ผลของไดเมทิลไดคาร์บอเนตต่อการการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และคุณภาพของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส
Effect of Dimethyl Dicarbonate on Microbial Degradation and Quality of Mixed Mango and Passion Fruit Smoothie

นทีกานต์ รุ่งโรจน์[1,2] ธนจันทร์ มหาวนิช[1,2] และ กิติพงศ์ อัศตรกุล[1,2*]
Nateekarn Rungroj[1,2] Thanachan Mahawanich[1,2] and Kitipong Assatarakul[1,2*]

Received: June 4, 2019
Revised: August 1, 2019
Accepted: August 13, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไดเมทิลไดคาร์บอเนตหรือ DMDC (0-250 ppm) ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (จุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ยีสต์และรา *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) ของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของ DMDC ด้วยจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (zero-order kinetic) และอันดับหนึ่ง (first-order kinetic) และศึกษาผลของ DMDC ต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส ดังนี้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH), ปริมาณกรดทั้งหมด (%TA), ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) และค่าสี (L^*, a^* และ b^*) จากผลการทดลองพบว่าการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลองเป็นไปตามจลนพลศาสตร์อันดับที่หนึ่ง เนื่องจากค่า correlation coefficient (R^2) จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมีค่าสูงกว่าค่า R^2 จากจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิด โดยค่า R^2 จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ยีสต์และรา *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 มีค่าเท่ากับ 0.9496, 0.9333, 0.9582 และ 0.9389 ตามลำดับ ในขณะที่ค่า rate constant (k) ซึ่งแสดงถึงค่าคงที่ของการลดลงของจุลินทรีย์ มีค่าระหว่าง 0.0201 – 0.404 ของจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง นอกจากนี้ DMDC สามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด เนื่องจากมีค่า k จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งสูงที่สุด (0.4040) และ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดจำนวน *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ลงประมาณ 4 log เมื่อพิจารณาถึงสมบัติทางเคมีและกายภาพพบว่า DMDC ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด และค่าสี ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คำสำคัญ: ไดเมทิลไดคาร์บอเนต การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ สมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส จลนพลศาสตร์

ABSTRACT

The aims of this research were to study the effect of dimethyl dicarbonate or DMDC (0-250 ppm) on microbial degradation (total plate count, yeast and mold, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923) and chemical and physical properties including pH, total acid (%citric acid), total soluble solid (°Brix) and color (L^*, a^* and b^*) of mixed mango and passion fruit smoothie. Graph plotting between microbial population and DMDC concentration according to the zero-order and first-order kinetic model were performed. Results showed that the microbial degradation by DMDC of all tested microorganisms followed first-order kinetic model because correlation coefficient (R^2) from first-order kinetic model was higher than those of zero-order kinetic model. R^2 from first-order kinetic model of total plate count, yeast and mold, *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923 were 0.9496, 0.9333, 0.9582 and 0.9389, respectively. Rate constants (k), a constant of microbial degradation of first-order kinetic model, were between 0.0201 – 0.4040. Moreover, *S. aureus* ATCC 25923 was the most sensitive microorganisms to DMDC since it had the highest k value from first-order kinetic model (0.4040). In addition, DMDC at 250 ppm inhibited *E. coli* and *S. aureus* approximately 4 log-reduction. When considering chemical and physical properties, it was found that DMDC did not significantly affect pH, total acidity, total soluble solids and color values ($p>0.05$).

Keywords: dimethyl dicarbonate, microbial degradation, mixed mango and passion fruit smoothie, kinetic model.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

บทนำ

ปัจจุบันคนไทยให้ความสนใจในการบริโภคผักผลไม้เพิ่มมากขึ้น จากรายงานการสำรวจสุขภาพประชาชนไทย ปี พ.ศ. 2557 พบว่า ประชากรไทยอายุ 15 ปีขึ้นไป มีการบริโภคผักผลไม้มากขึ้นจากปี พ.ศ. 2552 โดยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 17.7 เป็นร้อยละ 25.9 หรือเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 8.2 ภายในระยะเวลา 5 ปี [1] นอกจากนี้จากข้อมูลการสำรวจกลุ่มผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้พร้อมดื่มในประเทศไทยพบว่าในปี พ.ศ. 2557 มีมูลค่าสูงถึง 14,119 ล้านบาท และมีอัตราการขยายตัวเฉลี่ยร้อยละ 8.7 ต่อปี [2] ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นและสอดคล้องกับข้อมูลการบริโภคผักผลไม้ของประชากรไทย อันเนื่องมาจากกระแสนิยมในเรื่องดูแลสุขภาพร่างกาย ซึ่งหนึ่งในวิธีการดูแลสุขภาพร่างกายให้แข็งแรงคือการรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ อาทิเช่นผักและผลไม้ เพื่อให้ได้รับสารอาหารและคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายเพียงพอต่อความต้องการในแต่ละวัน ทำให้การบริโภคกลุ่มผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้พร้อมดื่มเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้พร้อมดื่มที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบันคือ “สมูทตี” ซึ่งผลิตมาจากผักและผลไม้ที่เป็นวัตถุดิบหลักและผสมกันจนเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้ง่ายต่อการบริโภค ทั้งยังได้รับคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกันกับการบริโภคผักและผลไม้สด ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตและการเลือกใช้วัตถุดิบที่นำมาผสมกัน [3] มะม่วงในประเทศไทยนั้นมีหลากหลายสายพันธุ์ แต่สายพันธุ์ที่นิยมใช้ในการผลิตสมูทตีคือมะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง ซึ่งสามารถบริโภคได้เมื่อสุกแล้ว มีเปลือกเป็นสีเหลืองนวล เนื้อด้านในเป็นสีเหลืองเข้ม รสชาติมีความหวานหอม เป็นที่นิยมมากทั้งในและต่างประเทศ จากข้อมูลมูลค่าการส่งออกสินค้าของไทย [4] พบว่าการส่งออกของมะม่วงสดมีมูลค่ามากถึง 2,000 ล้านบาทในปี พ.ศ. 2561 นอกจากความอร่อย มะม่วงยังอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ อาทิเช่น วิตามินซี (ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น [5] เช่นเดียวกับเสาวรสที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่คล้ายคลึงกันแต่มีปริมาณของวิตามินซีและสารประกอบฟีนอลิกที่สูงกว่า [6] เสาวรสเมื่อสุกแล้วจะมีเปลือกสีม่วง เนื้อด้านในมีสีส้ม มีเมล็ดอยู่มากในบริเวณเนื้อ สามารถรับประทานได้พร้อมกับเมล็ด เนื่องด้วยรสชาติที่เปรี้ยวมากจึงนิยมผสมเสาวรสรวมกับผลไม้อื่น หรือแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นเพื่อให้บริโภคได้ง่ายขึ้น

กระบวนการผลิตสมูทตีโดยทั่วไปแล้วจะใช้กระบวนการให้ความร้อนเพื่อยืดอายุการเก็บเนื่องจากสามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียของสมูทตี ยังรวมไปถึงการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 356 พ.ศ. 2556 [7] พบว่า *E. coli* เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญที่ต้องควบคุมและต้องตรวจไม่พบในน้ำผักและผลไม้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนและสัตว์เลือดอุ่น และมีปริมาณมากหากเทียบกับจุลินทรีย์ก่อโรคอื่น หากตรวจพบในผลิตภัณฑ์อาหารจึงมีความเป็นไปได้สูงว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญอื่นที่มาจากลำไส้คนและสัตว์อีกหลายชนิด จึงใช้ *E. coli* เป็นดัชนีเชื่อมโยงกับความปลอดภัยในอาหาร จุลินทรีย์ก่อโรคสำคัญอีกชนิดหนึ่งที่มักนิยมพบในการปนเปื้อนของน้ำผักและผลไม้เป็นอันดับที่สองคือ *S. aureus* ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากการไอและจามลงไปในอาหารระหว่างกระบวนการผลิต และยังสามารถสร้างสารพิษที่เรียกว่า enterotoxins ซึ่งเป็นสาเหตุโรคอาหารเป็นพิษที่มีอาการคลื่นไส้ อาเจียน และท้องร่วง [8, 9] อย่างไรก็ตามกระบวนการให้ความร้อนส่งผลให้คุณภาพด้านต่างๆ ของสมูทตีเปลี่ยนแปลงไป [10] ดังนั้นจึงมีการค้นคว้าวิจัยกระบวนการผลิตอื่นที่จะสามารถนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บและคงไว้ซึ่งสมบัติเดิมของสมูทตีไว้ให้ได้มากที่สุด

ไดเมทิลไดคาร์บอเนต (dimethyl dicarbonate; DMDC) เป็นของเหลวไร้สี มีกลิ่นฉุนเล็กน้อย มีความสามารถในการละลายในน้ำได้และจะถูกย่อยสลาย (hydrolyze) กลายเป็นเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (carbon dioxide) และเมทานอล (methanol) ได้อย่างสมบูรณ์หากไม่ได้ทำปฏิกิริยา โดยทั่วไปใช้ DMDC เป็นวัตถุเจือปนอาหารในอุตสาหกรรมการผลิตไวน์เพื่อเป็นสารยับยั้งการเจริญ

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

ของยีสต์ที่ใช้ในกระบวนการหมักไวน์ จากการศึกษาพบว่าการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 100 ppm ลงในไวน์กึ่งหวาน (semi-sweet wine) ที่ pH 3.6 พบว่า ไม่มีการเจริญของยีสต์หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน [11] ในปัจจุบันจึงมีการประยุกต์ใช้ DMDC ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม อาทิเช่น น้ำผลไม้ น้ำชา เครื่องดื่มให้พลังงาน (energy drink) หรือเครื่องดื่มแต่งกลิ่นรส เป็นต้น เพื่อยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ให้นานขึ้น โดยพบว่าการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 200 ppm ลงในน้ำส้มสามารถลดจำนวน *Salmonella enterica* ลงไปได้มากกว่า 5 log CFU/mL เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิเย็น (4 องศาเซลเซียส) นอกจากนี้เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง ยังสามารถลดปริมาณยีสต์และราลงไปได้ประมาณ 4 log CFU/mL อีกด้วย [12] อย่างไรก็ตาม United States Food and Drug Administration (USFDA) ได้กำหนดความเข้มข้นสูงสุดของการใช้ DMDC ในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้พร้อมดื่มได้ไม่เกิน 250 ppm [13] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และคุณภาพของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส โดยคาดหวังว่าจะได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุการเก็บของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสให้นานขึ้น

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. วัตถุดิบ

มะม่วงสุก (M) และเสาวรสสุก (PS) ซื้อจากร้านค้าปลีก ในจังหวัดกรุงเทพมหานคร

2. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

ได้รับความอนุเคราะห์ *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (Pathum Thani, Thailand) โดยการนำเชื้อโคโลนีเดี่ยว (single colony) ที่ได้จากการคัดแยกด้วยเทคนิคการขีดเชื้อในจานเพาะเชื้อ (streak plate) บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (nutrient agar, NA) นำไปเพาะในขวด Erlenmeyer flask ขนาด 250 mL ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (nutrient broth, NB) ปริมาตร 100 mL จากนั้นบ่มในตู้บ่มเพาะเชื้อแบบเขย่า (shaker incubator) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 200 rpm เป็นเวลา 12 - 16 ชั่วโมง

3. การเตรียมสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส

ล้างมะม่วงและเสาวรสด้วยสารละลาย sodium hypochlorite ความเข้มข้น 200 ppm และล้างด้วยน้ำกลั่นก่อนผึ่งให้แห้ง จากนั้นปั่นผสมเนื้อของผลมะม่วงสุกด้วยเครื่องปั่นผสม (Tefal BL3101, China) เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นจึงผสมกับส่วนเนื้อและเมล็ดของผลเสาวรสสุกที่อัตราส่วน 60:40 v/v (มะม่วง:เสาวรส) ด้วยเครื่องผสม (KitchenAid 5KPM5, USA) เป็นเวลา 3 นาที จึงได้สมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส

4. การเตรียมตัวอย่าง

แบ่งตัวอย่างสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสออกเป็น 4 ส่วน ส่วนแรกและส่วนที่สอง เติมเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ลงไปในตัวอย่างตามลำดับ โดยให้ตัวอย่างมีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ 10^6 CFU/mL ในขณะที่บ่มส่วนที่สามและส่วนที่สี่ ไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 24 ชั่วโมง จนกระทั่งปริมาณของจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราไม่น้อยกว่าประมาณ 10^4 CFU/mL ตามลำดับ จากนั้นบรรจุลงในภาชนะบรรจุปิดฝา (polystyrene, 50 mL) แล้วจึงนำไปวิเคราะห์ผลการทดลองต่อไป

5. การศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

เติม DMDC (Lanxess, Germany) ลงในตัวอย่างสมูทตีมะม่วงเสาวรสที่เตรียมไว้จากข้อ 4 ทั้ง 4 ส่วน จนตัวอย่างมีความเข้มข้น DMDC สุดท้ายเท่ากับ 50 100 150 200 และ 250 ppm ตามลำดับ และตัวอย่างที่ไม่เติม DMDC (0 ppm) เป็นตัวอย่างควบคุมในแต่ละส่วน เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

- วิเคราะห์ปริมาณ *E. coli* ATCC 25922 ด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมูทตีมะม่วง

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

ผสมเสาวรสส่วนแรกด้วยสารละลายน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 (w/v) ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วใส่จานเพาะเชื้อจานละ 1 mL ระดับความเจือจางละ 2 จาน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MacConkey agar (MCA; Himedia, India) ที่หลอมเหลวแล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 12-15 mL ลงจานเพาะเชื้อผสมให้เข้ากัน รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อให้อาหารอยู่ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยแสดงผลในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL) [14]

- วิเคราะห์ปริมาณ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมูทตีมะม่วงผสมเสารสส่วนที่สอง ด้วยสารละลายน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 (w/v) ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 1 mL ระดับความเจือจางละ 2 จาน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ mannitol salt agar (MSA; Himedia, India) ที่หลอมเหลวแล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 12 - 15 mL ลงจานเพาะเชื้อผสมให้เข้ากัน รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อให้อาหารอยู่ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยแสดงผลในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL) [14]

- วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมด (total plate count) ด้วยเทคนิค pour plate โดยเจือจางตัวอย่างสมูทตีมะม่วงผสมเสารสส่วนที่สามด้วยสารละลายน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 (w/v) ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 1 mL ระดับความเจือจางละ 2 จาน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA; Himedia, India) ที่หลอมเหลวแล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 12-15 mL ลงจานเพาะเชื้อผสมให้เข้ากัน รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว กลับจานเพาะเชื้อให้อาหารอยู่ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยแสดงผลในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL) [15]

- วิเคราะห์ปริมาณของยีสต์และรา (yeast and mold) ด้วยเทคนิค spread plate โดยเทอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA; Himedia, India) ที่ปรับค่า pH เป็น 4.5 ที่หลอมเหลวแล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 12-15 mL รอจนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว จากนั้นเจือจางตัวอย่างสมูทตีมะม่วงผสมเสารสส่วนที่สี่ด้วยสารละลายน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 (w/v) ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสม แล้วปิเปตตัวอย่างที่เจือจางแล้วแต่ละระดับใส่จานอาหารเลี้ยงเชื้อจานละ 0.1 mL ระดับความเจือจางละ 2 จาน แล้วใช้แท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมที่ผ่านการเผาไฟแล้วเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่วผิวหน้า บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และนับจำนวนจุลินทรีย์ โดยแสดงผลในหน่วย colony forming unit/mL (CFU/mL) [15]

6. การศึกษาสมการจลนพลศาสตร์การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จากผลของ DMDC

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของ DMDC จากข้อมูลจากข้อ 5 ตามสมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (zero-order kinetic) และสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง (first-order kinetic) ดังต่อไปนี้

Zero-order kinetic model : $[N] - [N_0]^{-kc}$ (1)

First-order kinetic model : $[N] - [N_0]e^{-kc}$ (2)

โดยกำหนดให้ N_0 คือจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น, N คือจำนวนจุลินทรีย์, k คือค่าคงที่และ c คือความเข้มข้นของ DMDC (ppm) จากนั้นคำนวณค่า rate constant (k) และ correlation coefficient (R^2) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์และความเข้มข้นของ DMDC โดยค่า k คือ ค่าคงที่ของความชันจากสมการเส้นตรงที่ได้ ซึ่งแสดงถึงค่าคงที่ของการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ในขณะที่ค่า R^2 คือ ค่าที่ได้จากการคำนวณสมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

model) ซึ่งหมายถึงการคำนวณระยะห่างระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองเปรียบเทียบกับค่าที่คำนวณได้จากสมการเพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดว่าสมการเส้นตรงนั้นมีความสมรูปกับข้อมูลมากน้อยเพียงใด

7. การศึกษาผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพและเคมี

เติม DMDC (Lanxess, Germany) ลงในตัวอย่างสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส (ที่ไม่ผ่านการบ่มและไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์) โดยให้ความเข้มข้น DMDC สุดท้าย ในตัวอย่างมีค่าเท่ากับ 50 100 150 200 และ 250 ppm โดยให้ตัวอย่างที่ไม่เติม DMDC (0 ppm) เป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วจึงติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางกายภาพและเคมีดังนี้

- วิเคราะห์ค่าสี (L^*, a^* และ b^*) ด้วยระบบ CIELAB ด้วยเครื่อง colorimeter (Minolta CR400, Japan)

- วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ด้วยเครื่อง digital refractometer (Hanna Instrument 96801, USA)

- วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่าง ด้วยเครื่อง digital pH meter (Mettler Toledo, Switzerland)

- วิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นกรดที่ได้ด้วยการไตเตรตกับ 0.1 N NaOH โดยคำนวณปริมาณร้อยละของ citric acid จากสมการ

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

โดยกำหนดให้ V_1 คือปริมาตร 0.1 N NaOH (mL), Eq.wt. คือ น้ำหนักสมมูลของกรดซิตริก (64 mg/mEq) และ V_2 = ปริมาตรของตัวอย่าง (mL) [15]

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ (3 replications) จากนั้นวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างข้อมูลโดยการวิเคราะห์ผ่านค่าความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 (Statistical Package for Social Sciences) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Tukey's (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส

Figure 1 แสดงผลของ DMDC ต่อปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส หลังจากการเติม DMDC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองพบว่าจำนวนของจุลินทรีย์ทุกชนิดมีแนวโน้มลดลงเมื่อปริมาณความเข้มข้นของ DMDC เพิ่มสูงขึ้น โดยปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 มีค่าประมาณ 5.4, 5.0, 7.4 และ 5.8 log CFU/mL ตามลำดับ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด, ยีสต์และรา, *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ลงประมาณ 2.0, 3.3, 3.7 และ 3.8 log CFU/mL ตามลำดับ ในขณะที่ DMDC ที่ความเข้มข้น 50 ppm สามารถลดจำนวนจุลินทรีย์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ยีสต์และรา *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ลงประมาณ 0.2, 0.3, 0.8 และ 0.3 CFU/mL ตามลำดับ โดยการลดลงของ *S. aureus* ATCC 25923 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) [16] ที่ศึกษาผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำส้มแมนดารินคั้นสด และพบว่า DMDC ที่ความเข้ม 250 ppm สามารถลดจำนวนของ *E. coli* O157:H7 และ *S. aureus* ลงได้ประมาณ 5 และ 1 log CFU/mL ตามลำดับ หลังจากเติม DMDC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

นอกจากนี้จากการศึกษาการเติม DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ในน้ำแอปเปิ้ลใส พบว่า DMDC สามารถลดจำนวน *E. coli* STCC 4201 ประมาณ 3 log CFU/mL หลังจากเติมไปแล้ว 20 ชั่วโมง ได้เช่นกัน [17]

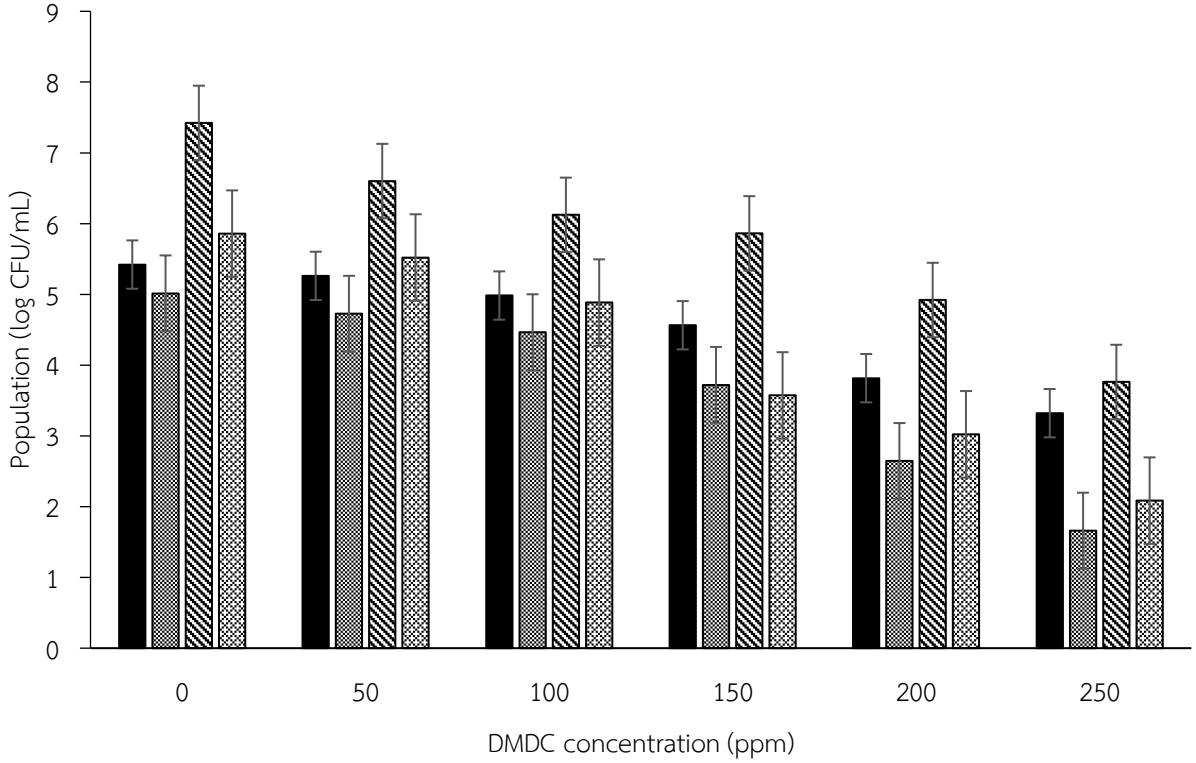

Figure 1 Total plate count (■), yeast and mold (▩), *E. coli* (▧) and *S. aureus* (▩) treated with DMDC at 4 °C in mixed mango and passion fruit smoothie

ไดเมทิลไดคาร์บอเนต (DMDC) เป็นวัตถุเจือปนอาหารที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดย DMDC สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เข้าไปภายในเซลล์ จากนั้นจึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีหมู่ฮิสทิดีน (histidine) ที่อยู่ในโครงสร้างของโมเลกุล โดยมีเอนไซม์สำคัญ คือ แอซิเตตไคเนส (acetate kinase) ซึ่งมีส่วนสำคัญต่อกระบวนการสร้างพลังงานให้แก่เซลล์ ดังนั้นเมื่อเอนไซม์ถูกยับยั้งการทำงาน ระบบภายในเซลล์จึงทำงานผิดปกติ ส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด [18] ปัจจุบันสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ได้อนุญาตให้ใช้ไดเมทิลไดคาร์บอเนตในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) [19]

การศึกษาสมการจลนพลศาสตร์มีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นหนึ่งในเครื่องมือที่สามารถใช้ในการคาดการณ์ผลการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพที่จะเกิดขึ้นต่ออาหาร ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อการยอมรับของผู้บริโภค โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้ใช้สมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่งซึ่งเป็นวิธีการที่ใช้โดยทั่วไปในการศึกษาการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหาร [20] เพื่ออธิบายผลของ DMDC ต่อการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ในสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส

Figure 2 แสดงกราฟการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ยีสต์และรา *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 ด้วย DMDC โดยแกน y ปฐมภูมิ (primary y axis) แสดงค่าปริมาณจุลินทรีย์

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

(CFU/mL) ตามสมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ และแกน y ทุติยภูมิ (secondary y axis) แสดงค่าปริมาณจุลินทรีย์ (Ln CFU/mL) ตามสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง จากผลการทดลองพบว่า DMDC สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทุกชนิดที่ใช้ในการทดลอง เมื่อพิจารณาค่า R^2 จากสมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่ง พบว่าการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์มีความสอดคล้องกันกับสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมากกว่า โดยค่า R^2 จากสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมีค่าระหว่าง 0.9333-0.9582 ซึ่งมีค่ามากกว่าค่า R^2 จากสมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์ (0.5531-0.9356) ดังแสดงใน Table 1 นอกจากนี้ค่า rate constant (k) ของสมการจลนพลศาสตร์อันดับศูนย์และอันดับหนึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 413.45 ถึง 83,429 และ 0.0201 ถึง 0.0404 ตามลำดับ และพบว่าค่า k จากสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งของ *S. aureus* มีค่าสูงสุด (0.0404) ในขณะที่ค่า k จากจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งของจุลินทรีย์มีชีวิตทั้งหมดมีค่าต่ำสุด (0.0201) จึงอธิบายได้ว่า *S. aureus* ATCC 25923 มีความไวต่อความเข้มข้นของ DMDC มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์อื่น หรืออีกนัยหนึ่งหมายถึง DMDC สามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ATCC 25923 ได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ใช้ในการทดลอง ซึ่ง *S. aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียก่อโรคแกรมบวกที่สำคัญของอาหาร ดังนั้นการไวต่อความเข้มข้นของ DMDC จึงส่งผลให้อาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น นอกจากนี้ผลการทดลองนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Assatarakul (2016) ที่รายงานว่าค่า R^2 จากการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองสอดคล้องกับสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่งมากกว่าอันดับศูนย์เช่นเดียวกัน 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 จากสมการจลนพลศาสตร์อับดับหนึ่งสูงที่สุด (0.0437) อาจเนื่องมาจากสมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างที่แตกต่างกันจึงส่งผลต่อความไวต่อความเข้มข้นของ DMDC ในจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย DMDC เป็นไปตามสมการจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง

Table 1 Kinetic rate constant and linear correlation of zero-order and first-order kinetic models of microbial inactivation by DMDC

Microorganism	Zero-order		First-order	
	Rate constant (k)	Correlation coefficient (R^2)	Rate constant (k)	Correlation coefficient (R^2)
Total plate count	1100.7	0.9356	0.0201	0.9496
Yeast and mold	413.45	0.8716	0.0313	0.9333
Escherichia coli ATCC 25922	83429	0.5531	0.0311	0.9582
Staphylococcus aureus ATCC 25923	2809.2	0.7532	0.0404	0.9389

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

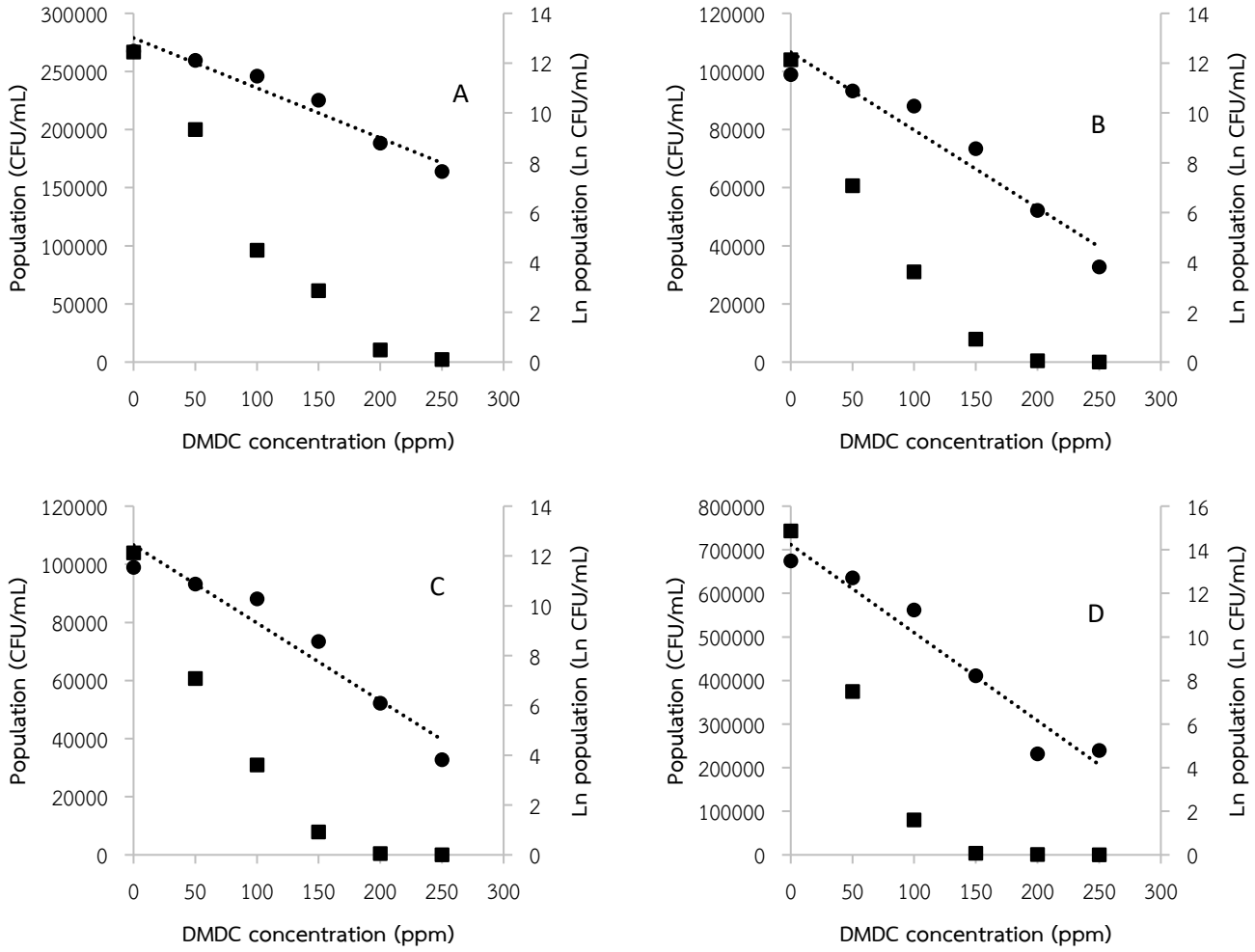

Figure 2 Microbial inactivation kinetics following zero-order kinetic model (■) and first-order kinetic model (●) of total plate count (A), yeast and mold (B), *E. coli* (C) and *S. aureus* (D) treated with DMDC in mixed mango and passion smoothie

DMDC สามารถใช้ร่วมกับกระบวนการผลิตอื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น การใช้ DMDC ร่วมกับโอโซน (O_3) จากผลการศึกษาการใช้ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ร่วมกับโอโซน 0.9 กรัมต่อชั่วโมง ในแอปเปิ้ลไซเดอร์ (apple cider) หลังจากเก็บเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า DMDC สามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ลง 5.7 log CFU/mL ซึ่งมากกว่าการใช้โอโซนเพียงอย่างเดียวถึง 4.8 log CFU/mL [21] ในขณะที่การใช้ความดันสูง (High pressure) ที่ 400 MPa ร่วมกับ DMDC ที่ความเข้มข้น 62.5 ppm ในน้ำส้ม เป็นเวลา 2 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C สามารถลดจำนวน *E. coli* O157:H7 ลง 5.96 log CFU/mL ซึ่งมากกว่าการใช้ความดันสูงเพียงอย่างเดียวถึง 4 log CFU/mL [22] ดังนั้นการใช้ DMDC ร่วมกับกระบวนการอื่นจึงสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้

2. ผลของ DMDC ต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส

จากผลการทดลองพบว่าการเติม DMDC ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

ด่าง (pH) ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดซิตริก) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) รวมทั้งค่าสีที่แสดงด้วยค่า *L** (Lightness; ค่าเท่ากับ 0 หมายถึงทึบแสง, ค่าเท่ากับ 100 หมายถึงสว่าง) *a** (redness; ค่าเป็นบวกหมายถึงสีแดง, ค่าเป็นลบหมายถึงสีเขียว) และ *b** (yellowness; ค่าเป็นบวกหมายถึงสีเหลือง, ค่าเป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังที่แสดงใน Table 2

Table 2 Physical and chemical properties of mixed mango and passion smoothie treated with DMDC at 4°C

DMDC (ppm)	pH^{ns}	°Brix^{ns}	Total acid^{ns} (% citric acid)	Color^{ns}		
				*L**	*a**	*b**
0	3.50±0.11	19.50±0.87	11.68±0.89	47.37±0.70	0.92±0.55	17.85±1.22
50	3.65±0.03	19.67±0.58	11.57±0.67	47.24±1.13	0.22±0.35	17.57±1.76
100	3.51±0.09	17.33±1.61	11.31±1.36	47.09±0.65	0.20±0.17	17.23±1.78
150	3.60±0.02	17.00±3.04	11.36±1.05	48.20±0.37	0.80±0.16	18.96±0.91
200	3.60±0.02	18.50±0.50	12.05±0.67	47.80±1.52	0.37±0.07	17.83±2.54
250	3.59±0.01	19.67±0.29	11.95±0.56	47.76±1.15	0.70±0.32	18.00±1.82

Remark: value: mean±SD with 3 replications
ns: No significant differences within column (p>0.05)

สมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 3.6 ปริมาณกรดทั้งหมดประมาณ 11.7 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดประมาณ 18.6 ในขณะที่ค่าสีของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสมีค่า *L** ประมาณ 47 ซึ่งหมายความว่ามีความสว่างปานกลางไปทางคล้ำเล็กน้อย ค่า *a** ประมาณ 0.5 ซึ่งหมายถึงมีสีแดงเล็กน้อย และค่า *b** ประมาณ 18 ซึ่งหมายถึงมีสีเหลือง ดังนั้นเมื่อพิจารณาถึงค่าสีทั้งหมดพบว่าสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรสมีลักษณะปรากฏเป็นสีเหลืองสว่าง ซึ่งเป็นลักษณะสีธรรมชาติของสมูทตีมะม่วงผสมเสาวรส ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Guo et al. (2015) [23] ซึ่งใช้ DMDC ที่ความเข้มข้น 250 ppm ร่วมกับ nisin ที่ความเข้มข้น 100 IU/mL ในน้ำลิ้นจี่ และพบว่า การใช้ DMDC ร่วมกับ nisin ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดซิตริก) ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) และค่าสี โดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดซิตริก) และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) จะมีความสอดคล้องกับการเจริญของจุลินทรีย์ แต่เนื่องจากผลการทดลองนี้พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ลดลงจึงส่งผลให้ค่าดังกล่าวไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่าสีมีความสอดคล้องกับปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) โดยมีเอนไซม์สำคัญได้แก่ พอลิฟีนอล ออกซิเดส (polyphenol oxidase) และเพอร์ออกซิเดส (peroxidase) จากงานวิจัยของ Chen et al. (2013) [24] พบว่า DMDC มีผลต่อการลดลงของกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสและเพอร์ออกซิเดสของกะหล่ำปลีในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ค่าสีไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) อย่างไรก็ตามยังไม่มีงานวิจัยใดในปัจจุบันที่ศึกษากลไกการยับยั้งเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสและเพอร์ออกซิเดส ด้วย DMDC ซึ่งควรมีการศึกษาต่อไป

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

สรุปผล

DMDC มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด ยีสต์และรา *E. coli* ATCC 25922 และ *S. aureus* ATCC 25923 โดยการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวเป็นไปตามจลนพลศาสตร์อันดับหนึ่ง อีกทั้ง DMDC ไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (°Brix) ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละของกรดซิตริก) และค่าสี (*L**, *a** และ *b**) อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 อย่างไรก็ตามปริมาณจุลินทรีย์ที่ลดลงยังไม่มากเพียงพอที่จะสามารถใช้แทนกระบวนการพาสเจอไรซ์ตามที่ United States Food and Drug Administration [25] ได้กำหนดไว้ว่าต้องลดปริมาณจุลินทรีย์เป้าหมาย (target microorganism) ในน้ำผักและน้ำผลไม้ได้ไม่ต่ำกว่า 5 log CFU/mL จึงจะสามารถใช้ทดแทนกระบวนการพาสเจอไรซ์ได้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้ DMDC ในผลิตภัณฑ์สมูทตีอาจจำเป็นต้องใช้ร่วมกับกระบวนการผลิตอื่นเพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ตามมาตรฐานที่กำหนดไว้เพื่อใช้ทดแทนกระบวนการพาสเจอไรซ์ และข้อมูลจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการประยุกต์ใช้ DMDC ในผลิตภัณฑ์สมูทตีต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนเงินทุนวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) เลขที่สัญญา MSD61I0062 และบริษัทเบสท์ แอนด์ สตรอง จำกัด

เอกสารอ้างอิง

[1] Ekplakorn, V. (2014). 5th Report of Thai health survey by physical examination 2014. 1st Edition. Graphic and Design, Bangkok. (in Thai).

[2] Food intelligence Center Thailand. (2015). Ready-to-drink market in Thailand. [Online] Available from http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=81. [Accessed May, 27, 2019]. (in Thai).

[3] Müller, L., Gnoyke, S., Popken, A.M., and Böhm, V. (2010). Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. LWT – Food Science and Technology. 43(6): 992-999.

[4] Office of the Permanent Secretary Ministry of Commerce. (2018). Top 15 export markets in Thailand. [Online] Available from http://www.ops3.moc.go.th/infor/menucomth/stru1_export/export_topn_re/ report.asp. [Accessed May, 27, 2019]. (in Thai).

[5] Ribeiro, S.M.R. and Schieber, A. (2010). Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). Bioactive Foods in Promoting Health: Fruits and Vegetables. 507-523.

[6] Malaterre, A.S., Stanislas, G., Douraguia, E. and Gonthier, M.P. (2016). Evaluation of nutritional and antioxidant properties of the tropical fruits banana, litchi, mango, papaya, passion fruit and pineapple cultivated in Réunion French Island. Food Chemistry. 212: 225-233.

[7] Food and Drug Administration. (2019). Food Act 1979 with Ministerial Regulations and Ministry of Public Health announcement (Revised version 2019). [online]. source: http://www.fda.moph.go.th/sites/food/law1/food_law.pdf. [Accessed May, 27, 2019]. (in Thai).

[8] Chitov, T. (2015). Food Microbiology. 1st Edition. Chulalongkorn University Printing House, Bangkok. (in Thai).

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[9] Dziedzinska, R., Moravkova, M., Hrdy, J., Slana, I., Vlkova, H., Kunstovna, H. and Vasickova, P. (2018). Occurrence of selected viral, bacterial and protozoan pathogens in fresh juices and smoothies in Prague, Czech Republic. Food Control. 93: 310-314.

[10] Hurtado, A., Guàrdia, M.D., Picouet, P., Jofré, A., Ros, J.M. and Bañón, S. (2016). Stabilization of red fruit based smoothies by high pressure processing. Part A. Effects on microbial growth, enzyme activity, antioxidant capacity and physical stability. Journal of the Science of Food and Agriculture. 97(2): 770-776.

[11] Threlfall, R.T. and Morris, J.R. (2002). Using Dimethyl dicarbonate to Minimize Sulfur Dioxide for Prevention of Fermentation from Excessive Yeast Contamination in Juice and Semi-Sweet Wine. Food Microbiology and Safety. 67(7): 2758-2762.

[12] 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. 285: 152-157.

[13] USFDA. (2018). CFR - Code of Federal Regulations Title 21. [Online] Available from https://www. accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=172.133. [27 May 2019].

[14] Bacteriological Analytical Manual. (2001). U.S. Food and Drug Administration. Center for Food Safety and Applied Nutrition, USA.

[15] AOAC. (1995). Official Method of Analysis of AOAC International. 15th edition. Association of Official Analytical Chemists, Washington D.C.

[16] Assatarakul, K. (2016). Degradation kinetic models and inactivation of pathogenic microorganisms by dimethyl dicarbonate in fresh mandarin juice. Journal of Food Safety. 37(2): e12319

[17] Gouma, M., Gayán, E., Raso, J., Condón, S. and Álvarez, I. (2015). Influence of dimethyl dicarbonate on the resistance of *Escherichia coli* to a combined UV-Heat treatment in apple juice. Frontiers in Microbiology. 6: 501.

[18] NCBI. (2019). COMPOUND SUMMARY; Dimethyl dicarbonate. [Online] Available from https://pubchem. ncbi.nlm.nih.gov/compound/ dimethyl_dicarbonate. [Accessed May, 27, 2019].

[19] Government Gazette (2019). Ministry of Public Health announcement No. 389, 2018, Food additive (Issue 5). [Online] Available from http://www. ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2561/E/178/1.PDF. [Accessed May, 27, 2019]. (in Thai).

[20] Van Boekel, M.A.J.S. (2008). Kinetic modeling of reactions in foods. 1st Edition. UK: CRC Press, London.

[21] William, R.C., Sumner, S.S. and Golden, D.A. (2005). Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* in apple cider and orange juice treated with combinations of ozone, dimethyl

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

dicarbonate, and hydrogen peroxide. Journal of Food Science. 70(4): 197-201.

[22] Whitney, B.M., William, R.C., Eifert, J. and Marcy, J. (2008). High pressures in combination with antimicrobials to reduce *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Agona in apple juice and orange juice. Journal of Food Protection. 71(4): 820-824.

[23] 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. 4(4): 81-91.

[24] 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.

[25] USFDA. (2017). Guidance for industry: juice HACCP and the FDA Food Safety Modernization Act. [Online] Available from https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-juice-haccp-and-fda-food-safety-modernization-act. [Accessed May, 27, 2019].

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330