

ผลของไดเมทิลไดคาร์บอเนตและบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บของสมุนไพรที่มีมะม่วงผสม
เสาวรระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2562
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EFFECT OF DIMETHYL DICARBONATE AND PACKAGING ON QUALITY AND SHELF LIFE
OF MIXED MANGO AND PASSION FRUIT SMOOTHIE DURING COLD STORAGE



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
FACULTY OF SCIENCE
Chulalongkorn University
Academic Year 2019
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	ผลของไคเมทิลไดคาร์บอเนตและบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น
โดย	นายณทีกานต์ รุ่งโรจน์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัครสกุล

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณะบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเจียร)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัครสกุล)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวณิช)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวินี ดีแท้)

นที่กานต์ รุ่งโรจน์ : ผลของไดเมทิลไดคาร์บอเนตและบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น. (EFFECT OF DIMETHYL DICARBONATE AND PACKAGING ON QUALITY AND SHELF LIFE OF MIXED MANGO AND PASSION FRUIT SMOOTHIE DURING COLD STORAGE) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.กิติพงษ์ อัครกุล

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ DMDC (0-250 ppm) และบรรจุภัณฑ์ต่อคุณภาพและอายุการเก็บของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus*) และความเข้มข้นของ DMDC ด้วยจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (zero-order kinetic) และอันดับหนึ่ง (first-order kinetic) และศึกษาผลของ DMDC (เปรียบเทียบกับพาสเจอร์ไรส์ที่ 90 °C, 100 วินาที) และบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด (ขวดแก้วและขวดพลาสติกพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต, PET) ต่อคุณภาพของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น (4 °C) เป็นเวลา 6 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ค่า pH, ปริมาณกรดทั้งหมด, ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้, สภาพแขวนลอย, ค่าสี (L^* , a^* , b^* และ ΔE), กิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase, PPO), ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ ferric reducing antioxidant power (FRAP), ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก, ปริมาณสารฟลาโวนอยด์และปริมาณจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, โคลิฟอร์มและ *E. coli*) จากผลการทดลองพบว่าการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองเป็นไปตามจลนพลศาสตร์อันดับที่หนึ่ง เนื่องจากค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (coefficient of determination, R^2) จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (0.9333-0.9582) มีค่าสูงกว่าจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (0.5531-0.9356) ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิด ในขณะที่ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา (rate constant, k) ของ *S. aureus* จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมีค่ามากที่สุด (0.404) แสดงถึง DMDC สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุดใน DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดจำนวน *S. aureus* ลงประมาณ 3.8 log CFU/mL จากการทดลองผลของ DMDC ต่อคุณภาพและอายุการเก็บของสมูทตี้ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็นพบว่า DMDC ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้, สภาพแขวนลอย, ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และสารประกอบฟีนอลิก เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ DMDC สามารถลดการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดและปริมาณจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและยีสต์และรา) และสามารถลดการสูญเสียของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ FRAP) และสารฟลาโวนอยด์ และลดกิจกรรมของ PPO ที่เหลืออยู่ด้วยเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ เมื่อพิจารณาคุณภาพของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อค่า ΔE โดยตัวอย่างที่เก็บในขวดพลาสติก PET มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า ΔE มากกว่าในขวดแก้วอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อกิจกรรมของ PPO ที่เหลืออยู่ โดยตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วมีกิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์ PPO น้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บในขวดพลาสติก PET อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากการพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณของยีสต์และราของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์พบว่า ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีอายุการเก็บมากที่สุด (4 สัปดาห์) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ (2 สัปดาห์) และตัวอย่างควบคุม (1 สัปดาห์) โดยชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) งานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ DMDC เพื่อรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิเย็น

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2562

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก

6072066023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: dimethyl dicarbonate, mixed mango and passion fruit smoothie, shelf life

Nateekarn Rungraj : EFFECT OF DIMETHYL DICARBONATE AND PACKAGING ON QUALITY AND SHELF LIFE OF MIXED MANGO AND PASSION FRUIT SMOOTHIE DURING COLD STORAGE. Advisor: Asst. Prof. KITIPONG ASSATARAKUL

The objectives of this research were to study the effect of DMDC (0-250 ppm) and packaging on quality and shelf life of mixed mango and passion fruit smoothie during cold storage by studying the correlation between microbial population (total plate count, yeast and mold, *E. coli* and *S. aureus*) and DMDC concentration using zero-order kinetic and first-order kinetic, studying the effect of DMDC (compare with pasteurization at 90 °C, 100 sec) and 2 type of packaging (glass and polyethylene terephthalate plastic bottle or PET) on quality of mixed mango and passion fruit smoothie during cold storage (4 °C) for 6 weeks by monitoring change of the pH, total acid (TA), total soluble solid (TS), cloudiness, color values (L^* , a^* , b^* and ΔE^*), residual of polyphenoloxidase (PPO) activity, antioxidant activity (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity or DPPH and ferric-reducing antioxidant power or FRAP assays), total phenolic content, total flavonoid content and microbial population (total plate count, yeast and mold, coliform and *E. coli*). The results showed that microbial degradation followed first-order kinetic according to a higher coefficient of determination (R^2) of first-order kinetic compared to those of zero-order kinetic. The rate constants (k) of first-order kinetic were between 0.0201-0.404 and the highest k value (0.404) was found in *S. aureus* indicating *S. aureus* was the most sensitive microorganisms to DMDC. 250 ppm DMDC was able to inhibit *S. aureus* approximately 3.8 log CFU/mL. As a result of effect of DMDC on quality and shelf life of mixed mango and passion fruit smoothie during cold storage, it demonstrated that DMDC did not show significant effect ($p > 0.05$) on change of decreasing of TS, cloudiness, color values (L^* , a^* and b^*) and total phenolic content as compared to control. In addition, DMDC also lowered the increasing of microbial population (total plate count, yeast and mold) while decreasing the loss of antioxidant activity (DPPH and FRAP) total flavonoid content and remaining of residual of PPO activity as compared to the control. Considering the quality of mixed mango and passion fruit smoothie during storage in 2 types of packaging, it was observed that the type of packaging had an effect on the value of ΔE . ΔE of samples stored in PET bottles tended to increase more than those of samples stored in the glass bottle. It also influenced the remaining of residual of PPO activity, the samples stored in glass bottle had significantly lower remaining of residual of PPO activity than the samples stored in PET plastic bottle ($p \leq 0.05$). Corresponding to the microbial population of smoothie during storage at 4 °C for 6 weeks, sample treated with 250 ppm DMDC had the maximum shelf life (4 weeks) compared to pasteurized sample (2 weeks) and control (1 week). In addition, the type of packaging did not significantly affect ($p > 0.05$) the trend in changing microbial population. This research can potentially be used as a guideline in applying DMDC to maintain the quality and to extend the shelf life of mixed mango and passion fruit smoothie during cold storage.

Field of Study: Food Technology

Student's Signature

Academic Year: 2019

Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรระดับปริญญาโทของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้รับการสนับสนุนจากโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ภายใต้การดำเนินการของ สำนักงานกองทุนวิจัย (สกว.) หรือ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) รหัสโครงการ MSD610062 และสำเร็จลงได้เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัครสกุล อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาด้วยความเอาใจใส่อย่างยิ่ง ตลอดการปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องและอบรมสั่งสอนให้แนวทางและข้อคิดในการทำงานเสมอมา ถ่ายทอดให้ ผู้วิจัยได้ตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทในฐานะของอาจารย์ จึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเจียร ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาวินี ดีแท้ ที่กรุณาเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์และให้คำแนะนำ ตรวจสอบ กลั่นกรอง และแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือตลอดการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้อง ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร และทุกคนที่คอยเป็นกำลังใจช่วยเหลือและให้คำแนะนำปรึกษาเสมอมา ตลอดการทำงานวิจัย

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดาและครอบครัวที่คอยห่วงใย เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนเสมอมา

นทีกานต์ รุ่งโรจน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ฐ
บทที่ 1	1
บทนำ.....	1
บทที่ 2	1
วารสารปริทัศน์	1
2.1 สมูทตี้ (smoothie).....	1
2.2 มะม่วง (Mango).....	3
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะม่วง	3
2.2.1. ลักษณะต้นของมะม่วง.....	3
2.2.2. ลักษณะใบของมะม่วง.....	3
2.2.3 ลักษณะรากของมะม่วง.....	3
2.2.4 ลักษณะผลของมะม่วง	4
2.3 เสาวรส (Passion fruit).....	5
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเสาวรส.....	6
2.3.1 ลักษณะต้นของเสาวรส.....	6
2.3.2 ลักษณะใบของเสาวรส.....	6

2.3.3 ลักษณะผลของเสาวรส	6
2.4 สารประกอบที่สำคัญในสมูทที่.....	7
2.4.1 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)	8
2.4.2 กรดฟีนอลิก (phenolic acids).....	9
2.4.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)	10
2.5 การเสื่อมเสียของสมูทที่.....	11
2.5.1 การเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์	11
2.5.1.1 แบคทีเรีย (bacteria).....	12
2.5.1.2 ยีสต์ (yeast).....	15
2.5.1.3 รา (mould).....	16
2.5.2 การเสื่อมเสียโดยการสูญเสียสภาพแขวนลอย (cloud loss).....	17
2.5.3 การเสื่อมเสียโดยการเกิดสีน้ำตาล (browning).....	18
2.5.3.1 การเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ (enzymatic browning).....	18
2.5.3.2 การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ (non-enzymatic browning).....	19
2.5.4 การเสื่อมเสียโดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation)	21
2.6 ไดเมทิลไดคาร์บอเนต (dimethyl dicarbonate).....	21
2.7 บรรจุภัณฑ์อาหาร (food packaging).....	23
2.7.1 แก้ว (glass).....	24
2.7.2 โพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate; PET).....	24
บทที่ 3	26
การดำเนินงานวิจัย	26
3.1 การศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส..	29
3.2 การศึกษาผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	30

3.3 การศึกษาผลของ DMDC ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูท ที่มะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	32
3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ	32
บทที่ 4	33
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	33
4.1 ผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส	33
4.2 ผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C.....	39
4.2.1 ค่า pH ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา	40
4.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา.....	42
4.2.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บ รักษา.....	44
4.2.4 สภาพแขวนลอยของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา.....	46
4.2.5 ค่าสีของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา.....	48
4.2.6 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของสมูทที่มะม่วงผสม เสาวรสระหว่างการเก็บรักษา	52
4.2.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บ รักษา.....	54
4.2.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บ รักษา.....	57
4.2.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บ รักษา.....	59
4.2.10 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา.....	60
4.2.11 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา	63
4.2.12 ปริมาณยีสต์และราของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา	64

4.3 ผลของ DMDC ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	68
4.3.1 ค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.	68
4.3.2 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	70
4.3.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	72
4.3.4 สภาพแขวนลอยของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	74
4.3.5 ค่าสีของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	76
4.3.6 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	81
4.3.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	83
4.3.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	84
4.3.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	87
4.3.10 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	88
4.3.11 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บ ในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C	91
4.3.12 ปริมาณยีสต์และราของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ ที่อุณหภูมิ 4 °C	91
บทที่ 5	95
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	95

บรรณานุกรม.....	97
ภาคผนวก ก.....	107
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี	107
ภาคผนวก ข.....	117
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ.....	117
ภาคผนวก ค.....	120
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางชีวภาพ.....	120
ประวัติผู้เขียน.....	129



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการในสมูทที่ 11 สูตร.....	2
ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงต่อ 100 กรัมที่บริโภคได้.....	5
ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของเสาวรส.....	7
ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลสมบัติการป้องกัน (barrier properties) ของขวด PET และขวดแก้ว.....	25
ตารางที่ 5 ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา (k) และค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) ของ จลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งจากการยับยั้งการเจริญ ของจุลินทรีย์ด้วย DMDC ในสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสร.....	38
ตารางที่ 6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	56
ตารางที่ 7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	58
ตารางที่ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	61
ตารางที่ 9 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C.....	62
ตารางที่ 10 ค่า pH ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	69
ตารางที่ 11 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	71
ตารางที่ 12 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บใน บรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	73
ตารางที่ 13 สภาพแขวนลอยของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	75
ตารางที่ 14 ค่า L^* ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C ...	77

ตารางที่ 15 ค่า a^* ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.... 78

ตารางที่ 16 ค่า b^* ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C... 79

ตารางที่ 17 ค่า ΔE ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C .. 80

ตารางที่ 18 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของ PPO ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C..... 82

ตารางที่ 19 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C..... 85

ตารางที่ 20 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C..... 86

ตารางที่ 21 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C..... 89

ตารางที่ 22 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C..... 90

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 ลักษณะผลมะม่วง	4
รูปที่ 2 ลักษณะผลเสาวรส	6
รูปที่ 3 โครงสร้างหลักของพลาไวโนอยด์ (a) และตัวอย่างของพลาไวโนอยด์ (b)	9
รูปที่ 4 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (a) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (b)	10
รูปที่ 5 แผนภาพโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ (ชาย) และแบคทีเรียแกรมบวก (ขวา)	14
รูปที่ 6 แผนภาพแสดงโครงสร้างของผนังเซลล์ยีสต์ทั่วไป	16
รูปที่ 7 การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ด้วยปฏิกิริยาเมลลาร์ด	20
รูปที่ 8 โครงสร้างของไดเมทิลไดคาร์บอนेट	22
รูปที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (■), ยีสต์และรา (■), <i>E. Coli</i> (■) และ <i>S. aureus</i> (■) ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสหลังการเติม DMDC และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง	34
รูปที่ 10 จลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (สีเหลี่ยมสีดำ) และจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (วงกลมสีดำ) ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (A), ยีสต์และรา (B), <i>E. coli</i> (C) และ <i>S. aureus</i> (D) ด้วย DMDC ในสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส	37
รูปที่ 11 ค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	41
รูปที่ 12 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	43
รูปที่ 13 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	45
รูปที่ 14 สภาพแขวนลอยของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	47
รูปที่ 15 ค่า L* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	50
รูปที่ 16 ค่า a* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	51
รูปที่ 17 ค่า b* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	51
รูปที่ 18 ค่า ΔE^* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C	52

รูปที่ 19	กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C.....	54
รูปที่ 20	ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C.....	66
รูปที่ 21	ปริมาณยีสต์และราของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C.....	67
รูปที่ 22	ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	93
รูปที่ 23	ปริมาณยีสต์และราของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	94



บทที่ 1

บทนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจกับการดูแลสุขภาพร่างกายมากขึ้น โดยหนึ่งในสิ่งสำคัญของการดูแลสุขภาพร่างกายคือการเลือกรับประทานอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์ ส่งเสริมต่อสุขภาพ อาทิเช่น ผักและผลไม้ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้ให้คำแนะนำว่า “การบริโภคผักและผลไม้อย่างน้อย 400 กรัมต่อวัน มีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรัง (chronic disease) เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคอ้วน และโรคหลอดเลือดหัวใจ” (WHO, 2003) เนื่องจากในผักและผลไม้อุดมไปด้วยเส้นใยอาหาร แร่ธาตุ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญหลายชนิด จึงทำให้ผู้ผลิตนิยมที่จะนำผักและผลไม้ไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายรูปแบบเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการผลิตภัณฑ์อาหารประเภทผักและผลไม้ที่มีความสดใหม่และคงไว้ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการ สมูทตี (smoothie) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมอย่างมากในปัจจุบัน เนื่องจากเป็นเครื่องดื่มพร้อมรับประทาน (ready-to-drink beverage) ที่บริโภคได้ง่าย ให้รสชาติความสดใหม่ของผักและผลไม้ อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย จึงทำให้ความต้องการในการบริโภคมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้น (Safefood, 2009) สมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสเป็นสูตรผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภคประเทศไทย เพราะด้วยรสชาติที่เปรี้ยวและหอมหวาน ทำให้เกิดความรู้สึกสดชื่น สามารถหารับประทานได้ง่าย และผลไม้ทั้งสองชนิดยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงอีกด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์อาหารนี้มีอายุการเก็บที่สั้นเพียงประมาณ 1-2 สัปดาห์ แม้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิแช่เย็น (4 °C) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้กระบวนการผลิตที่สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้นเพื่อลดการสูญเสีย อีกทั้งยังเพิ่มศักยภาพในการแข่งขันด้านการตลาดให้กับผลิตภัณฑ์ได้ทั้งภายในและภายนอกประเทศ กระบวนการผลิตโดยทั่วไปที่นิยมใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาสมูทตีคือ กระบวนการที่ใช้ความร้อน (thermal processing) ตัวอย่างเช่นการพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) แต่ความร้อนมีผลต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ รวมไปถึงยังทำลายคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร อาทิเช่น สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นต้น (Christiaens และคณะ, 2012) ซึ่งเป็นสิ่งที่ผู้ผลิตและผู้บริโภคไม่ต้องการให้เกิดขึ้น กระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อน (non-thermal processing) จึงเป็นทางเลือกที่ดีในการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โดยยังคงไว้ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ไว้ได้ อย่างไรก็ตาม กระบวนการที่ไม่ใช้ความร้อน เช่น การใช้ความดันสูง (high pressure) หรือ การใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบเป็นจังหวะ (pulsed electric field) เป็นเทคโนโลยีที่มีต้นทุนสูงและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการควบคุมและดำเนินการ ดังนั้นการเติมวัตถุเจือ

ปนในอาหาร (food additive) ที่มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและมีความสามารถในการเพิ่มอายุการเก็บจึงเป็นทางเลือกที่เหมาะสมกับผู้ประกอบการโดยทั่วไปมากกว่า เนื่องจากสามารถใช้งานได้ง่าย แต่วัตถุเจือปนในอาหารดังกล่าวก็มีหลากหลายประเภท ในแต่ละประเภทก็มีความเหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันออกไป ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี หรือจุลินทรีย์ของในผลิตภัณฑ์ หรือต่อบรรจุภัณฑ์เมื่อใช้ร่วมกันได้ ดังนั้นการศึกษาผลเชิงลึกของวัตถุเจือปนในอาหารที่มีต่อผลิตภัณฑ์ร่วมกับบรรจุภัณฑ์อาหารชนิดต่าง ๆ ที่นิยมใช้ จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อที่จะนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในกระบวนการผลิตสมูทที่ให้มีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น มีความปลอดภัย ในขณะที่ยังสามารถรักษาคุณค่าทางโภชนาการไว้ให้คงเดิมมากที่สุดอีกด้วย จากเหตุผลข้างต้น ไดมิลไดคาร์บอเนตจึงเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่น่าสนใจในการใช้ในสมูทที่ เนื่องจากมีความปลอดภัย และสามารถยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จากการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ อีกทั้งมีการนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม อาทิเช่น ไวน์และชา มาเป็นระยะเวลาอันยาวนานจนถึงปัจจุบัน

งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของไดมิลไดคาร์บอเนตต่อสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์สมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสร่วมกับบรรจุภัณฑ์ และศึกษาอายุการเก็บระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิเย็น

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 สมูทตี (smoothie)

สมูทตี คือเครื่องดื่มผสมที่มีลักษณะกึ่งเหลว มีเนื้อสัมผัสที่เนียนสม่ำเสมอ ประกอบด้วยส่วนผสมของผักและผลไม้ หรือน้ำผักและน้ำผลไม้ อาจมีส่วนผสมอื่น อาทิเช่น โยเกิร์ต นม น้ำตาล หรือน้ำผึ้งอยู่ด้วย ขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้บริโภค อาจมีการเติมสารทำให้คงตัว (stabilizing agent) เพื่อให้เกิดองค์ประกอบที่เสถียร ปัจจุบันสมูทตีเป็นหนึ่งในเครื่องดื่มที่เป็นที่นิยมของผู้บริโภคที่ดูแลสุขภาพร่างกาย เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่นิยมนำมารับประทานเพื่อให้ได้รับปริมาณผักและผลไม้ที่เหมาะสมในแต่ละวันตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก จากรายงานข่าวในประเทศไทยปี พ.ศ. 2559 พบว่า สมูทตีมีมูลค่าทางการตลาดมากถึง 700 ล้านบาทและมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นถึง 20% ในปีถัดไป ทั้งนี้เนื่องมาจากผู้บริโภคชาวไทยได้ตระหนักถึงเรื่องการดูแลสุขภาพร่างกายเพิ่มมากขึ้น (มดิชน, 2017) อย่างไรก็ตามจากรายงานโครงการศึกษาวิจัยแผนการลงทุนด้านสุขภาพในแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 10 พ.ศ. 2550-2554 พบว่าคนไทยมากกว่า 75% ยังคงบริโภคผักและผลไม้น้อยกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ (วิสิฐ จະวะสิต, 2557) จากงานวิจัยโดย Ruxton และคณะ (2006) รายงานว่าการบริโภคน้ำผักและผลไม้สดให้ผลประโยชน์ทางสุขภาพเช่นเดียวกับการบริโภคผักและผลไม้สด เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนี้สูตรการเลือกใช้ผักและผลไม้แต่ละชนิดที่นำมาผสมกันเป็นสมูทตี ยังส่งผลให้มีการเพิ่มขึ้นของสารสำคัญบางอย่างมากกว่าการใช้ผักหรือผลไม้อย่างเดียวอีกด้วยดังแสดงในตารางที่ 1 จากงานวิจัยของ Müller และคณะ (2010) ที่วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในสมูทตีที่ขายในท้องตลาด พบว่าปริมาณวิตามินซีของสมูทตีที่ทำมาจากผักและผลไม้ผสมกันมีแนวโน้มมากกว่าสมูทตีที่ทำมาจากผลไม้เพียงอย่างเดียว ดังนั้นการบริโภคสมูทตีจึงมีส่วนช่วยในการทำให้ผู้บริโภคได้รับปริมาณผักและผลไม้เพียงพอต่อวันได้

ตารางที่ 1 ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการในสมูทที่ 11 สูตร

ลำดับ ที่	ส่วนประกอบหลัก	วิตามินซี (mg/100g)	สารประกอบ			
			ฟีนอลิก ทั้งหมด (mg GAE/100g)	FRAP (mmol Fe ²⁺ /100g)	TEAC (mmol TE/100g)	ORAC (mmol TE/100g)
1	แอปเปิล+แครอท+ สตอร์ว์เบอร์รี่	81.1-85.5	157.8-161.9	1.79-1.93	1.24-1.32	3.76-3.96
2	กล้วย+ส้ม+แครอท	83.3-88.1	100.8-103.0	1.16-1.26	0.58-0.60	1.08-1.12
3	กล้วย+ส้ม+ฟักทอง	87.4-91.4	102.5-106.4	1.01-1.07	0.73-0.77	0.88-0.92
4	กล้วย+ส้ม+ฟักทอง+ แครอท+กีวี	87.6-91.5	115.5-118.1	1.06-1.16	0.70-0.76	1.20-1.26
5	ลูกพีช+แครอท+ มะพร้าว+แอปเปิล+ สัปปะรด	62.7-69.7	79.5-81.5	0.86-0.88	0.57-0.59	0.89-0.95
6	แอปเปิล+แครอท+ สัปปะรด+เสาวรส	66.2-73.8	89.9-92.4	1.12-1.22	0.67-0.71	1.22-1.26
7	สตอร์ว์เบอร์รี่+ แอปเปิล+องุ่นขาว+ ส้ม+กล้วย	40.3-42.8	88.0-92.1	0.74-0.80	0.71-0.75	1.54-1.62
8	องุ่นขาว+มะม่วง+ส้ม+ ลูกพีช+สัปปะรด	48.1-52.5	50.2-52.7	0.51-0.57	0.45-0.49	0.61-0.65
9	แอปเปิล+กล้วย	45.0-48.7	173.5-178.2	1.19-1.23	0.52-0.54	2.22-2.26
10	แอปเปิล+ส้ม+กล้วย+ มะม่วง+เสาวรส	63.7-69.5	73.5-78.1	0.35-0.37	0.33-0.35	0.74-0.84
11	แอปเปิล+ราสเบอร์รี่+ กล้วย+สตอร์ว์เบอร์รี่	48.4-52.6	135.7-139.8	1.06-1.10	0.87-0.93	2.14-2.18

ที่มา : Müller และคณะ (2010)

2.2 มะม่วง (Mango)

มะม่วง มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Mangifera indica* เป็นไม้ยืนต้นในสกุล *Mangifera* เป็นผลไม้เมืองร้อน (tropical fruit) ในวงศ์ Anacardiaceae มีถิ่นกำเนิดจากประเทศอินเดีย มีสายพันธุ์มากถึงประมาณ 49 สายพันธุ์ ปลูกกระจายทั่วอยู่ตามประเทศในเขตร้อน ปัจจุบันประเทศไทยมีการเพาะปลูกเป็นจำนวนมาก เป็นหนึ่งในผลไม้ทางเศรษฐกิจของประเทศไทยสำคัญที่ผลิตได้เป็นจำนวนมากและส่งออกไปยังต่างประเทศได้ สายพันธุ์ที่นิยมเป็นอย่างมากคือ มะม่วงน้ำดอกไม้ (ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Mangifera indica* Linn.) นิยมรับประทานสุก เนื่องจากผลสุกมีเปลือกสีเหลืองสวย เนื้อผลภายในมีสีเหลืองทอง มีความแน่นปานกลาง มีกลิ่นและรสชาติหอมหวานดึงดูดน่ารับประทาน ในประเทศไทยนิยมนำมาทำเป็นของหวาน อาทิเช่น ข้าวเหนียวมะม่วง ไอศกรีม แยม และสมูทตี เป็นต้น (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะม่วง

2.2.1. ลักษณะต้นของมะม่วง

มะม่วงเป็นไม้ยืนต้นขนาดใหญ่ ทรงพุ่ม มีความสูงประมาณ 21 เมตร พุ่มกว้าง 10 เมตร มีรูปทรงเป็นรูปทรงสามเหลี่ยม มีลำต้นประธานและแตกกิ่งสาขาออกโดยรอบสลับกันไป กิ่งสาขาด้านล่างจะยาวและใหญ่กว่ากิ่งสาขาที่อยู่ด้านบน มีอายุได้ถึง 100 ปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2551)

2.2.2. ลักษณะใบของมะม่วง

เป็นใบเดี่ยว ทรงยาว ปลายแหลมเป็นรูปหอก (lanceolate) ทรงรี (eliptic) หรือทรงยาวรูปไข่ (oblong) โดยทั่วไปใบมีขนาดยาว 15 – 45 เซนติเมตร กว้าง 3 – 30 เซนติเมตร แผ่นใบหนาแข็ง ก้านใบเรียวยาว 2.5 – 13 มิลลิเมตร โคนก้านใบมีเส้นใบ 20 – 30 คู่ ขอบใบเรียบ (entire) แนวขอบใบอาจเป็นคลื่น การเรียงตัวของใบเป็นแบบสลับ

2.2.3 ลักษณะรากของมะม่วง

เป็นระบบรากแก้ว ลึกประมาณ 5 เมตร ประกอบด้วยรากสาขาเจริญออกจากรากแก้วเป็นทรงสามเหลี่ยมแผ่ออกไปได้ไกล 3 – 5 เมตร

2.2.4 ลักษณะผลของมะม่วง

มะม่วงเป็นพืชผลเดี่ยวประกอบไปด้วย 3 ชั้น คือ เปลือกผลด้านนอกที่มีลักษณะค่อนข้างเหนียว (exocarp) ถัดมาเป็นเนื้อผลส่วนที่ไ้รับประทาน (mesocarp) และชั้นในที่มีลักษณะแข็ง (endocarp) ภายในชั้นในมีเมล็ดอยู่ ลักษณะทรงผลมีตั้งแต่ทรงกลม (round), ทรงยาวรูปไข่ (oblong) ไปจนถึงทรงยาวรี (elongate) ดังแสดงในรูปที่ 1 เมื่อผลโตเต็มที่จะมีเลนติเซล (lenticel) ซึ่งมีลักษณะเป็นช่องขนาดเล็กจำนวนมากบนผิวเปลือกด้านนอกมองคล้ายจุดขนาดเล็ก เมื่อผลแก่เต็มที่เลนติเซลจะแห้งเป็นจุดดำเล็ก ๆ กระจายทั่วผิวเปลือก



รูปที่ 1 ลักษณะผลมะม่วง

ที่มา : กรมส่งเสริมการเกษตร (2551)

CHULALONGKORN UNIVERSITY

ผลมะม่วงอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนี้ยังพบวิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง ธาตุแคลเซียม ธาตุฟอสฟอรัสและธาตุเหล็ก อีกด้วย งานวิจัยยังพบว่ามะม่วงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ซึ่งสารเหล่านี้มีสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคหลายชนิด อาทิเช่น โรคหลอดเลือดหัวใจและโรคมะเร็ง (Lemmens และคณะ, 2012) ในขณะที่เนื้อมะม่วงยังมีสมบัติในการป้องกันการเกิดโรคผิวหนังและการกำจัดอนุมูลอิสระ โดยเนื้อมะม่วงสามารถลดการทำลายผนังเซลล์และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ (superoxide dismutase และ catalase) ได้อีกด้วย (กฤษณ์ สงวนพวง, 2561)

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของมะม่วงต่อ 100 กรัมที่บริโภคได้

คุณค่าทางโภชนาการ	มะม่วงดิบ	มะม่วงสุก
พลังงาน (kCal)	87	99
น้ำ (g)	79	80
น้ำตาล (g)	7	13
ใยอาหาร (g)	2	1
เบต้า-แคโรทีน (μg)	56	59
วิตามินซี (mg)	31	13
โปแตสเซียม (mg)	197	183

ที่มา: สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2553)

2.3 เสาวรส (Passion fruit)

เสาวรส หรือกะทกรกฝรั่ง หรือกะทกรกสีดา หรือกะทกรกยักษ์ มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Passiflora foetida* Linn. เป็นไม้เถาเลื้อยในสกุล Passifloraceae มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ แถวประเทศบราซิล ปารากวัย และอาร์เจนตินา มีสายพันธุ์ที่สามารถบริโภคได้ประมาณ 50 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่นิยมเพาะปลูกทางการค้ามี 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ผลสีเหลือง (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa*) และ พันธุ์ผลสีม่วง (*Passiflora edulis*) ในประเทศไทยนำเข้ามาเพาะปลูกครั้งแรกในปี พ.ศ. 2548 เป็นสายพันธุ์หรือพืชที่นิยมเพาะปลูกเพราะเป็นพืชที่ปลูกง่าย ให้ผลตอบแทนเร็ว ให้ผลผลิตต่อไร่สูงและต้องการการดูแลรักษาน้อย ด้วยรสชาติที่เปรี้ยวจัดและมีกลิ่นเด่นชัดเฉพาะตัวจึงเป็นที่นิยมในการบริโภค (Wijeratnam, 2016) นอกจากการบริโภคแบบสดแล้วยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายชนิด อาทิเช่น ไอศกรีม แยม เยลลี่หรือน้ำผลไม้ เป็นต้น (เพื่อเกษตร, 2560)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของเสาวรส

2.3.1 ลักษณะต้นของเสาวรส

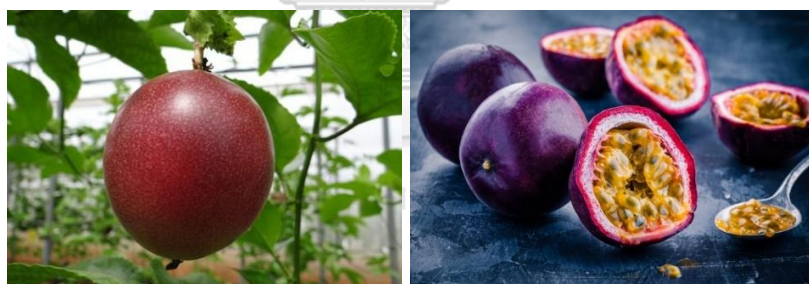
เสาวรสเป็นไม้เลื้อยขนาดใหญ่ มีอายุประมาณ 4-5 ปี มีลำต้นเป็นเถา เถาแตกกิ่งและมีหนามขนาดเล็กขึ้นปกคลุมแบบห่างๆ

2.3.2 ลักษณะใบของเสาวรส

เป็นใบแทงออกแบบใบเดี่ยว เรียงสลับกันบนเถา แผ่นใบมีสีเขียวแยกเป็น 3 แฉก ปลายแฉกแหลม แผ่นใบค่อนข้างหนาและกรอบ

2.3.3 ลักษณะผลของเสาวรส

ผลเสาวรสเป็นผลแบบอวบน้ำประกอบด้วย 2 ส่วน คือ เปลือกมีลักษณะค่อนข้างหนาและเป็นมัน ถัดมาด้านในเป็นถุงคัพพะ (embryo sac) ซึ่งมีเนื้อเยื่อที่ห่อหุ้มเมล็ดด้านในจำนวนมาก (juicy arillus tissue) เมล็ดมีสีดำมีเนื้อสีเหลืองปนส้มปะปนอยู่ด้วยด้วย ลักษณะทรงผลค่อนข้างกลม หากเป็นพันธุ์ผลสีม่วงเปลือกจะมีสีม่วงเข้มผิวมันหรือหยาบคล้ายหนังฟอกดังแสดงในรูปที่ 2 ส่วนพันธุ์ผลสีเหลืองเปลือกจะมีสีเหลืองสดผิวมัน



รูปที่ 2 ลักษณะผลเสาวรส

ที่มา : เพ็ญเกษตร (2560)

เสาวรสเป็นหนึ่งในผลไม้ชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง อุดมไปด้วยวิตามินและเกลือแร่หลายชนิด อาทิ วิตามินซี วิตามินเอ วิตามินบี 2 กรดโฟลิก ธาตุแคลเซียม ธาตุเหล็ก ธาตุแมกนีเซียม ธาตุฟอสฟอรัส ธาตุโพแทสเซียม และธาตุสังกะสี เป็นต้น นอกจากนี้เส้นใยอาหารของเสาวรสที่มีอยู่สูงยังช่วยให้ระบบขับถ่ายของผู้บริโภคมีความสมดุลมากยิ่งขึ้น ดังแสดงตารางที่ 3

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของเสาวรส

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณต่อ 100 g ที่บริโภคได้
พลังงาน (kCal)	97
คาร์โบไฮเดรต (g)	23.38
น้ำตาล (g)	11.2
เส้นใย (g)	10.4
ไขมัน (g)	0.7
โปรตีน (g)	2.2
วิตามินเอ (μg)	64
เบตาแคโรทีน (μg)	734
วิตามินบี 2 (mg)	0.13
ธาตุแคลเซียม (mg)	30
ธาตุเหล็ก (mg)	12
ธาตุแมกนีเซียม (mg)	29
ธาตุฟอสฟอรัส (mg)	68
โพแทสเซียม (mg)	348
ธาตุสังกะสี (mg)	0.1

ที่มา: สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข (2553)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

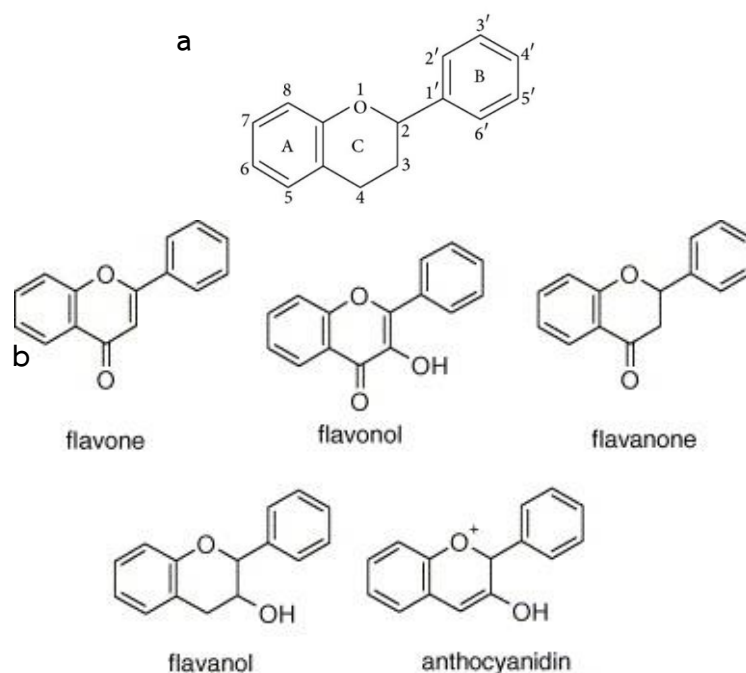
2.4 สารประกอบที่สำคัญในสมูทตี

สมูทตีที่มีสารประกอบหลักที่พบมากเช่นเดียวกับในผักและผลไม้คือ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งเป็นสารเคมีกลุ่มใหญ่ที่พืชสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลิก มีโครงสร้างประกอบไปด้วยวงแหวนแโรมาติก (aromatic ring) อย่างน้อยหนึ่งวงที่เชื่อมต่อกับหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group, OH group) ด้วยโครงสร้างรูปแบบดังกล่าวจึงทำให้มีสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ที่พบในพืช ทำให้สามารถจัดแบ่งกลุ่มได้หลากหลายรูปแบบ อาทิเช่น ตามแหล่งกำเนิด ตามโครงสร้างทางเคมีหรือการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เป็นต้น โดยสารประกอบฟีนอลิกสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มหลักคือ กลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นกลุ่มส่วนใหญ่ที่พบในผักและผลไม้ประกอบไปด้วย 2 กลุ่มย่อยหลักคือ แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และแอนโทแซนทิน (anthoxanthins) ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกอีกกลุ่มหนึ่งคือ กลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (nonflavonoids) ซึ่งมีกรดฟีนอลิก (phenolic acids) เป็น

สารกลุ่มใหญ่ ซึ่งจากงานวิจัยพบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้ง 2 กลุ่มหลักนี้ มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่ดี ช่วยลดอาการอักเสบ ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน อีกทั้งยังช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ได้อีกด้วย (Rosa และคณะ, 2019)

2.4.1 ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารทุติยภูมิที่พบได้ในพืชชั้นสูงทั่วไป โดยฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างหลักคือมี phenyl rings 2 วงเชื่อมต่อกันด้วย heterocyclic pyran ring ตรงกลาง เรียกว่า phenyl benzopyran skeleton โดยในแต่ละกลุ่มย่อยของฟลาโวนอยด์จะแบ่งออกตามความแตกต่างของ pyran ring และรูปแบบการเกิดของ hydroxylation กับ methylation ที่เกิดขึ้นกับ phenyl rings ทั้งสองวงของโครงสร้างหลัก ฟลาโวนอยด์ถูกจำแนกออกเป็นสองกลุ่มหลักได้แก่ แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และแอนโทแซนทิน (anthoxanthins) โดยแอนโทไซยานินจะพบมากในผักและผลไม้ที่มีสี อาทิเช่น องุ่น ทับทิม สตรอเบอร์รี่และข้าวแดง เป็นต้น ในขณะที่แอนโทแซนทิน (anthoxanthins) เป็นกลุ่มของสารที่ไม่มีสีและสามารถแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย ได้แก่ ฟลาโวน (flavones), ไอโซฟลาโวน (isoflavones), ฟลาโวนอล (flavonols), ฟลาวาโนน (flavanones), ฟลาวาโนนอลล์ (flavanonols) และ ฟลาแวน (flavan) ดังแสดงในรูปที่ 3 โดยตัวอย่างของฟลาโวนอยด์ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายคือ เควอซิทิน (quercetin) ที่พบมากในผลไม้ตระกูลเบอร์รี่, คาเทชิน (catechin) ที่พบมากในชาเขียวหรือ นารินจิน (naringin) ที่ให้รสขมในเปลือกของผลไม้ตระกูลส้ม (citrus fruit) เป็นต้น (Rosa และคณะ, 2019)

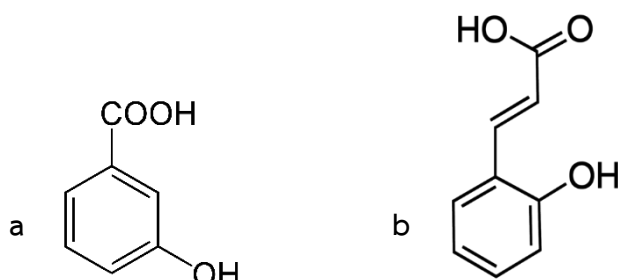


รูปที่ 3 โครงสร้างหลักของฟลาโวนอยด์ (a) และตัวอย่างของฟลาโวนอยด์ (b)

ที่มา :Pal และ Saha (2014)

2.4.2 กรดฟีนอลิก (phenolic acids)

กรดฟีนอลิกเป็นสารที่สำคัญที่สุดในกลุ่มที่ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มหลักคือ กรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) และ กรดไฮดรอกซีซินนามิก (hydroxycinnamic acids) ดังแสดงในรูปที่ 4 สารในกลุ่มกรดไฮดรอกซีเบนโซอิกพบได้มากในเบอร์รี่ ถั่ว และชา โดยไม่ค่อยพบในรูปแบบอิสระ (free form) ส่วนใหญ่จะปรากฏอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ (glycosylated) เชื่อมต่ออยู่กับกรดอินทรีย์ เช่น กรดควินิก (quinic acid), กรดมาลิก (malic acid) หรือกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) หรือเชื่อมอยู่กับเซลล์พืช โดยโครงสร้างที่ตำแหน่ง C6 – C2 เป็นอนุพันธ์กรดเบนโซอิก (hydroxybenzoic) ความแตกต่างของโครงสร้างขึ้นอยู่กับปฏิกิริยา hydroxylation กับ methylation ที่เกิดกับวงแหวนอะโรมาติก ตัวอย่างเช่น กรดวานิลลิก (vanillic acid), กรดแกลลิก (gallic acid) และ กรดไซริงจิก (syringic acid) ในขณะที่สารในกลุ่มของไฮดรอกซีซินนามิก พบได้มากในผลไม้ เช่น เบอร์รี่ แอปเปิ้ล ลูกพีช หรือในผัก เช่น บร็อคโคลี่ มะเขือเทศ ผักกาด เป็นต้น โดยโครงสร้างที่ตำแหน่ง C6 - C3 เป็นอนุพันธ์กรดซินนามิก (cinnamic acid) โดยตัวอย่างที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย คือ กรดคาเฟอิก (caffeic acid), กรดเฟอร์ริก (ferulic acid), กรดซินาปิก (sinapic acid) และกรดพารา-คูมาริก (*p*-coumaric acid) เป็นต้น (Laura และคณะ, 2019)



รูปที่ 4 โครงสร้างของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (a) และกรดไฮดรอกซีซินนามิก (b)

ที่มา : Merck (2020)

2.4.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือสารที่มีความสามารถในการป้องกันการถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยว (unpaired electron) อยู่อย่างน้อย 1 ตัว ซึ่งเกิดจากกระบวนการเผาผลาญสารอาหารเพื่อสร้างพลังงานให้กับร่างกาย จึงมีความไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ทำให้ต้องทำปฏิกิริยากับโมเลกุลโดยรอบเพื่อดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงมาเพื่อให้ตัวเองมีความเสถียร เมื่อโมเลกุลอื่นเสียอิเล็กตรอนออกไปจากโมเลกุลจะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่แทนและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อย ๆ เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) จนเกิดความเสียหายแก่เซลล์ร่างกายและทำให้เกิดผลเสียต่อสุขภาพ สารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ อาทิเช่น การทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ (free radical scavenging) เพื่อให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น หรือการเข้าไปจับโลหะหนัก (metal chelating) เพื่อไม่ให้โลหะหนักเช่น Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} ไปเร่งการเกิดอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Lockwood, 2009)

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสามารถทำได้ด้วยวิธี 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay โดยการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH คือการใช้สาร DPPH (DPPH•) ซึ่งเป็นตัวแทนของอนุมูลอิสระและมีสีม่วง เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ (AH) หรืออนุมูลอิสระ (R•) จากตัวอย่างทดลองดังแสดงในสมการที่ 1 และ 2 ตามลำดับ จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลืองและสามารถติดตามผลการวิเคราะห์โดยใช้เครื่องเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 nm (Brand-Williams และคณะ, 1995)



ขณะที่การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ใช้หลักการถ่ายเทอิเล็กตรอนของสารต้านอนุมูลอิสระให้สารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Fe (III) (TPTZ)}_2]^{3+}$ ทำให้เปลี่ยนเป็น $[\text{Fe (II) (TPTZ)}_2]^{2+}$ ดังแสดงในสมการที่ 3 และสามารถวิเคราะห์โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 nm (Benzie และ Strain, 1996)



2.5 การเสื่อมเสียของสมุนไพร

เครื่องดื่มสมุนไพรที่มีองค์ประกอบของผักและผลไม้หลากหลายชนิดมาผสมรวมกันแตกต่างกันออกไปจึงทำให้การเสื่อมเสียของสมุนไพรที่มีความคล้ายคลึงกับผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำมาจากผักและผลไม้ คือเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่าย (perishable food) เนื่องจากมีความชื้น (moisture content) และวอเตอร์แอกติวิตี (water activity) สูง อาหารกลุ่มนี้หากถูกเก็บรักษาอย่างไม่เหมาะสมจะเกิดการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่เกิน 1 สัปดาห์ ซึ่งมีสาเหตุได้ทั้งจากทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์

2.5.1 การเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์

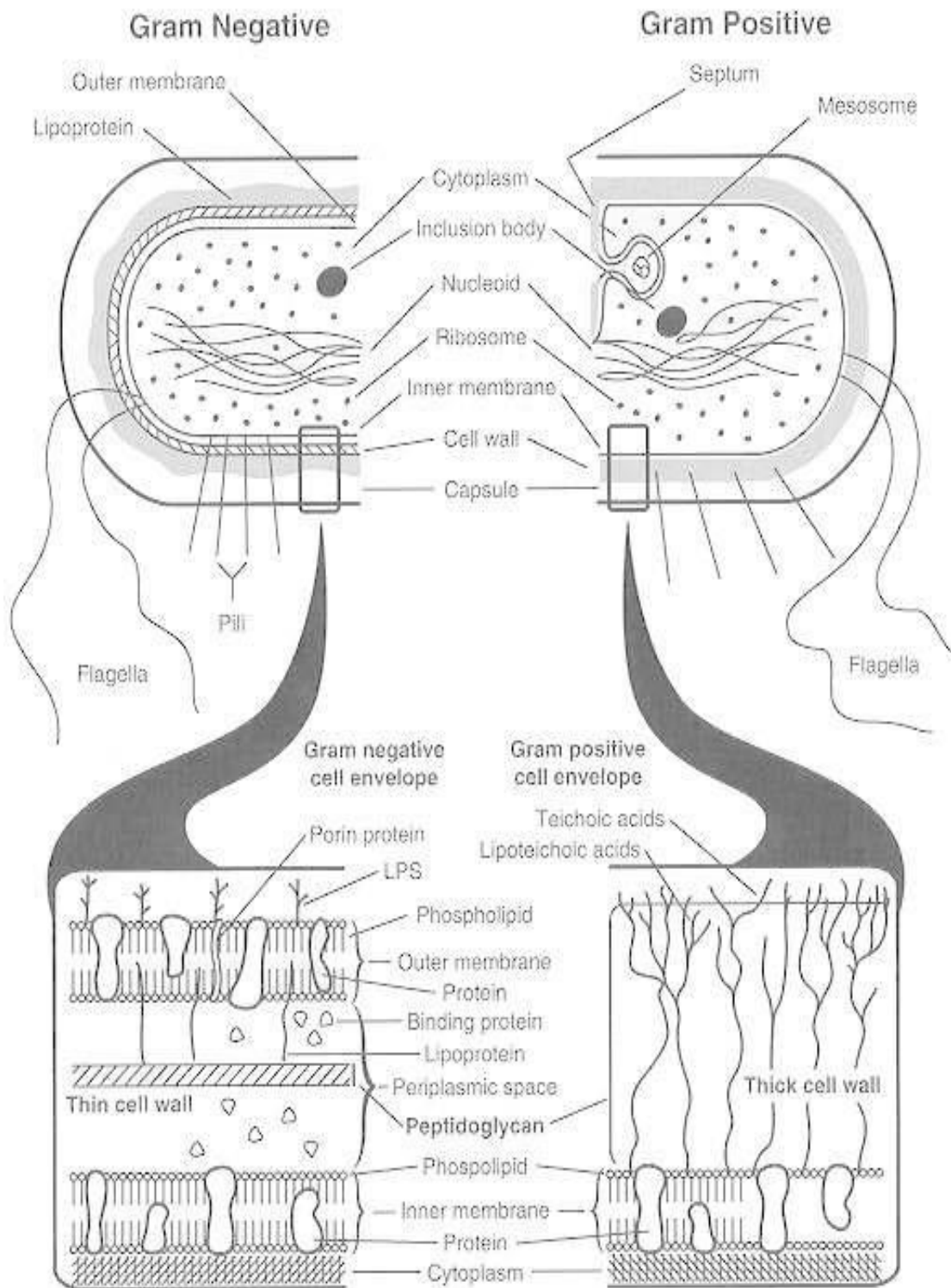
จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กและไม่สามารถที่จะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวหรือหลายเซลล์ สามารถแบ่งออกได้ 2 กลุ่มย่อยตามโครงสร้างของเซลล์คือ กลุ่มแบคทีเรีย (prokaryotes) ประกอบไปด้วยแบคทีเรีย (bacteria) และอาร์เคีย (archaea) ซึ่งมีลักษณะเด่นคือ ส่วนของสารพันธุกรรมภายในเซลล์จะไม่อยู่ภายในนิวเคลียส (nucleus) เนื่องจากไม่มีเยื่อหุ้มเซลล์และไม่พบออร์แกเนลล์ที่มีเยื่อหุ้มอยู่ภายในเซลล์ จึงทำให้จุลินทรีย์กลุ่มนี้มีโครงสร้างที่เรียบง่าย ไม่ซับซ้อน ในขณะที่กลุ่มที่สองคือ ยูแคริโอต (eukaryotes) ประกอบไปด้วย ฟังไจ (fungi) โพรทิสตา (Protista) และกลุ่มไวรัส (viruses) มีความแตกต่างตรงที่สารพันธุกรรมภายในเซลล์จะอยู่ในนิวเคลียส นอกจากนี้ยังพบระบบเยื่อหุ้มโครงสร้างอื่นภายในเซลล์จึงทำให้ลักษณะทางโครงสร้างซับซ้อนกว่าแบคทีเรีย สมุนไพรที่มีองค์ประกอบของผักและผลไม้ที่แตกต่างกันออกไป ผักและผลไม้มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมาจากแหล่งเพาะปลูกตามธรรมชาติซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากน้ำ และสิ่งมีชีวิต เมื่อเนื้อเยื่อเกิดการเสียหายจากขั้นตอนการเก็บเกี่ยวหรือกระบวนการผลิตสมุนไพร จึงทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้มีโอกาสดำรงตัวเข้าไปภายในผลิตภัณฑ์ทำให้ผลิตภัณฑ์เสื่อมเสียเร็วขึ้น ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียและก่อโรคจึงมีความแตกต่างกันออกไปด้วยเช่นกัน จุลินทรีย์หลายชนิดที่มักพบและเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผักและผลไม้เน่าเสียได้แก่ (ธารารัตน์, 2558)

2.5.1.1 แบคทีเรีย (bacteria)

แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียวที่มีรูปร่างหลากหลาย มีขนาดระหว่าง 0.2 - 2 μm มีรูปร่างหลากหลายแบบ อาทิเช่น รูปร่างกลม (coccus) แท่ง (bacillus) แท่งโค้ง (vibrio) เป็นต้น มีการเพิ่มจำนวนแบบแบ่งเซลล์จากหนึ่งเป็นสองเรียกว่า binary fission ส่งผลให้มีการจัดเรียงของเซลล์ที่แตกต่างกันในแต่ละชนิดอีกด้วย เช่น มีการจัดเรียงเป็นสาย เป็นคู่ เป็นกลุ่ม 4 เซลล์ เป็นกลุ่ม 8 เซลล์หรือเป็นพวง คล้ายพวงองุ่น แบคทีเรียสามารถแบ่งออกตามโครงสร้างของผนังเซลล์ได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) และกลุ่มแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) แบคทีเรียแกรมบวกมีโครงสร้างของผนังเซลล์ (cell wall) ที่มีชั้นของเพปติโดไกลแคน (peptidoglycan) หนา ซึ่งเกิดจากการเรียงซ้อนกันเพปติโดไกลแคนหลายสายเข้าด้วยกัน ที่ผนังเซลล์พบกรดไทโคอิก (teichoic acid) ฝังตัวอยู่บนชั้นเพปติโดไกลแคนและพบกรดไลโปไทโคอิก (lipoteichoic acid) ฝังตัวอยู่บนชั้นเพปติโดไกลแคนลึกลงไปถึงส่วนผิวของเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane หรือ plasma membrane) ดังแสดงในรูปที่ 5 อีกกลุ่มหนึ่งคือแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) แบคทีเรียกลุ่มนี้มีโครงสร้างผนังเซลล์เกิดจากเพปติโดไกลแคนเช่นกัน แต่มีความบางกว่าที่พบในแบคทีเรียแกรมบวกและไม่พบกรดไทโคอิกอยู่ มีชั้นปกคลุมอยู่ด้านนอกผนังเซลล์เรียกว่า outer membrane เกิดจากการเชื่อมต่อกันของ lipid polysaccharide, phospholipid และ lipoprotein ซึ่งมีโปรตีน porin ทำหน้าที่ควบคุมการเข้าออกของสารต่าง ๆ และมีช่องว่างระหว่างเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) กับเยื่อหุ้มเซลล์เรียกว่า periplasmic space ซึ่งมีเอนไซม์อยู่หลากหลายชนิดเพื่อย่อยสลายสารต่าง ๆ ก่อนที่จะขนส่งเข้าสู่ภายในเซลล์โดยโปรตีนที่ชื่อว่า transport protein (Baron, 1996)

แบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ที่ทำจากผักและผลไม้ที่ส่งผลให้เกิดการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล (family) Enterobacteriaceae โดย genus *Erwinia* เป็นกลุ่มหลักที่ทำให้อาหารประเภทนี้เสื่อมเสียเนื่องจากสามารถเจริญได้ดีแม้ไม่มีโปรตีนในสารอาหาร และยังสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยเพกติน (pectin) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในโครงสร้างพืชได้ นอกจากนี้ยังสามารถเจริญเติบโตได้แม้ในอุณหภูมิแช่เย็นอีกด้วย แบคทีเรียที่เป็นกลุ่มรองลงมาคือ *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. และ *Clostridium* spp. ซึ่งทำให้เกิดจุดเน่าหรือทำให้เกิดบริเวณเน่าละ (soft rot) ในผักหลายชนิด อีกกลุ่มคือ *Xanthomonas* spp. และ

Corynebacterium spp. ที่ทำให้เกิดรอยเน่าเป็นจุดเช่นเดียวกัน หรือกลุ่มแบคทีเรียกรดแลกติก (lactic acid bacteria) ที่เป็นสาเหตุสำคัญในการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นและรสชาติ รวมไปถึงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์อีกด้วย นอกจากการเน่าเสียที่เกิดจากแบคทีเรีย แบคทีเรียบางชนิดยังก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในผลิตภัณฑ์ได้เช่นกัน โดยแบคทีเรียสำคัญที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษในผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำมาจากผักและผลไม้คือ *Escherichia coli* (*E. coli*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ (spore) และไม่สร้างสารพิษ แต่สามารถก่อโรคในมนุษย์ได้หากอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์โดยมีอาหารเป็นพาหะ สามารถทำให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตก-ยูริเมีย (hemolytic-uremic syndrome) ซึ่งเป็นสาเหตุของอาการไตวายเฉียบพลัน อีกทั้ง *E. coli* เป็นหนึ่งในเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม coliform ซึ่งใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงสุขลักษณะของกระบวนการผลิตได้ หากพบการปนเปื้อนของ *E. coli* ก็แสดงถึงผลิตภัณฑ์อาหารมีกระบวนการผลิตที่ไม่ถูกสุขลักษณะได้ อีกหนึ่งแบคทีเรียสำคัญที่ใช้บ่งชี้สุขลักษณะได้คือ *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ สามารถสร้างสารพิษที่มีผลต่อระบบทางเดินอาหารได้ (enterotoxins) ชนิด A, B, C1, C2, D และ E โดยสารพิษดังกล่าวส่งผลให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) จากการบริโภคสารพิษ (intoxication) เป็นเหตุให้เกิดอาการเจ็บป่วย คลื่นไส้ อาเจียน และวิงเวียนศีรษะได้ (ธารารัตน์, 2558)

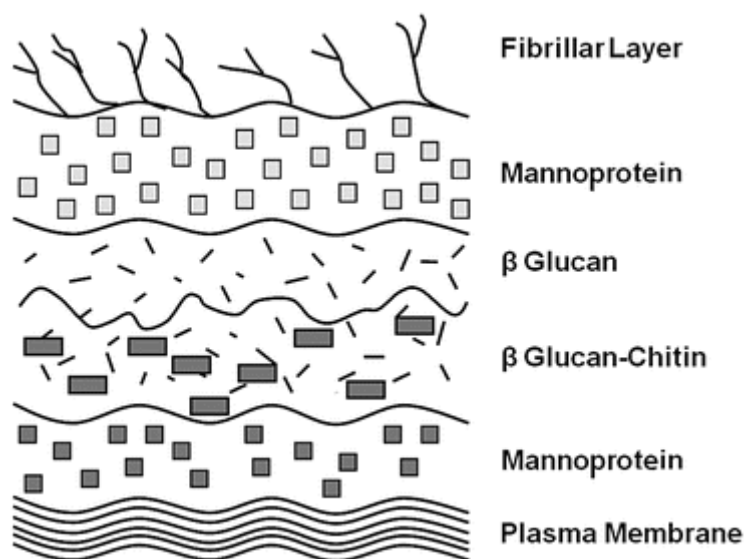


รูปที่ 5 แผนภาพโครงสร้างของเซลล์แบคทีเรียแกรมลบ (ซ้าย) และแบคทีเรียแกรมบวก (ขวา)
ที่มา : Baron (1996)

2.5.1.2 ยีสต์ (yeast)

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว รูปร่างและลักษณะมีความคล้ายคลึงกับแบคทีเรีย แต่โครงสร้างของเซลล์มีความแตกต่างกันอย่างมาก เซลล์ยีสต์มีขนาดใหญ่กว่าและมีข้อมูลทางพันธุกรรมที่ซับซ้อนกว่าแบคทีเรีย โครงสร้างของผนังเซลล์ยีสต์ส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยเบต้ากลูแคน (β -glucan) มากถึงประมาณ 60% ซึ่งเกิดมาจากการเรียงตัวต่อกันของน้ำตาลกลูโคส (glucose) เป็นสายยาวเชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 3 เรียกว่า เบต้า-1,3 กลูแคน (β -1,3-glucan) และมีกิ่งสาขา (branch) ออกไปด้านข้างด้วยเชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 และ 6 เรียกว่า เบต้า-1,6 กลูแคน (β -1,6-glucan) นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วยแมนโนโปรตีน (mannoprotein) อีกประมาณ 40% และไคติน (chitin) ที่แทรกตัวอยู่ในโครงสร้างอีกประมาณ 1-3% ดังแสดงในรูปที่ 6 ด้วยโครงสร้างดังกล่าวทำให้ยีสต์สามารถอยู่รอดในสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ ยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนด้วยการแตกหน่อ (budding) เซลล์ยีสต์เกิดใหม่จะเจริญและหลุดออกจากเซลล์แม่ ทั้งเซลล์แม่และเซลล์ใหม่สามารถแตกหน่อต่อไปได้อีก แต่อย่างไรก็ตามยีสต์บางชนิดสามารถเพิ่มจำนวนได้โดยการแบ่งเซลล์ (fission yeast) ที่คล้ายกับการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรีย (Moreno, 2012)

โดยทั่วไปยีสต์สามารถเจริญในสภาวะ pH ต่ำได้ บางชนิดสามารถทนต่อสภาวะความเข้มข้นของเกลือและน้ำตาลสูงได้ (osmophilic yeasts) ยีสต์สามารถเจริญได้ในน้ำผลไม้คั้นสดแม้ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มาแล้ว กลุ่ม genus ที่พบได้มากและเป็นสาเหตุของการเน่าเสียหลักของน้ำผลไม้ ได้แก่ *Candida* spp., *Saccharomyces* spp. และ *Rhodotorula* spp. เป็นต้น ยีสต์มีความสามารถในการหมักน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ (ethanol) และคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) ได้ โดยผ่านกระบวนการไกลโคลิซิส (glycolysis) เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดไพรูวิก (pyruvic acid) จากนั้นเปลี่ยนกรดไพรูวิกเป็นแอลกอฮอล์ โดยผ่านกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) จากกระบวนการดังกล่าว ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (total acid) เปลี่ยนแปลงไป เกิดกลิ่นหมัก จนทำให้กลิ่นรสไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค (Stewart, 2017)



รูปที่ 6 แผนภาพแสดงโครงสร้างของผนังเซลล์ยีสต์ทั่วไป

ที่มา : Stewart (2017)

2.5.1.3 รา (mould)

รา มีขนาดใหญ่กว่ายีสต์และแบคทีเรียมาก มีลักษณะเป็นเส้นใยเกิดจากหลายเซลล์เรียงต่อกันเป็นเส้นใยรา (hypha) เมื่ออยู่รวมกันเป็นกลุ่มของเส้นใย (mycelium) บางครั้งอาจจะมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ราแต่ละชนิดมีลักษณะของเส้นใยที่แตกต่างกัน บางชนิดมีผนังกันเป็นระยะตลอดความยาวของเส้นใย (septated hypha) ในขณะที่บางชนิดไม่มีผนังกัน (non-septated hypha) ขอบเขตการเจริญของเส้นใย การฟูของเส้นใยล้วนมีความแตกต่างกัน รวมไปถึงสปอร์ที่มีความแตกต่างกันทั้งในด้านสีและรูปร่าง โครงสร้างผนังเซลล์ของรามีความคล้ายคลึงกันกับยีสต์จึงทำให้สามารถทนต่อสิ่งแวดล้อมได้ดีเช่นเดียวกับยีสต์ ราสามารถเพิ่มจำนวนได้โดยการยืดเส้นใยออกไปโดยรอบจุดที่เจริญอยู่ตอนแรก จากนั้นจะสร้างสปอร์ขึ้นจากเส้นใยที่ชูขึ้นมาอยู่เหนือโคโลนี ราบางชนิดสามารถเพิ่มจำนวนโดยการรวมเส้นใยกันจนสร้างสปอร์ได้ จากนั้นสปอร์จะแพร่กระจายออกไปเพื่อเพิ่มจำนวนต่อไป เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมในการเจริญสปอร์จึงจะสามารถเจริญกลายเป็นเส้นใยเพื่อเพิ่มจำนวนต่อไปได้ (Stewart, 2017)

ราทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสียได้ด้วยการเจริญบนผิวหนังของผลิตภัณฑ์ โดยการสร้างและปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยสารที่เป็นโครงสร้างหลักของผักและผลไม้ได้ เมื่อผิวหนังของผักและผลไม้เกิดการเสียหายเชื้ออื่น ๆ ก็จะสามารถแทรกซึมเข้าไปในตัวผลิตภัณฑ์ได้ เชื้อราใน genus *Botrytis* spp., *Geotricum* spp., *Penicilium* spp., *Rhizopus* spp. และ *Fusarium* spp. มักเป็นสาเหตุหลักของการเกิดปัญหาการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์น้ำผักและผลไม้ เชื้อรา มีความสามารถในการเจริญในสภาวะความเป็นกรด-ด่างต่ำได้ บางชนิดทนต่อสภาวะความชื้นต่ำหรือการเก็บในที่เย็นได้ โดยทั่วไป เชื้อราจะปนเปื้อนมาในผักและผลไม้ในระหว่างการเก็บเกี่ยว ดังนั้นกระบวนการผลิต การล้าง ตัดแต่ง และบรรจุที่ดีจะสามารถช่วยลดการปนเปื้อนของเชื้อราในผลิตภัณฑ์ได้ (Stewart, 2017)

2.5.2 การเสื่อมเสียโดยการสูญเสียสภาพแขวนลอย (cloud loss)

สภาพแขวนลอยคือระบบที่ประกอบไปด้วยองค์ประกอบหลายอย่าง เช่น โปรตีน เพกติน ไขมัน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) แขวนลอยอยู่ในของเหลว การสูญเสียสภาพแขวนลอยของเครื่องดื่มที่ส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากสภาพแขวนลอยเกี่ยวข้องกับกลิ่นรสเฉพาะ สี และความรู้สึกในปาก (mouthfeel) ของเครื่องดื่มที่ สภาพแขวนลอยเป็นระบบที่ประกอบด้วยสารต่างๆ เช่น โปรตีน เพกติน ไขมัน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นต้น โดยเอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเตอเรส (pectin methylesterase; PME) เป็นเอนไซม์ที่สำคัญต่อการสูญเสียสภาพแขวนลอยในน้ำผลไม้ต่างๆ ดังนั้นจึงต้องมีการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดนี้ วิธีที่นิยมสำหรับการยับยั้งเอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเตอเรส คือการให้ความร้อน เช่น การให้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรซ์ เพกตินเมทิลเอสเตอเรสเป็นเอนไซม์ที่มีความสามารถในการไฮโดรไลส์ (hydrolyze) เพกติน (pectin) ซึ่งส่งผลให้เกิดการสูญเสียสภาพแขวนลอยและความเป็นเจล (gelation) ของน้ำผลไม้เข้มข้น เอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเตอเรสสามารถทนร้อนได้มากกว่าจุลินทรีย์ก่อโรค และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียหลายชนิดในน้ำผลไม้ จึงทำให้ผู้ผลิตน้ำผลไม้ใช้เอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเตอเรสเป็นหนึ่งในดัชนีเพื่อเป็นตัวชี้วัดกระบวนการผลิตแบบพาสเจอร์ไรซ์ โดยหากไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เพกตินเมทิลเอสเตอเรส อาจแสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์เป้าหมายที่ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียบางชนิดถูกยับยั้งหรือถูกทำลายหมดแล้วด้วยเช่นเดียวกัน (Basak และ Ramaswamy, 1996)

2.5.3 การเสื่อมเสียโดยการเกิดสีน้ำตาล (browning)

การเกิดสีน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ส่งผลให้สีของผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงไปอาจทำให้ผู้บริโภคไม่สามารถยอมรับได้ การเกิดสีน้ำตาลสามารถเกิดขึ้นได้ในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาโดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด ดังนี้

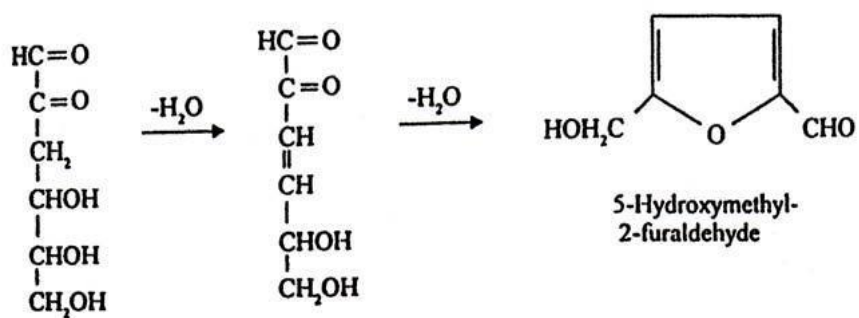
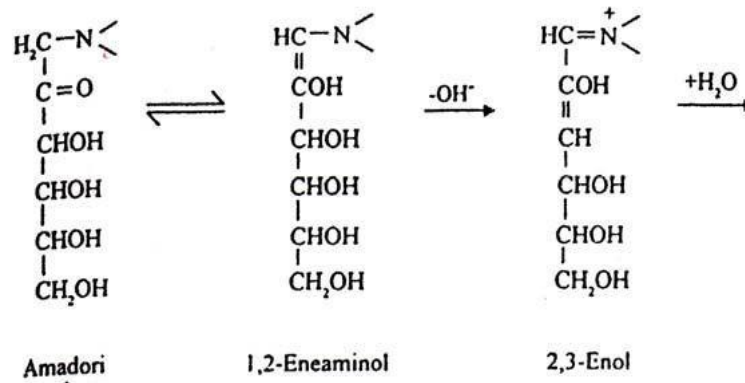
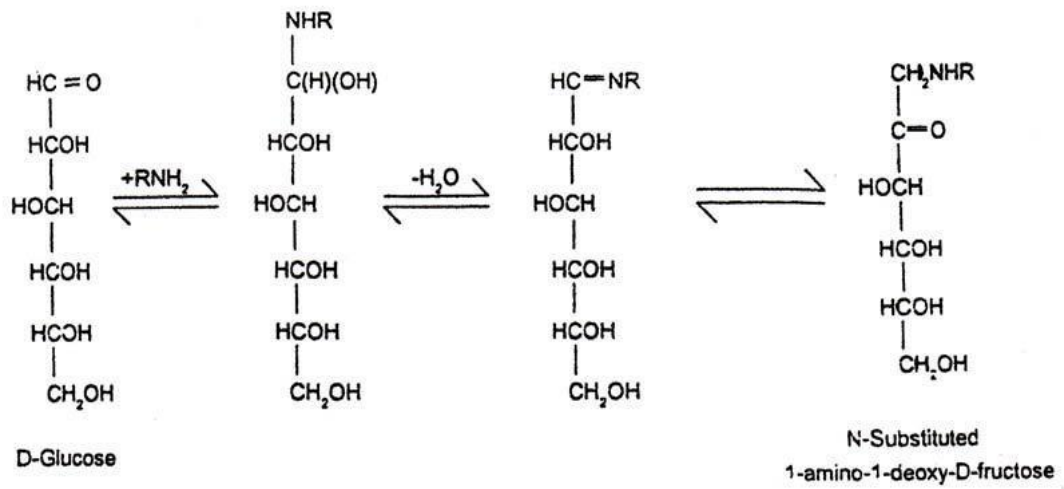
2.5.3.1 การเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ (enzymatic browning)

ผักและผลไม้มีเอนไซม์อยู่ทั่วไปภายในเซลล์ เมื่อเซลล์เกิดการฉีกขาดหรือเสียหายจากกระบวนการต่าง ๆ อาทิเช่น การปอกเปลือก การหั่น การปั่นหรือการคั้นน้ำ อาจรวมไปถึงการขนส่งที่ไม่เหมาะสมส่งผลให้เกิดการกระทบอย่างรุนแรง ทำให้เอนไซม์เหล่านั้นมีโอกาสที่จะเคลื่อนที่ออกมาสู่ภายนอกเซลล์ เอนไซม์สำคัญที่ส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลขึ้นในผลิตภัณฑ์คือ เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase; PPO) ซึ่งเป็นตัวเร่งการเกิดสีน้ำตาลผ่านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) โดย PPO สามารถกระตุ้นสารตั้งต้น (substrate) หรือสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีมากในผักและผลไม้ และเป็นสารประกอบที่ไม่มีสี (colorless) ทำให้เกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน (oxygen; O_2) ส่งผลให้ สาร monophenol ถูก ออกซิไดซ์ (oxidize) เป็น สาร diphenol จากนั้นจึงสารเหล่านี้ถูกออกซิไดซ์ต่อไปเป็น o-quinone ซึ่งมีความสามารถในการทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน (amino acid) จนได้เป็นสารสีน้ำตาลที่มีความคงตัวในที่สุด (สุวิมล, 2558) วิธีการป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์นั้นแบ่งออกเป็น 3 วิธีหลัก คือ 1. การทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (denaturation) อาทิเช่น กระบวนการผลิตโดยใช้ความร้อนซึ่งสามารถทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพได้ จากงานวิจัยพบว่าการให้ความร้อนที่ 100 °C เป็นเวลานาน 1 นาที แก่สมูทที่ผักโขม ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ (enzyme activity) ลดลงไปถึง 65% แต่อย่างไรก็ตามความร้อนสามารถส่งผลให้ความหนืด (viscosity) มีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญ (Verastegui และคณะ, 2016) นอกจากนี้การปรับค่า pH ยังส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงได้จากการเสียสภาพของโปรตีนโดยการเปลี่ยนแปลงของขั้วบนโครงสร้างโปรตีน เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสมีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ 5-7 โดยจากงานวิจัยพบว่าค่า pH ที่ 2.5 และ 9.5 ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสลดลง 91.9 และ 69.4% ตามลำดับ (Mizabutsi และคณะ, 2010) 2. การใช้รีดิวซิงเอเจนต์ (reducing agent) เพื่อให้ o-quinone เกิดปฏิกิริยาย้อนกลับไปเป็นสารประกอบฟีนอลิก สารที่ใช้เพื่อรีดิวซ์ o-quinone เช่น โซเดียม อิริทอไรบेट (sodium erythorbate) หรือ

โซเดียมเมแทไบซัลไฟต์ (sodium metabisulphite) เป็นต้น และ 3. การป้องกันไม่ให้ผลิตภัณฑ์สัมผัสกับออกซิเจน เช่น การบรรจุแบบสุญญากาศ (vacuum packaging) หรือการตัดแปรสภาพบรรยากาศ (modified atmosphere packaging; MAP) เมื่อออกซิเจนไม่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ก็จะไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นได้ ส่งผลให้ไม่เกิดสีน้ำตาลจาก o-quinone

2.5.3.2 การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช่เอนไซม์ (non-enzymatic browning)

โดยทั่วไปผักและผลไม้มีองค์ประกอบของ น้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) และกรดอะมิโนหรือสารที่มีหมู่ไนโตรเจนอื่น ๆ ซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยไม่ใช่เอนไซม์ได้ การเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) และปฏิกิริยาการเกิดคาราเมล (Caramelization) โดยปฏิกิริยาเมลลาร์ดเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับสารประกอบที่มีหมู่ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบ อาทิเช่น กรดอะมิโนและโปรตีน โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ทำให้เกิดการรวมตัวกันของน้ำตาลรีดิวซ์และหมู่อะมิโนได้เป็นไกลโคซิลแอมีน (N-substituted glycosylamine) และน้ำ จากนั้นไกลโคซิลแอมีนที่ไม่เสถียรจะเกิดการจัดเรียงตัวขึ้นใหม่ผ่าน Amadori rearrangement เป็นสารประกอบอะมาโดรี (Amadori compound) หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา enolization เปลี่ยนสารประกอบอะมาโดรีเป็นไดคีโทสเอมีน เช่น 3-ดีออกซีเฮกโซซูลอส (3-Deoxyhexosulose) และจะเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชันต่อไปทำให้เกิดอนุพันธ์ของฟูแรน (furan) ถ้าสารตั้งต้นเป็นน้ำตาลเฮกโซส (hexose sugar) อนุพันธ์ฟูแรนจะเกิดปฏิกิริยาเป็นสารประกอบเชิงซ้อน 5-hydroxymethylfurfural (HMF) ดังแสดงในรูปที่ 7 ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์ (polymerization) ได้อย่างรวดเร็วจนกลายเป็นสารสีน้ำตาลที่มีความคงตัวและไม่ละลายน้ำ เรียกว่าเมลานอยดิน (melanoidins) สาร HMF ที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นดัชนีในการแสดงถึงการเสื่อมคุณภาพของเครื่องดื่มที่มีผักและผลไม้เป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้เครื่องดื่มที่มีผักและผลไม้เป็นส่วนประกอบที่ผ่านกระบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนอาจตรวจพบสาร HMF ได้ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเสื่อมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ได้ (Morales, 2008) ส่วนปฏิกิริยาการเกิดคาราเมลนั้นเกิดจากการสลายตัวของโมเลกุลน้ำตาลด้วยความร้อนสูงจนเกิดปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรซ์ (polymerization) ของสารประกอบคาร์บอนได้เป็นสารที่มีสี กลิ่นและรสเฉพาะตัว เรียกว่า คาราเมล (caramel)



3-Deoxyhexosulose

รูปที่ 7 การเกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช่เอนไซม์ด้วยปฏิกิริยาเมลลาร์ด

ที่มา : พิมพ์เพ็ญและนริยา (2562)

2.5.4 การเสื่อมเสียโดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation)

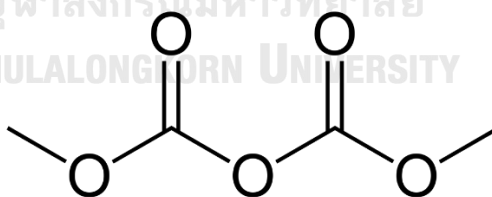
ผักและผลไม้บางชนิดประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยซึ่งเป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว สารหอมระเหยเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย ส่งผลให้เกิดกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ นำไปสู่การไม่ยอมรับของผู้บริโภค สารหลายชนิด อาทิเช่น วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) สามารถเสื่อมสลายได้ง่ายระหว่างการเก็บรักษาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอัตราการสลายตัวของกรดแอสคอร์บิกขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น วิธีการบรรจุและภาวะการเก็บรักษา นอกจากนี้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ยังเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่สามารถใช้ในการประเมินอายุการเก็บของเครื่องดื่มสมุนไพรได้อีกด้วย จากงานวิจัยพบว่าอัตราการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกของน้ำผลไม้แปรรูปผัดกับอัตราการผ่านของออกซิเจนของบรรจุภัณฑ์ (Soares and Hotchkiss, 1999) การสูญเสียกรดแอสคอร์บิกสามารถส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ได้อีกด้วย ดังนั้นการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกจึงนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงสีและกลิ่นรสของน้ำผลไม้ Solomon และคณะ (1995) รายงานว่าแสงไม่ส่งผลต่อการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกของน้ำส้มอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเก็บน้ำส้มในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 8 °C ภายใต้แสงเทียมความเข้ม 200 lux นอกจากนี้ยังพบว่าแสงไม่ส่งผลต่อการสูญเสียกรดแอสคอร์บิกของน้ำส้มที่เก็บภายใต้แสงเทียมความเข้ม 750 lux (ระดับความเข้มของแสงทั่วไปในร้านสะดวกซื้อ) ระหว่างการเก็บที่ 3 เดือน และ 9 เดือน (Berlinet และคณะ, 2008)

2.6 ไดมethyl ไดคาร์บอเนต (dimethyl dicarbonate)

ไดเมทิลไดคาร์บอเนต (DMDC) เป็นของเหลวไม่มีสีที่อุณหภูมิห้องมีจุดหลอมเหลวที่ 15.2 °C และจุดเดือดที่ 123 °C มีกลิ่นคล้ายผลไม้อ่อนๆ มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อย แต่จะละลายได้ดีมากขึ้นในแอลกอฮอล์ มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และราในเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนผสม โดยการยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ DMDC มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์กลีเซอรัลดีไฮด์-3-ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase, G3P), แอซิเตตไคเนส (acetate kinase) และแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสร้างพลังงานของจุลินทรีย์โดยเฉพาะยีสต์ (NCBI, 2020) โดยโครงสร้างทางเคมีของ DMDC แสดงดังในรูปที่ 8 DMDC ได้รับการรับรองให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นครั้งแรกในผลิตภัณฑ์ไวน์เพื่อยับยั้งการเจริญของยีสต์โดยองค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration) (USFDA, 1988) ปัจจุบันได้รับการรับรองให้สามารถใช้ได้ในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้และเครื่องดื่ม อาทิเช่น ไวน์และชา โดยปริมาณสูงสุดที่อนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์

คือ 250 ppm จากงานวิจัยของ Van der Riet และคณะ (1989) พบว่า DMDC สามารถยับยั้ง vegetative cell ของ *Byssochlamys fulva* ได้ที่ความเข้มข้น 25 และ 75 ppm โดยสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ประมาณ 2 log จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น $10^2 - 10^3$ colony forming unit/mL (CFU/mL) หลังจากการเติมเป็นเวลา 60 นาที นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิ ค่า pH และความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ ยังส่งผลต่อการทำงานของ DMDC อีกด้วย โดยเมื่ออุณหภูมิ, ค่า pH และความเข้มข้นแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น จะส่งผลให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย DMDC เพิ่มขึ้น (Ough, 1976; Porter และ Ough, 1982) เมื่อ DMDC ละลายในสารละลายหรืออาหารจะถูกไฮโดรไลส์ (hydrolyze) เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และเมทานอล (methanol) อย่างสมบูรณ์ในผลิตภัณฑ์ แต่อย่างไรก็ตามเมทานอลเป็นสารที่จำเป็นต้องศึกษาด้านความเป็นพิษต่อผู้บริโภค หากใช้ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 mg/L จะมีเมทานอลเกิดขึ้นประมาณ 119 mg/L ซึ่งเมื่อรวมกับปริมาณเมทานอลที่มีอยู่ตามธรรมชาติของน้ำผลไม้ซึ่งมีอยู่สูงสุดที่ประมาณ 230 mg/L จะทำให้ได้รับปริมาณเมทานอลที่ประมาณไม่เกิน 700 mg/L หรือประมาณ 10 mg/kg body weight โดยเฉลี่ย ซึ่งน้อยกว่าปริมาณขั้นต่ำที่จะส่งผลทำให้เกิดความเป็นพิษต่อร่างกายถึง 100 เท่า (WHO, 1991) โดยในปี ค.ศ. 2015 หน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (European Food Safety Authority; EFSA) ได้ทำการศึกษาความเป็นพิษของ DMDC ในผลิตภัณฑ์อาหารโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม และไม่พบข้อบ่งชี้ต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค จึงได้สรุปว่าสามารถใช้ DMDC ที่ความเข้มข้นตามกฎหมายกำหนดไม่เกิน 250 ppm ได้ (EFSA, 2015)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY



รูปที่ 8 โครงสร้างของไดเมทิลไดคาร์บอเนต

ที่มา : NCBI (2020)

2.7 บรรจุภัณฑ์อาหาร (food packaging)

บรรจุภัณฑ์อาหารมีบทบาทที่สำคัญในการรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บของอาหาร โดยอาหารสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก 2 ปัจจัยคือ ปัจจัยภายใน และปัจจัยภายนอก (intrinsic and extrinsic factors) โดยปัจจัยภายในนั้นหมายถึงปัจจัยที่มาจากตัวอาหารเองเช่น รูป รส กลิ่น และสี ที่สามารถรับรู้ได้ทางประสาทสัมผัส (sensory perception) รวมไปถึงคุณสมบัติอื่น เช่น คุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย เป็นต้น (Krochta, 2006) คุณลักษณะร่วมกันทั้งหมดเหล่านี้จะเป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ภายใน ในขณะที่ปัจจัยภายนอกนั้นหมายถึงปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ไม่ส่งผลกระทบต่อผลิตภัณฑ์เช่น กระบวนการที่ใช้ในการผลิตอาหาร กฎระเบียบทางการค้า ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ เป็นต้น โดยหน้าที่สำคัญของบรรจุภัณฑ์อาหารคือปกป้องอาหารจากสภาพแวดล้อมที่มีอิทธิพลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร เช่น ความร้อน แสง ความชื้น ออกซิเจน ความดัน จุลินทรีย์ สิ่งสกปรกหรือแก๊สต่างๆ โดยบรรจุภัณฑ์สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของอาหารให้นานมากขึ้นและช่วยรักษาคุณภาพของอาหารรวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการให้คงอยู่หรือเปลี่ยนแปลงไปน้อยที่สุด นอกจากนี้ยังสามารถดึงดูดความสนใจจากผู้บริโภคได้จากข้อมูลที่อยู่บนบรรจุภัณฑ์ ซึ่งการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสมกับอาหารนั้น สิ่งที่ต้องพิจารณาเป็นอันดับแรกคือ คุณลักษณะของตัวผลิตภัณฑ์อาหารนั้น อันดับต่อมาคือรูปแบบของบรรจุภัณฑ์ พร้อมคำนึงถึงต้นทุนที่เหมาะสม และต้องสามารถรักษาคุณภาพของอาหารได้ตามอายุการเก็บที่ต้องการ (Coles และคณะ, 2003) โดยบรรจุภัณฑ์มีหน้าที่หลัก 4 หน้าที่คือ บรรจุผลิตภัณฑ์ (containment), ถนอมรักษาและคุ้มครองผลิตภัณฑ์ (preservation and protection), การใช้งานและอำนวยความสะดวก (utility and convenience) และการสื่อสารและให้ข้อมูล (communication and information) บรรจุภัณฑ์อาหารสามารถทำจากวัสดุต่าง ๆ ได้หลากหลายชนิด เช่น แก้ว พลาสติก กระดาษและโลหะ โดยบรรจุภัณฑ์ที่นิยมใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้หรือสมูทที่มีดังนี้

2.7.1 แก้ว (glass)

แก้วผลิตมาจากซิลิกาซึ่งได้มาจากทรายหรือหินทราย (sandstone) โดยทั่วไปบรรจุภัณฑ์แก้วจะประกอบด้วยซิลิกา (silica) 68 - 73%, หินปูน (limestone) 10 - 13%, โซดาแอช (sodium carbonate; soda ash) 12 - 15% และอลูมินา (aluminium oxide; alumina) 1.5 - 2% บรรจุภัณฑ์แก้วเป็นบรรจุภัณฑ์ที่เฉื่อยต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังนั้นบรรจุภัณฑ์แก้วจึงทนต่อสารเคมีและมีความแข็งแรง ทนต่อความดัน ความร้อน และสามารถป้องกันการผ่านเข้าออกของแก๊สและไอน้ำได้ดีมากดังแสดงในตารางที่ 4 บรรจุภัณฑ์แก้วมีอายุการใช้งานที่นานและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ แต่อย่างไรก็ตามข้อเสียของบรรจุภัณฑ์แก้วคือมีน้ำหนักมากและแตกง่ายซึ่งเกี่ยวข้องกับความปลอดภัย เนื่องจากอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนของเศษแก้วในผลิตภัณฑ์อาหารได้ การใช้บรรจุภัณฑ์แก้วในอุตสาหกรรมอาหารมีแนวโน้มลดลงในช่วง 10 ปีที่ผ่านมา แต่อย่างไรก็ตามบรรจุภัณฑ์แก้วก็ยังคงมีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารโดยนิยมใช้บรรจุภัณฑ์แก้วกับผลิตภัณฑ์อาหารที่ต้องการให้ผู้บริโภคเห็นลักษณะอาหารในบรรจุภัณฑ์ (Krochta, 2006) นอกจากนี้ยังส่งผลต่อการสร้างความรู้สึกของผู้บริโภคว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ดีและมีราคาแพงได้อีกด้วย

2.7.2 โพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลต (polyethylene terephthalate; PET)

โพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่างเอทิลีนไกลคอล (ethylene glycol) และกรดเทเรฟทาลิก (terephthalic acid) เป็นพลาสติกที่ได้รับความนิยมมากที่สุดชนิดหนึ่งในการใช้เป็นบรรจุภัณฑ์อาหารและมีอัตราการใช้เพิ่มมากขึ้นในระยะเวลา 10 ปีที่ผ่านมา โพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตนั้นมีสมบัติเชิงกลที่แข็งแรง ทนต่อสารเคมี น้ำหนักเบา มีความใส และสามารถป้องกันการผ่านของแก๊สและไอน้ำได้ดี นอกจากนี้ยังสามารถทนต่ออุณหภูมิในช่วงตั้งแต่ -60 ถึง 220 °C ดังนั้นจึงสามารถใช้ในผลิตภัณฑ์ที่เป็น Boil-in-Bag ที่ต้องแช่แข็งก่อนการให้ความร้อนอีกครั้ง (reheating) ได้ อย่างไรก็ตาม โพลีเอทิลีนเทเรฟทาเลตมีข้อเสียคือมีความแข็งแรงของการหลอมเหลวที่ต่ำ (low melt strength) หรือความสามารถในการคงรูปเมื่ออยู่ในสภาพหลอมเหลวเนื่องจากเมื่อหลอมเหลวจะอยู่ในสภาพคล้ายของเหลวทำให้ยากต่อการปิดผนึกด้วยความร้อน (hot sealing) (Girija และคณะ, 2005)

ตารางที่ 4 แสดงข้อมูลสมบัติการป้องกัน (barrier properties) ของขวด PET และขวดแก้ว

สมบัติการป้องกัน	บรรจุภัณฑ์	
	โพลีเอทิลีนเทรฟทาเลต	แก้ว
อัตราซึมผ่านออกซิเจน (O ₂ transmission rate) (cc/m ² /24hrs)	60	0
อัตราซึมผ่านคาร์บอนไดออกไซด์ (CO ₂ transmission rate) (cc/m ² /24hrs)	25	0
อัตราซึมผ่านไนโตรเจน (N ₂ transmission rate) (cc/m ² /24hrs)	420	0
อัตราซึมผ่านไอน้ำ (Water vapor transmission rate) (g/in ² /24hrs)	2.0	0
การต้านแรงกระแทก (Impact resistance)	ดี	ไม่ดี
ความใส (Clarity)	ดี	ดีมาก
อุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (Glass transition temperature) (°C)	73 – 78	-

ที่มา : COMAR (2016)

บทที่ 3

การดำเนินงานวิจัย

สารเคมี

- 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)
- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
- Aluminium chloride (AlCl_3) (Ajax Finechem, New Zealand)
- Dimethyl dicarbonate (Lanxess, Germany)
- Ethanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$)
- Folin-ciocalteu reagent (Merck, Germany)
- Ferric chloride (POCH S.A., Poland)
- Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)
- Glacial acetic acid (A.R. grade, J.T. Baker Neutrasorb, USA)
- Hydrochloric acid (HCl) (QReC, New Zealand)
- McFarland Standard (Himedia, India)
- Methanol (CH_3OH) (Fisher Scientific, UK)
- Potassium acetate ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) (Ajax Finechem, New Zealand)
- Potassium permanganate (KMnO_4) (Ajax Finechem, New Zealand)
- Quercetin (Sigma-Aldrich, Germany)
- Sodium acetate (CH_3COONa) (Ajax Finechem, New Zealand)
- Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Daejung, Korea)
- Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
- Sodium hydroxide (NaOH) (QReC, New Zealand)
- Tartaric acid (QReC, New Zealand)
- Tripyridyltriazine (TPTZ) (Himedia, India)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

- Baird-Parker Agar (Himedia, India)
- EC broth (Himedia, India)
- Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Himedia, India)

Lauryl Tryptose Broth (Himedia, India)
 MacConkey Agar (Himedia, India)
 Mueller Hinton Broth (Himedia, India)
 Nutrient Agar (Himedia, India)
 Nutrient Broth (Himedia, India)
 Sabouraud Dextrose Agar (Himedia, India)
 Potato Dextrose Agar (Himedia, India)
 Plate Count Agar (Himedia, India)

เครื่องมือ

เครื่อง Autoclave (Tomy, SX700, Japan)
 เครื่อง Centrifuge (Hettich zentrifugen, Haematokrit 200, Germany)
 เครื่อง Chroma Meters (Minolta, CR-400, Japan)
 เครื่อง Digital pH meter (Mettler Toledo, S220, Switzerland)
 เครื่อง Digital Refractometer (Hanna Instrument, 96801, USA)
 เครื่อง Hot air oven (Mettmert, DO 6062, Germany)
 เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Eppendorf, BioSpectrometer basic, Germany)
 เครื่อง Vortex mixer (CTL, CTL-107, Japan)
 เครื่อง Water bath (Mettmert, WNB 22, Germany)
 เครื่องปั่นผสม (Tefal, BL3101, China)
 เครื่องผสมอาหาร (KitchenAid, 5KPM5, USA)
 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, NewClassic MF, Switzerland)
 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS304S, Switzerland)
 ตู้ Shaker Incubator (Biosan, ES20/60, Latvia)
 ตู้ Incubator (Heraeus, B5042, Germany)
 ตู้ Laminar Flow (TelStar, Model BioUltra4, Spain)
 จานเพาะเชื้อพลาสติก ขนาด 15x90 มม. (Himedia, India)

การเตรียมสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรส

มะม่วงสุก (*Mangifera Indica* Linn.) และเสาวรสสุก (*Passiflora edulis*) ซื้อมาจากร้านค้าปลีกในจังหวัดกรุงเทพมหานคร ขนส่งมาที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยนำมาล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต ความเข้มข้น 200 ppm จากนั้นปอกเปลือกและแยกเมล็ดของมะม่วงออกเพื่อนำส่วนเนื้อของผลมะม่วงสุกมาใช้ จากนั้นปั่นผสมเนื้อมะม่วงและเสาวรสด้วยเครื่องผสมอาหาร (KitchenAid, 5KPM5) เป็นเวลา 3 นาที ที่ระดับความเร็ว 50 rpm จนได้เนื้อของผลมะม่วงที่เป็นเนื้อเดียวกัน ในขณะที่ผ่าเปลือกเสาวรสออกโดยใช้ทั้งส่วนเนื้อและเมล็ดเสาวรสแล้วผสมกับเนื้อของมะม่วงที่ปั่นเตรียมไว้แล้วที่อัตราส่วน 60:40 v/v (มะม่วง:เสาวรส) และผสมด้วยเครื่องผสมอาหารเป็นเวลา 3 นาที เก็บสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ก่อนการทดลองขั้นต่อไป

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli* ATCC 25922) และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (*S. aureus* ATCC 25923) ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย โดยการนำโคโลนีเดี่ยวของเชื้อ (single colony) ของแต่ละเชื้อ ที่ได้มาจากการคัดแยกด้วยเทคนิค streak plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Nutrient Agar (NA) นำไป inoculate ลงในขวด Erlenmeyer flask ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Nutrient Broth (NB) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี โดยผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง Autoclave (Tomy, SX700) ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที มาแล้ว จากนั้นจึงนำไปปั่นในตู้ Shaker Incubator (Biosan, ES20/60) ที่อุณหภูมิ 37 °C ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง นำเชื้อที่ได้มาปรับความเข้มข้นของเชื้อให้ได้ความขุ่นเท่ากับ 0.5 McFarland standard จะทำให้เชื้อมีปริมาณเท่ากับ 1×10^8 CFU/mL แล้วจึงนำไปเจือจางต่อให้ได้ปริมาณ 1×10^6 CFU/mL เพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่เหมาะสมสำหรับการทดลองขั้นต่อไป (BAM, 2001)

ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 การศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส

แบ่งตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสออกเป็น 4 ส่วน โดยส่วนแรกและส่วนที่สองนำไปเติมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ที่เตรียมไว้ ลงไปในตัวอย่างตามลำดับในส่วนที่สามและส่วนที่สี่ ให้นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และรามีค่าประมาณไม่น้อยกว่า 1×10^4 CFU/mL ตามลำดับ จึงนำสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสทั้ง 4 ส่วนไปบรรจุลงในภาชนะขวดแก้วปริมาตร 250 mL ที่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้น 200 ppm มาแล้ว ตัวอย่างละ 100 mL เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

- 3.1.1. เติมไตรเมทิลไดคาร์บอนเนตลงในตัวอย่างสมูททีมะม่วงเสาวรสที่เตรียมไว้จากข้อ 3.1 ทั้ง 4 ส่วน จนตัวอย่างมีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm ตามลำดับ และใช้ตัวอย่างที่ไม่เติมไตรเมทิลไดคาร์บอนเนต (0 ppm) เป็นตัวอย่างควบคุมในแต่ละส่วน จากนั้นปิดขวดด้วยฝาเกลียวล็อก ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง
- 3.1.2. วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในแต่ละส่วน (*E. coli*, *S. aureus*, ปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และรา) ที่เวลาเริ่มต้น (0 ชั่วโมง) และติดตามผลหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ตามลำดับ (BAM, 2001)
- 3.1.3 ศึกษาจลนพลศาสตร์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากผลของ DMDC โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของ DMDC ตามจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (Zero-order kinetic) และจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (First-order kinetic) ดังต่อไปนี้

$$\text{Zero-order kinetic model : } [N] - [N_0]^{-kc}$$

$$\text{First-order kinetic model : } [N] - [N_0]e^{-kc}$$

โดยกำหนดให้ N_0 คือปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น

N คือปริมาณจุลินทรีย์ที่วัดได้ในแต่ละครั้ง

k คือค่าคงที่

c คือความเข้มข้นของ DMDC (ppm)

จากนั้นคำนวณค่า k และ R^2 จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของ DMDC โดยค่า k คือ ค่าคงที่ของความชันจากสมการเส้นตรงที่ได้บอกถึงค่าคงที่ของการยับยั้งของจุลินทรีย์ ส่วนค่า R^2 คือ ค่าที่ได้จากการคำนวณสมการถดถอยเชิงเส้น (Linear Regression Model) หมายถึง การคำนวณระยะห่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จากสมการเพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดว่าสมการเส้นตรงที่ได้นี้มีความสมรूपกับข้อมูลมากน้อยเพียงใด

3.2 การศึกษาผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

เติม DMDC ลงในตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสปริมาตร 100 mL ที่บรรจุลงในภาชนะขวดแก้วปริมาตร 250 mL ที่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (200 ppm) มาแล้ว จนตัวอย่างมีความเข้มข้นของ DMDC สุกท้ายเท่ากับ 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm ตามลำดับ และใช้ตัวอย่างที่ไม่เติม DMDC (0 ppm) เป็นตัวอย่างควบคุม โดยเปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรท์ที่ 90 °C เป็นเวลา 100 วินาที ปิดด้วยฝาเกลียวล็อก ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 °C และติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติต่าง ๆ ทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ดังนี้

3.2.1 ค่าสีด้วยเครื่อง Chroma Meters (Minolta, CR-400) ด้วยระบบ CIE และบันทึกค่า L^* , a^* และ b^* โดยการใส่ตัวอย่างลงในชุดวัดสีของเหลวจากนั้นบันทึกผลจึงนำค่าที่ได้ไปคำนวณค่า ΔE (ความแตกต่างของสี) จากสูตร

$$\Delta E = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2}$$

โดยกำหนดให้ subscript 1 คือ ค่าสีเริ่มต้นของตัวอย่าง

subscript 2 คือ ค่าสีที่วัดได้ในแต่ละครั้ง

3.2.2 ค่า pH ด้วยเครื่อง Digital pH meter (Mettler Toledo, S220) แล้วบันทึกผล

3.2.3 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดที่ได้ (%Total Acid) ด้วยการไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 M ตามวิธีการของ AOAC (1995) และนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณกรดในรูป %กรดซิตริก (%citric acid) จากสมการ

$$\%TA = \frac{V_1 \times 0.1 \text{ N NaOH} \times \text{Eq. wt.} \times 100}{V_2 \times 1000}$$

โดยกำหนดให้ V_1 คือ ปริมาตร 0.1 N NaOH (mL)
Eq. wt. คือ น้ำหนักสมมูลของกรดซิตริก (64 mg/mEq)
 V_2 คือ ปริมาตรของตัวอย่าง (mL)

- 3.2.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (total soluble solids) ด้วยเครื่อง Digital Refractometer (Hanna Instrument, 96801) ตามวิธีการของ AOAC (1995)
- 3.2.5 ค่าสภาพแขวนลอย (cloudiness) จากการดัดแปลงตามวิธีของ Mirhosseini และคณะ (2008)
- 3.2.6 ปริมาณของกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase, PPO) จากการดัดแปลงตามวิธีการของ Matsui และคณะ (2008)
- 3.2.7 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic compounds) โดย Folin-Ciocalteu colorimetry ตามวิธีของ Waterhouse (2002)
- 3.2.8 ปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (total flavonoid content) โดย aluminium chloride colorimetry จากการดัดแปลงตามวิธีของ Maisuthisakul, Suttajit และ Pongsawatmanit (2007)
- 3.2.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยวิธีการทำปฏิกิริยากับ 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จากการดัดแปลงตามวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)
- 3.2.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) จากการดัดแปลงตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)
- 3.2.11 ปริมาณแบคทีเรียที่มีชีวิตทั้งหมด (total viable count, TVC) ตามวิธีการของ AOAC (1995)
- 3.2.12 ปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold) ตามวิธีการของ AOAC (1995)
- 3.2.13 ปริมาณ *Escherichia coli* และ coliforms ตามวิธีการของ BAM (2001)

3.3 การศึกษาผลของ DMDC ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

เลือกความเข้มข้นของ DMDC ที่เหมาะสมจากข้อ 3.2 โดยพิจารณาจากความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเติม DMDC ลงในตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส และใช้ตัวอย่างที่ไม่เติม DMDC (0 ppm) เป็นตัวอย่างควบคุม โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่ 90 °C เป็นเวลา 100 วินาที จากนั้นบรรจุตัวอย่างปริมาณ 100 mL ลงในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด คือ ขวดแก้วและขวด PET ขนาด 250 mL ที่ผ่านการล้างฆ่าเชื้อด้วยโพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนตที่ความเข้มข้น 200 ppm มาแล้ว ปิดฝาเกลียวล็อกและไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C และติดตามการเปลี่ยนแปลงของสมบัติต่าง ๆ ตามข้อที่ 3.2.1 – 3.2.13 ทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์

3.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) สำหรับการทดลองข้อที่ 3.1 และ 3.2 และวางแผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Completely Block Design; RCBD) สำหรับการทดลองข้อที่ 3.3 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 (Statistical Package for Social Sciences) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Tukey (Honestly Significant Difference; HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4

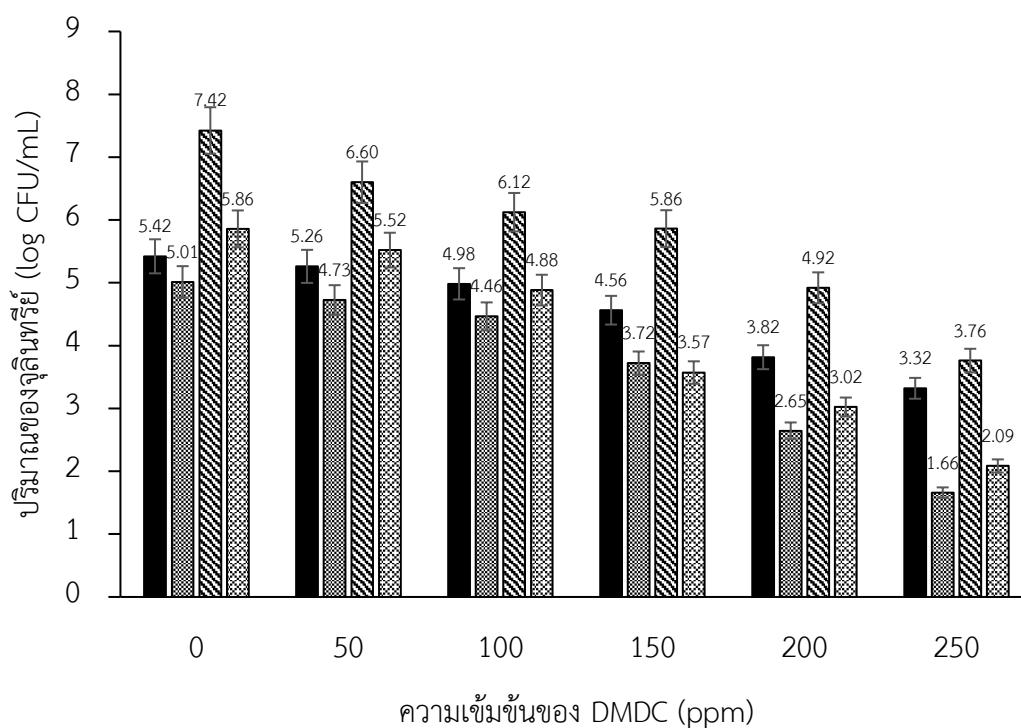
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส

การเจริญของจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ในอาหารได้ จึงทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงไปได้หลายแบบ ซึ่งนำไปสู่การเน่าเสีย (rotting) การเน่าบูด (putrefaction) หรือการหมัก (fermentation) ได้ โดยทั่วไปเมื่อจุลินทรีย์เจริญและมีจำนวนตั้งแต่ 10^6 CFU/mL ขึ้นไป จะสามารถตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น และรสที่ผิดปกติ ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค ขณะที่จุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *E. coli* มีปริมาณเชื้อเพียง 10 CFU/mL ก็สามารทำให้เกิดอาการของโรคบิดมีตัว (bacillary dysentery) ได้ ดังนั้นการควบคุมการผลิตให้ถูกสุขลักษณะ และการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารให้อยู่ภายใต้เกณฑ์ที่มาตรฐานกำหนดจึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก เพราะนอกจากจะทำให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ยังส่งผลต่ออายุการเก็บผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย (ธารรัตน์, 2558)

รูปที่ 9 แสดงผลของ DMDC ต่อปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ภายหลังจากการเติม DMDC ลงไป เป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 °C จากผลการทดลองพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ทุกชนิด (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus*) มีแนวโน้มที่ลดลงเมื่อปริมาณความเข้มข้นของ DMDC เพิ่มสูงขึ้น โดยปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus* มีค่าประมาณ 5.4, 5.0, 5.8 และ 7.4 log CFU/mL ตามลำดับ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus* ลงประมาณ 2.0, 3.3, 3.8 และ 3.7 log CFU/mL ตามลำดับ ในขณะที่ DMDC ที่ความเข้มข้น 50 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus* ลงประมาณ 0.2, 0.3, 0.3 และ 0.8 log CFU/mL ตามลำดับ โดยการลดลงของ *E. coli* ของตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm มีค่ามากที่สุด (3.8 log CFU/mL) ในขณะที่การลดลงของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50 ppm มีค่าน้อยที่สุด (0.2 log CFU/mL) ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Assatarakul (2016) ที่ศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำส้มแมนดารินคั้นสด และพบว่า DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดจำนวนของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ลงได้ประมาณ 5 และ 1 log CFU/mL ตามลำดับ หลังจากเติม DMDC และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นอกจากนี้จากการศึกษาการเติม DMDC

ที่ความเข้มข้น 250 ppm ในน้ำแอปเปิลไซ พบว่า DMDC สามารถลดจำนวน *E. coli* STCC 4201 ประมาณ 3 log CFU/mL หลังจากเติม DMDC ไปแล้ว 20 ชั่วโมง ได้เช่นกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่า DMDC มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์



รูปที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (■), ยีสต์และรา (▨), *E. Coli* (▩) และ *S. aureus* (▤) ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสหลังการเติม DMDC และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

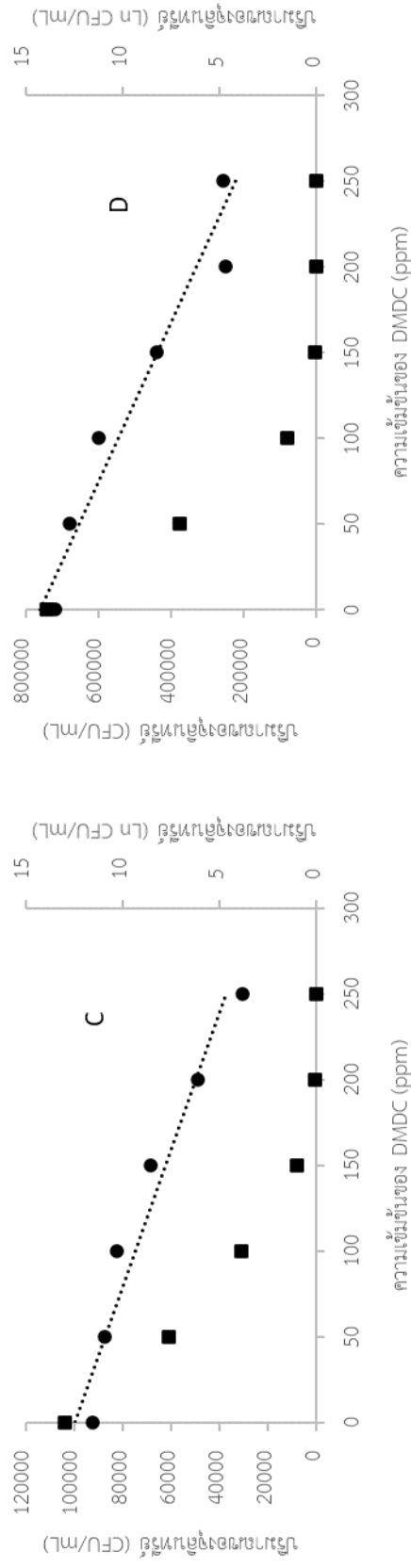
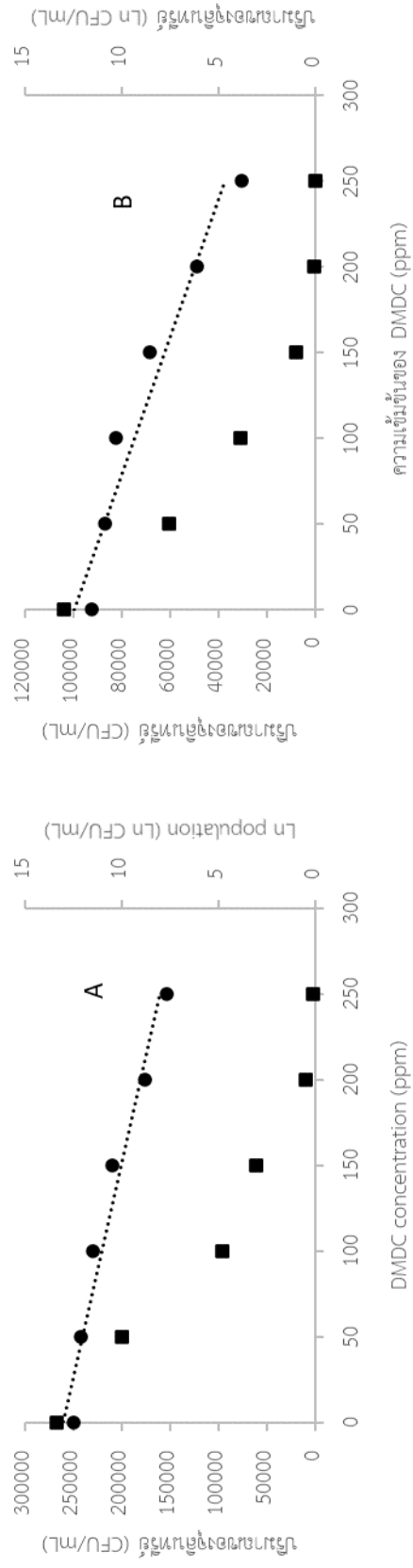
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ไดเมทิลไดคาร์บอเนต (DMDC) เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดย DMDC สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เข้าไปภายในเซลล์ จากนั้นจึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีหมู่อิสติดีน (histidine) อยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล โดยมีเอนไซม์สำคัญคือ แอซิเตตไคเนส (acetate kinase) ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการสร้างพลังงานให้แก่เซลล์ ดังนั้นเมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงาน ระบบภายในเซลล์จึงทำงานผิดปกติ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด (NCBI, 2020)

การศึกษาจลนพลศาสตร์มีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นหนึ่งในเครื่องมือที่สามารถใช้ในการคาดการณ์ผลการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพที่จะเกิดขึ้นต่ออาหารเพราะจะส่งผลกระทบต่อตรงต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยในการศึกษานี้ได้ใช้จลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่งซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้โดยทั่วไปในการศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร (Van Boekel, 2008) มาอธิบายผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส

รูปที่ 10 แสดงกราฟการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus* ต่อความเข้มข้นของ DMDC โดยแกน y ปฐมภูมิ (primary y axis) แสดงค่าปริมาณของจุลินทรีย์ (CFU/mL) ตามจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ และแกน y ทติภูมิ (secondary y axis) แสดงค่าปริมาณของจุลินทรีย์ (\ln CFU/mL) ตามจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง จากผลการทดลองพบว่า DMDC สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาค่า R^2 จากจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่ง พบว่าการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์มีความสอดคล้องกันกับจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมากกว่าจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ โดยค่า R^2 จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมีค่าระหว่าง 0.9333 – 0.9582 ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า R^2 จากจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (0.5531 – 0.9356) ดังแสดงในตารางที่ 5 นอกจากนี้ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา (rate constant; k) ของจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 413.45 ถึง 83,429 และ 0.0201 ถึง 0.0404 ตามลำดับ และพบว่าค่า k จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งของ *S. aureus* มีค่าสูงสุด (0.0404) ในขณะที่ค่า k จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งของจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดมีค่าต่ำสุด (0.0201) จึงอธิบายได้ว่า *S. aureus* มีความไวต่อความเข้มข้นของ DMDC มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์อื่น หรืออีกนัยหนึ่งหมายถึง DMDC สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกที่สำคัญของอาหาร ดังนั้นการไวต่อความเข้มข้นของ DMDC จึงส่งผลให้อาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Assatarakul (2016) ที่รายงานว่าค่า R^2 จากการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองสอดคล้องกับจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมากกว่าจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์เช่นเดียวกัน โดยพบว่าค่า R^2 การลดลงของ *E. coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis, *S. aureus*, *L. monocytogenes* และ cocktail strains มีค่าเท่ากับ 0.9916, 0.9875, 0.9831, 0.9880 และ 0.9935 ตามลำดับ แต่ *E. coli* O157:H7 มีค่า k จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งสูงที่สุด (0.0437) อาจเนื่องมาจากสมบัติทางกายภาพและเคมีของตัวอย่างที่แตกต่างกันจึงส่งผลต่อความไว (sensitivity) ต่อความเข้มข้นของ DMDC ในจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน จากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2014) พบว่า ภายหลังจากเติม

DMDC ความเข้มข้น 150 ppm ในน้ำล้นจี่ ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ค่า pH เท่ากับ 4.0, 4.5, 5.0 และ 6.0 สามารถลดปริมาณ *E. coli* ลงได้ 2.46, 1.7, 1.53 และ 0.34 log CFU/mL ตามลำดับ และลดปริมาณ *S. aureus* ลงได้ 3.04, 2.07, 1.47 และ 0.31 log CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *S. aureus* มีแนวโน้มการลดลงมากกว่า *E. coli* เมื่อเปรียบเทียบกับที่ค่า pH เดียวกัน อาจเนื่องมาจาก *E. coli* มีถิ่นอาศัยอยู่ภายในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตซึ่งมีค่า pH ที่ต่ำ (1.5-3.5) ในขณะที่ *S. aureus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีถิ่นอาศัยอยู่บริเวณผิวหนังของสิ่งมีชีวิต จึงอาจทำให้ *S. aureus* มีความทนทานต่อสภาวะความเป็นกรดน้อยกว่า *E. coli* และส่งผลให้เกิดความไวต่อ DMDC มากกว่า นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของ DMDC มีแนวโน้มลดลง เนื่องจาก DMDC ยับยั้งจุลินทรีย์โดยการทำปฏิกิริยากับโปรตีน imidazole และ amine (หมู่ R-NH) ในกรดอะมิโนของเอนไซม์ ซึ่งความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ DMDC จะลดลงเมื่อความสามารถในการแตกตัว (degree of ionization) ของโปรตีนลดลงจากการเพิ่มขึ้นของค่า pH (4.0-6.0) ซึ่งการเติม DMDC (150 ppm) ที่ค่า pH เท่ากับ 4.0 สามารถลดปริมาณ *E. coli* และ *S. aureus* (2.46 และ 3.04 log CFU/mL ตามลำดับ) ลงได้มากที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อค่า pH ลดน้อยลงมากกว่า 4.0 จะทำให้แอมโมเนีย (ammonia) เกิดการแตกตัว (ionized) ส่งผลให้ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ DMDC ลดลงแทน จากผลการทดลองระบุว่า การเติม DMDC ในน้ำล้นจี่ที่ค่า pH 3.5 สามารถลดปริมาณ *E. coli* และ *S. aureus* (1.77 และ 1.13 log CFU/mL ตามลำดับ) น้อยกว่าการยับยั้งที่ค่า pH 4.0 (2.46 และ 3.04 log CFU/mL ตามลำดับ) นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิยังส่งผลต่อความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของ DMDC โดยเมื่อเติม DMDC (150 ppm) ที่อุณหภูมิ 45 °C สามารถลดจำนวน *E. coli* และ *S. aureus* ลงมากกว่าที่อุณหภูมิ 30 °C ประมาณ 4.11 และ 4.33 log CFU/mL ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Splittstoesser และ Wikinson (1973) ที่เปรียบเทียบผลการเติม DMDC เพื่อยับยั้ง *Saccharomyces cerevisiae* และ *Lactobacillus plantarum* ที่อุณหภูมิ 40 °C และพบว่า %การรอดชีวิต (%survival) ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีค่าน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 20 °C ถึง 100 เท่า แสดงให้เห็นว่าการเติม DMDC ที่อุณหภูมิสูงกว่าปกติ (30 - 40 °C) ส่งผลให้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้มากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิส่งผลให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้น ดังนั้น DMDC จึงสามารถทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ได้มากขึ้นเช่นเดียวกัน



รูปที่ 10 จุลินพลศาสตร์อันดับศูนย์ (สี่เหลี่ยมสีดำ) และจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (วงกลมสีดำ) ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด (A), ยีสต์และรา (B), *E. coli* (C) และ *S. aureus* (D) ด้วย DMDC ในสมุทที่หมักมังroveผสมแอสารส

ตารางที่ 5 ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา (k) และค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ (R^2) ของ จลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งจากการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย DMDC ในสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส

จุลินทรีย์	จลนพลศาสตร์อันดับศูนย์		จลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง	
	ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา	ค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ	ค่าคงที่การเกิดปฏิกิริยา	ค่าสัมประสิทธิ์แสดงการตัดสินใจ
	(k)	ตัดสินใจ (R^2)	(k)	ตัดสินใจ (R^2)
Total plate count	1100.7	0.9356	0.0201	0.9496
Yeast and mold	413.45	0.8716	0.0313	0.9333
<i>E. coli</i>	83429	0.5531	0.0311	0.9582
<i>S. aureus</i>	2809.2	0.7532	0.0404	0.9389

ค่า k ของจลนพลศาสตร์เป็นค่าที่ได้มาจากความชันของสมการเส้นตรงที่มาจากผลของ ปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลือรอดแต่ละชนิดต่อ DMDC ที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน ซึ่งบ่งบอกถึงอัตราการ ลดลงของจุลินทรีย์ต่อความเข้มข้นของ DMDC หากค่า k มีค่าสูง หมายถึงจุลินทรีย์มีความไว ต่อความเข้มข้นของ DMDC มาก กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ DMDC ส่งผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ได้มาก ในทางกลับกันหากค่า k มีค่าต่ำ หมายถึง DMDC ส่งผลต่อการลดลงของจุลินทรีย์ได้น้อย ค่า k จึงเปรียบเสมือนค่าที่แสดงประสิทธิภาพของ DMDC ต่อการลดลงของจุลินทรีย์แต่ละชนิด อย่างไรก็ตามค่า k ต้องพิจารณาพร้อมกับค่า R^2 ซึ่งเป็นค่าทางสถิติที่ใช้เป็นตัวชี้วัดว่าสมการที่ได้นี้ มีความสมบูรณ์กับข้อมูลมากน้อยอย่างไร ซึ่งอธิบายความผันแปรมีค่าอยู่ระหว่าง 0-100% (0.00-1.00) โดยทั่วไปแล้ว หากค่า R^2 มีค่าเข้าใกล้ 0% (0.00) แสดงให้เห็นว่าสมการนั้นไม่สามารถอธิบายความ ผันแปรของค่าตัวแปรตอบสนองที่กระจายรอบค่าเฉลี่ยได้ ในทางกลับกันหากค่า R^2 มีค่าเข้าใกล้ 100% (1.00) แสดงให้เห็นว่าสมการนั้นสามารถอธิบายความผันแปรของค่าตัวแปรตอบสนอง ที่กระจายรอบค่าเฉลี่ยได้เป็นอย่างดี หรือกล่าวได้ว่าค่า R^2 ที่สูง หมายถึง สมการนั้นมีความเหมาะสม กับข้อมูลดีและมีความน่าเชื่อถือ จากงานวิจัยของ Zhong และคณะ (2005) พบว่าการลดลงของ *E. coli* ในน้ำแครอทจากการใช้สนามไฟฟ้าแรงสูงแบบเป็นจังหวะ (pulsed electric field; PEF) ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า (electric field strength) 5-25 kV/cm ที่อุณหภูมิ 60-70 °C เป็นเวลา 5 นาที ที่จำนวนพัลส์ (number of pulses) 207-1449 pulses มีค่า k เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 2.4213 เป็น 2.6624 เมื่อจำนวนพัลส์เพิ่มขึ้น (207 414, 621, 828, 1035, 1242 และ 1449 pulses) โดยมีค่า R^2 อยู่ในช่วงระหว่าง 0.9028-0.9854 แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มจำนวนพัลส์

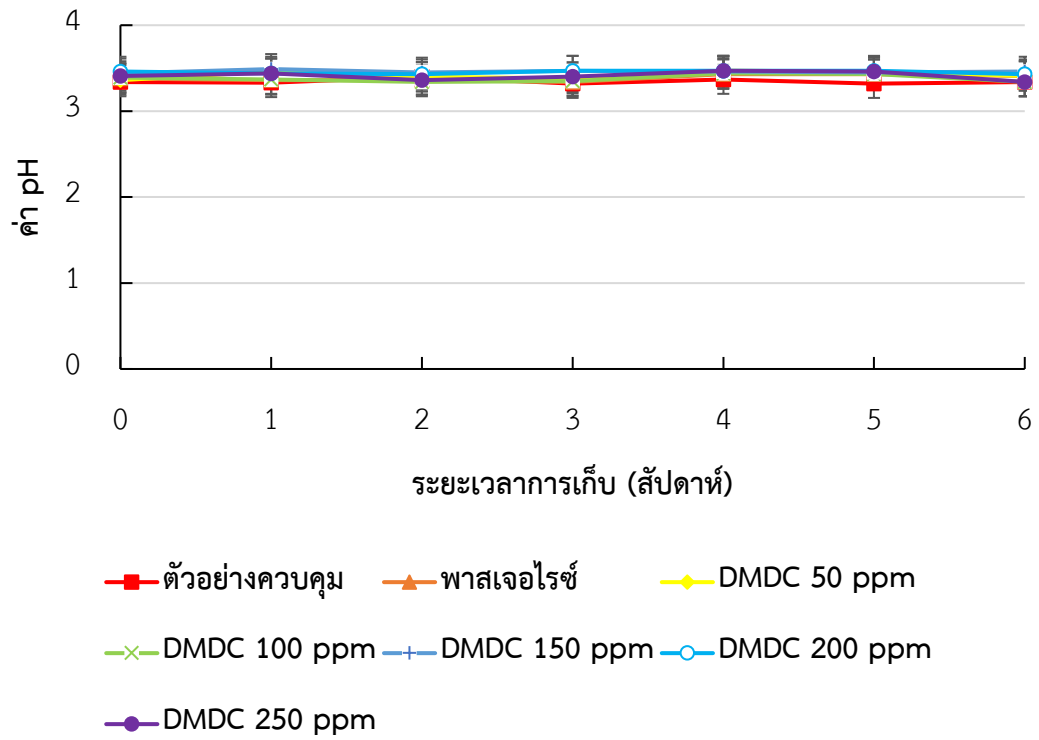
ส่งผลต่อการลดลงของ *E. coli* มากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มจำนวนพัลส์ส่งผลให้มีการนำเข้าพลังงานจำเพาะทั้งหมด (total specific energy input) เพิ่มขึ้นเป็นเหตุให้จุลินทรีย์ถูกยับยั้งเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ค่า k เพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ หรืออธิบายได้ว่า *E. coli* มีความไวต่อ PEF มากขึ้นเมื่อเพิ่มจำนวนพัลส์จากการสังเกตค่า k

4.2 ผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

คุณภาพอาหาร (food quality) หมายถึง ลักษณะในด้านต่างๆ ของอาหารที่ผลิตได้ตามมาตรฐานการผลิตของผู้ผลิตโดยมีความสอดคล้องกับมาตรฐานที่กฎหมายกำหนด และได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค การเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพอาหารทำให้ลักษณะของอาหารเปลี่ยนแปลงไป โดยคุณภาพอาหารทั่วไปสามารถจำแนกออกเป็น 5 ด้าน ได้แก่ 1. คุณภาพทางกายภาพ (physical quality) เช่น ขนาด รูปร่าง ตำหนิ ปริมาตรและน้ำหนัก 2. คุณภาพทางประสาทสัมผัส (sensory quality) เช่น สี กลิ่นรส และลักษณะปรากฏ 3. คุณค่าทางโภชนาการ (nutrition value) เช่น ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และสารต้านอนุมูลอิสระ 4. คุณภาพทางจุลินทรีย์ หมายถึงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์และรา และ 5. ความปลอดภัยต่อการบริโภค (safety) ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่สุดและส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยกับความเชื่อมั่นของผู้บริโภค เช่น อันตรายทางชีววิทยา ทางเคมี และทางกายภาพ (Vaclavik และ Christian, 2014) โดยการประเมินคุณภาพของอาหารจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับประเภทของอาหารและคุณลักษณะที่ผู้บริโภคต้องการ ซึ่งสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสมีการประเมินคุณภาพโดยทั่วไปดังแสดงในผลการทดลองต่อไปนี้

4.2.1 ค่า pH ของสมุทที่มีมะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บรักษา

ค่า pH หมายถึง ค่าที่วัดในรูปความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน คือส่วนกลับของลอการิทึม (logarithm) ของความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน (H^+) เป็น g/L แสดงความเป็นกรดหรือเบสของสารละลาย มีค่าตั้งแต่ 0 ถึง 14 ค่า pH ของอาหารส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป โดยค่า pH ที่ 4.6 ถูกใช้เป็นค่าแบ่งความเป็นกรดของอาหาร เนื่องจากเป็นค่า pH ต่ำสุดที่ *Clostridium botulinum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในอาหารสามารถเจริญเติบโตได้ จุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถผลิตสารพิษที่ส่งผลต่อระบบประสาท (neurotoxin) และปนเปื้อนในอาหารได้ หากผู้บริโภคได้รับสารพิษนี้เข้าไปเพียง 1 μg จะส่งผลทำลายระบบประสาท ทำให้เกิดอัมพาต และหายใจติดขัดเป็นเหตุให้เสียชีวิตได้ โดยอาหารที่มีค่า $pH \leq 4.6$ จะถูกจัดอยู่ในจำพวกอาหารที่เป็นกรด ส่วนอาหารที่มีค่า $pH > 4.6$ คืออาหารที่เป็นกรดต่ำ จุลินทรีย์หลายชนิดมีความสามารถในการเปลี่ยนแปลงค่า pH รอบตัวเพื่อให้สามารถเจริญในสิ่งแวดล้อมนั้นได้ รวมไปถึงในอาหารเช่นเดียวกัน การติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ในอาหารจึงสามารถใช้เป็นหนึ่งในข้อบ่งชี้การเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารได้ (ธารารัตน์, 2558) จากการศึกษาผลของ DMDC (50-250 ppm) เปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรซ์ (90 °C, 100 วินาที) ต่อค่า pH ของตัวอย่างสมุทที่มีมะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าค่า pH มีแนวโน้มคงที่ในทุกตัวอย่าง โดยมีค่าที่ประมาณ 3.4 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 6 สัปดาห์ดังแสดงในรูปที่ 11 โดยปกติการเปลี่ยนแปลงของค่า pH มีความสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณกรดทั้งหมดในอาหาร ซึ่งอาจมาจากการสร้างขึ้นของจุลินทรีย์ เช่น กรดแลกติก (lactic acid) และกรดแอสติก (acetic acid) กรดทั้ง 2 ชนิดนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มกรดอ่อนที่มีความสามารถในการแตกตัวเป็นไฮโดรเจนไอออนได้เพียงบางส่วนจึงส่งผลเล็กน้อยต่อค่า pH ของ (Otarum, 2018)

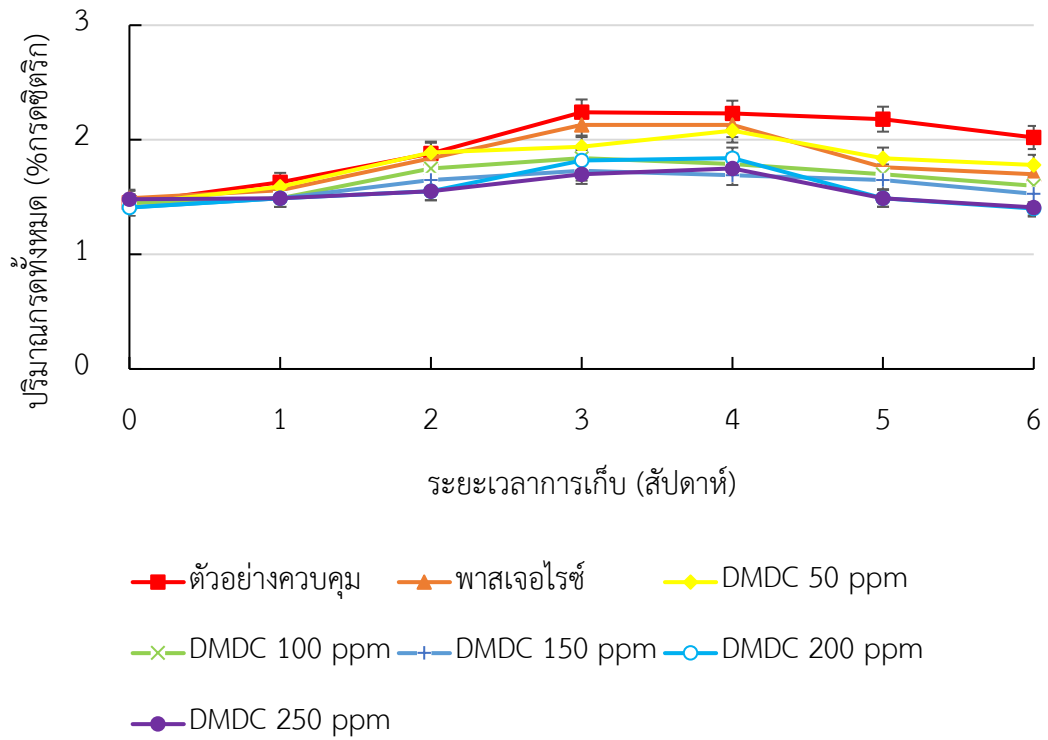


รูปที่ 11 ค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



4.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

จากรูปที่ 12 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างต่างๆ โดยพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ในช่วง 3 - 4 สัปดาห์แรก และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป ปริมาณกรดทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสมีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าปริมาณกรดทั้งหมดเฉลี่ยเริ่มต้นที่ประมาณ 1.45 %กรดซิตริก ซึ่งตัวอย่างควบคุมมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุดคือมีค่าเท่ากับ 2.24 %กรดซิตริก ในสัปดาห์ที่ 3 ในขณะที่ตัวอย่างพาสเจอไรซ์มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 2.13 %กรดซิตริก ในสัปดาห์ที่ 3 และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นสูงสุดเท่ากับ 2.08, 1.84, 1.73, 1.84 และ 1.75 %กรดซิตริก ในสัปดาห์ที่ 4, 3, 3, 4 และ 4 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm เพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่น การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เกิดจากจุลินทรีย์ที่สามารถใช้น้ำตาลในผลิตภัณฑ์เพื่อการเจริญเติบโตและสร้างกรดขึ้นมาจากระบวนการสร้างพลังงาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Castillejo และคณะ (2016) ที่พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของตัวอย่างสมูททีสูตร R1 (มีส่วนผสมของแอปเปิ้ล, พริกแดง, บรอกโคลีและเครื่องเทศ) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นภายหลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 21 วัน โดยเพิ่มจาก 0.25 เป็น 0.34 g ของกรดซิตริกต่อปริมาตร 100 mL หลังจากนั้นจึงลดลงเหลือประมาณ 0.24 g ของกรดซิตริกต่อปริมาตร 100 mL ในวันที่ 28 การลดลงของปริมาณกรดทั้งหมดในช่วงท้ายของการเก็บรักษาอาจมาจากการเจริญของยีสต์และรา เนื่องจากยีสต์และรามีความสามารถในการย่อยสลายกรดอินทรีย์เพื่อใช้ในการสร้างพลังงาน นอกจากนี้ Santos และคณะ (2011) พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดที่ไทเทรตได้ของตัวอย่างน้ำทับทิมที่ผ่านการใช้ความดันที่ 350 MPa เป็นเวลา 30 และ 90 วินาที มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 25 วัน และลดลงเล็กน้อยหลังจากยีสต์และราเริ่มมีการเจริญมากกว่า 3 log CFU/mL ในวันที่ 35 ซึ่งมีปริมาณกรดทั้งหมดลดลงซึ่งสอดคล้องกับปริมาณยีสต์และราที่เพิ่มขึ้นเช่นกัน

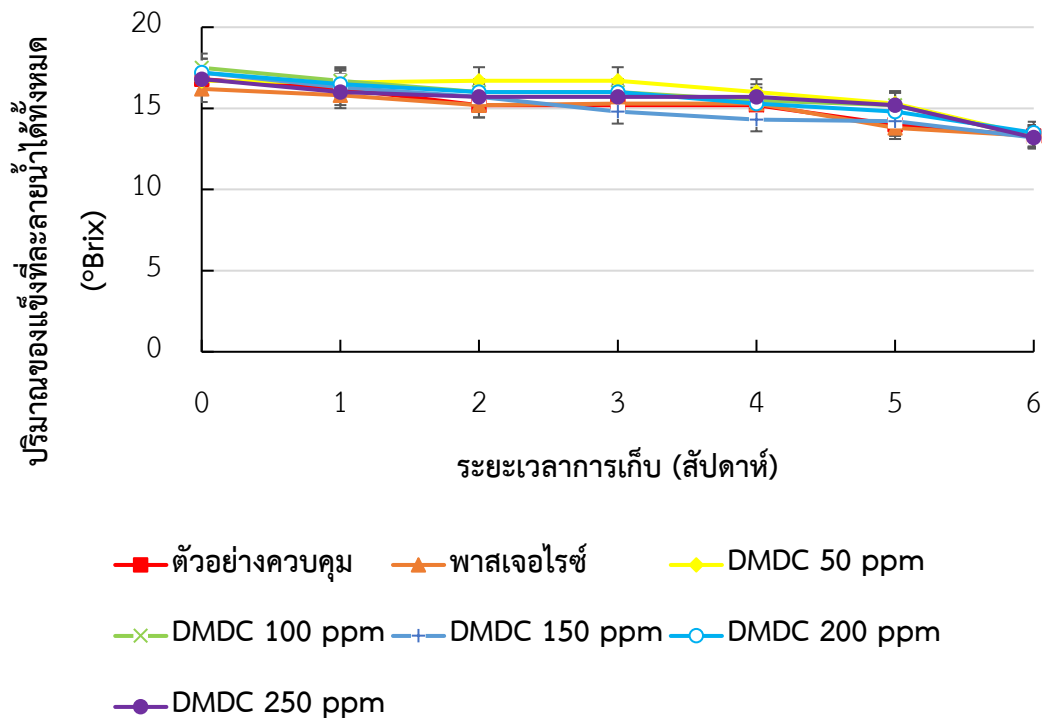


รูปที่ 12 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมุนไพรที่มีม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



4.2.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

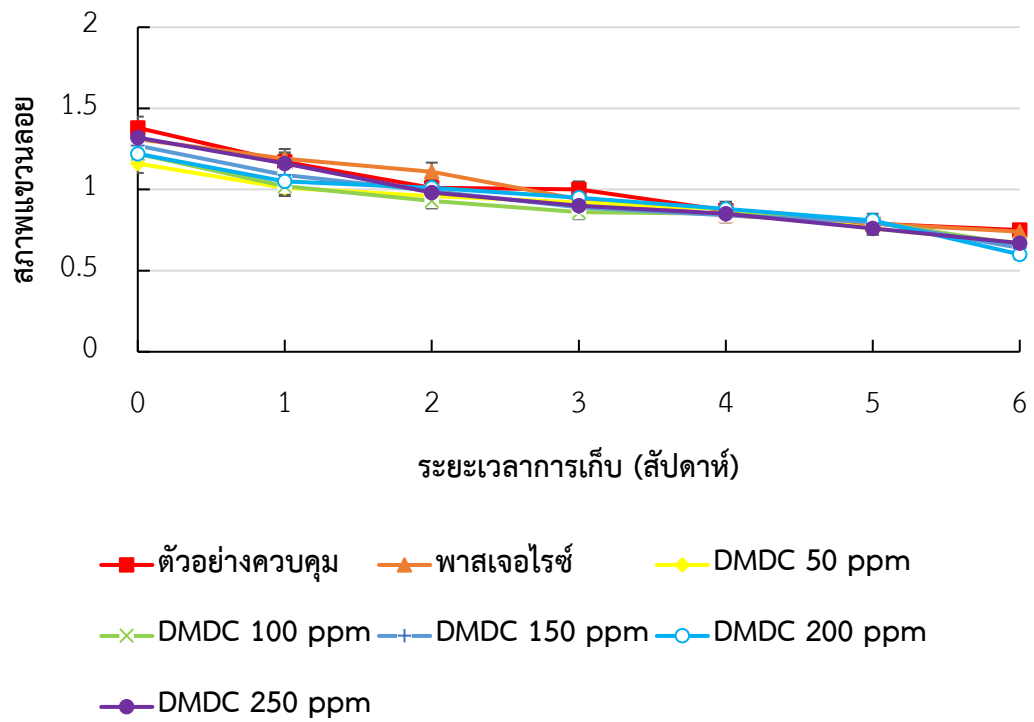
การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของผลรวมของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด อาทิเช่น กลูโคส (glucose) ซูโครส (sucrose) ฟรักโทส (fructose) กรดอินทรีย์ (organic acid) และแร่ธาตุต่างๆ ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อคุณภาพอาหารจึงมีความจำเป็นต้องมีการตรวจวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเพื่อควบคุมคุณภาพอาหารก่อนการแปรรูปผลิตภัณฑ์หรือการนำไปจัดจำหน่าย การเจริญของจุลินทรีย์เป็นปัจจัยสำคัญของการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเนื่องจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลและแร่ธาตุในผลิตภัณฑ์อาหารได้ ดังนั้นหากมีการควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ดี การเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดก็จะลดน้อยลงเช่นเดียวกัน ตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเริ่มต้นที่อยู่ในช่วง 17.5-16.8 °Brix และพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษา โดยลดลงเหลืออยู่ในช่วง 13.2-13.5 °Brix หลังจากการเก็บเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ซึ่งตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีแนวโน้มการลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดมากกว่าตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm เล็กน้อยระหว่างการเก็บในสัปดาห์ที่ 2 ถึงสัปดาห์ที่ 5 ดังแสดงในรูปที่ 13 อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดสามารถบ่งชี้ถึงความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลในผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นเมื่อน้ำตาลถูกใช้โดยจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ จึงทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Unluturk และ Atilgan (2015) ที่พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของน้ำอุ่นขาวคั้นสดมีแนวโน้มลดลงหลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 14 วัน ขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่มีชีวิต แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria) และยีสต์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา



รูปที่ 13 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.4 สภาพแขวนลอยของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการรักษา

จากการวิเคราะห์สภาพแขวนลอยของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรทั้งหมด 7 ตัวอย่าง ระหว่างการรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าสภาพแขวนลอยของทุกตัวอย่าง มีแนวโน้มลดลงระหว่างการรักษาและไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ และตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) โดยสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรในทุกตัวอย่างมีสภาพแขวนลอยเริ่มต้นอยู่ในช่วง 1.22-1.38 และลดลงเหลืออยู่ในช่วง 0.60-0.75 หลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ (รูปที่ 14) สภาพแขวนลอยส่งผลโดยตรงต่อการยอมรับของผู้บริโภค หากผลิตภัณฑ์สูญเสียสภาพแขวนลอยจะทำให้เกิดการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพและสมบัติทางประสาทสัมผัสได้ (Ertugay, 2014) จากการสังเกตของผู้วิจัยพบว่าสมุทที่ทุกตัวอย่างจะเริ่มสังเกตเห็นการแยกชั้นอย่างชัดเจนเมื่อค่าของสภาพแขวนลอยลดลงเหลือน้อยกว่า 1.00 ซึ่งอาจส่งผลต่อการไม่ยอมรับของผู้บริโภค สมุทที่เป็นเครื่องดื่มที่มีการปั่นผสมส่วนผสมหลายอย่างเข้าด้วยกันจึงทำให้มีโอกาสที่เซลล์ของผักและผลไม้จะถูกทำลายมากกว่าผลิตภัณฑ์แบบสด เป็นสาเหตุให้เอนไซม์หลายชนิดรวมไปถึงเอนไซม์ PME ที่เป็นปัจจัยสำคัญของการสูญเสียสภาพแขวนลอยในผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากผักและผลไม้ ถูกปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์และกระจายตัวอยู่ภายในผลิตภัณฑ์และสามารถส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาต่อสารต่างๆ ภายในผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพแขวนลอยของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการรักษา จากงานวิจัยของ Mirhossenli และคณะ (2008) พบว่าสภาพแขวนลอยของตัวอย่างน้ำส้มมีแนวโน้มลดลงระหว่างการรักษาเป็นระยะเวลา 180 วัน นอกจากนี้งานวิจัยของ Tiwari และคณะ (2009) ยังพบว่าสภาพแขวนลอยของน้ำส้มที่ผ่านการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (sonication) ที่ความถี่ 20 kHz และความหนาแน่นพลังงานทางเสียง (acoustic energy densities) 1.05 W/mL เป็นเวลา 10 นาที มีแนวโน้มมากกว่าน้ำส้มที่ไม่ผ่านการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหลังจากเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เนื่องจากคลื่นเสียงความถี่สูงส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ PME ลดลง 62% แสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PME ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแขวนลอยในน้ำส้ม



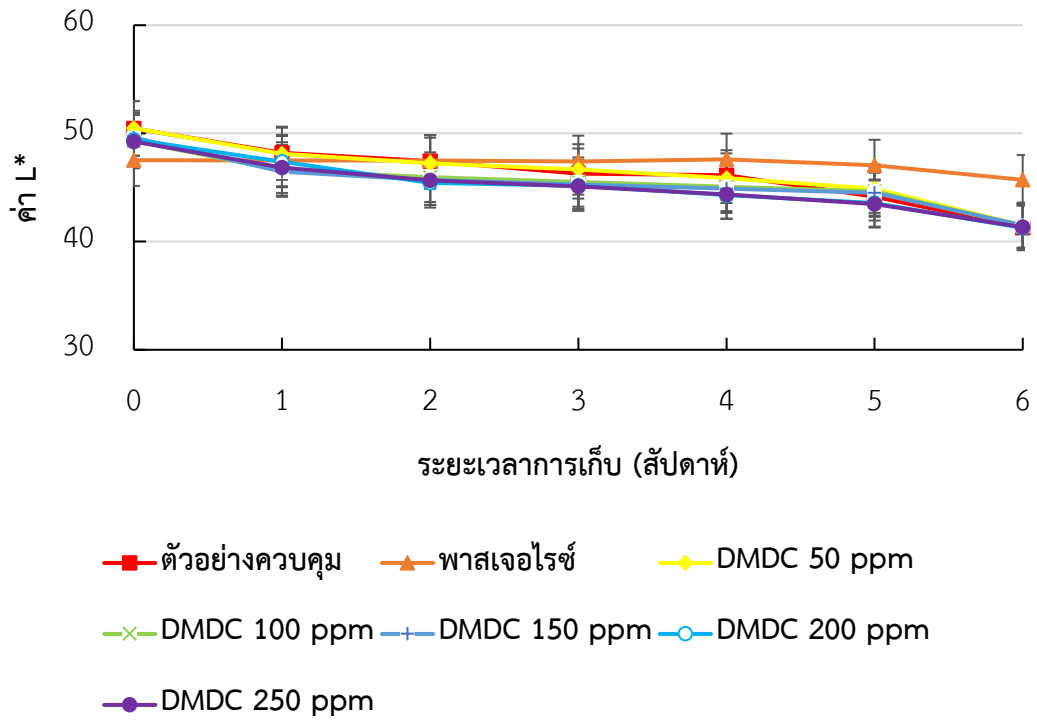
รูปที่ 14 สภาพแขวนลอยของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.5 ค่าสีของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บรักษา

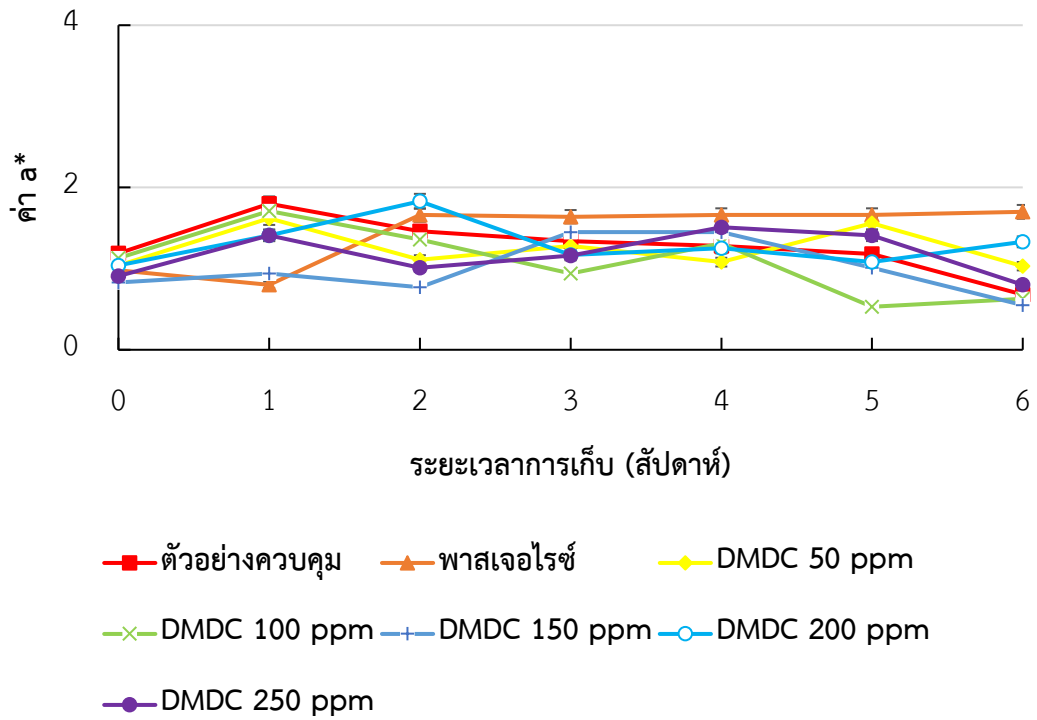
สีเป็นสมบัติทางกายภาพที่ปรากฏเห็นบนผลิตภัณฑ์ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคโดยตรง สีเกิดจากรงควัตถุ (pigment) ที่อยู่ภายในผลิตภัณฑ์เช่น คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงของสีเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัยทั้งในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา โดยเฉพาะการเกิดสีน้ำตาลซึ่งสามารถพบได้ง่ายในผลิตภัณฑ์อาหารที่แปรรูปมาจากผักและผลไม้ (Junpatiw, 2017) ดังนั้นผู้ประกอบการจึงใช้ประโยชน์จากการเปลี่ยนแปลงของสีเป็นตัวบ่งชี้ความสดใหม่หรือการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารได้ โดยค่า L^* เป็นค่าที่แสดงถึงความสว่างของตัวอย่าง (มีค่าอยู่ในช่วง 0-100 โดยหากมีค่ามากแสดงว่าตัวอย่างมีความสว่างมาก หากมีค่าน้อยจนเข้าใกล้ 0 แสดงว่าตัวอย่างเป็นสีดำ) ขณะที่ค่า a^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีเขียวและสีแดง (ค่าเป็นบวกหมายถึงสีแดงและค่าเป็นลบหมายถึงสีเขียว) ค่า b^* เป็นค่าที่แสดงถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน (ค่าเป็นบวกหมายถึงสีเหลืองและค่าเป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน) และค่า ΔE^* เป็นค่าที่แสดงความแตกต่างของสีระหว่างค่าเริ่มต้นของตัวอย่างกับค่าที่วัดได้ระหว่างการเก็บรักษาในแต่ละครั้ง (ค่าเป็นบวกยิ่งมากหมายถึงตัวอย่างมีค่าสีแตกต่างจากตัวอย่างเริ่มต้นมาก)

รูปที่ 15, 16 และ 17 แสดงแนวโน้มของค่าสี L^* a^* และ b^* ของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C ตามลำดับ โดยพบว่าค่า a^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงและมีค่าระหว่าง 0.55 ± 0.05 ถึง 1.88 ± 0.06 ระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่ค่า L^* และ b^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษา โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ของค่า b^* ระหว่างตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) แต่ค่า L^* ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าลดลงเล็กน้อยภายหลังจากผ่านการให้ความร้อนแต่มีแนวโน้มการลดลงน้อยกว่าตัวอย่างอื่นในระหว่างการเก็บ โดยมีค่าลดลงจาก 47.54 ± 0.37 เหลือ 45.71 ± 0.43 ในสัปดาห์ที่ 6 ขณะที่ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) มีค่า L^* ลดลงจาก 50.45 ± 0.31 และ 49.61 ± 1.12 เหลือ 41.29 ± 0.15 และ 41.4 ± 0.81 ในสัปดาห์ที่ 6 ตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา (รูปที่ 18) โดยค่า ΔE^* ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่า L^* โดยการเปลี่ยนแปลงของค่าสีดังกล่าวอาจเกิดจากปัจจัยหลักคือการเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ เนื่องจากความร้อนจากการพาสเจอร์ไรซ์ส่งผลทำให้เอนไซม์เกิดการเสื่อมสภาพซึ่งรวม

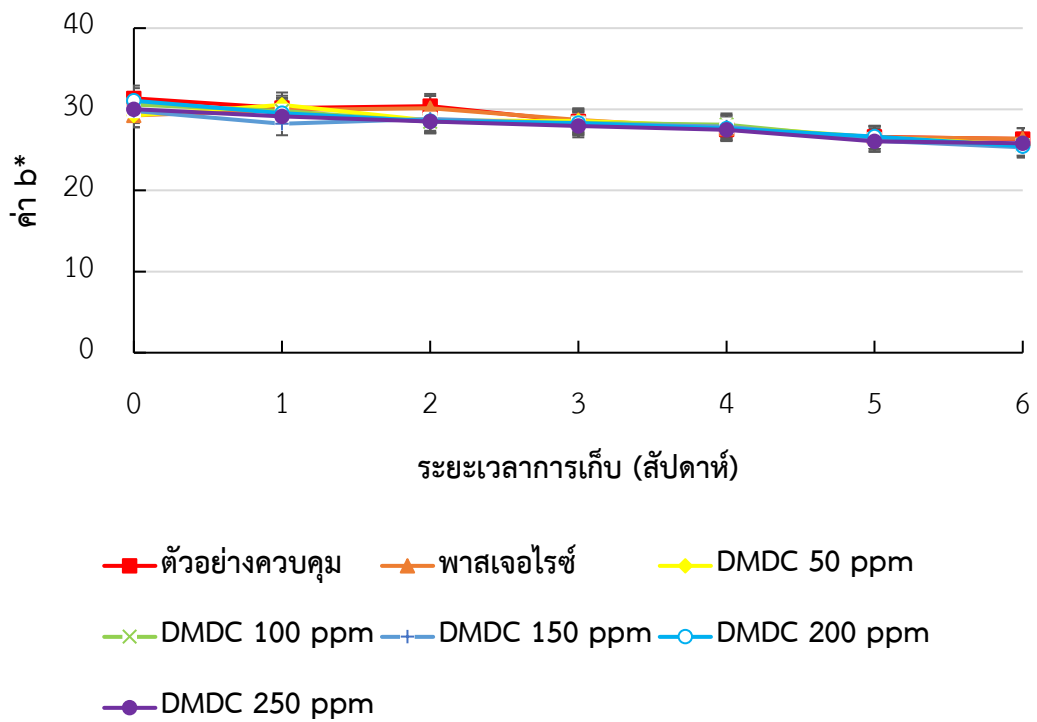
ไปถึงเอนไซม์สำคัญที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล จึงส่งผลให้แนวโน้มการลดลงของค่า L^* และแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า ΔE^* น้อยลงกว่าในทุกตัวอย่าง แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นสารสำคัญที่ทำให้มะม่วงและเสาวรสปรากรูสีให้เห็น เช่น สีเหลือง ส้ม หรือแดง และความร้อนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแคโรทีนอยด์ได้ จากงานวิจัยของ Sogi และคณะ (2012) พบว่าการให้ความร้อนด้วยรังสีอินฟราเรด (infrared) แก่มะม่วงเป็นเวลา 5 นาทีส่งผลให้แคโรทีนอยด์มีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสีได้ สอดคล้องกับผลการทดลองที่ค่าสีของตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์เปลี่ยนแปลงไปภายหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน นอกจากนี้การลดลงของค่า L^* และ b^* ระหว่างการเก็บรักษาของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสปอาจเป็นผลเนื่องมาจากการเสื่อมสลายของรงควัตถุที่พบในสมูทที่ เพราะสารเหล่านี้มีโครงสร้างที่ไม่เสถียรหรืออาจเป็นผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของการเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์ส่งผลให้ค่า ΔE^* มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามความร้อนสามารถส่งผลให้เกิดสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ขึ้นได้เช่นเดียวกัน เนื่องจากความร้อนเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งทำให้เกิดการรวมตัวกันของน้ำตาลและหมู่อะมิโนที่มีอยู่มากในสมูทที่กลายเป็นสารสีน้ำตาลที่มีความคงตัวสามารถส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสีได้ ผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Yu และคณะ (2016) ที่พบว่า การให้ความร้อนแก่น้ำหม่อน (mulberry) ที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นเวลา 1 นาที ส่งผลให้ค่า L^* และ b^* ลดลง และเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่า ค่า ΔE^* เพิ่มขึ้นจาก 1.01 เป็น 1.75 ซึ่งแสดงถึงค่าสีมีการเปลี่ยนแปลงมากขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา



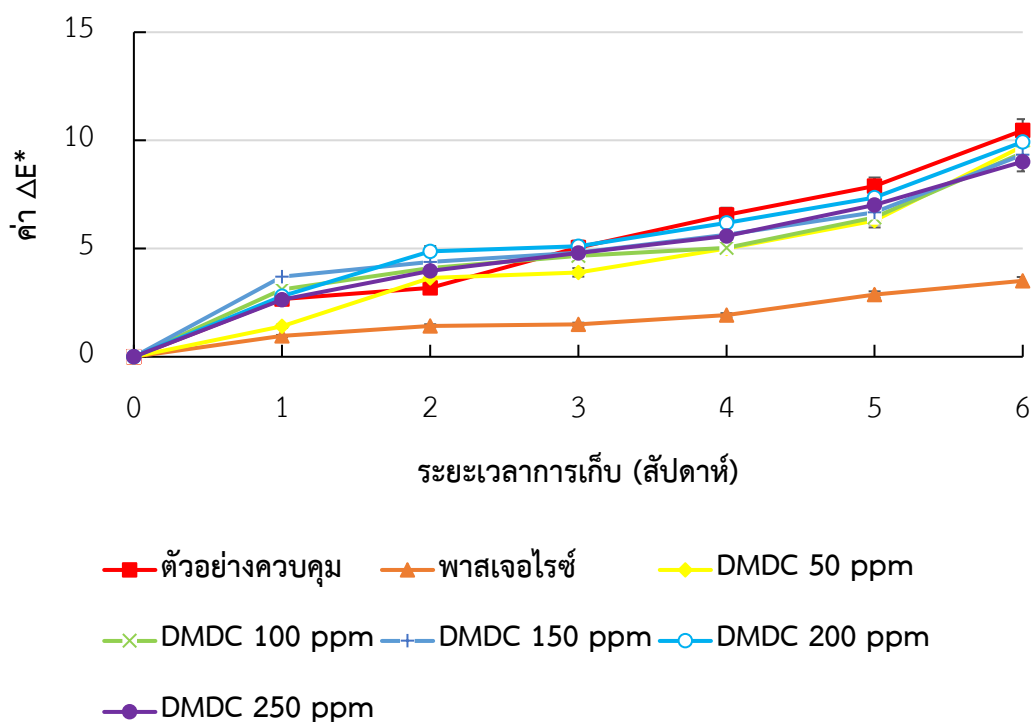
รูปที่ 15 ค่า L* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 16 ค่า a* ของสมูททีมีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 17 ค่า b* ของสมูททีมีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



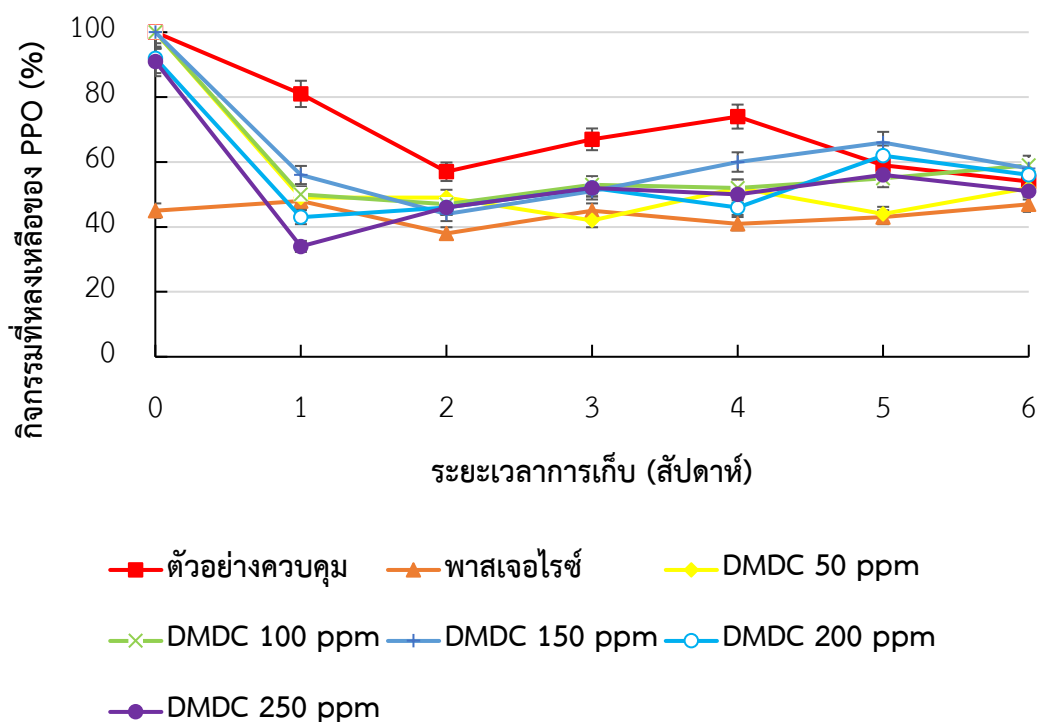
รูปที่ 18 ค่า ΔE^* ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.6 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

เอนไซม์ PPO เป็นเอนไซม์สำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดสีน้ำตาลแบบใช้เอนไซม์และการเสื่อมสลายของสารประกอบฟีนอลิก ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากผักและผลไม้มีการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส และคุณค่าทางโภชนาการ เนื่องจากเอนไซม์ PPO เป็นโปรตีนที่สามารถเสียสภาพธรรมชาติได้จากการให้ความร้อน การพาสเจอร์ไรซ์จึงเป็นหนึ่งในกระบวนการที่นิยมใช้เพื่อยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ PPO รูปที่ 19 แสดงกิจกรรมที่หลงเหลือของเอนไซม์ PPO ของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสหลังจากผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และการเติม DMDC (0-250 ppm) ระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยพบว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลานาน 100 วินาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงเหลือ 45% เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (สัปดาห์ที่ 0) ขณะที่การเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 200 และ 250 ppm สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงเหลือ 92 และ 91% ตามลำดับ โดยการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50 – 150 ppm ไม่ส่งผลต่อการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม กิจกรรมที่หลงเหลือของเอนไซม์

PPO มีแนวโน้มลดลงในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีแนวโน้มการลดลงมากที่สุดในสัปดาห์แรก คือกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลงเหลือ 49, 50, 56, 43 และ 34% ตามลำดับ ซึ่งลดลงมากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ลดลงเหลือ 81% ขณะที่ตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์มีแนวโน้มของกิจกรรมที่หลงเหลือของเอนไซม์ PPO ไม่เปลี่ยนแปลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO อยู่ในช่วงระหว่าง 38 – 48% ระหว่างการเก็บรักษา จากงานวิจัยของ Lopes และคณะ (2013) พบว่าการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลานาน 540 วินาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในน้ำลูกพีชเข้มข้นลง 95% และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 90 °C จะใช้เวลาลดลงเหลือ 60 วินาที เพื่อให้เกิดการลดของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ที่เท่ากัน

DMDC มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีหมู่ฮิสทีดีน อยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของเอนไซม์ PPO พบว่าที่บริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์มีคอปเปอร์ไอออน (Cu^+) เชื่อมต่ออยู่กับฮิสทีดีน 6 หมู่ และซิสทีอีน (cysteine) 1 หมู่ (NCBI, 2020) จึงอาจเป็นสาเหตุให้ตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสที่เติม DMDC มีแนวโน้มการลดลงของกิจกรรมที่หลงเหลือของเอนไซม์ PPO มากกว่าตัวอย่างควบคุม จากงานวิจัยของ Chen ของคณะ (2013) พบว่าตัวอย่างกะหล่ำปลีจีน (Chinese cabbage) ที่ผ่านการจุ่ม DMDC ความเข้มข้น 200 ppm เป็นระยะเวลา 5 นาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ได้มากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ผ่านการจุ่มน้ำเกลือปลอดเชื้อ (sterile saline water) ความเข้มข้น 0.9% เป็นระยะเวลา 5 นาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



รูปที่ 19 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของอนุมูลอิสระของอนุมูลออกซิเดสของสมุนไพรมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมุนไพรมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างสมุนไพรมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C แสดงดังในตารางที่ 6 โดยพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มีแนวโน้มลดลงในทุกตัวอย่างเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์, ตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เริ่มต้นเท่ากับ 204.46 ± 2.84 , 193.96 ± 5.87 , 194.35 ± 0.95 , 193.58 ± 6.93 , 193.52 ± 8.32 , 200.09 ± 11.75 และ 205.29 ± 14.23 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ โดยตัวอย่างควบคุมมีแนวโน้มการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากที่สุด ซึ่งในสัปดาห์ที่ 6 มีค่าเหลือเท่ากับ 89.80 ± 4.58 mM trolox/100 g, db หรือลดลง 56.1% ขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยในสัปดาห์ที่ 6 มีค่าเท่ากับ 144.29 ± 7.37 mM trolox/100 g, db หรือลดลงประมาณ 26.7%

การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ระหว่างการเก็บรักษา เป็นผลเนื่องมาจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันที่ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ PPO เมื่อตัวอย่าง ผ่านกระบวนการที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลง (การพาสเจอร์ไรส์และการเติม DMDC) สารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารตั้งต้นสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงถูกออกซิไดส์ โดยเอนไซม์ PPO น้อยลง ส่งผลให้การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจึงลดน้อยลงเช่นกัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Keenan และคณะ (2010) ที่ระบุว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างสมูทที่แอปเปิ้ลผสมกล้วยและส้มที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 10 นาที มีแนวโน้มการลดลงน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมระหว่างการรักษาที่ อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์การต้าน อนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP เล็กน้อยจากการให้ความร้อน อย่างไรก็ตามในระหว่าง การเก็บรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงมากกว่าตัวอย่างควบคุม โดยผู้วิจัยให้เหตุผลว่าการให้ความร้อนสามารถเพิ่มการสกัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จากผลิตภัณฑ์ได้มากขึ้นจากการปลดปล่อยสารต่างๆภายในเซลล์ผลไม้ของน้ำสมูทที่ ขณะที่ความ ร้อนอาจเพิ่มอัตราการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกให้มากขึ้นจากการเพิ่มพลังงานให้แก่ โครงสร้างโมเลกุลของสาร สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำ จากผักและผลไม้ซึ่งส่งผลต่อประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระดังนั้นการสลายตัว ของสารประกอบฟีนอลิกจึงส่งผลต่อการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระได้ (Laura และคณะ, 2019) นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ยังส่งผลต่อการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน จากงานวิจัยของ Staerck และคณะ 2017 ระบุว่าจุลินทรีย์ อาทิเช่น แบคทีเรียและรา มีความสามารถในการอยู่รอดในภาวะเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) ได้ โดยการสร้างเอนไซม์ขึ้นมาช่วยสลายสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันไม่ให้สารต้านอนุมูลอิสระ เข้ามาทำลายเซลล์ได้ ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารจึงเป็นหนึ่งใน ปัจจัยสำคัญในการลดลงของสารต้านอนุมูลอิสระในอาหารอีกด้วย

ตารางที่ 6 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมุนไพรที่มีเมฆางผสมเสาวรสระหว่างสมการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (mM trolox/100 g, db*)						
	การเก็บ (สัปดาห์)	ตัวอย่างควบคุม	พาสเจอไรส์ ^a	DMDC (ppm)			250 ^a
50 ^a				100 ^a	150 ^a	200 ^a	
0	204.46 ± 2.84	193.96 ± 5.87	194.35 ± 0.95	193.58 ± 6.93	193.52 ± 8.32	200.09 ± 11.75	205.29 ± 14.23
1	176.33 ± 1.70	188.66 ± 4.39	187.93 ± 6.87	185.45 ± 11.55	184.41 ± 9.53	189.98 ± 12.21	202.16 ± 15.12
2	138.93 ± 4.11	181.48 ± 1.29	186.14 ± 1.35	181.57 ± 8.06	182.22 ± 6.60	186.08 ± 10.81	195.00 ± 18.29
3	105.59 ± 2.77	173.74 ± 0.90	184.23 ± 0.93	175.12 ± 6.40	179.68 ± 6.35	181.18 ± 12.92	185.61 ± 16.36
4	98.22 ± 1.74	169.58 ± 3.07	169.60 ± 5.37	173.46 ± 6.89	171.63 ± 3.10	174.58 ± 7.44	180.07 ± 13.94
5	96.61 ± 4.76	158.30 ± 4.54	161.59 ± 4.36	165.02 ± 8.98	165.84 ± 7.30	163.24 ± 10.61	161.61 ± 14.08
6	89.80 ± 4.58	141.98 ± 4.63	143.85 ± 3.81	140.63 ± 3.51	144.25 ± 7.34	150.07 ± 12.07	144.96 ± 12.85

ค่าที่แสดงคือ ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอย่างที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างพาสเจอไรส์และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mM trolox/100 g, db = มิลลิโมล trolox/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

4.2.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นเท่ากับ 166.99 ± 3.37 , 156.60 ± 4.25 , 163.63 ± 2.80 , 168.03 ± 5.50 , 163.70 ± 3.86 , 169.40 ± 3.75 และ 167.80 ± 4.00 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นน้อยกว่าตัวอย่างอื่นเล็กน้อย ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มลดลงในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 7 โดยในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ ตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีค่าเท่ากับ 143.70 ± 3.03 , 147.75 ± 3.91 , 150.51 ± 0.89 , 152.31 ± 6.26 , 146.60 ± 8.89 , 151.46 ± 8.04 และ 155.72 ± 14.19 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ หรือมีค่าลดลง 17.6, 11.07, 14.94, 15.4, 14.84, 16.44 และ 15.16% ของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้น ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 200 และ 250 ppm มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เหนือมากที่สุด ขณะที่ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเหนือน้อยที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์สอดคล้องกับงานวิจัยของ Andres และคณะ (2016) ที่พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นระยะเวลา 3 นาที ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีค่าลดลงเล็กน้อยเช่นเดียวกัน และมีแนวโน้มการลดลงระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 30 วัน มากกว่าตัวอย่างควบคุม เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการสูญเสียของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด อาทิเช่น สารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานิน จึงอาจส่งผลต่อการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากการสลายตัวของสารดังกล่าวได้เช่นเดียวกัน ขณะที่การลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างควบคุมที่มีแนวโน้มมากกว่าตัวอย่างอื่น อาจเนื่องมาจากตัวอย่างควบคุมมีกิจกรรมของเอนไซม์ PPO สูง ดังแสดงในผลการทดลองในรูปที่ 19 ซึ่งหมายถึงเอนไซม์ PPO สามารถทำปฏิกิริยาออกซิเดชันกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต่าง ๆ ในตัวอย่างสมุนไพรที่ได้มาก จึงส่งผลต่อการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมุทที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (mM trolox/100 g, db*)						
	การเก็บ (สัปดาห์)	ตัวอย่างควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC (ppm)			250 ^a
50 ^{ab}				100 ^{ab}	150 ^{ab}	200 ^a	
0	166.99 ± 3.37	156.60 ± 4.25	163.63 ± 2.80	168.03 ± 5.50	163.70 ± 3.86	169.40 ± 3.75	167.80 ± 4.00
1	159.81 ± 5.85	156.06 ± 2.09	161.04 ± 4.82	168.50 ± 8.05	163.61 ± 2.56	163.52 ± 2.43	167.41 ± 0.84
2	155.97 ± 2.12	155.72 ± 3.51	153.19 ± 1.02	166.39 ± 3.06	165.51 ± 11.38	165.67 ± 2.11	165.39 ± 13.30
3	142.73 ± 6.70	152.11 ± 4.64	156.62 ± 2.37	163.36 ± 3.85	160.53 ± 11.87	159.91 ± 4.14	163.89 ± 14.30
4	144.77 ± 3.23	150.83 ± 4.51	152.64 ± 2.50	157.08 ± 4.22	150.23 ± 9.77	149.26 ± 4.94	162.38 ± 15.30
5	143.70 ± 3.03	147.75 ± 3.91	150.51 ± 0.89	152.31 ± 6.26	146.60 ± 8.89	151.46 ± 8.04	155.72 ± 14.19
6	137.50 ± 1.34	139.26 ± 2.12	139.17 ± 7.37	142.15 ± 6.63	139.40 ± 6.06	141.55 ± 5.91	142.36 ± 7.19

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสัปดาห์ (ตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างพาสเจอไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mM trolox/100 g, db = มิลลิโมล trolox/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

4.2.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา ตารางที่ 8 แสดงผลการศึกษ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยพบว่าตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 0) เท่ากับ 129.99 ± 6.08 , 116.98 ± 3.19 , 119.53 ± 5.99 , 119.17 ± 4.60 , 117.71 ± 5.53 , 117.23 ± 6.45 และ 116.18 ± 5.62 mg GAE/100 g, db ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างทุกตัวอย่างที่ใช้ในการทดลอง อย่างไรก็ตามสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีค่าเท่ากับ 87.18 ± 1.42 , 96.22 ± 2.65 , 96.40 ± 2.35 , 95.35 ± 2.58 , 95.99 ± 1.20 , 95.50 ± 1.45 และ 95.31 ± 2.04 mg GAE/100 g, db ตามลำดับ หรือลดลงไป 32.57, 17.75, 19.35, 19.99, 18.54, 18.54 และ 17.96% ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้น ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างการเก็บรักษามีสาเหตุหลักมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยเอนไซม์ PPO งานวิจัยหลายฉบับแสดงให้เห็นว่าการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO จากกระบวนการผลิตมีความสัมพันธ์ต่อการลดการสูญเสียของสารประกอบฟีนอลิกระหว่างการเก็บรักษา (Keenan et al, 2012., Verastegui et al, 2016., Barberan et al, 2001.) อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิตที่ใช้เพื่อลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงสามารถส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกได้โดยตรงเช่นเดียวกัน จากงานวิจัยของ Brochier และคณะ (2016) พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 °C กับน้ำอ้อยเป็นระยะเวลา 12 นาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงได้ 91% และส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 78% จากปริมาณเริ่มต้น อย่างไรก็ตามหลังจากเก็บไว้ที่อ่างน้ำแข็งเป็นระยะเวลา 12 นาที พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และจากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2016) พบว่าการใช้กระบวนการโฮโมจีไนซ์แรงดันสูงที่ 200 MPa แบบสามครั้ง (3-pass high pressure homogenization) ร่วมกับการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm แก่น้ำโสมอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดภายหลังจากผ่านกระบวนการมากกว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C เป็นระยะเวลา 1 นาที และมีแนวโน้มการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 60 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C

4.2.10 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

ผลการวิเคราะห์สารฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C แสดงดังในตารางที่ 9 โดยพบว่าตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 0) เท่ากับ 21.54 ± 1.09 , 17.82 ± 1.12 , 21.56 ± 0.35 , 21.54 ± 0.29 , 21.40 ± 1.15 , 21.29 ± 1.03 และ 21.61 ± 1.29 mM QCE/100 g, db ตามลำดับ โดยปริมาณสารฟลาโวนอยด์มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้นน้อยกว่าตัวอย่างอื่นภายหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อน (สัปดาห์ที่ 0) ขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC (0-250 ppm) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้นไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยในสัปดาห์ที่ 6 ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 8.47 ± 0.38 , 8.87 ± 0.59 , 8.70 ± 1.03 , 8.90 ± 0.56 , 8.46 ± 1.38 , 8.36 ± 0.60 , 8.26 ± 0.75 mM QCE/100 g, db ตามลำดับ ซึ่งคำนวณเป็น 60.67, 50.22, 59.65, 58.68, 60.47, 60.73, 61.78% ของปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้นตามลำดับ การลดลงของปริมาณสารฟลาโวนอยด์จากการให้ความร้อนสอดคล้องกับงานวิจัยของ Serrano และคณะ (2008) โดยพบว่าปริมาณแอนโทไซยานินของน้ำสตรอว์เบอร์รี่ซึ่งเป็นสารกลุ่มหลักของสารฟลาโวนอยด์มีแนวโน้มลดลงหลังจากผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 60 วินาที ($36.2 \text{ mg}/100 \text{ mL}$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ($39.5 \text{ mg}/100 \text{ mL}$) สารฟลาโวนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีความไวต่อความร้อนมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารเหล่านั้น จากงานวิจัยของ Chaaban และคณะ (2016) ที่รายงานว่า การเสื่อมสลายของสารฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดขึ้นอยู่กับพลังงานที่ได้รับแตกต่างกันออกไป และเมื่อสารเหล่านั้นเสื่อมสลายไปอาจส่งผลกระทบต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย ซึ่งอาจมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ลดลง หรือคงที่ขึ้นอยู่กับกระบวนการเปลี่ยนแปลงไปของสารฟลาโวนอยด์ภายหลังจากได้รับพลังงานจากความร้อนไปแล้ว อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองของงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารฟลาโวนอยด์ที่พบในตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสนั้นมีความไวต่อความร้อนจากการลดลงของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสัปดาห์ที่ 0 หากต้องการรักษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในผลิตภัณฑ์ ผู้ผลิตควรหลีกเลี่ยงกระบวนการผลิตที่ใช้ความร้อนในการยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 g, db) ^{ns}						
	การเก็บ (สัปดาห์)	ตัวอย่างควบคุม	พาสเจอร์ไรซ์	DMDC (ppm)			
				50	100	150	200
0	129.29 ± 6.08	116.98 ± 3.19	119.53 ± 5.99	119.17 ± 4.60	117.71 ± 5.53	117.23 ± 6.45	116.18 ± 5.62
1	116.71 ± 10.98	108.86 ± 5.24	115.87 ± 7.89	113.08 ± 2.92	115.63 ± 7.28	113.82 ± 5.29	114.06 ± 7.07
2	112.40 ± 7.44	107.57 ± 4.69	110.10 ± 9.39	112.48 ± 2.91	112.09 ± 10.00	111.71 ± 5.46	112.57 ± 7.88
3	110.27 ± 8.39	107.15 ± 4.75	108.98 ± 8.30	108.42 ± 6.55	109.10 ± 7.14	108.82 ± 6.81	107.48 ± 9.32
4	102.76 ± 4.59	104.40 ± 6.31	106.78 ± 7.53	106.89 ± 7.47	106.45 ± 6.63	105.35 ± 9.06	104.12 ± 8.29
5	93.75 ± 2.01	101.03 ± 5.29	101.67 ± 6.28	100.49 ± 6.16	101.05 ± 6.85	101.56 ± 7.24	98.58 ± 2.97
6	87.18 ± 1.42	96.22 ± 2.65	96.40 ± 2.35	95.35 ± 2.58	95.99 ± 1.20	95.50 ± 1.45	95.31 ± 2.04

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสัปดาห์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

* mg GAE/100 g, db = มิลลิกรัม gallic acid equivalent/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 9 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมุนไพรที่มีเม่วงผสมสารระหว่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	สารฟลาโวนอยด์ (mg QCE/100 g, db)						
	ตัวอย่างควบคุม ^a	พาสเจอร์ไรซ์ ^b			DMDC (ppm)		
		50 ^a	100 ^a	150 ^a	200 ^a	250 ^a	
0	21.54 ± 1.09	17.82 ± 1.12	21.56 ± 0.35	21.54 ± 0.29	21.40 ± 1.15	21.29 ± 1.03	21.61 ± 1.29
1	16.14 ± 0.13	13.61 ± 0.47	18.21 ± 0.22	18.29 ± 0.24	16.78 ± 0.99	17.38 ± 0.50	17.61 ± 1.47
2	15.00 ± 0.22	12.94 ± 0.56	16.58 ± 0.38	16.52 ± 0.29	14.66 ± 0.33	15.25 ± 1.67	15.76 ± 1.38
3	12.87 ± 0.05	11.79 ± 0.85	13.55 ± 0.12	13.79 ± 0.25	13.02 ± 0.42	13.79 ± 1.41	14.20 ± 0.54
4	12.25 ± 0.47	11.38 ± 0.71	11.62 ± 0.50	11.67 ± 0.46	11.07 ± 0.85	12.01 ± 1.55	12.48 ± 0.02
5	9.48 ± 0.37	9.75 ± 0.33	10.50 ± 0.31	10.78 ± 0.22	9.99 ± 1.10	10.84 ± 1.67	9.95 ± 0.31
6	8.47 ± 0.38	8.87 ± 0.59	8.70 ± 1.03	8.90 ± 0.56	8.46 ± 1.38	8.36 ± 0.60	8.26 ± 0.75

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสแตมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mg QCE/100 g, db = มิลลิกรัม quercetin equivalent/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

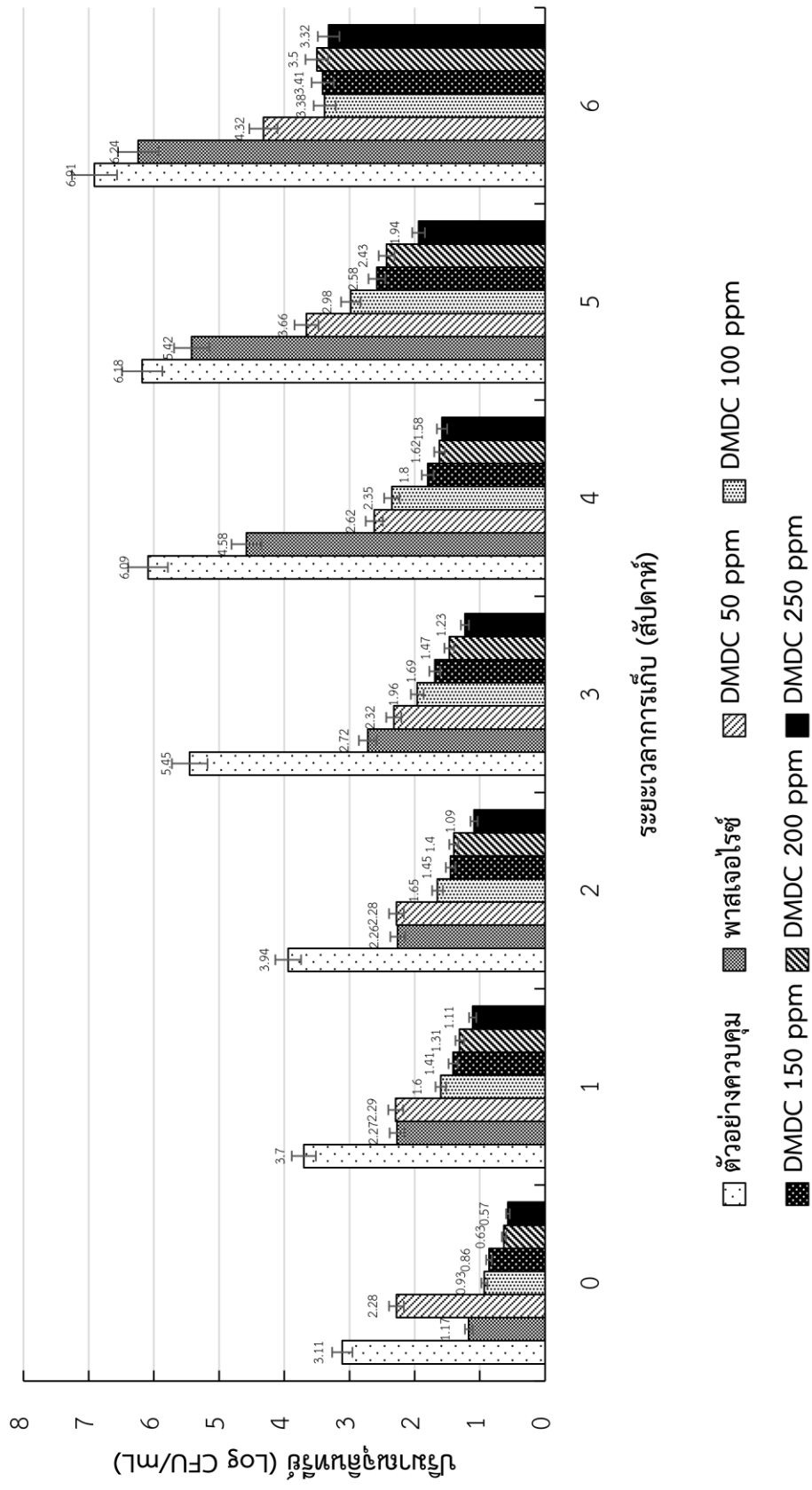
4.2.11 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาผลของ DMDC (50-250 ppm) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของตัวอย่างสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บดังแสดงในรูปที่ 20 โดยตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดเริ่มต้น (สัปดาห์ที่ 0) เท่ากับ 3.11, 1.17, 2.28, 0.93, 0.86, 0.63 และ 0.57 log CFU/mL ตามลำดับ เมื่อพิจารณาการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ภายหลังจากผ่านกระบวนการเปรียบเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของตัวอย่างควบคุมพบว่าการพาสเจอร์ไรซ์และการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงเท่ากับ 1.94, 0.83, 2.18, 2.25, 2.48 และ 2.54 log CFU/mL ตามลำดับ โดยการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้มากที่สุด (2.54 log CFU/mL) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้อที่ 4.1 ขณะที่การเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 50 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้น้อยที่สุด (0.83 log CFU/mL) โดยปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของทุกตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 0 มีค่าไม่เกินตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดไว้ว่าห้ามพบจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดมากกว่าหรือเท่ากับ 5 log CFU/mL อย่างไรก็ตามตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดมากกว่า 5 log CFU/mL ในสัปดาห์ที่ 3 (5.45 log CFU/mL) และสัปดาห์ที่ 5 (5.42 log CFU/mL) ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC (50-250 ppm) มีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่เกิน 5 log CFU/mL ระหว่างการเก็บรักษา โดยในสัปดาห์ที่ 6 ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 ppm มีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดเท่ากับ 4.32, 3.38, 3.41, 3.5 และ 3.32 log CFU/mL ตามลำดับ

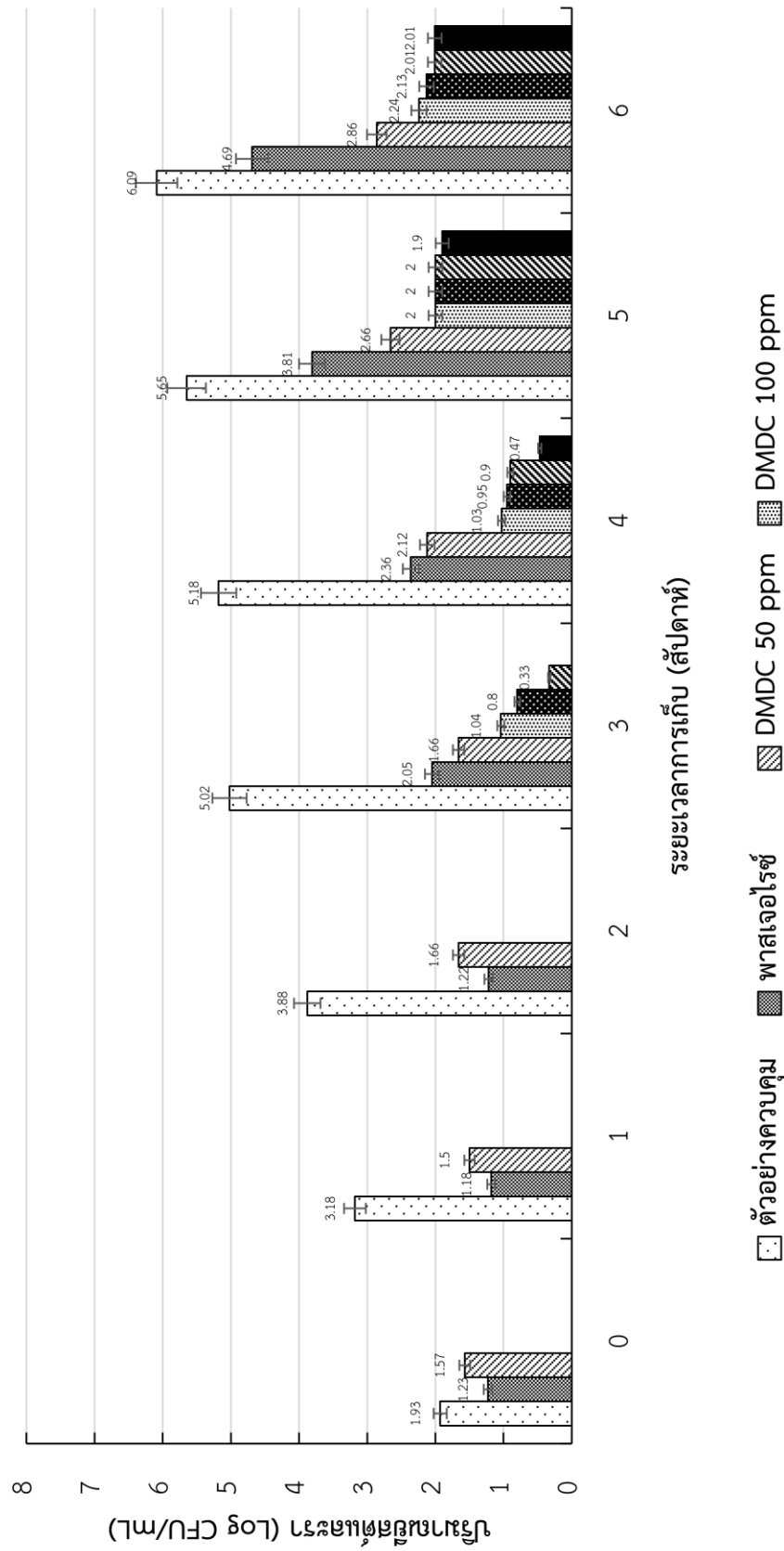
4.2.12 ปริมาณยีสต์และราของสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บรักษา

รูปที่ 21 แสดงปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสที่ผ่านการเติม DMDC และการพาสเจอร์ไรซ์ระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยพบว่าปริมาณยีสต์และราของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 50 ppm มีปริมาณยีสต์และราเริ่มต้นเท่ากับ 1.93, 1.23 และ 1.57 ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 100-250 ppm ตรวจไม่พบยีสต์และราเริ่มต้น (รูปที่ 21) ซึ่งทุกตัวอย่างมีปริมาณยีสต์และราไม่เกินตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่กำหนดไว้ว่าห้ามพบยีสต์และรามากกว่าหรือเท่ากับ 2 log CFU/mL อย่างไรก็ตามตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 50 ppm มีปริมาณยีสต์และรามากกว่า 2 log CFU/mL ในสัปดาห์ที่ 1, 3 และ 4 ตามลำดับ (3.18, 2.05 และ 2.12 log CFU/mL ตามลำดับ) ในขณะที่เริ่มตรวจพบการเจริญของยีสต์และราของตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 100, 150 และ 200 ppm ในสัปดาห์ที่ 3 (1.04, 0.80 และ 0.33 log CFU/mL ตามลำดับ) และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ในสัปดาห์ที่ 4 (0.47 log CFU/mL) โดยตรวจพบปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 100, 150 และ 200 ppm มากกว่าหรือเท่ากับ 2 log CFU/mL ในสัปดาห์ที่ 5 (2.00, 2.00 และ 2.00 log CFU/mL ตามลำดับ) และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ในสัปดาห์ที่ 6 (2.01 log CFU/mL) เมื่อเติม DMDC ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร จุลินทรีย์จะถูกยับยั้งอย่างรวดเร็วภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้น DMDC ที่หลงเหลืออยู่จะไฮโดรไลซ์เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และเมทานอลปริมาณเล็กน้อยและสูญเสียความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ไป จากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2014) พบว่า DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria) ยีสต์และรา ลงประมาณ 4, 4, 1 และ 6.5 log CFU/mL ตามลำดับ เมื่อเติมลงในน้ำใบหม่อนไปแล้ว 24 ชั่วโมง และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C ได้เป็นระยะเวลา 60 วัน โดยปริมาณจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมด , แลคติกแอซิดแบคทีเรียและรา เจริญไม่เกินปริมาณที่กำหนดไว้ (5 log CFU/mL) ขณะที่ตรวจไม่พบยีสต์ในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับอุตสาหกรรมการผลิตไวน์ที่ใช้ DMDC เพื่อยับยั้งการเจริญของยีสต์เป็นหลัก เพื่อหยุดกระบวนการหมักของยีสต์ (Costa, 2008)

จากการพิจารณาระยะเวลาการเก็บจากปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและยีสต์และราพบว่า ตัวอย่างตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสีที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีอายุการเก็บมากที่สุดคือประมาณ 5 สัปดาห์ ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 50, 100, 150 และ 200 ppm มีอายุการเก็บประมาณ 2, 3, 4, 4 และ 4 สัปดาห์ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่มีอายุการเก็บน้อยที่สุดคือน้อยกว่า 1 สัปดาห์ โดยตรวจไม่พบ coliform และ *E. coli* ระหว่างการเก็บรักษาในทุกตัวอย่าง เมื่อพิจารณาสมบัติด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษาพบว่าตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีแนวโน้มการรักษาคุณภาพของตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสีระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C ดีที่สุด โดยมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมดน้อยที่สุด มีแนวโน้มการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มากที่สุด และมีแนวโน้มการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นที่เติม DMDC (50-200 ppm) ดังนั้น DMDC ความเข้มข้น 250 ppm จึงถูกเลือกใช้ในการศึกษาผลร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติด้านต่างๆ ของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสีระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 20 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูทที่มรสุม่วงผสมเสารสระหว่างกาเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 21 ปริมาณยีสต์และราของสมุนไพรที่ผสมแสงสารระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.3 ผลของ DMDC ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

บรรจุภัณฑ์เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้มีสมบัติที่แตกต่างกันออกไปเช่น สมบัติป้องกันการซึมผ่านออกซิเจน สมบัติป้องกันการซึมผ่านคาร์บอนไดออกไซด์ สมบัติป้องกันการซึมผ่านไนโตรเจน สมบัติป้องกันการซึมผ่านไอน้ำ สมบัติการต้านแรงกระแทก ความใส อุณหภูมิจุดเดือด และจุดหลอมเหลว เป็นต้น ขวดแก้วมีสมบัติป้องกันการซึมผ่านของแก๊สและไอน้ำได้ดีกว่าขวด PET นอกจากนี้ยังมีความใส อุณหภูมิจุดเดือดและจุดหลอมเหลวที่มากกว่า แต่ขวดแก้วไม่ทนต่อแรงกระแทก มีน้ำหนักมาก และมีราคาต้นทุนค่อนข้างสูง ดังนั้นการพิจารณาเพื่อเลือกใช้งานจึงต้องคำนึงถึงความเหมาะสมทั้งทางด้านคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ การคงสภาพคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร และการยืดอายุการเก็บ เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อผู้ประกอบการและผู้บริโภคมากที่สุด

การทดลองนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของ DMDC เปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรส์ที่ 90 °C, 100 วินาที ในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิดคือ ขวดแก้วและขวด PET ต่อคุณภาพของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรระหว่างเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C

4.3.1 ค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรระหว่างเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากการศึกษาผลของ DMDC เปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรส์ที่ 90 °C, 100 วินาที ในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิดคือขวดแก้วและขวด PET ต่อค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรระหว่างเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าค่า pH ในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยระหว่างเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยมีค่า pH เฉลี่ยที่ประมาณ 3.35 ดังแสดงในตารางที่ 10 อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 10 ค่า pH ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ค่า pH					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
ตัวอย่าง ควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	ตัวอย่าง ควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	
0	3.36±0.01	3.37±0.02	3.36±0.02	3.39±0.00	3.38±0.01	3.36±0.00
1	3.30±0.02	3.34±0.00	3.34±0.00	3.30±0.00	3.35±0.00	3.34±0.01
2	3.33±0.00	3.34±0.01	3.33±0.01	3.30±0.00	3.32±0.01	3.29±0.01
3	3.30±0.02	3.36±0.00	3.36±0.00	3.30±0.00	3.46±0.02	3.31±0.01
4	3.30±0.02	3.36±0.00	3.36±0.00	3.30±0.00	3.33±0.00	3.31±0.01
5	3.37±0.02	3.31±0.00	3.30±0.01	3.37±0.02	3.34±0.00	3.36±0.01
6	3.41±0.02	3.44±0.01	3.43±0.02	3.43±0.01	3.36±0.00	3.43±0.02

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสดมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสดมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.2 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากตารางที่ 11 แสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างที่เก็บในบรรจุภัณฑ์โดยพบว่า ปริมาณกรดทั้งหมดในทุกตัวอย่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บในช่วง 3 สัปดาห์แรกและมีแนวโน้มลดลงหลังจากสัปดาห์ที่ 4 โดยสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสทุกตัวอย่างในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณกรดทั้งหมดเริ่มต้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 1.45 – 1.65 %กรดซิตริก เมื่อเริ่มต้นในการเก็บรักษา และมีแนวโน้มเพิ่มตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ไปจนถึงสัปดาห์ที่ 4 หลังจากนั้นจึงมีแนวโน้มลดลงและพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างมีค่าในช่วง 1.60-1.75 %กรดซิตริก เมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษาที่ 4 °C (6 สัปดาห์) ตัวอย่างควบคุมที่บรรจุในขวด PET มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด (2.04 %กรดซิตริก) ในสัปดาห์ที่ 4 ขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุทั้งในขวดแก้วและขวด PET มีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากที่สุด ในสัปดาห์ที่ 4 เช่นกัน (1.75 %กรดซิตริกในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด) ปริมาณกรดทั้งหมดของทั้ง 2 บรรจุภัณฑ์มีแนวโน้มลดลงหลังจากสัปดาห์ที่ 4 อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีปริมาณกรดทั้งหมดคงที่หลังการเพิ่มขึ้นมากที่สุดในสัปดาห์ที่ 4 อาจเนื่องมาจากปริมาณยีสต์และราที่มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างพาสเจอไรซ์ (รูปที่ 23) จึงทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มคงที่เนื่องจากยีสต์และราที่มีอัตราการย่อยสลายกรดอินทรีย์เพื่อใช้พลังงานใกล้เคียงกับการสร้างกรดจากกระบวนการสร้างพลังงานของแบคทีเรีย (Santos, 2011)

ตารางที่ 11 ปริมาณกรดทั้งหมดของสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ปริมาณกรดทั้งหมด (%กรดซิตริก)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	
0	1.45±0.00	1.52±0.07	1.45±0.00	1.45±0.00	1.45±0.00	1.45±0.00
1	1.45±0.00	1.56±0.00	1.45±0.00	1.55±0.14	1.53±0.05	1.45±0.00
2	1.55±0.14	1.75±0.00	1.55±0.14	1.55±0.14	1.75±0.00	1.65±0.14
3	1.84±0.14	1.95±0.08	1.65±0.14	1.84±0.14	1.93±0.00	1.65±0.14
4	1.94±0.14	1.95±0.00	1.75±0.00	2.04±0.00	1.93±0.00	1.75±0.00
5	1.84±0.14	1.75±0.00	1.75±0.00	2.04±0.00	1.81±0.09	1.75±0.00
6	1.65±0.14	1.60±0.00	1.75±0.00	1.75±0.00	1.65±0.07	1.75±0.00

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ในขวดแก้วและขวด PET พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเริ่มต้นของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสในทุกตัวอย่างมีค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง 16.17-17.17 °Brix และลดลงเหลือในช่วง 13.17-14.00 °Brix เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บดังแสดงในตารางที่ 12 โดยตัวอย่างควบคุมของบรรจุภัณฑ์ทั้งสองชนิดมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดน้อยที่สุดคืออยู่ในช่วง 13.17-17.17 °Brix แสดงให้เห็นถึงมีแนวโน้มการลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เติม DMDC (250 ppm) และตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์อาจเนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณจุลินทรีย์ จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างชนิดของบรรจุภัณฑ์ต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kilima และคณะ (2015) ที่พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ (ขวดแก้วและขวดพลาสติก) ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำของน้ำกระเจี๊ยบผสมมะม่วงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.001$) ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 6 เดือน นอกจากนี้ยังพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วยซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองข้อที่ 4.3.1 และ 4.3.2 ตามลำดับ

ตารางที่ 12 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
ตัวอย่าง ควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^{ab}	ตัวอย่าง ควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^{ab}	
0	17.17±0.24	16.17±0.24	16.83±0.85	16.83±0.24	17.50±0.41	16.17±0.24
1	17.00±0.00	15.83±0.24	16.33±0.24	16.67±0.47	17.33±0.47	16.00±0.82
2	16.67±0.47	15.83±0.24	16.17±0.24	16.67±0.47	17.33±0.47	16.00±0.82
3	16.00±0.00	15.50±0.00	16.00±0.00	15.83±0.24	15.50±0.00	16.33±0.24
4	16.17±0.24	15.00±0.00	15.17±0.24	15.67±0.47	15.17±0.24	15.83±0.24
5	15.17±0.24	14.17±0.24	15.17±0.24	15.00±0.00	15.17±0.24	15.83±0.24
6	13.67±0.24	13.17±0.24	13.50±0.41	13.17±0.24	13.67±0.47	14.00±0.41

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.4 สภาพแขวนลอยของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากตารางที่ 13 แสดงสภาพแขวนลอยของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรระหว่างการเก็บเป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C ในขวดแก้วและขวด PET โดยพบว่าสภาพแขวนลอยของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษาและไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ระหว่างชนิดของบรรจุภัณฑ์ โดยสภาพแขวนลอยของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสมิค่าเริ่มต้นอยู่ในช่วง 1.24-1.35 และลดลงเหลือในช่วง 0.58-0.68 หลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ดังแสดงในตารางที่ 13 โดยสภาพแขวนลอยของตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ในบรรจุภัณฑ์ทั้งสองชนิดมีค่ามากที่สุดคืออยู่ในช่วง 1.27-0.68 ขณะที่ตัวอย่างควบคุมมีค่าน้อยที่สุดคืออยู่ในช่วง 0.62-1.35 สภาพแขวนลอยของผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้หรือสมุทที่ส่วนใหญ่ถูกทำให้เสียสภาพจากกิจกรรมของเอนไซม์ PME บรรจุภัณฑ์อาจมีส่วนช่วยในการป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้นกับผลิตภัณฑ์อาหาร เมื่อเซลล์ของผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากผักและผลไม้ที่มีเอนไซม์ PME อยู่ภายในไม่ได้รับความเสียหายกิจกรรมของเอนไซม์ PME จึงลดลง การลดลงของสภาพแขวนลอยระหว่างการเก็บก็จะมีแนวโน้มลดลง จากงานวิจัยของ Carbonell และคณะ (2013) พบว่าการใช้กระบวนการโฮโมจิไนซ์แรงดันสูง (high pressure homogenization) กับน้ำส้มที่ 150 MPa อุณหภูมิ 68 °C เป็นระยะเวลา 15 วินาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PME ลง 75% ส่งผลให้สภาพแขวนลอยมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 3 เดือนที่อุณหภูมิ 3 °C ขณะที่ตัวอย่างน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการโฮโมจิไนซ์แรงดันสูงที่อุณหภูมิ 58 °C มีอายุการเก็บเหลือ 1 เดือนครึ่ง เนื่องจากการสูญเสียสภาพแขวนลอยเพราะสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PME ลงได้เพียง 20% ซึ่งน้อยกว่ากระบวนการโฮโมจิไนซ์แรงดันสูงที่อุณหภูมิ 68 °C ถึง 55%

ตารางที่ 13 สภาพแวนลอยของสมุนไพรที่มีม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	สภาพแวนลอย					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
	ตัวอย่าง ควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่าง ควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	1.35±0.08	1.29±0.06	1.27±0.08	1.30±0.03	1.24±0.03	1.24±0.03
1	1.18±0.06	1.17±0.02	1.16±0.04	1.19±0.02	1.17±0.03	1.18±0.02
2	1.04±0.01	1.07±0.02	1.03±0.02	1.04±0.02	1.04±0.01	1.08±0.02
3	0.86±0.00	0.89±0.03	0.94±0.03	0.84±0.01	0.86±0.00	0.96±0.04
4	0.77±0.03	0.79±0.05	0.89±0.01	0.76±0.01	0.87±0.02	0.87±0.04
5	0.67±0.02	0.79±0.01	0.79±0.01	0.66±0.02	0.72±0.01	0.77±0.01
6	0.62±0.05	0.65±0.00	0.68±0.00	0.58±0.02	0.65±0.03	0.68±0.01

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.5 ค่าสีของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากการวิเคราะห์ค่าสีของของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสรระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET ทั้งหมด 6 ตัวอย่าง เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าค่า a^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มคงที่โดยมีค่าระหว่าง 0.70 ± 0.08 ถึง 1.88 ± 0.07 ขณะที่ค่า L^* และ b^* ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บรักษาระหว่างการเก็บรักษา โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ของค่า L^* , a^* และ b^* ระหว่างชนิดของบรรจุภัณฑ์ อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวด PET มีแนวโน้มการลดลงของค่า L^* มากกว่าทุกตัวอย่างอย่างเห็นได้ชัดในสัปดาห์ที่ 3, 4 และ 5 ขณะที่ตัวอย่างพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุในขวดแก้วมีแนวโน้มการลดลงของค่า L^* น้อยกว่าทุกตัวอย่างอย่างเห็นได้ชัดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นมา นอกจากนี้ค่า L^* ของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสรในบรรจุภัณฑ์ขวดแก้วและขวด PET ภายหลังจากการพาสเจอร์ไรส์ (สัปดาห์ที่ 0) มีค่าลดลงเล็กน้อย (48.05 ± 0.15 และ 48.35 ± 0.28 ตามลำดับ) สอดคล้องกับผลการทดลองข้อที่ 4.2.5 และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีค่า L^* ภายหลังจากการเติม DMDC (50.20 ± 0.28 และ 50.20 ± 0.20 ตามลำดับ) ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม (50.09 ± 0.25 และ 50.05 ± 0.25 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวส่งผลให้ค่า ΔE^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่บรรจุในขวดแก้วมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า ΔE^* น้อยที่สุด ในขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวด PET มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า ΔE^* มากที่สุด เนื่องจากขวด PET มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจน (oxygen transmission rate; OTR) ที่ $60 \text{ cc/m}^2/24\text{hrs}$ เมื่อเปรียบเทียบกับขวดแก้วที่มีอัตราการซึมผ่านออกซิเจนเท่ากับ $0 \text{ cc/m}^2/24\text{hrs}$ จึงทำให้อัตราการเกิดสีน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์มีค่าลดลงเนื่องจากออกซิเจนที่เป็นส่วนสำคัญในการเกิดปฏิกิริยามีปริมาณน้อยกว่าจากการที่ไม่มีการซึมผ่านของออกซิเจนเข้ามาจากภายนอกเพิ่มเติม จากงานวิจัยของ Ayhan และคณะ 2001 พบว่าน้ำส้มที่ผ่านกระบวนการ PEf ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 35 kV/cm เป็นระยะเวลา $59 \mu\text{s}$ และบรรจุลงในขวดแก้วมีการลดลงของค่า L^* และ b^* และการเพิ่มขึ้นของค่า a^* แตกต่างกับที่บรรจุลงในขวดพลาสติก HDPE และ LDPE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 22 °C เป็นระยะเวลา 112 วัน

ตารางที่ 14 ค่า L* ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ค่า L*					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้ว ^A			ขวด PET ^B		
ตัวอย่าง ควบคุม ^C	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่าง ควบคุม ^C	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	
0	50.09±0.25	48.05±0.15	50.20±0.28	50.05±0.25	48.35±0.28	50.20±0.20
1	48.03±0.51	47.64±0.25	48.51±1.79	48.78±0.33	47.92±0.76	49.27±0.20
2	47.94±0.53	47.61±0.43	46.02±0.07	47.79±0.14	47.43±0.23	46.55±0.20
3	46.35±0.16	47.40±0.27	45.51±0.03	46.81±0.04	46.83±0.10	44.38±0.21
4	45.85±0.05	47.26±0.08	44.90±0.04	45.68±0.12	46.06±0.04	42.24±0.03
5	44.26±0.12	46.78±0.48	43.53±0.05	43.04±0.04	45.37±0.37	41.40±0.25
6	41.85±0.05	46.75±0.39	41.58±0.33	41.06±0.00	44.65±0.02	41.37±0.30

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript A, B) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 15 ค่า a* ของสมุทหิมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ค่า a*					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้ว ^A			ขวด PET ^B		
	ตัวอย่าง ควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่าง ควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	1.12±0.12	1.39±0.05	1.24±0.03	1.41±0.25	0.97±0.05	1.37±0.04
1	1.08±0.10	0.70±0.08	1.61±0.13	1.21±0.15	1.71±0.10	1.45±0.14
2	1.04±0.02	0.82±0.05	1.30±0.06	1.10±0.04	1.66±0.01	1.45±0.14
3	1.08±0.02	0.78±0.03	1.88±0.07	1.03±0.02	1.66±0.03	1.86±0.01
4	1.80±0.21	1.26±0.07	1.62±0.02	1.18±0.04	1.56±0.00	1.58±0.05
5	1.31±0.43	1.13±0.06	1.35±0.07	1.15±0.04	1.19±0.03	1.19±0.03
6	1.73±0.01	1.19±0.09	1.20±0.04	1.38±0.03	1.18±0.01	1.19±0.06

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript A, B) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสดมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสดมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 16 ค่า b* ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ค่า b*					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้ว ^A			ขวด PET ^B		
ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^a	DMDC 250 ppm ^b	
0	29.76±0.45	29.37±0.22	29.40±0.58	29.39±0.60	28.93±0.44	29.85±0.04
1	29.25±0.20	29.02±0.24	29.94±1.79	29.35±0.23	28.84±0.37	28.58±0.69
2	28.54±0.37	29.62±0.13	28.40±0.14	28.50±0.29	28.61±0.05	28.46±0.37
3	29.25±0.20	28.27±0.75	27.01±0.13	28.37±0.66	27.60±0.17	27.30±0.21
4	27.94±0.13	27.91±0.17	27.89±0.40	27.05±0.66	26.56±0.22	26.50±0.12
5	26.43±0.48	27.84±0.78	26.26±0.39	26.78±0.01	25.20±0.01	26.41±0.47
6	26.94±0.13	27.99±0.02	25.74±0.30	26.78±0.01	25.20±0.01	25.14±0.01

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript A, B) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 17 ค่า ΔE ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ค่า ΔE					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้ว ^A			ขวด PET ^B		
	ตัวอย่าง ควบคุม ^C	พาสเจอร์ไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่าง ควบคุม ^C	พาสเจอร์ไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
1	2.20±0.70	0.98±0.11	3.17±1.35	1.46±0.10	1.25±0.48	1.69±0.55
2	2.50±0.80	0.81±0.19	4.29±0.36	2.56±0.46	1.33±0.35	3.93±0.05
3	3.82±0.21	1.52±0.32	5.33±0.34	3.58±0.66	2.15±0.38	6.37±0.12
4	4.69±0.38	1.68±0.11	5.53±0.30	4.99±0.55	3.36±0.52	8.64±0.11
5	6.73±0.22	2.25±0.36	7.41±0.18	7.50±0.49	4.82±0.49	9.45±0.43
6	8.74±0.37	1.94±0.44	9.40±0.37	9.38±0.41	5.27±0.42	10.01±0.23

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript A, B) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.3.6 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสของสมุนไพรมะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ตารางที่ 18 แสดงกิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์ PPO ของตัวอย่างสมุนไพรมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยพบว่าทุกตัวอย่างมีแนวโน้มของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยการพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลานาน 100 วินาที สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงได้มากที่สุดคือลดลงเหลือ 44 และ 43% ในขวดแก้วและขวด PET ตามลำดับ และมีแนวโน้มคงที่ในช่วงระหว่าง 35-51% ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC (250 ppm) สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ลงเพียงเล็กน้อยคือสามารถลดลงเหลือ 96 และ 93% ในสัปดาห์ที่ 0 และลดลงเหลือ 65 และ 84% ตามลำดับในสัปดาห์ที่ 1 ซึ่งลดลงมากกว่าตัวอย่างควบคุมที่เหลือ 86 และ 99% ตามลำดับ หลังจากนั้นตัวอย่างที่เติม DMDC และตัวอย่างควบคุมจึงมีแนวโน้มการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ใกล้เคียงกัน จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ชนิดของบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสมุนไพรที่บรรจุลงในขวด PET มีค่าเฉลี่ยกิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์ PPO มากกว่าสมุนไพรที่บรรจุลงในขวดแก้ว อาจเนื่องมาจากขวด PET มีการซึมผ่านของออกซิเจนส่งผลให้ปริมาณออกซิเจนที่มีอยู่ภายในบรรจุภัณฑ์มีปริมาณมากกว่าขวดแก้วและทำให้เอนไซม์ PPO เกิดปฏิกิริยามากขึ้นจากการที่มีออกซิเจนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จากงานวิจัยของ Xing และคณะ (2010) พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ PPO ของรากบัวตัดใหม่ลดลงสอดคล้องกับปริมาณออกซิเจนที่ลดลงระหว่างการเก็บเมื่อใช้การบรรจุแบบตัดแปรรบรรยากาศ (modified atmosphere packaging; MAP) ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงของค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับบรรจุแบบปกติ

ตารางที่ 18 กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของ PPO ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	กิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของ PPO (%)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์					
	ขวดแก้ว ^B			ขวด PET ^A		
	ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^c	DMDC 250 ppm ^b	ตัวอย่าง ควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^c	DMDC 250 ppm ^b
0	100±0	44±2	96±5	100±0	43±3	93±3
1	86±4	47±3	65±3	99±7	42±1	84±2
2	79±2	40±4	64±6	72±2	46±2	70±1
3	70±4	35±2	66±3	67±3	48±2	66±2
4	63±6	47±2	50±2	54±1	48±3	60±6
5	51±3	49±7	50±4	53±1	51±6	60±8
6	66±4	53±1	59±4	61±4	56±4	66±7

*ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

**ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

***ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรัม (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

4.3.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET ทั้ง 6 ตัวอย่าง เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C แสดงดังในตารางที่ 19 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เริ่มต้นเท่ากับ 200.24 ± 13.83 , 187.60 ± 4.14 และ 207.92 ± 0.89 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ และตัวอย่างที่บรรจุในขวด PET มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 206.79 ± 1.38 , 186.50 ± 3.32 และ 200.24 ± 3.16 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ โดยตัวอย่างพาสเจอไรซ์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เริ่มต้นน้อยกว่าตัวอย่างอื่น อย่างไรก็ตามบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดไม่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยตัวอย่างควบคุมมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ภายหลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์เหลือน้อยที่สุดเท่ากับ 90.51 ± 1.68 และ 89.49 ± 1.16 mM trolox/100 g, db ในขวดแก้วและขวด PET ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างพาสเจอไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 145.92 ± 2.38 , 145.92 ± 2.06 mM trolox/100 g, db ในขวดแก้วและ 145.92 ± 2.38 , 145.92 ± 2.06 mM trolox/100 g, db ในขวด PET ตามลำดับ

4.3.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากการศึกษาผลของ DMDC ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มีแนวโน้มลดลงในทุกตัวอย่างเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น (ตารางที่ 20) โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เริ่มต้นเท่ากับ 163.66 ± 0.91 , 150.19 ± 1.70 และ 168.52 ± 6.76 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ และที่บรรจุในขวด PET มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 163.10 ± 3.25 , 145.13 ± 5.99 และ 165.30 ± 1.98 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ โดยบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดไม่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ลดลงเหลือ 90.51 ± 1.68 , 145.92 ± 2.38 และ 145.92 ± 2.06 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างที่บรรจุในขวด PET ลดลงเหลือ 89.49 ± 1.16 , 145.73 ± 1.94 และ 149.21 ± 2.56 mM trolox/100 g, db ตามลำดับ แนวโน้มการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kim และคณะ (2011) ที่พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 3 °C มีแนวโน้มลดลงระหว่างการเก็บเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ โดยพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามชาเขียวที่บรรจุในขวดแก้วมีแนวโน้มการลดลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชาเขียวที่บรรจุลงในขวด PET เล็กน้อย เนื่องจากการซึมผ่านของออกซิเจนของขวด PET ส่งผลให้มีปริมาณออกซิเจนเพิ่มมากขึ้นในบรรจุภัณฑ์ ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากขึ้นเป็นเหตุให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงมากกว่าขวดแก้วที่ไม่มีการซึมผ่านของออกซิเจน

ตารางที่ 19 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของสมุนไพรที่มีเมฆผสมเสาวรระหว่างการเก็บใบบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (mM trolox/100 g, db*)						
ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
	ตัวอย่างควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่างควบคุม ^c	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	200.24 ± 13.83	187.60 ± 4.14	207.92 ± 0.89	206.79 ± 1.38	186.50 ± 3.32	200.24 ± 3.16
1	176.05 ± 1.20	184.31 ± 1.88	203.25 ± 6.78	173.90 ± 0.67	174.19 ± 2.30	197.20 ± 2.02
2	133.06 ± 1.68	179.30 ± 1.92	193.25 ± 6.78	135.64 ± 5.23	173.33 ± 2.95	197.20 ± 2.02
3	103.41 ± 2.85	165.37 ± 1.03	185.75 ± 3.65	112.70 ± 5.46	167.13 ± 2.51	188.39 ± 1.25
4	104.09 ± 0.93	161.30 ± 2.32	183.68 ± 4.79	102.62 ± 1.39	155.65 ± 3.39	187.50 ± 0.88
5	105.84 ± 3.71	152.80 ± 4.46	168.99 ± 1.65	104.08 ± 0.77	145.65 ± 3.39	167.50 ± 0.88
6	90.51 ± 1.68	145.92 ± 2.38	145.92 ± 2.06	89.49 ± 1.16	145.73 ± 1.94	149.21 ± 2.56

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ความเข้มข้น

มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mM trolox/100 g, db = มิลลิโมล trolox/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 20 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของสมูทที่หมะม่วงผสมสวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (mM trolox/100 g, db*)						
ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}					
	ขวดแก้ว			ขวด PET		
	ตัวอย่างควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^c	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่างควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^c	DMDC 250 ppm ^a
0	163.66 ± 0.91	150.19 ± 1.70	168.52 ± 6.76	163.10 ± 3.25	145.13 ± 5.99	165.30 ± 1.98
1	155.19 ± 1.77	147.92 ± 2.46	163.24 ± 1.91	155.97 ± 7.21	146.57 ± 1.51	166.47 ± 1.86
2	150.14 ± 0.81	146.53 ± 0.39	165.05 ± 2.25	157.87 ± 2.11	147.50 ± 0.80	162.20 ± 0.22
3	148.87 ± 2.01	148.17 ± 1.32	158.13 ± 1.58	148.83 ± 6.04	148.77 ± 0.25	160.00 ± 1.30
4	148.56 ± 6.88	145.53 ± 3.07	156.11 ± 0.57	152.47 ± 1.57	151.07 ± 0.29	155.70 ± 0.86
5	145.21 ± 5.26	148.77 ± 5.83	152.13 ± 3.88	145.83 ± 2.21	149.57 ± 0.62	151.17 ± 0.33
6	138.52 ± 1.43	132.20 ± 3.45	144.26 ± 2.36	138.87 ± 6.81	138.70 ± 5.40	149.07 ± 0.66

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mM trolox/100 g, db = มิลลิโมล trolox/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

4.3.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C แสดงดังในตารางที่ 21 และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 123.60 ± 4.55 , 126.99 ± 8.29 และ 123.73 ± 3.10 mg GAE/100 g, db ตามลำดับ และที่บรรจุในขวด PET มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 124.78 ± 11.63 , 123.48 ± 6.17 และ 126.93 ± 7.72 mg GAE/100 g, db ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 86.33 ± 0.24 , 80.89 ± 0.71 และ 92.40 ± 0.73 mg GAE/100 g, db ในตัวอย่างควบคุม, พาสเจอไรซ์และ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้ว ตามลำดับ ขณะที่ตัวอย่างที่บรรจุในขวด PET ลดลงเหลือ 83.57 ± 0.69 , 82.20 ± 0.43 และ 91.25 ± 1.55 mg GAE/100 g, db ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดคงเหลือมากที่สุด โดยชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลกระทบต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างสมุนไพรที่มะม่วงผสมเสาวรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Dabbou และคณะ (2011) พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ (ขวด PET และขวดแก้วใส) ที่ใช้บรรจุน้ำมันมะกอกไม่ส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาในสภาวะที่กำหนดไว้เป็นระยะเวลา 12 เดือน

4.3.10 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

จากตารางที่ 21 แสดงปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C (ตารางที่ 22) และพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้นเท่ากับ 22.95 ± 0.37 , 18.98 ± 0.54 และ 21.99 ± 0.50 mg QCE/100 g, db ตามลำดับ และที่บรรจุในขวด PET มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 22.71 ± 1.19 , 19.07 ± 0.92 และ 22.71 ± 1.03 mg QCE/100 g, db ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เริ่มต้นน้อยที่สุดในทุกตัวอย่าง เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า ตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm มีสารฟลาโวนอยด์ที่บรรจุในขวดแก้วลดลงเหลือ 8.85 ± 0.33 , 8.84 ± 0.12 และ 8.36 ± 0.25 mg QCE/100 g, db ตามลำดับ ขณะที่ในขวดแก้วลดลงเหลือ 8.89 ± 0.33 , 8.61 ± 0.13 และ 8.99 ± 0.26 mg QCE/100 g, db ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมเสาวรสบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากงานวิจัยของ Giovanelli และคณะ (2007) พบว่าไวน์ที่บรรจุในขวดแก้วและขวด PET มีแนวโน้มการลดลงของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 20 °C เป็นระยะเวลา 170 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้งานวิจัยของ Kim และคณะ (2011) พบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในน้ำชาที่บรรจุในขวดแก้วและขวด PET และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C มีแนวโน้มการลดลงไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกันในช่วง 4 สัปดาห์แรก อย่างไรก็ตามในสัปดาห์ที่ 12 น้ำชาที่บรรจุในขวดแก้วมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ลดลงน้อยกว่าน้ำชาที่บรรจุในขวด PET เท่ากับ 17% โดยการลดลงของสารฟลาโวนอยด์เป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แสดงให้เห็นว่าการเก็บผลิตภัณฑ์ในระยะเวลาอันยาวนานชนิดของบรรจุภัณฑ์อาจส่งผลให้เกิดการลดลงของสารฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันได้จากอัตราการซึมผ่านของออกซิเจนที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์และอายุการเก็บ

ตารางที่ 21 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสมุนไพรที่มีเมฆแสงสารระหว่างการเก็บใบบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mM GAE/100 g, db*)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}			ขวด PET		
	ขวดแก้ว	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a	ตัวอย่างควบคุม ^b	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	123.60 ± 4.55	126.99 ± 8.29	126.93 ± 7.72	124.78 ± 11.63	123.48 ± 6.17	123.73 ± 3.10
1	116.99 ± 2.27	116.52 ± 3.59	124.12 ± 1.72	114.01 ± 10.65	113.23 ± 2.21	122.43 ± 1.68
2	105.17 ± 2.11	104.56 ± 2.16	110.32 ± 2.74	105.35 ± 1.17	100.72 ± 0.53	104.33 ± 3.30
3	105.69 ± 2.48	101.48 ± 1.88	107.61 ± 0.71	103.94 ± 0.84	100.73 ± 1.67	107.07 ± 0.33
4	96.67 ± 1.05	99.51 ± 0.55	105.67 ± 3.05	94.67 ± 1.08	94.63 ± 0.05	101.07 ± 0.87
5	94.12 ± 2.12	99.02 ± 0.56	96.20 ± 1.56	90.77 ± 0.10	80.47 ± 0.27	96.63 ± 0.26
6	86.33 ± 0.24	80.89 ± 0.71	92.40 ± 0.73	83.57 ± 0.69	82.20 ± 0.43	91.25 ± 1.55

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ความเข้มข้น) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mg GAE/100 g, db = มิลลิกรัม gallic acid equivalent/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

ตารางที่ 22 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสมุนไพรที่มีมะม่วงผสมสารระหว่างการเก็บใบบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

ระยะเวลา การเก็บ (สัปดาห์)	สารฟลาโวนอยด์ (mM QCE/100 g, db*)					
	ชนิดของบรรจุภัณฑ์ ^{ns}			ขวด PET		
	ตัวอย่างควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^b	พาสเจอไรซ์ ^b	ตัวอย่างควบคุม ^a	พาสเจอไรซ์ ^b	DMDC 250 ppm ^a
0	22.95 ± 0.37	18.98 ± 0.54	21.99 ± 0.50	22.71 ± 1.19	19.07 ± 0.92	22.71 ± 1.03
1	18.95 ± 0.51	16.47 ± 0.03	18.70 ± 0.23	19.25 ± 1.20	16.52 ± 0.33	19.51 ± 0.66
2	15.93 ± 1.01	13.14 ± 0.56	16.10 ± 0.69	15.25 ± 1.20	12.44 ± 0.31	16.17 ± 0.50
3	12.34 ± 0.32	11.78 ± 0.38	15.43 ± 0.65	13.69 ± 0.13	11.65 ± 0.97	14.84 ± 0.96
4	11.48 ± 0.79	11.40 ± 0.21	12.22 ± 0.21	12.34 ± 0.21	11.48 ± 0.19	11.30 ± 0.81
5	9.15 ± 0.50	9.40 ± 0.21	9.89 ± 0.38	8.92 ± 0.66	8.57 ± 0.15	9.30 ± 0.81
6	8.85 ± 0.33	8.84 ± 0.12	8.36 ± 0.25	8.89 ± 0.33	8.61 ± 0.13	8.99 ± 0.26

ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษร ns หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ขวดแก้วและขวด PET) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05)

ตัวอักษรที่แตกต่างกัน (superscript a, b) หมายถึงค่าเฉลี่ยของแต่ละสตรมภ์ (ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างพาสเจอไรซ์ และตัวอย่างที่เติม DMDC แต่ละความเข้มข้น) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

* mg GAE/100 g, db = มิลลิกรัม gallic acid equivalent/100 กรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง

4.3.11 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

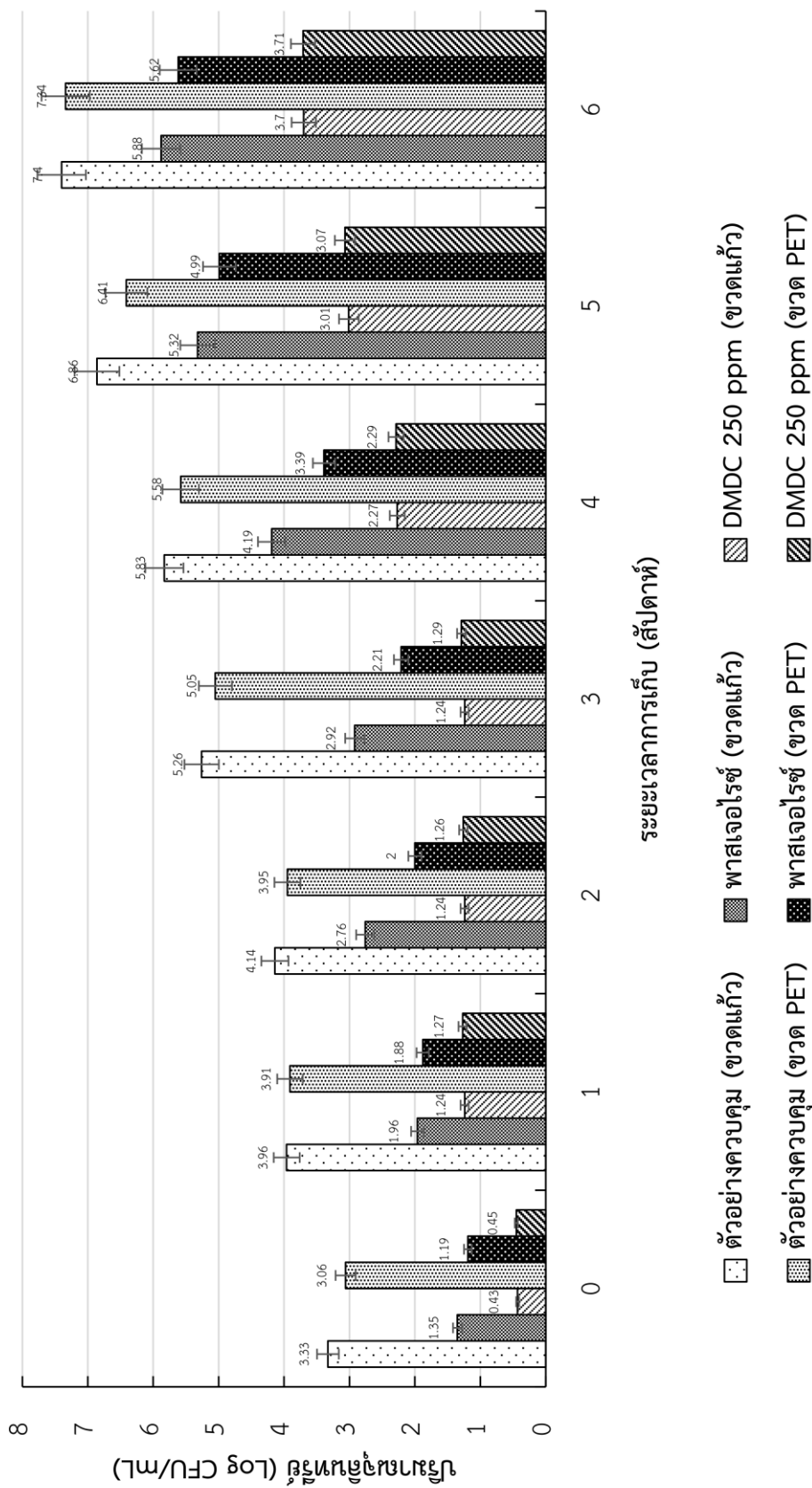
จากการศึกษาผลของ DMDC (250 ppm) เปรียบเทียบกับการพาสเจอไรซ์ (90 °C, 100 วินาที) ต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดของตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งต่อปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ที่บรรจุในขวดแก้วมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 3.33, 1.35 และ 0.43 log CFU/mL ตามลำดับ และที่บรรจุในขวด PET มีค่าเริ่มต้นเท่ากับ 3.06, 1.19 และ 0.45 log CFU/mL ตามลำดับ โดยตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างพาสเจอไรซ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดมากกว่า 5 log CFU/mL ในสัปดาห์ที่ 3 (5.26 และ 5.05 log CFU/mL ในขวดแก้วและพลาสติก PET ตามลำดับ) และสัปดาห์ที่ 5 ตามลำดับ (5.32 และ 4.99 log CFU/mL ในขวดแก้วและพลาสติก PET ตามลำดับ) ขณะที่ตัวอย่างที่เติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm มีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดไม่ถึง 5 log CFU/mL ระหว่างการเก็บรักษาในขวดแก้วและพลาสติก PET โดยในสัปดาห์ที่ 6 มีปริมาณจุลินทรีย์เท่ากับ 3.7 และ 3.71 log CFU/mL ตามลำดับ

4.3.12 ปริมาณยีสต์และราของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

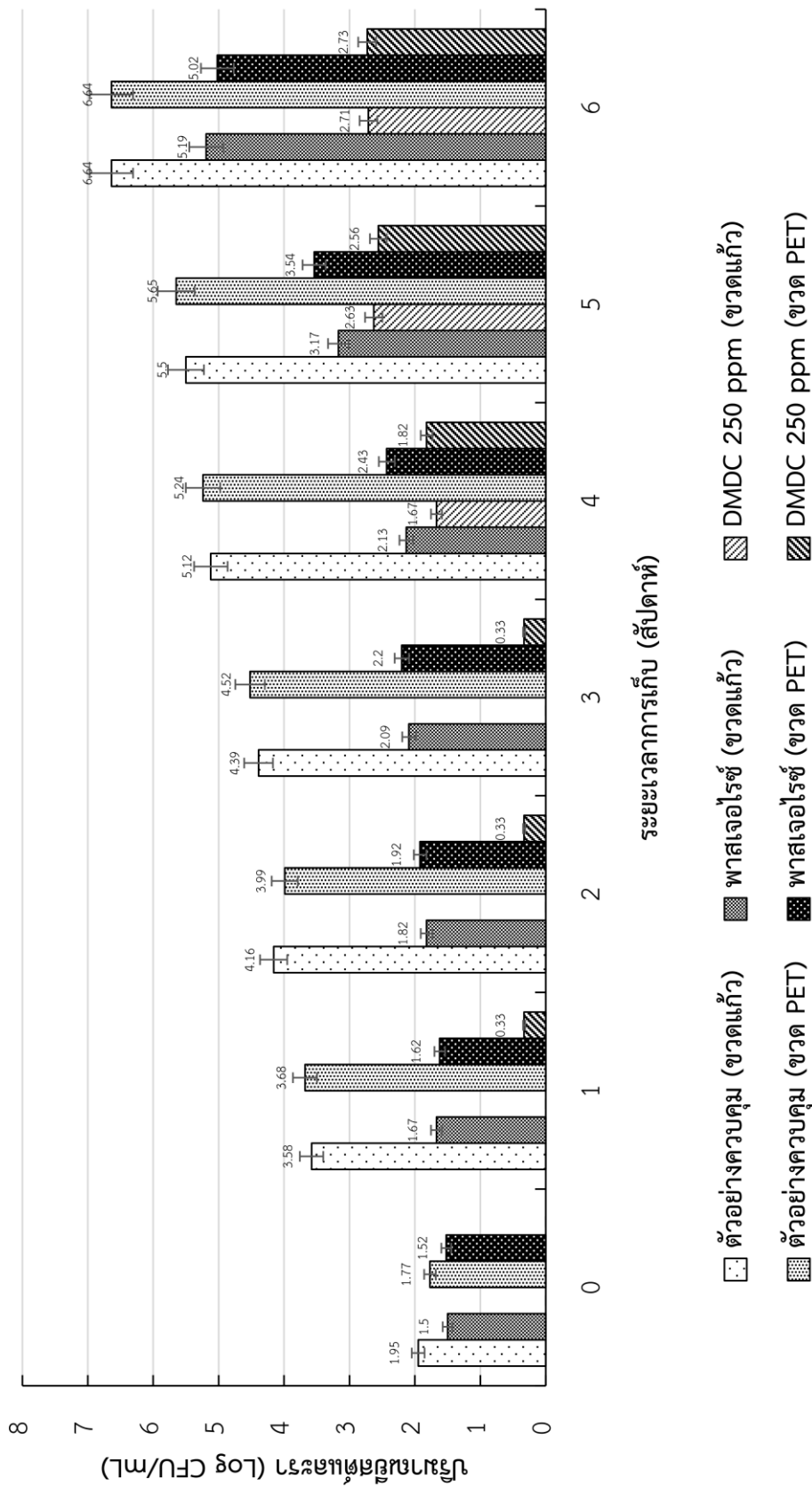
รูปที่ 22 แสดงปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างสมูททีมะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในขวดแก้วและขวด PET เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 4 °C โดยพบว่าปริมาณยีสต์และราของตัวอย่างทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างพาสเจอไรซ์ที่บรรจุในขวดแก้วมีปริมาณยีสต์และราเริ่มต้นเท่ากับ 1.95 และ 1.5 log CFU/mL ตามลำดับ และที่บรรจุในขวด PET เท่ากับ 1.77 และ 1.52 log CFU/mL ตามลำดับ ขณะที่ตรวจไม่พบยีสต์และราในตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm (สัปดาห์ที่ 0) โดยชนิดของบรรจุภัณฑ์ในทุกตัวอย่างไม่ส่งต่อปริมาณยีสต์และราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามตัวอย่างควบคุม, ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอไรซ์และตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีปริมาณยีสต์และรามากกว่า 2 log CFU/mL ในสัปดาห์ที่ 1, 3 และ 5 ตามลำดับ (3.58, 2.09, 2.63 log CFU/mL ในขวดแก้ว และ 3.68, 2.20, 2.56 log CFU/mL ในขวด PET ตามลำดับ)

คุณสมบัติการป้องกันซึมผ่านออกซิเจน (Oxygen barrier properties) ของบรรจุภัณฑ์เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ยีสต์และราที่อยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารหลังจากผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อมาแล้ว เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญในน้ำผลไม้ส่วนใหญ่เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน (aerobe) อาทิเช่น *Salmonella* spp. และ *E. coli* O157:H7 เป็นต้น จากงานวิจัยของ Sankhla และคณะ (2012) พบว่าน้ำอ้อยที่ใช้เทคโนโลยีเฮิร์ดเดิล (hurdle technology) โดยผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นเติม โพแทสเซียมเมแทไบซัลไฟต์ (potassium metabisulfite) ความเข้มข้น 150 ppm ลงไป และนำไปผ่านการฉายรังสีที่ 1.0 kGy และเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 60 วัน มีแนวโน้มการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและการเจริญยีสต์และราแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างบรรจุภัณฑ์ขวดแก้วและขวด PET การเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์อาหารจึงมีความสำคัญต่อการยืดอายุการเก็บของอาหาร

จากการพิจารณาอายุการเก็บของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสจากปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและยีสต์และรา พบว่าตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีอายุการเก็บประมาณ 4 สัปดาห์ ในขณะที่ตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีอายุการเก็บที่ประมาณ 2 สัปดาห์ และตัวอย่างควบคุมมีอายุการเก็บไม่ถึง 1 สัปดาห์ โดยชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อแนวโน้มการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และตรวจไม่พบ coliform และ *E. coli* ในทุกตัวอย่างระหว่างการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจากค่า pH ของตัวอย่างสมูทที่ค่อนข้างต่ำ (น้อยกว่า 4) อย่างไรก็ตามสามารถใช้จุลินทรีย์เหล่านี้เป็นข้อบ่งชี้ได้ถึงกระบวนการผลิตที่ถูกสุขลักษณะและเพียงพอได้อีกด้วย (Gomez และคณะ, 2010) จากงานวิจัยของ Castillejo และคณะ (2016) พบว่าสมูทที่ทำจากผักสด (มะเขือเทศ พริกแดง บรอกโคลีและแครอท) หลังจากผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นระยะเวลา 3 นาทีและนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 5 °C สามารถยืดอายุการเก็บจาก 28 วัน เป็น 58 วัน และจากงานวิจัยของ Yu และคณะ (2013) พบว่าการเติม DMDC (250 ppm) ที่อุณหภูมิ 45 °C สามารถยืดอายุการเก็บของน้ำลิ้นจี่ได้จาก 21 วันเป็น 56 วัน แสดงให้เห็นว่า DMDC สามารถประยุกต์ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่ทำจากผักและผลไม้ชนิดอื่นได้อีกด้วย



รูปที่ 22 ปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของสมุทที่หมักและบรรจุในบรรจุภัณฑ์อุณหภูมิ 4 °C



รูปที่ 23 ปริมาณยีสต์และราของสมูทที่มีส่วนผสมสเปรยระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

DMDC มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* และ *S. aureus* โดยการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นไปตามจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง นอกจากนี้การเติม DMDC ยังไม่ส่งผลต่อแนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงของค่า pH, การลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้, สภาพแขวนลอย, ค่าสี (L^* , a^* และ b^*) และสารประกอบฟีนอลิก เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ DMDC ส่งผลต่อการลดแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดทั้งหมด, ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) และปริมาณจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและยีสต์และรา) ของตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส ขณะที่ลดแนวโน้มการสูญเสียของสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH และ FRAP) และสารฟลาโวนอยด์เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ นอกจากนี้ DMDC ยังสามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO ในสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ได้อีกด้วย อย่างไรก็ตามการพาสเจอร์ไรซ์สามารถลดกิจกรรมของเอนไซม์ PPO และลดแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของสีในตัวอย่างสมูทที่ได้มากกว่าตัวอย่างที่เติม DMDC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เมื่อพิจารณาชนิดของบรรจุภัณฑ์ (ขวดแก้วและขวด PET) พบว่าชนิดบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และสภาพแขวนลอยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตามชนิดของบรรจุภัณฑ์ส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าสี (L^* , a^* และ b^*) โดยค่า ΔE มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างที่เก็บในขวด PET มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า ΔE มากกว่าในขวดแก้ว นอกจากนี้ชนิดของบรรจุภัณฑ์ยังส่งผลต่อกิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์ PPO ในตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรส โดยตัวอย่างที่เก็บในขวดแก้วมีค่าเฉลี่ยของกิจกรรมที่หลงเหลืออยู่ของเอนไซม์ PPO น้อยกว่าตัวอย่างที่เก็บในขวด PET อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จากการพิจารณาปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดและปริมาณของยีสต์และราของสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสระหว่างการเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์พบว่า ตัวอย่างที่เติม DMDC ความเข้มข้น 250 ppm มีอายุการเก็บมากที่สุด (ประมาณ 4 สัปดาห์) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ (อายุการเก็บประมาณ 2 สัปดาห์) และตัวอย่างควบคุม (อายุการเก็บไม่ถึง 1 สัปดาห์) โดยชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อแนวโน้มการเปลี่ยนของปริมาณจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ข้อเสนอแนะ

ไคเมทิลไดคาร์บอเนตสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เสื่อมเสียในสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ส่งผลให้อายุการเก็บรักษาของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ไคเมทิลไดคาร์บอเนตสามารถรักษาคุณภาพของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการใช้ร่วมกัน (combination) ของไคเมทิลไดคาร์บอเนตร่วมกับกระบวนการผลิตอื่นๆ เช่น กระบวนการผลิตโดยใช้ความร้อนหรือกระบวนการผลิตโดยไม่ใช้ความร้อน อาจสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ รวมถึงเพิ่มอายุการเก็บรักษาของสมูททีมะม่วงผสมเสาวรส อีกทั้งการศึกษาผลของไคเมทิลไดคาร์บอเนตในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหรือน้ำผลไม้อื่นๆ ยังมีความสำคัญ เพื่อมีข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มและน้ำผลไม้ต่อไป



บรรณานุกรม



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

รายการอ้างอิงภาษาไทย

- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2551). คู่มือนักวิชาการส่งเสริมการเกษตร มะม่วง. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.servicelink.doae.go.th/webpage/book%20PDF/fruit/f023.pdf>. [1 มิถุนายน 2020].
- กฤษณ์ สงวนพวก. (2018). กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณเบต้าแคโรทีน โลคพีน และฟลาโวนอยด์ของมะม่วงรับประทานดิบสายพันธุ์พื้นบ้านในประเทศไทยหลังการเก็บเกี่ยว. วารสารวิจัยราชชมงคลกรุงเทพ, 13(1), 68-81.
- สุวิมล วัฒนะพันธ์ศักดิ์. (2015). ผลของสารลดการเกิดสีน้ำตาลและการดัดแปลงสภาพบรรยากาศต่ออายุการเก็บรักษาของผักกาดแก้วตัดแต่ง. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Suvimol_Wattanaphansuk/Fulltext.pdf. [1 มิถุนายน 2020].
- วิสิฐ จະวะสิต. (2014). สถานการณ์การบริโภคผักและผลไม้ของคนไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.thaihealth.or.th/Content/19367>. [24 กรกฎาคม 2018].
- ธารรัตน์ ซื่อตอฬ. (2015). จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และนิธิยา รัตนานนท์ (2019). Maillard reaction/ปฏิกิริยาเมลลาร์ด. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0397/maillard-reaction>. [1 มิถุนายน 2020].
- เพื่อเกษตร. (2017). เสาวรส/กะทกรกฝรั่ง ประโยชน์ สรรพคุณ และการปลูกเสาวรส. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://puechkaset.com/เสาวรส>. [1 มิถุนายน 2020].
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2019). พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 พร้อมกฎกระทรวง และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับปรับปรุง พ.ศ.2562). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.fda.moph.go.th/sites/food/law1/food_law.pdf. [30 มีนาคม 2020].
- สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2010). คุณค่าทางโภชนาการในผลไม้. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี : โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.

รายการอ้างอิงภาษาอังกฤษ

- Andres, V., Villanueva, M. J., and Tenorio, M. D. (2016). The effect of high-pressure processing on colour, bioactive compounds, and antioxidant activity in smoothies during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 192, 328-335.
- AOAC. (1995). *Official Method of Analysis of AOAC International*. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.
- Assatarakul, K. (2016). Degradation kinetic models and inactivation of pathogenic microorganisms by dimethyl dicarbonate in fresh mandarin juice. *Journal of Food Safety*, 37(2).
- Ayhan, Z., Yeom, H. W., Zhang, Q. H., and Min, D. B. (2001). Flavor, color, and vitamin C retention of pulsed electric field processed orange juice in different packaging materials. *Journal of agricultural and food chemistry*, 49, 669-674.
- BAM (Bacteriological Analytical Manual). (2001). U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition, USA.
- Baron, S. (1996). *Medical Microbiology*. 4th edition. Texas : University of Texas Medical Branch at Galveston.
- Barberan, F. A. T., and Espin, J. C. (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 853-876.
- Basak, S., and Ramaswamy, H. S. (1996). Ultra high pressure treatment of orange juice: A kinetic study on inactivation of pectin methyl esterase. *Food Research International*, 29(7), 601-607.
- Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Berlinet, C., Brat, P. and Ducruet, V. (2008). quality of orange juice in barrier packaging material. *Packaging Technology and Science*, 21(5), 279-286.
- Brochier, B., Mercali, G. D., and Marczak, L. D. F. (2016). Influence of moderate electric field on inactivation kinetics of peroxidase and polyphenol oxidase and on phenolic compounds of sugarcane juice treated by ohmic heating. *LWT*, 74, 396-403.

- Carbonell, J. V., Navarro, J. L., Izquierdo, L., and Sentandreu, E. (2013). Influence of high pressure homogenization and pulp reduction on residual pectinmethylesterase activity, cloud stability and acceptability of Lane Late orange juice: A study to obtain high quality orange juice with extended shelf life. *Journal of Food Engineering*, 119, 696-700.
- Castillejo, N., Hernandez, G. B. M., Gomez, P. A., Artes, F., and Hernandez, F. A. (2016). Red fresh vegetables smoothies with extended shelf life as an innovative source of health-promoting compounds. *Journal of Food Science and Technology*, 53(3), 1475-1486.
- Chaaban, H., Ioannou, I., Chebil, L., Slimane, M., Gerardin, C., Paris, Cedric., Charbonnel, C., Chekir., and Ghoul, M. (2016). Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids. *Journal of Food Processing and Preservation*, 41(5).
- Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chem, J. (2002). Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10, 178-182.
- Chen, Y., Wang, H., Xu, Y., Wu, J., and Xiao, G. (2013). Effect of treatment with dimethyl dicarbonate on microorganisms and quality of Chinese cabbage. *Postharvest Biology and Technology*, 76, 139-144.
- Cheng, R. M., Churey, J. J., and Worobo, R. W. (2018). Inactivation of *Salmonella enterica* and spoilage microorganisms in orange juice treated with dimethyl dicarbonate (DMDC). *International Journal of Food Microbiology*, 152-157 (285).
- Christiaens, S., Mbong, V. B., Buggenhout, S. V., David, C. C., Hofkens, J., Van Loey, A. M., and Hendrickx, M. E. (2012). Influence of processing on the pectin structure-function relationship in broccoli purée. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 15, 57-65.
- COMAR. (2016). Plastic barrier properties comparison. [online]. source: <https://www.comar.com/wp-content/uploads/2016/09/0226-Plastic-Properties-Comparison-2.pdf>. [31 Mar 2020].

- Costa, A., Barata, A., Ferreira, M. M., and Loureiro, V. (2008). Evaluation of the inhibitory effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) against wine microorganisms. *Food Microbiology*, 25, 422-427.
- Dabbou, S., Gharbi, I., Dabbou, S., Brahmi, F., Nakbi, A., and Hammami, M. (2011). Impact of packaging material and storage time on olive oil quality. *African Journal of Biotechnology*, 10(74), 16937-16947.
- EFSA (European Food Safety Authority) . . (2015). Scientific opinion on the re-evaluation of dimethyl dicarbonate (DMDC, E242) as a food additive. *European Food Safety Authority Journal*, 13(12), 4319.
- Ertugay, M. F., and Başlar, M. (2014). The effect of ultrasonic treatments on cloudy quality-related quality parameters in apple juice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 26, 226-231.
- Giovanelli, G., and Brenna, O. V. (2007). Oxidative stability of red wine stored in packages with different oxygen permeability. *European Food Research and Technology*, 226, 169-179.
- Girija, B. G., Sailaja, R. R. N., and Madras, G. (2005). Thermal degradation and mechanical properties of PET blends. *Polymer Degradation and Stability*, 90, 147-153.
- Gomez, A. L., Chumillas, M. R., and Sanchez, Y. Y. B. (2010). packaging and the shelf life of orange juice. *Food Packaging and Shelf Life*, 179.
- Guo, H., Yu, Y., Xiao, G., Xu, Y., and Wu, J. (2015). Changes in quality attributes during storage of litchi juice treated with dimethyl dicarbonate (DMDC) and Nisin. *Journal of Food Research*, 81-91, 4(4).
- Junpatiw, A., Mitmungskorn, Y., and Montri, N. (2017). Effects of heat and storage treatments on the anthocyanin contents in selected purplevegetables. *KHON KAEN Agriculture Journal*, 45(1), 1278-1282.
- Keenan, D. F., Brunton, N. P., Gormley, T. R., Butler, F., Tiwari, B. K., and Patras, A. (2010). Effect of thermal and high hydrostatic pressure processing on antioxidant activity and colour of fruit smoothies. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 551-556.

- Kilima, B. M., Remberg, S. F., Chove, B. E., and Wicklund, T. (2014). Physiochemical and antioxidant properties of roselle-mango juice blends; effects of packaging material, storage temperature and time. *Food Science & Nutrition*, 3(2), 100-109.
- Kim, Y., Welt, B. A., and Talcott, S. T. (2011). The impact of packaging materials on the antioxidant phytochemical stability of aqueous infusions of green tea (*Camellia sinensis*) and yaupon holly (*Ilex vomitoria*) during cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, 4676-4683.
- Krochta, J. M. (2006). Food packaging. *Handbook of engineering*. CRC Press, 859-940.
- Laura, A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J., and Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. *Postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables*. Woodhead Publishing. 253-271.
- Lemmens, L., Tchuenche, E. S., Loey, A. M. V., and Hendrickx, M. E. (2013). Beta-carotene isomerization in mango puree as influenced by thermal processing and high-pressure homogenization. *European Food Research Technology*, 236, 155-163.
- Lopes, M. A., Totalles, R. P., and Rombaldi, C. V. (2013). Thermal inactivation of polyphenoloxidase and peroxidase in Jubileu clingstone peach and yeast isolated from its spoiled puree. *Food Science and Technology*, 34(1), 150-156.
- Matsui, K. N., Granado, L. M., de Oliveira, P. V., and Tadini, C. C. (2007). Peroxide and polyphenol oxidase thermal inactivation by microwaves in green coconut water simulated solutions. *Food Science and Technology*, 40, 852-859.
- Merck. (2020). 4-Hydroxybenzoic acid. [online]. source: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/substance/4hydroxybenzoicacid>. [31 March 2020].
- Mirhosseni, H., Tan, C. P., Aghlara, A., Hamid, N. S. A., Yusof, S., and Chern, B. H. (2008) Influence of pectin and CMC on physical stability, turbidity loss rate, cloudiness and flavor release of orange beverage emulsion during storage. *Carbohydrate Polymers*, 73, 83-91.
- Mizobutsi, G. P., Finger, F. L., Ribeiro, R. A., Puschmann, R., Melo Neve, L. L., and Mota, W. F. (2010). Effect of pH and temperature on peroxidase and

- polyphenoloxidase activities of litchi pericarp. *Science Agriculture*. 67(2), 213-217.
- Morales, F. J. (2008). Hydroxymethylfurfural (HMF) and related compounds. Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks. John Wiley & Sons, Inc, 135-174.
- Moreno, J., and Pernado, R. (2012). *Enological chemistry*. Academic Press.
- Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A. M., and Bôhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT-Food Science and Technology*, 43(6), 992-999.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). (2020). PubChem Database. Dimethyl dicarbonate. [online]. source: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dimethyl-dicarbonate>. [31 Mar 2020].
- Otarum, N., Moolmanee, S., and ChanCharoonpong, C. (2018). Effect of carbon sources and pH on growth of lactic acid bacteria isolated from fermented rice. *Agricultural Science Journal*, 49(2), 577-580.
- Ough, C. S. (1976). Ethylcarbamate in fermented beverages and foods. II. Possible formation of ethylcarbamate from diethyl dicarbonate addition to wine. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 24, 328-331.
- Pal, S., and Saha, C. (2014). A review on structure-affinity relationship of dietary flavonoids with serum albumins. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 32(7), 1132-1147.
- Porter, L. J., and Ough, C. S. (1982). The effect of ethanol, temperature and dimethyl dicarbonate on viability of *Saccharomyces cerevisiae* Montrachet No. 522 in wine. *American Journal of Enology and Viticulture*, 33, 222-225.
- Rodríguez-Veraestegui, L. L., Martínez-Hernandez, G. B., Castillejo, N., Gomez, P. A., Artes, F., and Artes-Hernandez, F. (2016). Bioactive compounds and enzymatic activity of red vegetable smoothies during storage, 9(1), 137-146.
- Ruxton, C. H. S., Gardner, E. J., and Walker, D. (2006). Can pure fruit and vegetable juices protect against cancer and cardiovascular disease too? A review of the evidence. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57, 249-272.

- Sankhla, S., and Chaturvedi, A. (2012). Preservation of sugarcane juice using hurdle technology. *Sugar Tech*, 14(1), 26-39.
- Santos, E. V., Martinez, A. O., Munizaga, G. T., Reyes, J. E., Won, M. P., Labarca, V. B., and Castro, J. M. (2012). Effect of high hydrostatic pressure (HHP) processing on physicochemical properties. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 13, 13-22.
- Safefood. (2009). Smoothies. Consumer knowledge, attitudes and beliefs around the nutritional content of smoothies. [online]. source: https://www.safefood.eu/SafeFood/media/SafeFoodLibrary/Documents/Publications/Research%20Reports/9354-Smoothies-AW_web-FINAL-030309.pdf. [31 March 2020].
- Serrano, I. O., and Fortuny, R. S. (2008). Phenolic acids, Xavonoids, vitamin C and antioxidant capacity of strawberry juices processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *The Journal European Food Research and Technology*, 228, 239-248.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-153.
- Soares, N. F. F., and Hotchkiss, J. H. (1999). Comparative effects of deaeration and package permeability on ascorbic acid loss in refrigerated orange juice. *Packaging Technology and Science*, 12(3), 111-118.
- Sogi, D. S., Siddiq, M., Roidoung, S., and Dolan, K. D. (2012). Total phenolics, carotenoids, ascorbic acid, and antioxidant properties of fresh-cut mango (*Mangifera indica* L., cv. Tommy Atkin) as affected by infrared heat treatment. *Journal of food science*, 77(11), 1197-1202.
- Staerck, C., Gastebois, A., Vandeputte, P., Calenda, A., Larcher, G., Gillmann, L., Papon, N., and Bouchara, J. P. (2017). Microbial antioxidant defense enzymes, *Microbial Pathogenesis*, 110, 56-65.
- Stewart, G.G. (2017). *Brewing and distilling yeasts*. Cham: Springer International Publishing.
- Tiwari U. (2018). Production of Fruit-Based Smoothies. *Fruit juices*, 261-278.

- Unluturk, S., and Atilgan, M. R. (2015). Microbial safety and shelf life of UV-C treated freshly squeezed white grape juice . *Journal of Food Science*, 80(8), 1831-1841.
- USFDA. (2001). Food additives permitted for direct addition to food for human consumption. Dimethyl dicarbonate. Federal Register, 66, 13653.
- Van Boekel, M. A. (2008). Kinetic modeling of reactions in foods. CRC Press.
- Vaclavik, V. A., and Christian, E. W. (2008). Essentials of food science. New York: Springer.
- WHO. (1991). WHO Food Additives Series 28. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants. [online]. source: <http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v28je01.htm> [18 September 2018].
- WHO. (2003). Diet, nutrition, and the prevention of chronic diseases: report of a joint WHO/FAO expert consultation. World Health Organization, 916.
- Wijeratnam, S. W. (2016). Passion Fruit. *Encyclopedia of Food and Health*, 2016, 230-234.
- Xing, Y., Li, X., Xu, Q., Jiang, Y., Yun, J., and Li, W. (2010). Effects of chitosan-based coating and modified atmosphere packaging (MAP) on browning and shelf life of fresh-cut lotus root (*Nelumbo nucifera* Gaerth). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 684-689.
- Yu, Y., Wu, J., Xiao, G., Xu, Y., Tang, D., Chen, Y., & Zhang, Y. (2013). Combined effect of dimethyl dicarbonate (DMDC) and nisin on indigenous microorganisms of litchi juice and its microbial shelf life. *Journal of Food Science*, 78(8), 1236-1241.
- Yu, Y., Wu, J., Xu, Y., Xiao, G., Zou, B. (2016). Effect of high pressure homogenization and dimethyl dicarbonate (DMDC) on microbial and physicochemical qualities of mulberry juice. *Journal of Food Science*, 81(3), 702-708.



ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ก.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams และคณะ (1995)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Eppendorf, BioSpectrometer basic, Germany)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS304S, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
2. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma Aldrich, USA)
3. Methanol (CH₃OH) (Fisher Scientific, UK)

วิธีการเตรียมสารละลาย DPPH

1. เตรียม stock solution โดยการชั่ง DPPH ปริมาณ 24 mg ละลายใน Methanol 50 mL จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ DPPH เท่ากับ 6×10^{-4} M ซึ่งสามารถเก็บสารละลาย DPPH ที่อุณหภูมิ 4 °C ได้ไม่เกิน 5 วัน
2. เตรียม daily solution โดยปิเปตสารละลาย DPPH ที่เตรียมจากข้อที่ 1 มา 10 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ DPPH เท่ากับ 1.0×10^{-4} M จากนั้นใช้ daily solution ในการวิเคราะห์โดยใช้ Methanol เป็นสารอ้างอิง (reference) เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0 จากนั้นจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงของ daily solution ($A_{initial}$) โดยควรมีค่าประมาณ 1.1 ถ้าหากค่าการดูดกลืนแสงมีค่ามากหรือน้อยกว่า 1.1 ให้ปรับค่า $A_{initial}$ ด้วย Methanol หรือสารละลาย DPPH จากข้อ 1 ตามลำดับ

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox

1. ชั่ง Trolox ปริมาณ 25 mg ละลายใน Methanol ปริมาตร 10 mL จากนั้นเทลงในขวด ปรับปริมาตรขนาด 10 mL และปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ Trolox เท่ากับ 1×10^4 M
2. เจือจางสารละลาย Trolox ความเข้มข้น 1×10^4 M ที่เตรียมจากข้อ 1 มาด้วย Methanol เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลาย Trolox ที่ความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1000 μ M ตามลำดับ

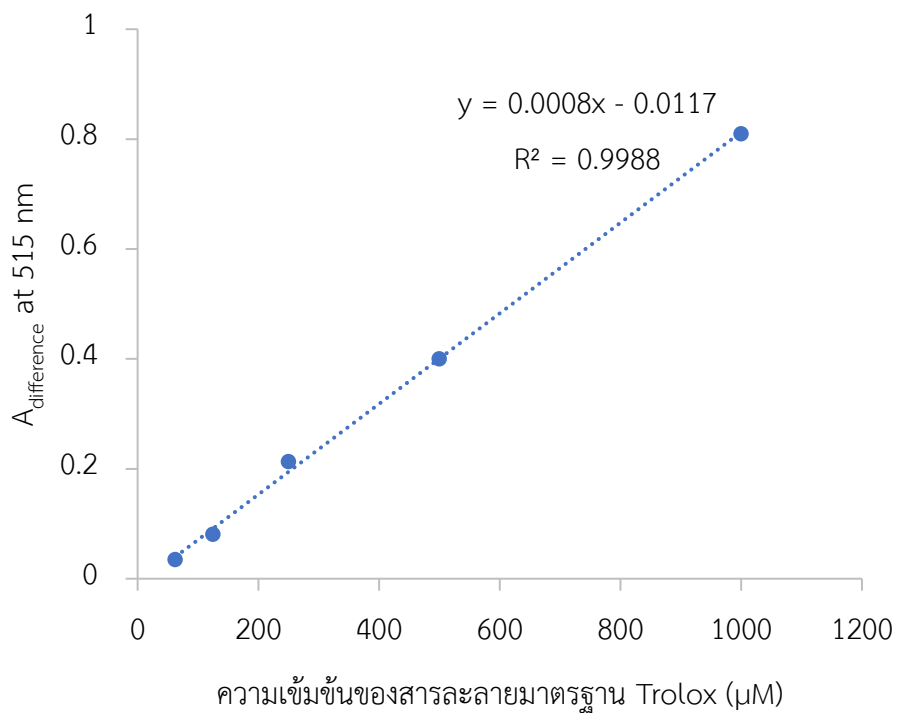
วิธีวิเคราะห์และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตตัวอย่าง (ในการสร้างกราฟมาตรฐานจะใช้สารละลาย Trolox แทนตัวอย่าง) ปริมาตร 0.5 mL ผสมกับสารละลาย 1.0×10^{-4} M DPPH ปริมาตร 1.5 mL โดยใช้เครื่อง vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้ Methanol เป็นสารอ้างอิงเพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0
3. หักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (A_{initial}) ซึ่งควรมีค่าการดูดกลืนแสงที่ประมาณ 1.1 ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) จะได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{\text{difference}}$) ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}}$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4. คำนวณฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH โดยใช้ค่า $A_{\text{difference}}$ ที่ได้จากตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ดังแสดงในรูปที่ ก.1



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay



ก.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain, (1996)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Eppendorf, BioSpectrometer basic, Germany)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS304S, Switzerland)

สารเคมี

1. 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)
2. Ferric chloride (POCH S.A., Poland)
3. Glacial acetic acid (A.R. grade, J.T. Baker Neutrasorb, USA)
4. Hydrochloric acid (HCl) (QReC, New Zealand)
5. Methanol (CH₃OH) (Fisher Scientific, UK)
6. Sodium acetate (CH₃COONa) (Ajax Finechem, New Zealand)
7. Tripyridyltriazine (TPTZ) (Himedia, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.04 M HCl

ปิเปต Glacial hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 4 mL ลงในน้ำกลั่น 6 mL จะได้สารละลาย Hydrochloric acid ความเข้มข้น 0.04 M

วิธีการเตรียมสารละลาย FRAP

1. เตรียมสารละลาย Acetate buffer ความเข้มข้น 0.3 M ปริมาตร 200 mL โดยละลาย Sodium acetate ปริมาณ 4.1 mg และ Glacial acetic acid ปริมาตร 3 mL ในน้ำกลั่น จากนั้นเทลงขวดปรับปริมาตรขนาด 200 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น และปรับค่า pH ให้เท่ากับ 3.6 โดยใช้สารละลาย NaOH หรือ HCl
2. เตรียมสารละลาย Ferric chloride ความเข้มข้น 0.02 M ปริมาตร 20 mL โดยละลาย Ferric chloride ปริมาณ 64.8 mg ในน้ำกลั่น จากนั้นเทลงขวดปรับปริมาตรขนาด 20 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. เตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 0.01 M ปริมาตร 20 mL โดยละลาย TPTZ ปริมาณ 62.5 mg ในสารละลาย 0.04 M HCl จากนั้นเทลงขวดปรับปริมาตร 20 mL และปรับปริมาตรด้วยสารละลาย 0.04 M HCl
4. เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสม acetate buffer ปริมาตร 200 mL, Ferric chloride ปริมาตร 20 mL, TPTZ ปริมาตร 20 mL และน้ำกลั่นปริมาตร 24 mL

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox

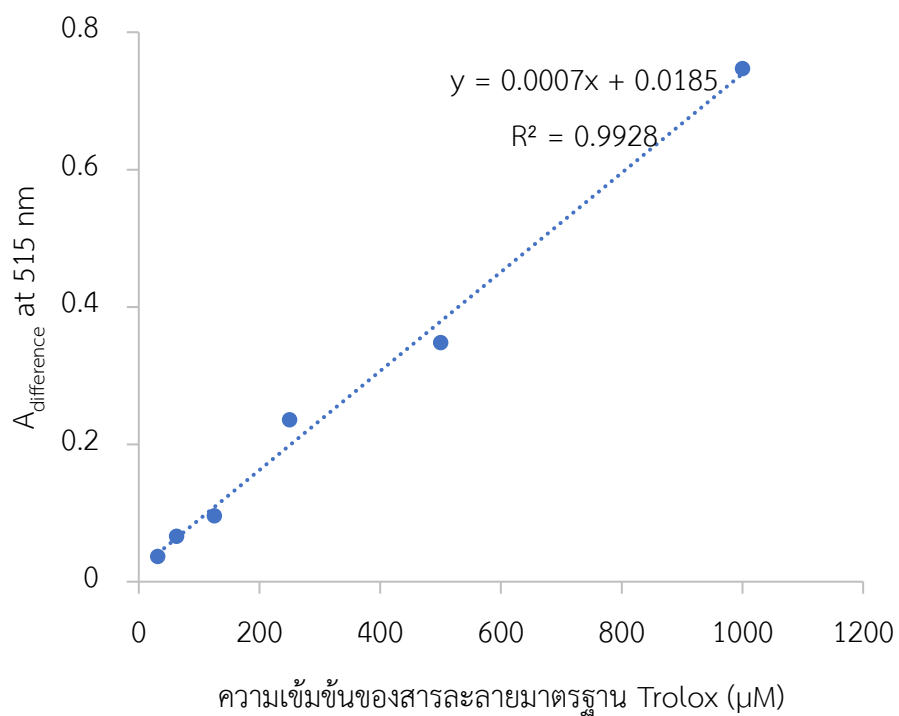
1. ชั่ง Trolox ปริมาณ 25 mg ละลายใน Methanol ปริมาตร 10 mL จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL และปรับปริมาตรด้วย Methanol จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ Trolox เท่ากับ 1×10^4 M
2. นำสารละลาย Trolox ความเข้มข้น 1×10^4 M ที่เตรียมจากข้อ 1 มาเจือจางด้วย Methanol เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารละลาย Trolox ที่ความเข้มข้น 31.25, 62.5, 125, 250, 500 และ 1000 μ M ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ให้ความร้อนสารละลาย FRAP มาที่อุณหภูมิ 37 °C ในอ่างให้ความร้อน จนได้สารละลายที่มีสีน้ำตาลอมแดง
2. ปิเปตตัวอย่าง (ใช้สารละลาย Trolox แทนตัวอย่างในการสร้างกราฟมาตรฐาน) ปริมาตร 150 μ L ผสมกับสารละลาย FRAP ปริมาตร 1.5 mL โดยใช้เครื่อง vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารอ้างอิงเพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0
4. หักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP (A_{initial}) ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) จะได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{\text{difference}}$) ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$A_{\text{difference}} = A_{\text{initial}} - A_{\text{final}}$$

5. คำนวณฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP โดยใช้ค่า $A_{\text{difference}}$ ที่ได้จากตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox ดังแสดงในรูปที่ ก.2



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay



ก.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดย Folin-Ciocalteu ตามวิธี Waterhouse (2002)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Eppendorf, BioSpectrometer basic, Germany)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, NewClassic MF, Switzerland)

สารเคมี

1. Gallic acid (Sigma Aldrich, USA)
2. Sodium carbonate (Na_2CO_3) (Daejung, Korea)
3. Folin-ciocalteu reagent (Merck, Germany)

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% (w/v) Sodium carbonate

ชั่ง Sodium carbonate ปริมาณ 10 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จากนั้นให้ความร้อนเพื่อให้สาร Sodium carbonate ละลายจนหมดและตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารละลาย Folin-ciocalteu ความเข้มข้น 10% (w/v)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

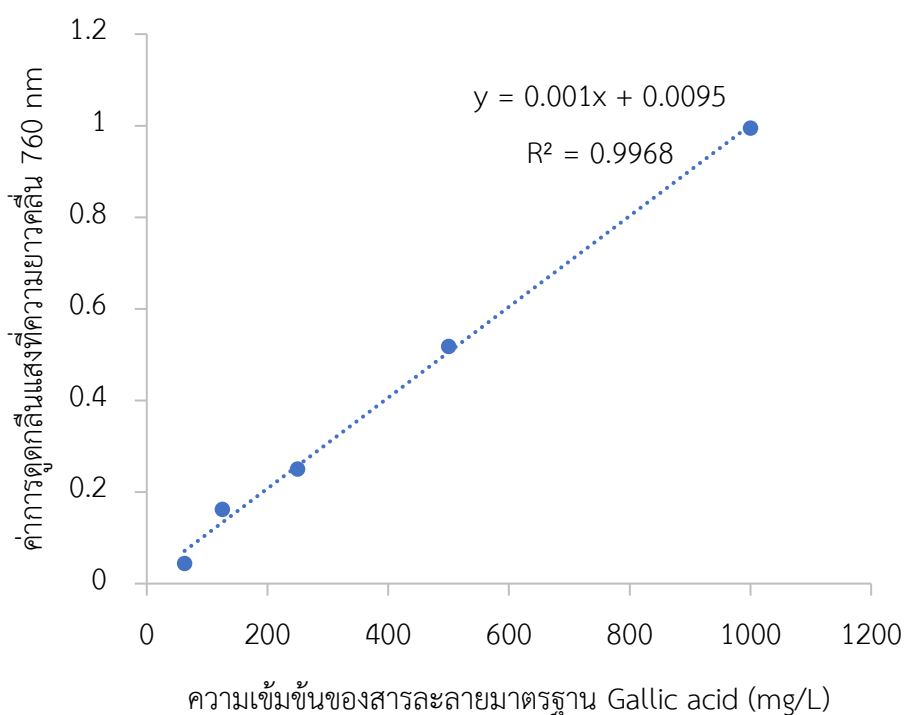
1. ชั่ง Gallic acid ปริมาณ 1 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL จากนั้นเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นของ Gallic acid เท่ากับ 10 g/L
2. นำสารละลาย Gallic acid ความเข้มข้น 10 g/L ที่เตรียมจากข้อ 1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid ที่ความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 mg/L ตามลำดับ

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% (v/v) Folin-ciocalteu

ปิเปตสาร Folin-ciocalteu ปริมาตร 1 mL ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL จะได้สารละลาย Folin-ciocalteu ความเข้มข้น 10% (v/v)

วิธีวิเคราะห์และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ปิเปตตัวอย่าง (ใช้สารละลาย Gallic acid แทนตัวอย่างในการสร้างกราฟมาตรฐาน) ปริมาตร 0.5 mL ผสมกับ 10% (v/v) Folin-ciocalteu ปริมาตร 0.5 mL และ 10% (w/v) Sodium carbonate ปริมาตร 2 mL
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 mL และผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 760 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารอ้างอิง เพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0
4. คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid ดังแสดงในรูปที่ ก.3



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดย Folin–Ciocalteu ตามวิธี Waterhouse (2002)

ก.4 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ตามวิธีของ Matsuthisakul, Suttajit และ Pongsawatmanit (2007)

อุปกรณ์และเครื่องมือ

1. เครื่อง UV-visible spectrophotometer (Eppendorf, BioSpectrometer basic, Germany)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, MS304S, Switzerland)

สารเคมี

1. Quercetin (Sigma Aldrich, USA)
2. Aluminum chloride (AlCl_3) (Ajax Finechem, New Zealand)
3. Potassium acetate ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$) (Ajax Finechem, New Zealand)
4. Methanol ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) (Fisher Scientific, UK)

วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน Quercetin

1. ชั่ง quercetin ปริมาณ 10 mg ละลายใน methanol ปริมาตร 10 mL แล้วเทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL และปรับปริมาตรด้วย methanol จะได้สารละลาย Quercetin ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 mg/mL
2. เจือจางสารละลาย quercetin ความเข้มข้น 1 mg/mL ที่เตรียมจากข้อ 1 ด้วย methanol เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย quercetin ที่มีความเข้มข้น 0.03125, 0.0625, 0.125, 0.25, 0.5 และ 1 mg/L ตามลำดับ

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% (w/v) aluminum chloride

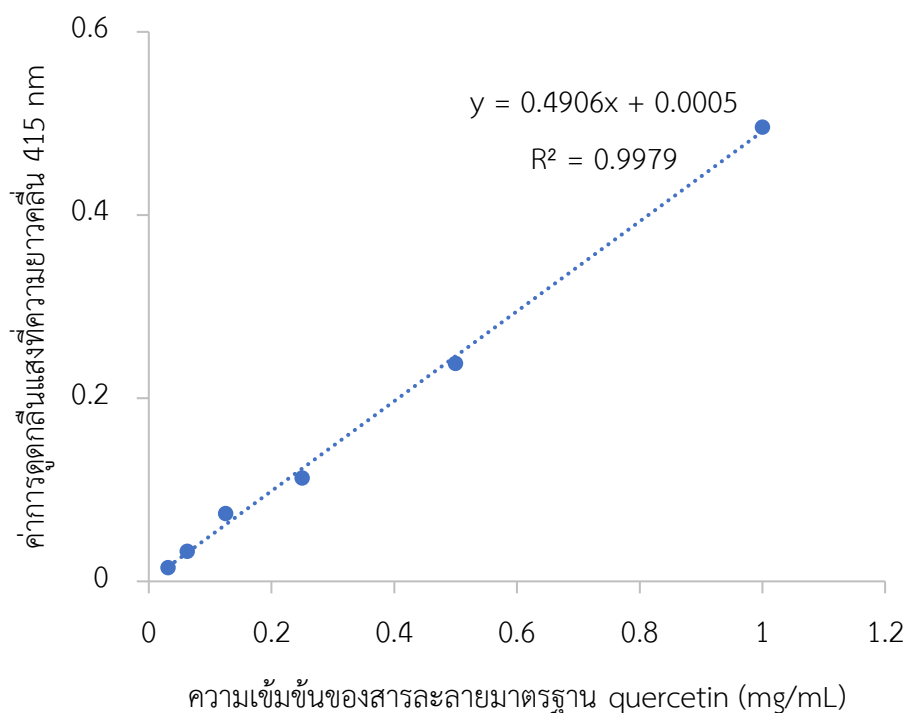
ชั่ง aluminum chloride ปริมาณ 1 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL จะได้สารละลาย aluminum chloride ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10% (w/v)

วิธีการเตรียมสารละลาย 1 M potassium acetate

ชั่ง potassium acetate ปริมาณ 0.9815 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 10 mL จะได้สารละลาย potassium acetate ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1 M

วิธีวิเคราะห์และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. เจือจางตัวอย่างโดยปิเปตตัวอย่างปริมาตร 1 mL ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 9 mL จะได้ตัวอย่างที่ความเข้มข้น 10% (v/v)
2. ปิเปตตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 (ใช้สารละลาย quercetin แทนตัวอย่างในการสร้างกราฟมาตรฐาน) ปริมาตร 0.5 mL ผสมกับ 10% aluminum chloride (w/v) ปริมาตร 0.1 mL, 1 M potassium acetate ปริมาตร 0.1 mL และ methanol ปริมาตร 1.5 mL
3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2.8 mL และผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 415 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารอ้างอิงเพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0
5. คำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยใช้ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง เปรียบเทียบกับสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลาย quercetin ดังแสดงในรูปที่ ก.4



รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ตามวิธีของ Matsuthisakul, Suttajit และ Pongsawatmanit (2007)

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

ข.1 ค่าสีของสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรส

วัดสีของตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสด้วยเครื่อง Chroma meter (Minolta, CR-400, Japan) ระบบ CIELAB และบันทึกค่า L^* , a^* และ b^* โดยการสอบเทียบเครื่อง (Calibration) ก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง

ค่า L^* หมายถึง ค่าความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0-100

0 แสดงถึงสีดำ

100 แสดงถึงสีขาว

ค่า a^* หมายถึง สีแดงและสีเขียว (redness และ greenness)

ค่าเป็น + แสดงถึงสีแดง

ค่าเป็น - แสดงถึงสีเขียว

ค่า b^* หมายถึง สีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness และ blueness)

ค่าเป็น + แสดงถึงสีเหลือง

ค่าเป็น - แสดงถึงสีน้ำเงิน

โดยค่าความต่างของสี (ΔE^*) ได้จากการคำนวณค่า L^* , a^* และ b^* ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$\Delta E^* = [(L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2]^{1/2}$$

โดยกำหนดให้ subscript 1 คือ ค่าสีเริ่มต้นของตัวอย่าง

subscript 2 คือ ค่าสีที่วัดได้ในแต่ละครั้งของตัวอย่าง

ข.2 ค่า pH

วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter Digital pH meter (Mettler Toledo, S220)

ข.3 ค่าเปอร์เซ็นต์กรดที่ได้

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.1 M sodium hydroxide

ซึ่ง sodium hydroxide ปริมาณ 0.19 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 mL จะได้สารละลาย sodium hydroxide ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.1 M

วิธีวิเคราะห์

เจือจางตัวอย่างที่มีปริมาตร 2 mL ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 mL จากนั้นเติม phenolphthalein ลงไป 2-3 หยด แล้วไทเทรตกับสารละลาย 0.1 M sodium hydroxide จนได้สารละลายสีชมพูอ่อนและบันทึกปริมาตรสารละลาย 0.1 M sodium hydroxide ที่ใช้ไป จากนั้นคำนวณหาปริมาณกรดในรูป %กรดซิตริก ดังแสดงในสมการต่อไปนี้

$$\%TA = \frac{V_1 \times 0.1 \text{ M NaOH} \times \text{Eq. wt.} \times 100}{V_2 \times 1000}$$

โดยกำหนดให้ V_1 คือ ปริมาตร 0.1 N NaOH (mL)
 Eq. wt. คือ น้ำหนักสมมูลของกรดซิตริก (64 mg/mEq)
 V_2 คือ ปริมาตรของตัวอย่าง (mL)

ข.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ด้วยเครื่อง Digital Refractometer (Hanna Instrument, 96801) ที่มีความสามารถในการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ในช่วง 0-32 °Brix

ข.5 ค่าสภาพแขวนลอยจากการตัดแปลงตามวิธีของ Mirhosseini และคณะ (2008)

เจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 2.5 ต่อ 1,000 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 660 nm โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นสารอ้างอิงเพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0 ซึ่งควรมีค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างอยู่ในช่วง 0.5-1.5 และรายงานผลเป็นค่าการดูดกลืนแสง (OD)

ข.6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase, PPO) จากการตัดแปลงตามวิธีการของ Matsui และคณะ (2008)

การเตรียมตัวอย่าง

เจือจางตัวอย่างโดยปิเปตตัวอย่าง 0.1 mL ผสมกับน้ำกลั่น 9.9 mL จะได้ตัวอย่างสมุทที่มะม่วงผสมเสาวรสที่อัตราส่วน 1 ต่อ 100

วิธีวิเคราะห์

1. ผสมสารละลาย 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.0) ปริมาตร 5.5 mL กับสารละลาย 0.2 M pyrocatechol ปริมาตร 1.5 mL โดยใช้เครื่อง vortex mixer จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 5 นาที และเติมตัวอย่างปริมาตร 1 mL
2. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 425 nm โดยใช้สารละลาย 0.2 M sodium phosphate buffer (pH 6.0) ปริมาตร 5.5 mL ผสมกับสารละลาย 0.2 M pyrocatechol ปริมาตร 1.5 mL เป็นสารอ้างอิงเพื่อปรับค่าการดูดกลืนแสงให้เท่ากับ 0
3. สร้างกราฟค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างโดยแกน x แสดงระยะเวลาการเก็บ (สัปดาห์) และแกน y แสดงค่ากิจกรรมที่หลงเหลือของเอนไซม์ PPO (%) ซึ่งคำนวณมาจากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{Residual activity of PPO} = A/A_0 \times 100$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

โดยกำหนดให้ A คือค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในแต่ละครั้งของตัวอย่าง

A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของตัวอย่างควบคุมในสัปดาห์ที่ 0

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์สมบัติทางชีวภาพ

ค.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดตามวิธีของ AOAC (1995)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
2. Plate count agar (Himedia, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) sodium chloride

ซึ่ง sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar

ซึ่ง plate count agar ปริมาณ 23.5 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสาร (Duran bottle) ปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

การวิเคราะห์

1. ตรวจสอบปริมาณ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสีในระดับที่เหมาะสมด้วย 0.85% (w/v) sodium chloride
2. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่หลอมละลายอยู่และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C ลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว
3. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี โดยรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ค.2 ปริมาณยีสต์และรตามวิธีของ AOAC (1995)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
2. Potato Dextrose Agar (Himedia, India)
3. Tartaric acid (QReC, New Zealand)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) sodium chloride

ชั่ง sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมสารละลาย 10% (w/v) tartaric acid

ชั่ง tartaric acid ปริมาณ 10 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย tartaric acid ความเข้มข้น 10% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar

ชั่ง Potato dextrose agar ปริมาณ 39 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C จึงผสมกับสารละลาย 10% (w/v) tartaric acid ในอัตราส่วน 1 ต่อ 100 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL และหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอจนทั่วและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

การวิเคราะห์

1. ตรวจนับปริมาณยีสต์และราด้วยเทคนิค spread plate โดยเจือจางตัวอย่างสมูทที่มะม่วงผสมเสาวรสีในระดับที่เหมาะสมด้วย 0.85% (w/v) sodium chloride
2. นำนีเป็ดตัวอย่างมา 0.1 mL และปล่อยลงลงไปบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar แล้วจึงใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวน้ำตัวอย่างสม่ำเสมอ
3. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี โดยรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ค.3 ปริมาณ *Escherichia coli* และ *coliforms* ตามวิธีการของ BAM (2001) ด้วยวิธี 3-tube MPN

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
2. EC broth (Himedia, India)
3. Eosin Methylene Blue (EMB) Agar (Himedia, India)
4. Lauryl Tryptose Broth (Himedia, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) sodium chloride

ซึ่ง sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Tryptose Broth

ซึ่ง Lauryl Tryptose Broth ปริมาณ 35.6 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth

ชั่ง Brilliant Green Lactose Bile Broth ปริมาณ 40 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth

ชั่ง EC broth ปริมาณ 37 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB agar

ชั่ง EMB agar ปริมาณ 35.96 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C จึงเทลงในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL และหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอจนทั่วและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA slant

ชั่ง Plate count agar ปริมาณ 23.5 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสาร (Duran bottle) ปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C จึงปิเปิดลงในหลอดทดลองหลอดละ 9 mL และปิดฝา เอียงหลอดทดลองลงและและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone broth

ชั่ง Tryptone broth ปริมาณ 15 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสาร (Duran bottle) ปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

การวิเคราะห์ด้วยวิธี 3-tube MPN

Presumptive test

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊ส (durham tube) วางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Tryptose Broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จิ้งคว่ำและหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส
2. เจือจางตัวอย่างสมมุติหิมะม่วงผสมเสาวรสให้มีระดับความเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} ด้วย 0.85% (w/v) Sodium chloride จากนั้นให้ทำ 3-tube MPN
3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางจากข้อที่ 2 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Lauryl Tryptose Broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ความเจือจางละ 3 หลอด รวมเป็น 9 หลอด ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 24-48 ชั่วโมง
4. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สและบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวก (positive) และหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ (negative) จากนั้นนำผลการทดลองเปรียบเทียบกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น presumptive *coliforms* แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง จากนั้นให้นำหลอดทดลองที่ให้ผลเป็นบวกไปทดสอบในขั้นต่อไป

Confirmed test สำหรับเชื้อ coliforms

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊สวางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จิ้งคว่ำและหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส
2. ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองในขั้น presumptive test ที่ให้ผลเป็นบวกลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Brilliant Green Lactose Bile Broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง
3. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สและบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวกและหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ จากนั้นนำผลการทดลองเปรียบเทียบกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed *coliforms* แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ด้วยวิธี 3-tube MPN ที่ตัวอย่างความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} เพื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองและแสดงผลเป็น MPN/mL ที่ค่าความเชื่อมั่น 95%

Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.	
10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Low	High	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}		Low	High
0	0	0	<3.0	--	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	<1100	420	--

ที่มา : BAM, 2001

Confirmed test สำหรับเชื้อ *fecal coliforms* and *E. coli*

1. เตรียมหลอดทดลองโดยมีหลอดดักแก๊สวางคว่ำอยู่ภายใน จากนั้นปิเปตอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ลงในหลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 9 mL ปิดฝา จึงคว่ำและหงายหลอดทดลองเพื่อไม่ให้มีฟองอากาศเหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส
2. ถ่ายเชื้อจากหลอดทดลองในขั้น presumptive test ที่ให้ผลเป็นบวกลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่เตรียมจากข้อที่ 1 ผสมโดยใช้เครื่อง vortex mixer (ฟองอากาศต้องไม่เหลืออยู่ภายในหลอดดักแก๊ส) และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง
3. คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊สและบันทึกผล โดยหลอดที่เกิดแก๊สให้ผลเป็นบวกและหลอดที่ไม่เกิดแก๊สให้ผลเป็นลบ จากนั้นนำผลการทดลองเปรียบเทียบกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed *fecal coliforms* แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

Completed test สำหรับเชื้อ *E. coli*

1. ใช้ loop ถ่ายเชื้อจากหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth ที่เกิดแก๊สจากข้อที่ 3 มา streak บนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ EMB-agar และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หากตรวจพบโคโลนีของเชื้อที่มีลักษณะเป็นสีม่วงหรือดำ หรือมีลักษณะมันวาวคล้ายโลหะ (Metallic sheen) ให้เลือกโคโลนีดังกล่าวมา streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA Slant และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีต่อไป
2. ใส่เชื้อใน PCA slant จากข้อที่ 1 ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ Tryptone broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นหยดสาร Kovac's reagent ปริมาตร 0.2-0.3 mL โดยหลอดที่เกิดวงแหวนสีแดงให้ผลเป็นบวกและหลอดที่ไม่เกิดให้ผลเป็นลบ จากนั้นเปรียบเทียบผลการทดลองกับตารางที่ ค.1 โดยค่าที่ได้เป็น confirmed *E. coli* แสดงผลเป็น MPN/mL ของตัวอย่าง

ค.4 ปริมาณ *E. coli* ตามวิธีการของ BAM (2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
2. EC agar (Himedia, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) Sodium chloride

ชั่ง Sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย Sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ EC broth

ชั่ง EC broth ปริมาณ 37 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

การวิเคราะห์

1. ตรวจนับปริมาณ *E. coli* ด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมมุติที่มัวงผสมเสาวรสีในระดับที่เหมาะสมด้วย 0.85% (w/v) sodium chloride
2. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ EC agar ที่หลอมละลายอยู่และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C ลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว
3. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี โดยรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ค.5 ปริมาณ *S. aureus* ตามวิธีการของ BAM (2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. Sodium chloride (NaCl) (Loba Chemie, India)
2. Baird-parker agar (Himedia, India)
3. Egg yolk tellurite emulsion (Himedia, India)

วิธีการเตรียมสารละลาย 0.85% (w/v) Sodium chloride

ชั่ง Sodium chloride ปริมาณ 0.85 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 100 mL จะได้สารละลาย Sodium chloride ความเข้มข้น 0.85% (w/v) จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-parker agar

ชั่ง Baird-parker agar ปริมาณ 63 g ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 950 mL และบรรจุในขวดเก็บสารปิดฝา จากนั้นฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลานาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 50 °C และผสมกับ Egg yolk tellurite emulsion ปริมาตร 50 mL

การวิเคราะห์

1. ตรวจนับปริมาณ *S. aureus* ด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมมุติที่มะม่วงผสมเสาวรสีในระดับที่เหมาะสมด้วย 0.85% (w/v) sodium chloride
2. ปิเปตตัวอย่าง 1 mL ลงในจานเพาะเชื้อ แล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อ Baird-parker agar ที่หลอมละลายอยู่และตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงถึง 45 °C ลงไปบนตัวอย่างในจานเพาะเชื้อปริมาตรจานละ 15-20 mL จากนั้นหมุนจานเพาะเชื้อเพื่อให้อาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับตัวอย่างกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอและตั้งทิ้งไว้ให้อาหารแข็งตัว
3. บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นภายในช่วง 25-250 โคโลนี โดยรายงานค่าเป็น colony forming units/mL (CFU/mL)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นทีกานต์ รุ่งโรจน์
วัน เดือน ปี เกิด	26 มีนาคม 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต จากสาขาจุลชีววิทยา อุตสาหกรรม คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ ทหารลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2558 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยา ศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2560
ที่อยู่ปัจจุบัน	10/403 หมู่ 8 ซอยแบริ่ง 58 ถนนสุขุมวิท 107 ตำบลสำโรงเหนือ อำเภอ เมือง จังหวัดสมุทรปราการ 10270
ผลงานตีพิมพ์	ตีพิมพ์วารสารผลงานวิจัยในหัวข้อ ผลของไดเมทิลไดคาร์บอเนตต่อการ ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และคุณภาพของสมูทตี้มะม่วงผสมเสาวรส (Effect of Dimethyl Dicarboxate on Microbial Degradation and Quality of Mixed Mango and Passion Fruit Smoothie) ในวารสาร เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2562