเมตร (ไม่แสดงข้อมูล) ซึ่งใกล้เคียงกับกระดาษกรองที่ผ่านการเคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินที่มีความหนาอยู่ในช่วง 149-151 ไมโครเมตร (Table 1) แต่เมื่อผ่านการอบแห้งพบว่ากระดาษกรองมีความหนาเพิ่มมากขึ้นโดยมีค่าอยู่ในช่วง 174-203 ไมโครเมตร โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 2 มีความหนามากที่สุด คือ 203 ไมโครเมตร รองลงมาคือกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.5 1.0 และ 0.5 ตามลำดับ โดยมีความหนาเท่ากับ 194 188 และ 174 ไมโครเมตร ตามลำดับ อาจเนื่องมาจากไคโตซานเป็นโพลีเมอร์ธรรมชาติที่มีคุณสมบัติในการเข้ากันได้ทางชีวภาพและยึดเกาะกับพื้นผิวได้ดี (Duan และคณะ, 2019) อีกทั้งแอนโทไซยานินยังสามารถละลายน้ำได้ (Vo และคณะ, 2019) ดังนั้นเมื่อผสมรวมกันแล้วเคลือบลงบนกระดาษกรองจึงมีผลทำให้ยึดเกาะกับโครงสร้างของกระดาษกรองได้ดี และทำให้กระดาษกรองมีความหนาเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแอนโทไซยานินที่สูงขึ้น



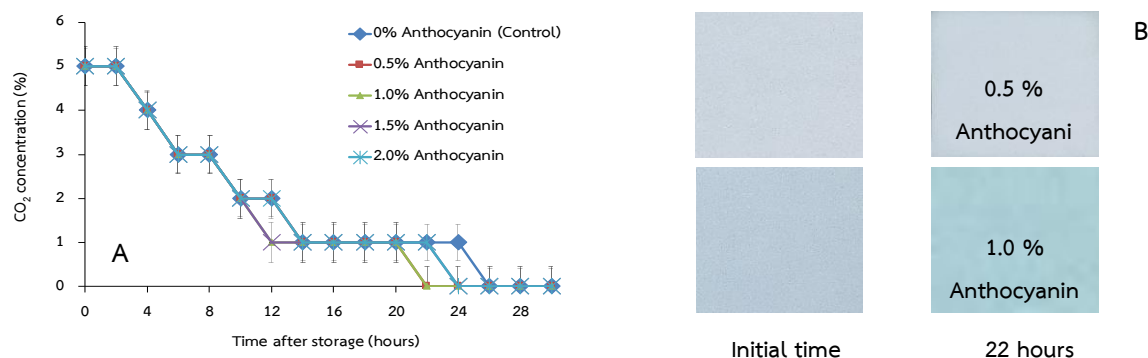
**Figure 1** Appearance (upper) and characteristic under 100x magnifying power microscope (lower) of filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 anthocyanin.

**Table 1** Thickness and color values of filter paper coated with chitosan mixed with AMP and 0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 % anthocyanin before and after dried at 60°C for 1 hour.

Treatments	Thickness (µm)		Color values				
	Before drying	After drying	L*	a*	b*	Chroma	Hue
0% Anthocyanin (control)	149	192 <sup>b</sup>	30.31 <sup>a</sup>	2.10 <sup>c</sup>	5.14 <sup>a</sup>	5.57 <sup>a</sup>	67.95 <sup>a</sup>
0.5% Anthocyanin	150	174 <sup>c</sup>	25.48 <sup>b</sup>	3.04 <sup>a</sup>	4.71 <sup>ab</sup>	4.73 <sup>b</sup>	57.49 <sup>b</sup>
1.0% Anthocyanin	150	188 <sup>b</sup>	24.74 <sup>b</sup>	2.60 <sup>ab</sup>	3.71 <sup>bc</sup>	4.53 <sup>b</sup>	54.99 <sup>b</sup>
1.5% Anthocyanin	149	194 <sup>b</sup>	23.54 <sup>bc</sup>	2.64 <sup>ab</sup>	2.47 <sup>c</sup>	3.62 <sup>c</sup>	46.19 <sup>c</sup>
2.0% Anthocyanin	151	203 <sup>a</sup>	22.55 <sup>c</sup>	2.49 <sup>b</sup>	1.67 <sup>d</sup>	3.00 <sup>d</sup>	33.58 <sup>d</sup>

**2. การเปลี่ยนแปลงของกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในแบบจำลองภาวะบรรจุผลผลิตผลสด**

Saliu และ Pergola (2018) รายงานว่าการใช้แอนโทไซยานินจากกะหล่ำม่วงผสมกับกรดอะมิโน (L-lysine) และโพลีเอปไทด์ (E-poly-L-lysine, EPL) ที่เคลือบบน poly-ethylene terephthalate สามารถนำมาใช้ตรวจสอบการเน่าเสียของอาหารได้เนื่องจากมีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าเป็นสีม่วงภายในเวลา 5 นาที เมื่อมีความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในภาวะบรรจุร้อยละ 2.5 จากการทดลองนี้พบว่ากระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินในทุกชุดการทดลอง สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในแบบจำลองภาวะบรรจุผลผลิตผลสดได้ โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มีความเข้มข้นลดลงจากร้อยละ 5 เหลือร้อยละ 0 ภายในเวลา 22-26 ชั่วโมงของการเก็บรักษา (Figure 2A) ในขณะที่ก๊าซออกซิเจนมีความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 19.8 และคงที่ตลอดการเก็บรักษา (ไม่แสดงข้อมูล) โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 0.5 และ 1.0 สามารถดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ได้หมดในระยะเวลาที่สั้นที่สุด คือ 22 ชั่วโมงของการเก็บรักษา โดยกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 1.0 มีการเปลี่ยนสีจากสีฟ้าอ่อนเป็นสีฟ้าอมเขียวที่ชัดเจนกว่ากระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินร้อยละ 0.5 (Figure 2B) ดังนั้นจึงสามารถนำกระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.0 ไปใช้ในการตรวจสอบการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในบรรจุภัณฑ์ผลิตผลสดได้ และสามารถช่วยดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่อาจก่อให้เกิดสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจนของผลิตผลสดภายในบรรจุภัณฑ์ได้อีกด้วย



**Figure 2** Changes of CO<sub>2</sub> concentration in fresh produce container model filled with filter paper coated with chitosan mixed with AMP and anthocyanin stored at 37°C for 30 hours under 5% CO<sub>2</sub> (air balance) (A) and appearance of 0.5 and 1.0% anthocyanin filter paper after 22 hours of storage (B).

### สรุปผล

กระดาษกรองที่เคลือบด้วยไคโตซานผสมเอเอ็มพีและแอนโทไซยานินความเข้มข้นร้อยละ 1.0 สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบการเกิดสภาวะการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจนในแบบจำลองภาชนะบรรจุผลิตผลสดได้

### คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากโครงการวิจัยมุ่งเป้า วิจัยเขตกำแพงแสน ประจำปีงบประมาณ 2562 และได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยบางส่วนจากโครงการจัดตั้งภาควิชาจุลชีววิทยา คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2563 ขอขอบคุณหน่วยวิจัยคุณภาพและความปลอดภัยของอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

### เอกสารอ้างอิง

- จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล พิมพ์วิภา ศรีธิ และพริมา พิริยางกูร, 2562, การใช้ไคโตซานร่วมกับสารดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในการตรวจคุณภาพของมะเขือเทศราชินีตัดแต่งที่ปนเปื้อนเชื้อ *Escherichia coli*, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 50(2): 121-124.
- Abolghasemia, M.M., Sobhia, M. and Piryaeei, M., 2016, Preparation of a Novel Green Optical pH Sensor Based on Immobilization of Red Grape Extract on Bioorganic Agarose Membrane, Sensors Actuators B: Chemical, 224: 391-395.
- Duan, C., Meng, X., Meng, J., Khan, M.I.H., Dai, L., Khan, A., An, X., Zhang, J., Huq, T. and Ni, Y., 2019, Chitosan as a Preservative for Fruits and Vegetables: A Review on Chemistry and Antimicrobial Properties, Journal of Bioresources and Bioproducts, 4(1): 11-21.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Baños, S.B., 2017, Shelf Life Extension of Fresh Fruit and Vegetables by Chitosan Treatment, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 57(3): 579-601.
- Saliu, F. and Pergola, R.D., 2018, Carbon Dioxide Colorimetric Indicators for Food Packaging Application: Applicability of Anthocyanin and Poly-lysine Mixtures, Sensors and Actuators B: Chemical, 258: 1117-1124.
- Sartori, G. and Savage, D.W., 1983, Sterically Hindered Amines for Carbon Dioxide Removal from Gases, Industrial and Engineering Chemistry Fundamentals, 22(2): 239-249.
- Vo, T.V., Dang, T.H. and Chen, B.H. 2019, Synthesis of Intelligent pH Indicative Films from Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol)/Anthocyanin Extracted from Red Cabbage, Polymers, 11: 1088-1099.
- Xiao, J., Li, C.W. and Li, M.H., 2000, Kinetics of Absorption of Carbon Dioxide into Aqueous Solutions of 2-Amino-2-Methyl-1-Propanol + Monoethanolamine, Chemical Engineering Science, 55: 161-175.