วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีที่ 27 ฉบับที่ 2 เม.ย. – มิ.ย. 2560
The Journal of KMUTNB., Vol. 27, No. 2, Apr. – Jun. 2017

บทความวิจัย

ผลความเข้มสนามไฟฟ้าที่มีต่อคุณภาพของชานมในกระบวนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์

ปพณ สะอาดยวง
คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏเทพสตรี
อาทิตย์ ยาวุฑฒิ พานิช อินต๊ะ* ชัญญา สิงห์กาศ พัชรนันท์ ทองใบ และ อรอนงค์ ศรียอด
วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 08–9755–1985 อีเมล: panich_intra@yahoo.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2017.03.003
รับเมื่อ 18 พฤศจิกายน 2559 ตอบรับเมื่อ 4 พฤษภาคม 2559 เผยแพร่ออนไลน์ 31 มีนาคม 2560
© 2017 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved

บทคัดย่อ

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของความเข้มสนามไฟฟ้าและคุณภาพของชานมหลังผ่านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ ทำการทดลองโดยการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ในชานมด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ นำผลการทดลองมาเปรียบเทียบกับการยับยั้งเชื้อแบบพาสเจอร์ไรซ์และตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพคือ สี ความหนืด และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสด้านเคมีคือ ความเป็นกรด–ด่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดปริมาณ ไขมัน โปรตีน และด้านชีวภาพ คือการลดลงของเชื้อ *E.coli* จากผลการทดลองพบว่า การใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร และจำนวนพัลส์ 1,250 พัลส์ เป็นการยับยั้งเชื้อที่เหมาะสมและสามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้ 5 Log Reduction ซึ่งเป็นการยับยั้งเชื้อในระดับความเชื่อมั่นและจากการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพคือ ความหนืดและสีพบว่าการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 แบบมีคุณภาพทางด้านกายภาพใกล้เคียงกัน และการวิเคราะห์ทางด้านเคมีคือ ค่าความเป็นกรด–ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณไขมันและปริมาณโปรตีนพบว่าปริมาณไขมันในชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีมากกว่าชานมที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ ส่วนปริมาณโปรตีนพบว่าการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 วิธีมีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกัน และวิเคราะห์ผลความชอบโดยรวมพบว่าชานมที่ผ่านกระบวนยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีความชอบโดยรวมมากกว่าชานมที่ผ่านกระบวนการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์

คำสำคัญ: สนามไฟฟ้าพัลส์, จุลินทรีย์, การพาสเจอร์ไรซ์, เครื่องดื่ม, ชานม

การอ้างอิงบทความ: ปพณ สะอาดยวง อาทิตย์ ยาวุฑฒิ พานิช อินต๊ะ ชัญญา สิงห์กาศ พัชรนันท์ ทองใบ และ อรอนงค์ ศรียอด, "ผลความเข้มสนามไฟฟ้าที่มีต่อคุณภาพของชานมในกระบวนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 27, ฉบับที่ 2, หน้า 265–279 เม.ย.–มิ.ย. 2560.

Research Article

Effect of Electric Field Strength on Quality of Milk Tea Undergone Pulsed Electric Field Microbial Inactivation Process

Papol Sardyoung
Faculty Technology Industrial, Thepsatri Rajabhat University, Lopburi, Thailand
Artit Yawootti, Panich Intra*, Chanya Singkat, Phachatanan Thongbai and Onanong Sriyod
College of Integrated Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 08−9755−1985, E−mail: panich_intra@yahoo.com DOI: 10.14416/j.kmutnb.2017.03.003
Received 18 November 2016; Accepted 4 May 2016; Published online: 31 March 2017
© 2017 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

The aim of this research project was to study the effect of intensity of electric field to inactivate microorganism and quality of milk tea after pulsed electric field pasteurization. The experimental results were compared with these belonging to thermal pasteurization. Quality analysis of milk tea including physical properties which were color, viscosity and sensory, chemical properties which were pH, total soluble solid, fat and protein content and biological properties in term of *E. coli* reduction. The results showed that the electric field intensity of 20 kV/cm with pulse number of 1,250 was optimum. This setting could inactivate *E. coli* for 5 log reduction. The results from the analysis of physical quality including color and viscosity showed that both pasteurization gave similar value. Chemical properties results including fat and protein contents showed that the amount of fat in milk tea by thermal pasteurization was more than the pulsed electric field while the protein contents were similar.

Keywords: Pulsed Electric Field, Microorganisms, Pasteurization, Beverage, Milk Tea

Please cite this article in press as: P. Sardyoung, A. Yawootti, P. Intra, C. Singkat, P. Thongbai, and O. Sriyod, "Effect of electric field strength on quality of milk tea undergone pulsed electric field microbial inactivation process," *The Journal of KMUTNB*., vol. 27, no. 2, pp. 265–279, Apr.–Jun. 2017 (in Thai).

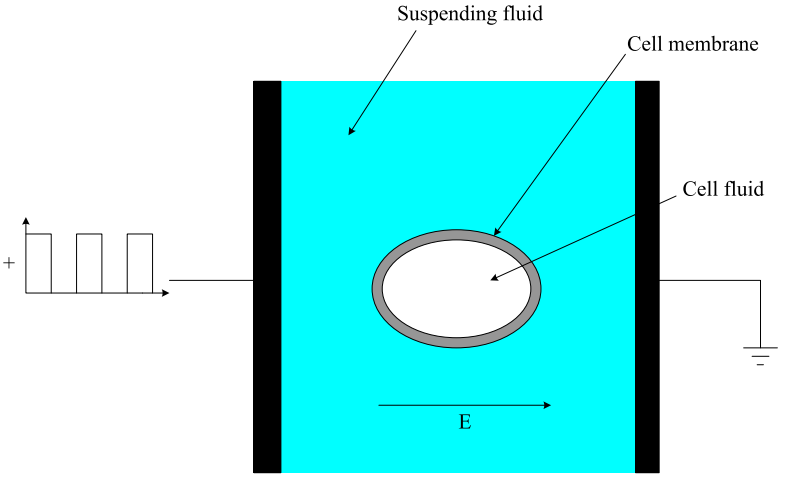
1. บทนำ

ชานมเย็น (Milk Tea) เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย โดยคาดว่ามูลค่าการซื้อขายเครื่องดื่มในปี พ.ศ. 2556 จะมีมูลค่าประมาณ 4.1−4.2 แสนล้านบาท และชานมเย็นก็เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์อันดับต้นๆ ที่สร้างรายได้เป็นอย่างดีแก่ผู้ประกอบการ แต่ในกระบวนการผลิตชานมเย็นในภาคอุตสาหกรรมบางแห่งนั้นไม่มีการยับยั้งเชื้อในกระบวนการผลิต และพบกับปัญหาในการเก็บรักษาชานมเย็นเมื่อทำการตรวจสอบเชื้อจุลินทรีย์โดยจะต้องไม่พบ *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* เป็นต้น ก่อนการบรรจุเป็นผลิตภัณฑ์ในการยับยั้งเชื้อในเครื่องดื่มส่วนใหญ่นั้น มักจะใช้วิธีการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ความร้อน เช่น การพาสเจอร์ไรซ์ การสเตอริไลซ์ เป็นต้น โดยการพาสเจอร์ไรซ์เป็นการใช้ความร้อนที่มีอุณหภูมิระหว่าง 60−80 องศาเซลเซียส ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางส่วน ส่วนการสเตอริไรซ์นั้นต้องใช้ความร้อนที่มีอุณหภูมิมากกว่า 100 องศาเซลเซียส ในเวลาที่เหมาะสม [1], [2]

จากวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นจะเห็นว่าเป็นระบบที่ใช้ความร้อนเป็นตัวกลางในการยับยั้งเชื้อ ซึ่งหากใช้ความร้อนในกระบวนการสูงเกินไปความร้อนจะไปทำลายวิตามินหรือคุณค่าทางโภชนาการ ดังนั้นระบบการพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้พลังงานต่ำด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ (Pulsed Electric Field: PEF) จึงเป็นวิธีการที่ประหยัดเวลาในการยับยั้งเชื้อ และการรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารด้วย สนามไฟฟ้าแบบพัลส์สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยไม่ใช้ความร้อน จึงไม่ทำลายคุณลักษณะของอาหารตลอดจนคุณค่าทางโภชนาการของอาหารไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง [3]–[20] เช่น Mosqueda−Melgar *et al.* [4] ได้ศึกษาเกี่ยวกับการพาสเจอร์ไรซ์แบบไม่ใช้ความร้อน แต่ใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าสูงแบบพัลส์สำหรับการต้านจุลชีพตามธรรมชาติ โดยผลของความเข้มสนามไฟฟ้าสูงแบบพัลส์ (Hi Pulsed Electric Field: HIPEF) ในการตรวจสอบจำนวนเชื้อ *S. enteritidis* และ *E. coli* ที่มีในน้ำแอปเปิ้ล น้ำลูกแพร์ น้ำส้ม และน้ำสตอเบอรี่ ตรวจสอบอิทธิพลจากการใช้เวลาและความถี่เพื่อดูจำนวนเชื้อที่เหลือผสมกรดซิตริกหรือน้ำมันเปลือกอบเชย พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลมากต่อเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้เมื่อยับยั้งเชื้อด้วย HIPEF วิเคราะห์ *S.enteritidis* และ *E.coli* ลดลงมากกว่า 5 Log10 ขณะที่น้ำสตอเบอรี่ น้ำแอปเปิ้ลและน้ำลูกแพร์เมื่อยับยั้งเชื้อด้วย HIPEF ร่วมกับกรดซิตริกเชื้อจะลดลง 0.5%, 1.5% และ 1.5% ตามลำดับ และเมื่อยับยั้งเชื้อด้วย HIPEF ร่วมกับน้ำมันเปลือกอบเชยเชื้อจะลดลง 0.05%, 0.1% และ 0.1% ตามลำดับ Heinz *et al.* [5] ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่สัมพันธ์กับอัตราการตายจากการพาสเจอร์ไรซ์น้ำแอปเปิ้ล โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์โดยประยุกต์ หลักการใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (Pulsed Electric) สำหรับการพาสเจอร์ไรซ์น้ำแอปเปิ้ลเพื่อกำจัดเชื้อ *E. coli* โดยผลการทำงานร่วมกับอุณหภูมิที่ 35–36ºC สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงจาก 100 ให้น้อยกว่า 40 kJ/kg ตรวจสอบการยับยั้งเชื้อโดยดูจากอัตราการตายที่ลดลงใน 6 Log Cycles ตามกราฟแสดงอัตราการตายแล้วเปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้ความร้อนซึ่งพบว่า การพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อได้ดีและผลิตภัณฑ์ที่ได้เหมือนอาหารสด ยังสามารถลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการได้อีกด้วย Gao *et al*. [6] ได้ศึกษาเรื่องการพัฒนากระบวนการพาสเจอร์ไรซ์สำหรับการควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในเปลือกอัลมอนด์ โดยการใช้พลังงานคลื่นความถี่วิทยุพบว่าคลื่นความถี่วิทยุ (Radio Frequency: RF) เป็นวิธีการที่มีศักยภาพและควบคุมเชื้อ *S. enteritidis* ในอัลมอนด์ที่ไม่ก่อให้เกิดการสูญเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์มากมาย โดยความร้อนจะทำให้ความต้านทานของเชื้อ *S. enteritidis* ลดลง การยับยั้งเชื้อ RF ที่ออกแบบมาควรมีการเพิ่มความชื้นในช่องคลื่น 27 MHz และ 6 kW ใช้ความร้อนอย่างรวดเร็ว 1.7 kg ล้างเปลือกในอากาศร้อน 55ºC สำหรับการอบแห้งและการระบายความร้อนผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการยับยั้งเชื้อโดย RF นาน 20 min สามารถลดความชื้นลง 5.7% กรดไขมันและสีเมล็ดของอัลมอนด์ได้ตามเกณฑ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐาน

อุตสาหกรรมถั่ว Evrendilek *et al.* [7] ได้ศึกษาเรื่องสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ในเบียร์และวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และประสาทสัมผัสพบว่า PEF มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ แต่ผลของ PEF ยังรักษาคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสและตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น เช่น การยับยั้งการเกิดเชื้อ *Saccaromyces uvarum, Rhodotorula rubra, bactobacillus phantarum, Pediococcus oiamnosus* และ *Bacillus subtilis* ที่ 0.5, 4.1, 4.3, 4.7, 5.8 และ 4.8 Log10 โคโลนี I มีการเพิ่มจำนวนของ Cr, Zh, Fe, Mn และไอออนบางชนิด ที่มีความสำคัญทำให้มีรสชาติที่ดีขึ้น Oziemblowski and Kopec [8] ได้ศึกษาเรื่องวิธีการที่แปลกใหม่ในการถนอมอาหารโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ พบว่าจากการศึกษาเทคโนโลยีสามารถนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้ออาหารหรือใช้ในการบรรจุภัณฑ์ ฯลฯ เช่น เทคโนโลยีการฉายรังสี การใช้แรงดันสูง พัลส์ความเข้มสูง และสนามแม่เหล็ก แต่การศึกษาส่วนใหญ่จะเน้นในเรื่องเทคโนโลยีความดันสูง (HHP) และเทคโนโลยีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ โดยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถยับยั้งเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังการยับยั้งเชื้อจะยังรักษาอาหารและวิตามินให้คงอยู่สูงรวมถึงยังคงคุณค่าทางประสาทสัมผัสสูง แต่อาจไม่สามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อไว้ได้หมด และควรอยู่ใต้สภาวะการตรวจสอบควบคุมจากผู้เชี่ยวชาญ Miyahara [9] ได้ทำการศึกษาวิธีการและอุปกรณ์สำหรับการผลิตอาหารโดยให้กระแสไฟฟ้าผ่านไปยังอาหาร รวมทั้งภาชนะบรรจุของวัสดุฉนวนที่เปิดในด้านตรงข้ามสำหรับการรับอาหาร อิเล็กโทรดตั้งอยู่ด้านตรงข้ามของภาชนะบรรจุ มีขดลวดวงแหวนรอบภาชนะบรรจุเป็นขดลวดกระแสไฟฟ้าเพื่อให้ความร้อนรักษาและยับยั้งเชื้อในอาหาร ในขณะที่เส้นแรงแม่เหล็กมีการผลิตและนำไปใช้อาหารในลักษณะดังกล่าวว่ากระแสสลับมีอำนาจต่อสนามแม่เหล็กที่มีอิทธิพลต่อเมื่อกระแสไฟฟ้าไหลผ่านอาหารที่จะทำให้เครื่องแบบอย่างมีนัยสำคัญการกระจายอุณหภูมิในวัสดุอาหารและเพิ่มปริมาณของกรดไอนอสซินิคหรือกรดกลูตามิค Ortega *et al.* [10] ได้ทำการศึกษาน้ำแอปเปิ้ลที่ได้รับการรักษาโดยวิธีการไม่ใช่ความร้อน โดยวิธีการประมวลผลเป็นวิธีการตรวจสอบว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเสถียรภาพและมีคุณภาพที่ยอมรับได้ของจุลินทรีย์ ซึ่งสามารถใช้แรงดันสูงแบบพัลส์สนามไฟฟ้าไฟฟ้าและเทคนิคการใช้ Ultra Filtration ปัจจัยภายใต้การศึกษาที่มีรูขุมขนเมมเบรน (10,000 และ 50,000 Daltons) ความดันทรานส์เมมเบรน (103, 120.5, 138 และ 155 kPa) และเปอร์เซ็นต์การกู้คืน (0, 25, 50 และ 75% สำหรับเมมเบรน 10,000 Daltons เป็นอย่างดีเป็น 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60% สำหรับเมมเบรน 50,000 Daltons) ในแง่ของการพัลส์ ซึ่งทดลองสนามไฟฟ้า ความแรงของสนามไฟฟ้า (50, 58 และ 66 kV/cm ± 1) และจำนวนของพัลส์ (2, 4, 8 และ 16) ปัจจัยที่ถูกตรวจสอบการตอบสนองปัจจัยเหล่านี้ได้รับการประเมินสำหรับการหาจุลินทรีย์คือนับแผ่นแอโรบิกยีสต์และเชื้อรา แบคทีเรีย *acid uric* และคุณลักษณะที่มีคุณภาพ เช่น pH ความเป็นกรดของแข็งที่ละลายน้ำและสี (Dalton คือหน่วยมวลอะตอม) Jeyamkondan *et al.* [11] ได้ศึกษาเรื่องการพาสเจอร์ไรซ์อาหารเหลวโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์ พบว่าการใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นการพาสเจอร์ไรซ์โดยไม่ใช้ความร้อนเรียกอีกอย่างว่าการพาสเจอร์ไรซ์เย็น ใช้แรงดันไฟฟ้าแบบพัลส์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์จนแตกส่งผลเซลล์จุลชีพตาย ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อสั้นใช้กับอาหารเหลวได้หลายชนิดและวิธีการนี้ยังมีแนวโน้มเพิ่มการใช้มากยิ่งขึ้น Geren [12] ได้ศึกษากระบวนการและเครื่องมือสำหรับการทำลายจุลินทรีย์จำนวนมากในแหล่งกำเนิดโดยการป้อนไฟฟ้ากระแสสลับแบบพัลส์ที่มีความหนาแน่นสูงในระยะเวลาสั้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งโครงสร้างของเซลล์ที่มีจำนวนมากจะไม่ถูกทำลายและอุณหภูมิที่ใช้อยู่ในระดับที่สูงกว่าที่จะประเมินค่าได้ แต่ปัจจุบันได้มีการลำเลียงอิเล็กโทรดไปยังจุลินทรีย์โดยการนำไปแช่/จุ่ม ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์จำนวนมากในอิเล็กโตรดอ่อนแอลง พัลส์ที่ใช้เกิดขึ้นโดยเฟสการควบคุมแบบทรานซิสเตอร์

จากผลการศึกษาที่ผ่านมา [21] ได้ทำการศึกษาพัฒนาระบบการยับยั้งเชื้อโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์เพื่อใช้ในการผลิตชานมเย็น ในการทดสอบยับยั้งเชื้อ



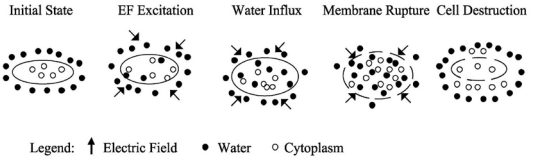
รูปที่ 1 หลักการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์

ด้วยระบบสนามไฟฟ้าแบบพัลส์จะใช้ชานมเย็นที่ผสมเชื้อ *E. coli* ทำการทดสอบที่อัตราการไหล 1 ลิตรต่อนาที อัตราการเกิดพัลส์ 2 พัลส์ต่อวินาที เป็นเวลา 30 นาที จากการทดสอบข้างต้นทำให้เชื้อ *E.coli* มีอัตราการลดลงเฉลี่ย 1.65 Log cell/ML ($p < .05$) แต่ยังมีข้อจำกัดหลายอย่างที่ต้องศึกษาเพิ่มเติม

ดังนั้นในการทำวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะนำมาทำการศึกษาต่อเกี่ยวผลของการใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ต่อคุณสมบัติทางกายภาพอาหารของชานมเย็น โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร และความถี่ของพัลส์ 1 และ 2 เฮิร์ตซ์ ใช้เชื้อ *E. coli* ในการทดสอบ และทำการศึกษาคุณภาพของชานมเย็นหลังกระบวนการยับยั้งเชื้อทางด้านกายภาพ ได้แก่ สี ความหนืด และการทดสอบทางประสาทสัมผัส (Sensory Test) ทางด้านเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ค่าความเป็นกรด–ด่าง และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในชานมเย็น และทางด้านชีวภาพ ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในผลิตภัณฑ์ชานมเย็นจะทำให้เข้าใจผลของความเข้มสนามไฟฟ้าต่อคุณภาพทางอาหารอาหารของชานมเย็นในกระบวนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการสนามไฟฟ้าแบบพัลส์

2. หลักการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์

รูปที่ 1 แสดงหลักการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ที่ประกอบด้วยขั้วอิเล็กโทรด 2 ขั้ววางซ้อนกัน โดยจ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสตรงพัลส์ให้กับขั้วหนึ่งและให้อีกขั้วหนึ่งมีศักย์ไฟฟ้าเป็นกราวด์ (Ground) โดยการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ (Pulsed Electric Field Treatment) คือการกำจัดเชื้อจุลชีพที่มีอยู่ในอาหารเหลวด้วยกระบวนการอิเล็กโทรโพเรชัน (Electropolation) ซึ่งเป็นกระบวนการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell Membrane) โดยการเพิ่มค่าความนำไฟฟ้า (Electrical Conductivity) และค่าสภาพยอมไฟฟ้า (Permeability) ของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยการเพิ่มค่าความนำไฟฟ้าและสภาพยอมไฟฟ้าของเยื่อหุ้มเซลล์สามารถทำได้โดยการใช้สนามไฟฟ้าที่มีลักษณะเป็นพัลส์หรือเป็นช่วงเวลาเกิดจากการจ่ายพัลส์แรงดันไฟฟ้าให้กับอิเล็กโทรดที่มีความเข้มสนามไฟฟ้า (Electric Field Strength) สูงประมาณ 40 kV/cm และมีลักษณะเป็นพัลส์ในช่วงประมาณ 10 ns ถึง 20 µs ซึ่งสนามไฟฟ้าพัลส์ที่มีความเข้มสูงนี้จะส่งผลทำให้แรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมเยื่อหุ้มเซลล์มีค่าสูงเกินกว่าค่าความคงทนของไดอิเล็กตริก (Dielectric Strength) ของเยื่อหุ้มเซลล์และทำให้เกิดรูพรุน (Pores) เล็กๆ จำนวนมากขึ้นที่เยื่อหุ้มเซลล์ รูพรุนดังกล่าวจะนำไปสู่กระบวนการตาย



รูปที่ 2 ลำดับขั้นของกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันที่เกิด

ของเซลล์ (Programmed Cell Death) ซึ่งมีสองลักษณะ คืออะพอพโตสิส (Apoptosis) และเน็คโคสิส (Necrosis) โดยลำดับขั้นของกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันที่เกิดขึ้นกับเซลล์ของจุลลินทรีย์แสดงไว้ในรูปที่ 2 โดยแรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมเยื่อหุ้มเซลล์สามารถคำนวณได้จาก [18]

$$V_{\text{cell}} = f r_{\text{cell}} E_{\text{cell}} \tag{1}$$

เมื่อ V_{cell} คือแรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่ตกคร่อมที่เยื่อหุ้มเซลล์ f คือค่าคงที่ที่ขึ้นอยู่กับรูปร่างของเซลล์ r_{cell} คือรัศมีวงนอกสุดของเยื่อหุ้มเซลล์ และ E_{cell} คือค่าความเครียดสนามไฟฟ้าที่เยื่อหุ้มเซลล์

ตารางที่ 1 ขนาดของเซลล์แรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่ตกคร่อมเยื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ [19]

เชื้อจุลลินทรีย์	เส้นผ่านศูนย์กลาง (μm)	ความยาว (μm)	แรงดันสูงสุด (V)
E. coli	1.15	6.9	0.26
K. pseudomona	0.83	3.2	1.26
P. aeruginosa	0.73	3.9	1.25
S. aureus	1.03	–	1.00
L. momocytogenes	0.76	1.7	0.99
C. albicans	4.15	–	2.63

ตารางที่ 1 แสดงขนาดของเซลล์และแรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่ตกคร่อมเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูพรุนจะทำให้เกิดการถ่ายเทระหว่างของเหลวภายนอกเซลล์กับไซโทพลาซึม (Cytroplasm) ซึ่งเป็นของเหลวภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการขยายตัวเพิ่มขึ้นและนำไปสู่การเบรกดาวน์ของเยื่อหุ้มเซลล์ การเกิดรูพรุนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์อันเนื่องมาจากความเครียดสนามไฟฟ้า รูพรุนที่เกิดขึ้นต้องมีขนาดใหญ่พอที่จะนำไปสู่การตายของเซลล์ โดยลักษณะของการเกิดรูพรุนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ รูพรุนแบบไฮไดรฟิลิก (Hydrophilic) และไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) โดยพลังงานที่ใช้ในกระบวนการจะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิเช่น ความนำไฟฟ้า อัตราการไหลของอาหารเหลวและความเข้มสนามไฟฟ้า ซึ่งในทางทฤษฎีสามารถคำนวณกำลังไฟฟ้าสูงสุด (P_{max}) ที่ใช้ในการสร้างพัลส์สนามไฟฟ้าของห้องยับยั้งเชื้อได้จากสมการ [14]

$$P_{\text{max}} = 2\ \pi\sigma E^2 \left(\frac{Q}{\pi v}\right)^{3/2} \tag{2}$$

เมื่อ P_{max} คือกำลังไฟฟ้าสูงสุด Q คืออัตราการไหลของอาหารเหลว E คือความเข้มสนามไฟฟ้าของห้องยับยั้งเชื้อ σ คือค่าความนำไฟฟ้าของอาหารเหลว v คือความเร็วในการไหลอาหารเหลวและ k คือสัดส่วนของความยาว (L) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (D) ของห้องยับยั้งเชื้อคือ

$$k = \frac{L}{D} \tag{3}$$

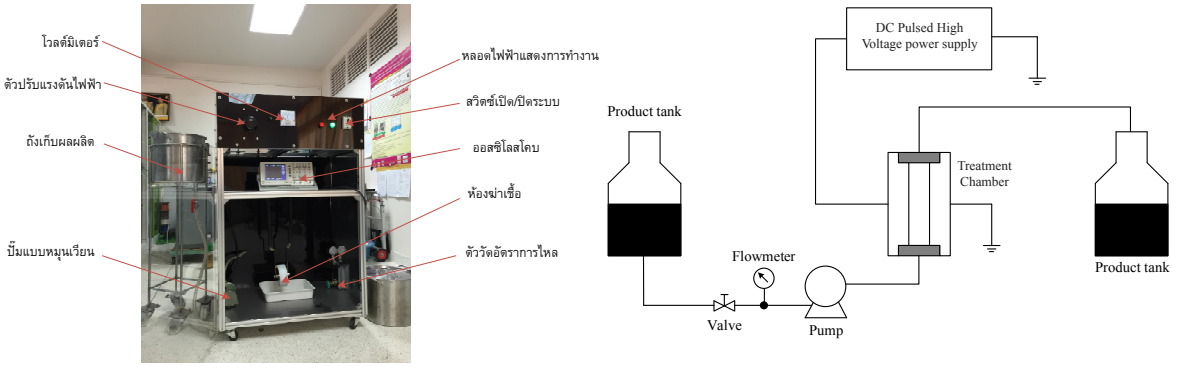
สำหรับห้องยับยั้งเชื้อที่มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนแกนร่วม (Coaxial Treatment Chambers) ค่าความเครียดสนามไฟฟ้าสามารถหาได้จาก [20]

$$E = \frac{V}{r \ln(r_2 / r_1)} \tag{4}$$

เมื่อ V คือแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับขั้วอิเล็กโทรดของห้องยับยั้งเชื้อ r คือระยะรัศมี และ r_1 และ r_2 คือระยะรัศมีของขั้วอิเล็กโทรดด้านในและด้านนอก

3. ระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มสำหรับอุตสาหกรรม

ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสร้างระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ที่ใช้พลังงานต่ำที่เหมาะสม



(ก) รูปถ่ายเครื่องต้นแบบ (ข) แผนภาพการทำงาน

รูปที่ 3 ต้นแบบระบบยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มที่

ต่อการทำงานระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานภายในประเทศ และลดการพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศ ดังนั้นเพื่อให้บรรลุเป้าหมายที่ตั้งไว้ห้องยับยั้งเชื้อฯที่ออกแบบนั้นจะต้องสามารถกำจัดเชื้อจุลชีพในอาหารเหลวที่ทำให้เกิดโรค คือ *E.coli* และเชื้อจุลชีพพื้นฐานจากกระบวนการอิเล็กโทรโพเรชันที่ได้กล่าวมาในข้างต้น กระบวนการตายของเซลล์เชื้อจุลชีพจะต้องมีค่าความเข้มของสนามไฟฟ้าภายในห้องยับยั้งเชื้อจะต้องมีค่ามากกว่า 20 kV/cm และมีลักษณะเป็นพัลส์ในช่วง (Pulse Durtion) ประมาณ 1–2,000 µs ดังนั้น ในการศึกษานี้จะกำหนดให้แรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้ขั้วอิเล็กโทรดไม่เกิน 20 kV และมีกระแสไฟฟ้าสูงสุดที่ 1 kA จำกัดในช่วงเวลาพัลส์ 1–2,000 µs และกำหนดให้มีอัตราการไหลของเครื่องดื่มอยู่ในช่วง 1–5 L/min ที่ความดันของเครื่องดื่มภายในเท่ากับความดันบรรยากาศคือ 1 bar ต้นแบบถูกออกแบบโครงสร้างให้ไม่ซับซ้อนมีจำนวนชิ้นส่วนประกอบน้อยจึงทำให้สามารถถอดล้างทำความสะอาดและประกอบและติดตั้งได้ง่าย และมีราคาต้นทุนในการสร้างถูก และนอกจากนี้ห้องยับยั้งเชื้อที่ออกแบบจะต้องมีความปลอดภัยในการใช้งานและมีการบำรุงรักษาต่ำ

โดยอันตรายอันดับแรกจะเกิดขึ้นจากห้องยับยั้งเชื้อฯ คือไฟฟ้าแรงสูง (High Voltage) ที่จ่ายให้กับขั้วอิเล็กโทรดที่อยู่ด้านในเพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่มีความเครียดสูง ซึ่งอันตรายจากไฟฟ้าแรงสูงสามารถทำให้ลดลงได้โดยทำการฉนวนไฟฟ้าทั้งสายไฟฟ้าแรงสูงและจุดที่มีการเชื่อมต่อกัน การแยกอุปกรณ์ไฟฟ้าแรงสูงใดๆ ออกจากกัน และการใช้วัสดุฉนวนที่มีความเป็นฉนวนไฟฟ้าเพียงพอเพื่อป้องกันการเกิดประกายไฟฟ้าและการลัดวงจรไฟฟ้าในขณะปฏิบัติงาน และยังมีการป้องกันการแพร่กระจายของสนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็กอื่นจากระบบสู่ผู้ปฏิบัติงานด้วยลูกกรงฟาราเดย์ (Faraday Cage) และระบบกราวด์ที่โครงสร้างของเครื่องต้นแบบฯ

รูปที่ 3 แสดงต้นแบบระบบยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มพัลส์ที่พัฒนาขึ้น โดยระบบที่พัฒนาขึ้นจะประกอบด้วยแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงพัลส์ (DC Pulsed High Voltage Power Supply) ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Treatment Chamber) ทำจากอิเล็กโทรดสแตนเลสที่มีลักษณะแผ่นเรียบจำนวน 2 แผ่นและโครงสร้างที่เป็นฉนวนไฟฟ้าอย่างดี Teflon โดยระยะห่างระหว่างขั้วอิเล็กโทรดประมาณ 0.8 เซนติเมตร และมีปริมาตรประมาณ 79 ลูกบาศก์เซนติเมตร และระบบการไหลของของไหล (Fluid Flow System) ที่ประกอบด้วย ตัววัดการไหล ตัววัดความดันวาว์ลควบคุมการไหล การทำงานของระบบจะเริ่มต้นโดยการใช้ปั๊มไหลเวียนเครื่องดื่มจากถังเก็บผลผลิต (Product Tank) เข้าสู่ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นท่อทรง

กระบอกซ้อนแกนร่วมและที่ขั้วอิเล็กโทรดด้านในจะถูกจ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสตรงแบบพัลส์เพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงภายในห้องยับยั้งเชื้อฯ ประมาณ 20 kV/cm ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหารเหลวหรือเครื่องดื่มที่ผ่านเข้าไปในห้องยับยั้งเชื้อถูกทำลายด้วยกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันและหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อแล้วเครื่องดื่มจะถูกนำไปเก็ไว้ในถังเก็บผลผลิต ตารางที่ 2 แสดงสมบัติของระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 2 ระบบการยับยั้งเชื้อจุลลินทรีย์ฯ ที่พัฒนาขึ้น

เงื่อนไขในการออกแบบ	สมรรถนะการทำงานของเครื่อง
ขนาด	ระดับห้องปฏิบัติการ
ชนิดของอาหารเหลว	น้ำชา
ความเข้มของสนามไฟฟ้า	มากกว่า 25 kV/cm
แรงดันไฟฟ้าที่ขั้วอิเล็กโทรด กระแสไฟฟ้าด้านเอาต์พุต	ไม่เกิน 20 kV ไม่เกิน 1 kA จำกัดที่ 2,000 μs
ช่วงเวลาของพัลส์	อยู่ในช่วง 1 – 2,000 μs
ศักย์ไฟฟ้า	ขั้วบวก
เชื้อจุลชีพที่กำจัด	E. *coli* และจุลชีพพื้นฐาน
ความดันของเหลวทำงาน	1 bar
อัตราการไหลของเครื่องดื่ม	1 – 5 L/min

4. วิธีการวิจัย

ในสำหรับการศึกษาผลความเข้มสนามไฟฟ้าที่มีต่อคุณภาพของชานมในกระบวนการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์นี้จะใช้วิธีการยับยั้งเชื้อที่ต่างกันคือ การยับยั้งเชื้อโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ และการยับยั้งเชื้อโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำชานมที่ผ่านการยับยั้งเชื้อทั้ง 2 แบบ มาตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และชีวภาพเปรียบเทียบ โดยวัสดุและอุปกรณ์การทดลองประกอบด้วยถังบรรจุชานมเย็นขนาด 10 ลิตร ทำหน้าที่บรรจุชานมเย็น โดยส่วนผสมของชานมตัวอย่างประกอบด้วยชาผง 400 กรัม น้ำตาลทราย 1,000 กรัม ครีมเทียม 1,000 กรัม ครีมเทียมข้นหวานชนิดพร่องไขมัน 2,000 กรัม และผลิตภัณฑ์นมสำหรับปรุงอาหาร 1,000 กรัม ปั๊มแบบหมุนเวียนของ Sanso รุ่น PMD−311 ประเทศญี่ปุ่น อุปกรณ์วัดอัตราการไหลแบบทุ่นลอยของ Blue Point รุ่น S−4 Series ทำหน้าที่ปรับอัตราการไหลของชานมเย็น ท่อสายใยลวดของ Toyox Toyospring (PVC) รุ่น 040 Stock ทำหน้าที่เชื่อมต่ออุปกรณ์ทุกตัวของระบบ และห้องยับยั้งเชื้อ ทำหน้าที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในชานมเย็นโดยจะทำงานร่วมกับแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงที่พัฒนาขึ้นจากวงจรเรียงกระแสแบบเต็มคลื่นกับช่องว่างหมุนจุดประกาย (Rotating Spark Gap) ในการศึกษานี้จะทำการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ในชานมเย็น ทำโดยใช้แบคทีเรีย *E.coli* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB นำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียมสารแขวนลอยของ *E.coli* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 108 CFU/mL เติมในชานมเย็นที่เป็นตัวอย่างในการยับยั้งเชื้อด้วยต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลอง คือ 1) การทดสอบประสิทธิภาพระบบยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (แบบกะ) 2) การทดสอบประสิทธิภาพระบบยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (แบบไหล) และ 3) การทดสอบประสิทธิภาพระบบยับยั้งเชื้อแบบพาสเจอร์ไรซ์ ดังเงื่อนไขในตารางที่ 3 โดยทำการทดลองซ้ำ 3 การทดลอง ในการทดลองต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างชานมเย็นปริมาณ 10 mL ในหลอดทดลองนำตัวอย่างที่เก็บมาทำการเจือจางและเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Nutrient Agar (NA) และ Eosin−Methylene Blue Agar (EMB) สำหรับเลี้ยงเชื้อ *E.coli* ในจานเพาะเชื้อด้วยวิธีการ Spread Plate บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24–48 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำไปนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โดยการเก็บตัวอย่างเชื้อ Bacteria ที่ต้องการวัดค่า OD (Optical Density) A620 ในอาหาร NB และ EMB ปริมาณ 3 mL และนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ของ Biochrom เพื่อวัดค่า OD A620 วัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี (ColorFlex) ด้วยระบบ CIE LAB ของบริษัท Color flex วัดความหนืดโดยใช้เครื่อง Brookfield โดยเครื่องวัดความหนืด Brookfield Viscometer เป็นเครื่องวัดความข้นหนืดแบบแกนหมุน (Rotary Viscometer)

วัดปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมด โดยใช้เครื่อง Hand Refractometer ของบริษัท ATAGO วัดค่า pH โดยใช้เครื่อง pH Meter ของ OAKTON วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธี Block Digestor Method วิเคราะห์ปริมาณไขมัน โดยวิธี Modified Mojonnior Ether Extraction Method และทดสอบประสาทสัมผัส (Sensory Test) โดยวิธีทดสอบแบบคนแบบฮีโดนิก (Hedonic Test) ใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 31 คน

ตารางที่ 3 เงื่อนไขในการทดลองต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

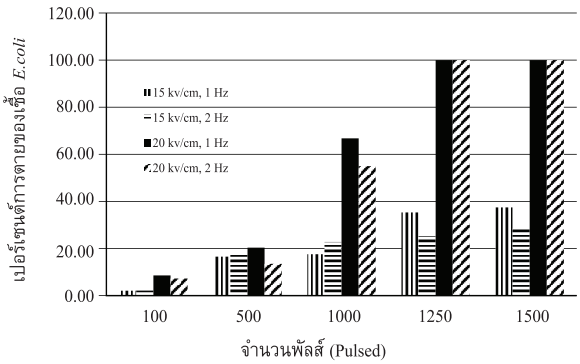
รายละเอียด	ช่วงการทดสอบ
ความกว้างพัลส์	2.5 ms
ความถี่พัลส์	1 และ 2 Hz
จำนวนพัลส์	100, 500, 1000, 1250 และ 1500
เวลา	0 – 30 min
แรงดันพัลส์	15 และ 20 kV
อัตราการไหลของอาหารเหลว	1 และ 5 L/min

5. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

5.1 ผลของประสิทธิภาพระบบยับยั้งเชื้อ

5.1.1 ผลการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์

ในขั้นตอนการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ทำโดยจากการเตรียมชานมเย็นและเชื้อ *E.coli* นำมายับยั้งเชื้อโดยเครื่องยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ที่มีการปรับความเข้มสนามไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 และ 2 เฮิรตซ์ และจำนวนพัลส์ที่ 100, 500, 1000, 1250 และ 1500 พัลส์ ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาแสดงในรูปที่ 4 จากรูปที่ 4 เห็นได้ว่าที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้สูงสุดถึง 100% และสามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้ดีกว่าที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 15 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ที่ยับยั้งเชื้อได้สูงสุดอยู่ที่ 38% ที่จำนวนพัลส์ 1250 พัลส์เท่ากันซึ่งสอดคล้องกับ Kungsadan [3] ได้กล่าวไว้ว่า ความเข้มสนามไฟฟ้ามีผลกับเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของเซลล์รวมถึงการหมุนของเซลล์เมื่ออยู่ภายใต้สนามไฟฟ้า เมื่อเซลล์มีขนาด



รูปที่ 4 เปอร์เซ็นต์การตายของเชื้อ *E.coli* ที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 15 และ 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 และ 2 เฮิรตซ์ต่อจำนวนพัลส์

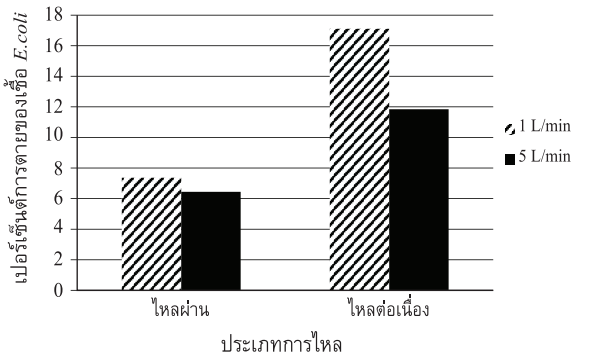
ลดลงจะต้องการความเข้มสนามไฟฟ้าที่สูงขึ้น ถ้าเซลล์มีรูปร่างที่ต่างกันจำเป็นต้องใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าที่สูงมากขึ้น การเพิ่มความเข้มสนามไฟฟ้าเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับค่าความคงทนไดอิเล็กทริก (Dielectric Strength) ของอาหารและ Heinz [5] ที่ว่าการเพิ่มความเข้มสนามไฟฟ้าเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และที่ความเข้มสนามไฟฟ้าที่เท่ากันความถี่ต่างกัน คือ 1 เฮิรตซ์ และ 2 เฮิรตซ์ พบว่าที่ความถี่ 1 เฮิรตซ์ สามารถยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้ดีกว่าความถี่ 2 เฮิรตซ์ อาจจะเป็นเพราะข้อจำกัดของเครื่องยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ที่ใช้ในการทดสอบ ทำให้ที่ความถี่ 2 เฮิรตซ์มีแรงดันสูงสุด (Peak Voltage) ไม่ถึงจุด เนื่องจากหม้อแปลงไฟฟ้ามีอัตราการอัดประจุไฟฟ้าให้ตัวเก็บประจุต่ำไม่เพียงพอกับความถี่สูง และเวลาในการชาร์ตประจุไฟฟ้า Charging Time กับ Discharging Time ไม่สัมพันธ์กันจึงทำให้ค่าแรงดันสูงสุดที่ 2 เฮิรตซ์ต่ำกว่า 1 เฮิรตซ์ ซึ่งความแตกต่างของความถี่จะไม่มีผลกระทบต่อระดับการทำลายเชื้อจุลินทรีย์แต่สิ่งที่ทำให้การทดลองแตกต่างกันคือ องค์ประกอบของอาหาร ในอาหารต่างชนิดกัน องค์ประกอบอาหารมีความแตกต่างกันในหลายด้านทางกายภาพ เช่น ความหนาแน่น ความนำไฟฟ้าและจำนวนอนุภาคในของเหลวทางเคมี

เช่น คุณค่าทางโภชนาการ ดังนั้นเป็นไปไม่ได้ที่องค์ประกอบอาหารต่างชนิดกันจะได้ผลการทดลองที่เหมือนกัน ถ้าวัสดุอาหารใดไวต่อความถี่ก็จะแสดงผลนั้นออกมาอย่างชัดเจนคือ องค์ประกอบอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นเหมือนความต้านทานก็จะไม่มีผลกับความถี่ แต่ถ้าองค์ประกอบอาหารมีคุณสมบัติเป็นตัวเก็บประจุไฟฟ้า (Capacitor) จะมีผลกับความถี่ซึ่งระบบยับยั้งเชื้อที่ใช้ในการทดลองนี้ต้องมีการปรับปรุงในอนาคตเรื่องของการเพิ่มกำลังงานของหม้อแปลงไฟฟ้าให้มีอัตราการอัดประจุสูงกว่าเดิม

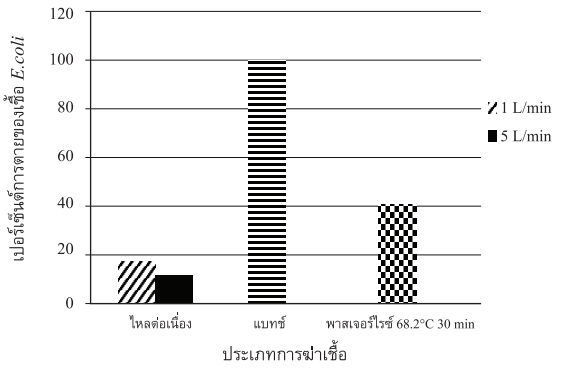
5.1.2 การยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหล

หลังจากการทดลองการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์พบว่าที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ และจำนวนพัลส์ 1250 พัลส์ มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ได้สูงสุดถึง 100% หรือเชื้อ *E.coli* มีอัตราการลดลงไป 5.5 Log CFU/mL จึงทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหล โดยจะแบ่งกระบวนการไหลเป็นไหลผ่านและไหลต่อเนื่อง กำหนดความเข้มสนามไฟฟ้า 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ และจำนวนพัลส์ 1250 พัลส์ ทำการทดสอบที่อัตราไหล 1 และ 5 ลิตรต่อนาที ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาแสดงในรูปที่ 5

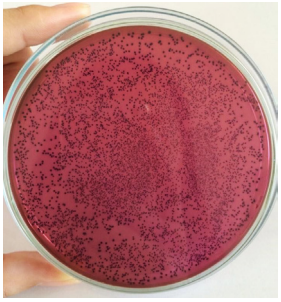
การยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลผ่านและไหลต่อเนื่องที่อัตราการไหล 1 และ 5 ลิตรต่อนาที โดยมีการกำหนดความเข้มสนามไฟฟ้าที่ 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ และจำนวนพัลส์ 1250 พัลส์ ผลการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ของการไหลแบบต่อเนื่องที่อัตราการไหล 1 ลิตรต่อนาที ทำให้เชื้อ *E.coli* มีการลดลงไปได้ที่ 17% และที่อัตราการไหล 5 ลิตรต่อนาที เชื้อ *E.coli* มีการลดลงไปได้ที่ 12% ส่วนผลการยับยั้ง เชื้อ *E.coli* ของการไหลแบบไหลผ่านที่อัตราการไหล 1 ลิตรต่อนาที ทำให้เชื้อ *E.coli* มีการลดลงไปได้แค่ 7.5% และที่อัตราการไหล 5 ลิตรต่อนาที เชื้อ *E.coli* มีการลดลงไปได้ที่ 6% (ดังรูปที่ 5) แสดงให้เห็นว่าการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลต่อเนื่องให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อดีกว่าการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลผ่าน อาจเป็นเพราะการยับยั้งเชื้อแบบไหลต่อเนื่องใช้ระยะเวลาตามจำนวนพัลส์ตามที่กำหนดไว้ ในการทดสอบแต่การยับยั้งเชื้อแบบไหลผ่านไม่ได้ใช้ระยะเวลาตามจำนวนพัลส์ที่กำหนดไว้ คือใช้ระยะเวลาตามอัตราการไหลที่กำหนดไว้ 1 และ 5 ลิตรต่อนาที จึงได้ผลอย่างที่กล่าวไว้ข้างต้น เมื่อทำการทดลองการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ในเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์และการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลต่อเนื่องทั้งสองแบบแล้ว ได้มีการทดลองการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 68.2 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที เพื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 5 เปอร์เซ็นการตายของเชื้อ *E.coli* ของการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลผ่านและไหลต่อเนื่องที่อัตราการไหล 1 และ 5 ลิตรต่อนาที



รูปที่ 6 เปอร์เซ็นต์การตายของเชื้อ *E. coli.* ในกระบวนการยับยั้งเชื้อแต่ละประเภท

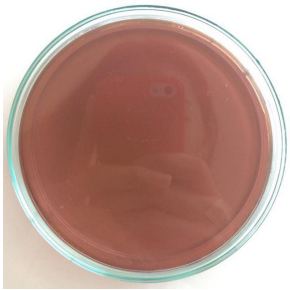


รูปที่ 7 ก่อนผ่านการยับยั้งเชื้อด้วย PEF

ผลของการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์เชื้อ *E.coli* มีเปอร์เซ็นต์ตายไปสูงที่สุดเมื่อเทียบกับการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลต่อเนื่องและการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยการพาสเจอร์ไรซ์โดยการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์เชื้อ *E.coli* มีเปอร์เซ็นต์การตายถึง 100% หรือมีจำนวนเชื้อ *E.coli* ที่เหลือรอด

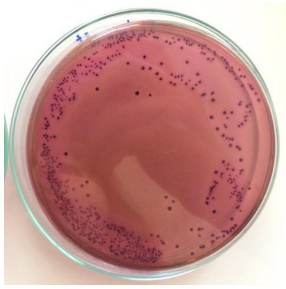
หลังการยับยั้งเชื้อที่ 0 CFU/ml ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนชาเย็นที่กำหนดไว้ว่า Coliform ต้องน้อยกว่า 1 Colony Forming Unit (CFU) ต่อชานมเย็น 100 มิลลิลิตร (มผช.107/2548) [22] ส่วนการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์แบบไหลต่อเนื่อง เชื้อ *E.coli* มีเปอร์เซ็นต์การตาย 17.10% ที่อัตราการไหล 1 ลิตรต่อนาที 11.84% ที่อัตราการไหล 5 ลิตรต่อนาทีหรือมีจำนวนเชื้อ *E.coli* ที่เหลือรอด

หลังการยับยั้งเชื้ออยู่ที่ 2.1×106 CFU/ml และ 5.4×106 CFU/ml ตามลำดับ และการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยการพาสเจอร์ไรซ์เชื้อ *E. coli* มีเปอร์เซ็นต์การตายไปสูงสุดถึง 40.64% หรือมีจำนวนเชื้อ *E. coli* ที่เหลือรอดหลังการยับยั้งเชื้ออยู่ที่ 6.24×102 CFU/ml (ดังรูปที่ 6) ซึ่งจะเห็นได้ว่าการยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบแบทช์สามารถทำลายเชื้อ *E.coli* ได้ดีกว่าการใช้ความร้อนและเป็นไปตามมาตรฐานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนชาเย็น แต่การยับยั้งเชื้อเครื่องดื่มชานมเย็นด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลยังไม่มีประสิทธิภาพดีพอในการทำลายเชื้อ *E. coli* รูปที่ 7–11

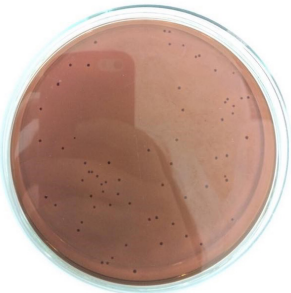


รูปที่ 8 หลังผ่าน PEF 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ 1250 พัลส์

รูปที่ 9 หลังผ่าน PEF 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ 5 ลิตร/นาที



รูปที่ 10 หลังผ่าน PEF 20 กิโลโวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 1 เฮิรตซ์ 5 ลิตร/นาที



รูปที่ 11 หลังการยับยั้งเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 68.2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

แสดงเชื้อ *E.coli* บนอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนผ่านและหลังผ่านการยับยั้งเชื้อด้วย PEF

5.2 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพของชานมเย็น

การศึกษาการตรวจวิเคราะห์นี้ใช้ชานมเย็นที่ไม่ผ่านกระบวนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และใช้ชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 2 แบบด้วยกัน ได้แก่ ชานมเย็นที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 68.2 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที และชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ โดยได้ทำการตรวจวิเคราะห์ ค่าสี ค่าความหนืด และทางประสาทสัมผัส ในแบบความชอบโดยรวม (Hedonic Test) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4

จากตารางที่ 4 สีของชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อทั้งสองแบบและที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อจะเห็นได้ว่าสีของชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อมีค่าความสว่างของสีเท่ากับ 52.75 ส่วนชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าความสว่างของสีเท่ากับ 55.62 และชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีค่าความสว่างของสีเท่ากับ 48.76 ซึ่งแสดงว่าชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าความสว่างของสีมากกว่าชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์และชานมเย็นที่ไม่ผ่านกระบวนการยับยั้งเชื้อ ส่วนค่า α* เป็นค่าที่กำหนดความเป็นสีแดงหรือสีเขียวโดยค่า α* เป็นบวกจะบอกความเป็นสีแดงและถ้า α* เป็นลบจะบอกค่าความเป็นสีเขียวซึ่งผลชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อมีค่าความเป็นสีแดงอยู่ที่ 22.57 ส่วนชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าความเป็นสีแดงอยู่ที่ 19.04 และชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีค่าความเป็นสีแดงอยู่ที่ 23.68 และค่า *b** เป็นค่ากำหนดความเป็นสีเหลืองหรือสีน้ำเงิน โดยที่ค่า *b** เป็นบวกจะบอกความเป็นสีเหลืองและ *b** เป็นลบจะบอกความเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อมีค่าความเป็นสีเหลืองอยู่ที่ 36.17 ส่วนชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าความเป็นสีเหลืองอยู่ที่ 29.75 และชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์มีค่าความเป็นสีเหลืองอยู่ที่ 38.17

ตารางที่ 4 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพของชานมเย็น

ประเภทการยับยั้งเชื้อ	คุณภาพทางกายภาพ				
	สี (CIE Lab)			ความหนืด (Pa.s)	ความชอบโดยรวม (Hedonic Test)
	*L**	*a**	*b**		
ชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อ	52.75	22.57	36.17	17.6	–
ชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วย PEF	48.76	19.04	29.75	17.6	7±0.98
ชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์	55.62	23.68	38.17	18.4	7±1.05

ส่วนความข้นหนืดของชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อทั้งสองแบบและที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อ จะเห็นได้ว่าค่าความข้นหนืดของชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้ออยู่ที่ 17.6 Pa.s ซึ่งไม่แตกต่างจากชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ที่มีค่าความข้นหนืดอยู่ที่ 17.6 Pa.s เท่ากันและชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีค่าความข้นหนืดอยู่ที่ 18.4 Pa.s นอกจากนี้จากการศึกษาคุณภาพของชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์และการพาสเจอร์ไรซ์ (68.2 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที) ทางประสาทสัมผัสเมื่อนำไปทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ ความชอบโดยรวม (Hedonic Test) พบว่าชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์และการพาสเจอร์ไรซ์มีคะแนนความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกันคือ 7±0.98 และ 7±1.05 ตามลำดับ

5.3 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีของชานมเย็น

ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของชานมเย็นที่ไม่ผ่านกระบวนการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 2 แบบ ได้แก่ ชานมเย็นที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ (68.2°C นาน 30 นาที) และ

ชานมเย็นที่ผ่านการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ โดยทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของชานมเย็น ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) ปริมาณโปรตีนและปริมาณไขมันทั้งหมดในชานมเย็นได้ผลดังแสดงในตารางที่ 5 จากตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์พบว่าตัวอย่างชานมเย็นที่ไม่ผ่านการยับยั้งเชื้อและที่ผ่านการยับยั้งเชื้อทั้งสองแบบมีคุณภาพทางเคมีที่ไม่มีแตกต่างกันโดยจะเห็นได้ว่าค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH) และปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 6.90–6.94 และ 0.58–0.67 กรัมต่อ 100 กรัม ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) มีความแตกต่างกันตรงที่การยับยั้งเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรซ์มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมากกว่า ซึ่งอาจเป็นเพราะความร้อนไปทำการละลายน้ำตาลในส่วนผสมของชานมเย็นเพิ่มขึ้นโดยการละลายของสารนอกจากขึ้นกับชนิดของสารแล้วยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสถานะการละลายก็จะสูงขึ้น และอุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้สภาพการละลายได้ของสารเปลี่ยนแปลงไป และในขณะที่ค่าปริมาณไขมันมีค่าที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ได้แก่ สีและความหนืดของชานมเย็น คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส ได้แก่ กลิ่น รสชาติ โดยการทำSensory Test คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ การหาปริมาณโปรตีน ไขมัน ค่า pH และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Brix) ในชานมเย็น และคุณสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ การตรวจหาปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

ตารางที่ 5 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีของชานมเย็น

ประเภทการยับยั้งเชื้อ	คุณภาพทางกายภาพ			
	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) Brix	ค่าความเป็นกรด–ด่าง (pH)	ปริมาณโปรตีน (g/100g)	ปริมาณไขมัน (g/100g)
Control	17	6.90	0.62	2.66
Pulse electric field	17	6.92	0.58	3.23
Pasturerization	21	6.94	0.67	3.57

6. สรุป

ในโครงการวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบและสร้างระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ระดับห้องปฏิบัติการ โดยได้ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E.coli* ในชานมแบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องซึ่งจากการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E.coli* เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มสนามไฟฟ้าและจำนวนพัลส์เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของชานมมีผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลง โดยอุณหภูมิของชานมเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อ 2–3°C จากอุณหภูมิของชานมก่อนเข้าห้องยับยั้งเชื้อโดยการลดลงของเชื้อ *E.coli* ในชานมหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์มากสุดคือ 1.64 Log CFU/mL ที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 30 นาที

อย่างไรก็ตามมาตรฐานปฏิบัติการ 5–Log Reduction ที่กฎหมายบังคับใช้ในการผลิตอาหารเหลวจะต้องสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ได้อย่างน้อยถึง 100,000 เท่า (0% หรือเหลืออย่างน้อย 1–2 เซลล์) ภายใต้กฎหมายนี้ 5–Log Reduction จะต้องยับยั้งโรคที่เป็นปัญหาอย่างแท้จริงในการผลิตอาหารเหลวจึงจะเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรมีปรับปรุงแหล่งจ่ายแรงดันพัลส์ให้สามารถจ่ายแรงดันพัลส์ที่ความถี่หรือจำนวนพัลส์ที่สูงขึ้นได้ทำให้จำนวนพัลส์ต่อปริมาตรห้องยับยั้งสูงขึ้น การศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของความกว้างพัลส์และรูปร่างลักษณะของรูปคลื่นพัลส์ต่อประสิทธิภาพการยับยั้งและการทดสอบเพิ่มเติมการยับยั้งจุลินทรีย์ในของเหลวชนิดอื่นด้วยซึ่งอาจจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไป เช่น น้ำผลไม้ หรือน้ำผลไม้ที่มีเกล็ดเนื้อผสมอยู่ด้วย

7. กิตติกรรมประกาศ

ผลการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรมภายใต้โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนโครงการวิจัยพัฒนาและวิศวกรรมเพื่อแก้ไขปัญหาท้องถิ่นของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เครือข่ายภาคเหนือ ประจำปีงบประมาณ 2556 ขอขอบคุณ กลุ่มวิจัยการประยุกต์ใช้ไฟฟ้าสถิตในงานด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยเทคโนโลยีและ

สหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เอื้อเฟื้ออุปกรณ์ เครื่องมือและสถานที่ในการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

[1] Pasteurization (2014, June 10). [Online]. Available: http://www.horapa.com/webboard/show.php?No=190 (in Thai).

[2] Pasteurization (2014, June 10). [Online]. Available: http://web.ku.ac.th/schoolnet/snet4/cell/past.htm (in Thai).

[3] T. Kungsadan, "Food preservation using high electrical field pulse (HELP) technique," *Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, vol. 21, no. 1, pp. 198–207, 2011 (in Thai).

[4] J. Mosqueda−Melgar, R. M. Raybaudi−Massilia, and O. Martín−Belloso, "Non−thermal pasteur−ization of fruit juices by combining high−intensity pulsed electric fields with natural antimicrobials," I*nnovative Food Science and Engineering Technologies*, vol. 9, pp. 328–340, 2008.

[5] V. Heinz, S. Toepfl, and D. Knorr, "Impact of temperature on lethality and energy efficiency of apple juice pasteurization by pulsed electric fields treatment," *Innovative Food Science and Engineering Technologies*, vol. 4, pp. 167–175, 2003.

[6] M. Gao, J. Tang, R. Villa−Rojas, Y. Wang, and S. Wang "Pasteurization process development for controlling salmonella in in−shell almonds using radio frequency energy," *Journal of Food Engineering*, vol. 104, no. 2, pp. 299–306, 2011.

[7] G. A. Evrendilek, S. Li, W.R. Dantzer, and Q.H. Zhang, "Pulsed electric field processing of beer: Microbial, sensory, and quality analyses," *Journal of Food Science*, vol. 69, no. 8, pp. M228–M232, 2004.

[8] M. Oziemblowski and W. Kopec, "Pulsed Electric Fields (PEF) as an unconventional method of food preservation," *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, vol. 14/55, pp. 31–35, 2005.

[9] K. Miyahara, "Method of and apparatus for producing processed foodstuffs by passing an electric current," U.S. Patent, US4612199 A, 1986.

[10] E. Ortega−Rivas, E. Zárate−Rodríguez, and G.V. Barbosa−Cánovas "Apple juice pasteurization using ultrafiltration and pulsed electric fields," *Food and Bioproducts Processing*, vol. 76, no. 4, pp. 193–198, 1998.

[11] S. Jeyamkondan, D.S. Jayas, and R.A. Holley, "Pulsed electric field processing of foods: A review," *Journal of Food Products Marketing*, vol. 62, pp. 1088–1096, 1999.

[12] R.W. Childers, J.R. Rickloff, T.J. Mielnik, and K.J. Klobusnik, "Sterilization apparatus and method for multicomponent sterilant," U.S. Patent, US5492672A, 1984.

[13] Q. Zhang, B. L. Qin, G. V. Barbosa−Canovas, B. G. Swanson, and P. D. Pedrow, "Batch mode food treatment using pulsed electric fields," U.S. Patent, US5549041A, 1996.

[14] K. M. Addeo, "Process for the use of pulsed electric fields coupled with rotational retorting in processing meals ready to eat (MRE)," U.S. Patent, US6083544A, 2000.

[15] B. L. Qin, G. V. Barbosa−Canovas, B. G. Swanson, P. D. Pedrow, R. G. Olsen, and Q. Zhang, "Continuous flow electrical treatment of flowable food products," U.S. Patent, US5776529A, 1998.

[16] Y. Yin, Q. H. Zhang, and S. K. Sastry, "Device for the inactivation of bacterial spores," U.S. Patent, US5690978A, 1997.

[17] P. Sen−in, P. Pinchai, O. Chaekoe, A. Yawootti, and P. Intra, "Design of a pulsed electric field

treatment chamber for a liquid foods pasteurization process," *King Mongkut's University of Technology Thonburi Research and Development Journal*, vol. 35, no. 2, pp. 253–267, 2012 (in Thai).

[18] V. Panyamuangjai, S. Janthara, R. Kusuya, A. Yawootti, and P. Intra, "Application of pulsed electric field for milk pasteurization," *King Mongkut's University of Technology Thonburi Research and Development Journal,* vol. 35, no. 4, pp. 469–484, 2012 (in Thai).

[19] G. V. Barbosa–canovas, U.R. Pothakamury, E. Palou, and B.G. Swanson, *Non−thermal Preservation of Food*, New York: Marcel Dekker, 1998.

[20] Diversified Technologies' PEF Pasteurization System Eliminates Use of Heat and Chemicals (2014, June 10). [Online].Available: http://www.marketwire.com/press−release/diversified−technologies−pef−pasteurization−system−eliminates−use−heat−chemicals−1644854.htm

[21] P. Intra, P. Manopian, C. Pengmanee, A. Yawootti, V. Asanavijit, and N. Somsri, "Inactivation of E. coli for milk tea pasteurization by pulsed electric field," *Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok*, vol. 25, pp. 425–437, 2015 (in Thai).

[22] The Roster of Certified Community Standard (2014, June 10). [Online]. Available: http://app.tisi.go.th/otop/namelist/certified.html (in Thai).