การยับยั้งเชื้อ *E. coli* สำหรับการพาสเจอร์ไรซ์ชานมโดยสนามไฟฟ้าพัลส์

พานิช อินต๊ะ*
รองศาสตราจารย์ วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เชียงใหม่
อาทิตย์ ยาวุฑฒิ และ วิสูตร อาสนวิจิตร
อาจารย์ วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เชียงใหม่
พิชยากร มะโนเพียร และ ชัยอานันต์ เป็งมณี
นักศึกษา วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เชียงใหม่
นิอร โฉมศรี
อาจารย์ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ลำปาง

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 08-9755-1985 อีเมล: panich_intra@yahoo.com
รับเมื่อ 8 ธันวาคม 2557 ตอบรับเมื่อ 27 พฤษภาคม 2558 เผยแพร่ออนไลน์ 15 กรกฎาคม 2558
DOI: 10.14416/j.kmutnb.2015.05.005 © 2015 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาความเป็นไปได้ ออกแบบและสร้างระบบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์เครื่องดื่มอุตสาหกรรม ระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วย แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์ ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ และระบบการไหลของของไหล การทำงานของระบบจะเริ่มต้นโดยการใช้ปั๊มไหลเวียนเครื่องดื่มจากถังเก็บผลผลิต เข้าสู่ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนแกนร่วม และที่ขั้วอิเล็กโทรดด้านในจะถูกจ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสตรงแบบพัลส์เพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงภายในห้องยับยั้งเชื้อประมาณ 20 kV/cm ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหารเหลวหรือเครื่องดื่มที่ผ่านเข้าไปในห้องยับยั้งเชื้อถูกทำลายด้วยกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชัน หลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อแล้วเครื่องดื่มจะถูกนำไปเก็บไว้ในถังเก็บผลผลิต ในการศึกษานี้ได้ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในชานมแบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องผ่านห้องยับยั้งเชื้ออาหารเหลว ซึ่งจากการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มสนามไฟฟ้าและจำนวนพัลส์เพิ่มขึ้น การเพิ่มอัตราการไหลของชานมมีผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลง โดยอุณหภูมิของชานมเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อ 2–3°C จากอุณหภูมิของชานมก่อนเข้าห้องยับยั้งเชื้อ โดยการลดลงของเชื้อ *E. coli* ในชานมหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์มากสุดคือ 1.64 log CFU/mL ที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 30 นาที

คำสำคัญ: สนามไฟฟ้าพัลส์ จุลินทรีย์ การพาสเจอร์ไรซ์ เครื่องดื่ม ชานม

การอ้างอิงบทความ: พานิช อินต๊ะ, อาทิตย์ ยาวุฑฒิ, วิสูตร อาสนวิจิตร, พิชยากร มะโนเพียร, ชัยอานันต์ เป็งมณี และ นิอร โฉมศรี, "การยับยั้งเชื้อ *E. coli* สำหรับการพาสเจอร์ไรซ์ชานมโดยสนามไฟฟ้าพัลส์," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 25, ฉบับที่ 3, หน้า 425–437, ก.ย.–ธ.ค. 2558. http://dx.doi.org/10.14416/j.kmutnb.2015.05.005

Inactivation of *E. coli* in Milk Tea Undergoing Pulsed Electric Field Pasteurization

Panich Intra
Associate Professor, College of Integrated Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand

Artit Yawootti and Visut Asanavijit
Lecturer, College of Integrated Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand

Pichayakorn Manopian and Chaiarnan Pengmanee
Student, College of Integrated Science and Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Chiang Mai, Thailand

Niorn Somsri
Lecturer, Institute of Agricultural Technology, Rajamangala University of Technology Lanna, Muang, Lampang, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 08-9755-1985, E-mail: panich_intra@yahoo.com
Received 8 December 2014; Accepted 27 May 2015; Published online: 15 July 2015
DOI: 10.14416/j.kmutnb.2015.05.005 © 2015 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

The aim of this study was to investigate the feasibility, design and construct a microorganisms inactivation system by pulsed electric field for industrial beverage pasteurization processes. The microorganism inactivation system consists of the DC pulsed high voltage power supply, the treatment chamber and the fluid flow system. The system is operated by using a pump to recirculate the beverage from the product tank into the coaxial treatment chamber of which the inner electrode is supplied with the DC pulsed voltage while the outer electrode is grounded in order to create the high pulsed electric field strength (20 kV/cm) inside this chamber. This electric field brings about the inactivation of microorganisms in the beverage inside the chamber by electroporation process. After the inactivation process, the treated beverage is pumped into the storage tank. In this study, the developed system was tested for the efficiency of *E. coli* inactivation with milk tea in a continuous recirculation system through liquid diet inactivation chamber. It was shown that the higher pulsed electric field and higher number of pulses resulted in higher inactivation efficiency. Increase in the flow rate of the milk tea resulted in the decrease in the inactivation efficiency. After the treatment, the milk tea temperature increased by about 2–3°C. Finally, the reduction of *E. coli* in the milk tea was found to be about 1.64 log CFU/mL with the treatment time of 30 min.

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

Please cite this article as: P. Intra, A. Yawootti, V. Asanavijit, P. Manopian, C. Pengmanee and N. Somsri, "Inactivation of *E. coli* in Milk Tea Undergoing Pulsed Electric Field Pasteurization," *J. KMUTNB*, Vol. 25, No. 3, pp. 425–437, Sep.–Dec. 2015 (in Thai). http://dx.doi.org/10.14416/j.kmutnb.2015.05.005

1. บทนำ

การยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวหรือเครื่องดื่มด้วยความร้อนเพื่อทำลายเอนไซม์ต่าง ๆ และทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้เก็บไว้ได้นานขึ้น ส่วนใหญ่นิยมใช้วิธีการพาสเจอร์ไรซ์ (Pasteurization) และการสเตอริไรซ์ (Sterilization) โดยการพาสเจอร์ไรซ์เป็นการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิระหว่าง 60–80°C ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บางส่วนและยับยั้งการทำงานที่ไม่พึงประสงค์ของเอนไซม์ แต่การพาสเจอร์ไรซ์จะสามารถรักษาคุณลักษณะของอาหาร รวมถึงยังสามารถรักษาสารอาหารไว้ได้ ซึ่งการพาสเจอร์ไรซ์แบ่งออกได้เป็น 2 วิธี คือ การพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้ความร้อนต่ำ - เวลานาน (LTLT: Low Temperature - Long Time) และการพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้ความร้อนสูง-เวลาสั้น [1] ส่วนการสเตอริไรซ์เป็นการยับยั้งเชื้อโดยใช้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 100°C ในเวลาที่เหมาะสม อาหารที่ทำการสเตอริไรซ์แล้วสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องหรือต่ำกว่า 45°C [2]

จากวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้วนั้นจะเห็นว่าเป็นระบบที่ใช้ความร้อนเป็นตัวกลางในการยับยั้งเชื้อ ซึ่งหากใช้ความร้อนในกระบวนการสูงเกินไป ความร้อนจะไปทำลายวิตามินหรือคุณค่าทางโภชนาการ นอกจากนี้ระบบดังกล่าวยังประกอบด้วยส่วนประกอบต่าง ๆ มากมาย ทั้งในส่วนการเก็บ การลำเลียง และการยับยั้งเชื้อ ทั้งยังมีขั้นตอนการผลิตที่ค่อนข้างซับซ้อน เป็นเหตุให้สิ้นเปลืองเวลาที่ใช้ในกระบวนการยับยั้งเชื้อและพลังงานที่ใช้ในการทำงานของระบบ ไม่ว่าจะเป็นพลังงานจากไฟฟ้าหรือจากน้ำมันเชื้อเพลิง รวมทั้งอุปกรณ์บางชิ้นส่วนที่ต้องมีการนำเข้าจากต่างประเทศ เพื่อให้ระบบการยับยั้งเชื้อมีคุณภาพและตรงตามมาตรฐานสากล ซึ่งเป็นที่แน่นอนว่าการนำเข้าของอุปกรณ์แต่ละชนิดต้องมีราคาสูง ตลอดจนมีความยุ่งยากในเรื่องการบำรุงรักษา ในกรณีที่การทำงานของเครื่องจักรหรือชิ้นส่วนของอุปกรณ์เกิดการชำรุด ดังนั้น

ระบบการพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้พลังงานต่ำด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ (Pulsed Electric Field) จึงเป็นวิธีการที่สามารถแก้ไขปัญหาการใช้พลังงานและความซับซ้อนของระบบดังกล่าวได้ รวมถึงการประหยัดเวลาในการยับยั้งเชื้อ (น้อยกว่า 1 วินาที) จึงทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำประมาณ 0.9–2.1 บาทต่อลิตร และใช้พลังงานน้อยประมาณ 10^1–10^4 J/kg และการรักษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหารด้วย ตารางที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการยับยั้งเชื้อในแต่ละวิธี [3]

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียของการยับยั้งเชื้อในแต่ละวิธี

วิธีการยับยั้งเชื้อ	ข้อดี	ข้อเสีย
ความร้อน	- ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค - รักษาคุณสมบัติให้เหมือนอาหารสด	- ใช้ระยะเวลานาน - ระบบมีความยุ่งยาก - ความร้อนอาจทำลายคุณค่าทางโภชนาการบางชนิดของผลิตภัณฑ์ได้
คลื่นวิทยุ	- เทคโนโลยีใหม่ที่ไม่ใช้ความร้อน - ใช้ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อสั้น - คงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร	- ต้นทุนสูง - การสร้างระบบสร้างได้ยาก - อันตรายจากคลื่น - ไม่ค่อยเป็นที่ยอมรับ
ไมโครเวฟ	- เทคโนโลยีใหม่ที่เปลี่ยนคลื่นให้เป็นพลังงานความร้อน - ใช้ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อสั้น - ไม่ทำให้โครงสร้างอาหารเปลี่ยนรูป - คงคุณค่าทางโภชนาการ	- ต้นทุนสูง - อันตรายจากคลื่น - อาจเกิดความร้อนไม่สม่ำเสมอ - เกิดสีน้ำตาลบนผิวหน้าของผลิตภัณฑ์
สนามไฟฟ้าพัลส์	- ประหยัดพลังงาน - อาหารยังคงมีรสชาติ คุณค่าทางโภชนาการ สีกลิ่น และรสชาติเหมือนก่อนที่จะผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์	- ต้นทุนสูง

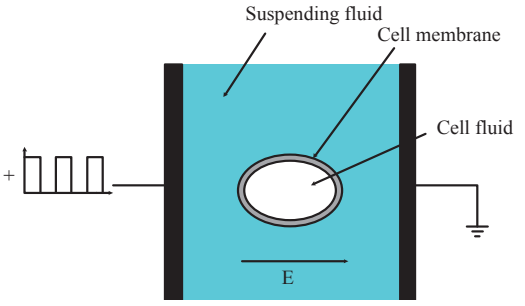
การยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยไม่ใช้ความร้อน จึงไม่ทำลายคุณลักษณะของอาหารตลอดจนโภชนาการของอาหารไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยการยับยั้งเชื้อด้วยสนามไฟฟ้าแรงดันสูงเป็นจังหวะแบบพัลส์เป็นเทคนิคการใช้กระแสไฟฟ้าที่มีความเข้มของสนามไฟฟ้าสูง [4] ผ่านขั้วอิเล็กโตรดที่สัมผัสกับอาหารโดยตรง กระแสไฟฟ้าจะทำให้เกิดการเหนี่ยวนำบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จนกระแสไฟฟ้ามีความเข้มมากทำให้เยื่อหุ้มเซลล์แตกจากการเกิดรูพรุน จนทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อจึงสั้นมาก ซึ่งทำให้ประหยัดเวลาและไม่ทำให้อาหารสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการดังเช่นระบบการยับยั้งเชื้อในอาหารระบบเดิม อีกทั้งมีขั้นตอนกระบวนการที่ไม่ยุ่งยากและไม่ซับซ้อน จากการสืบค้นงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและการตรวจสอบทรัพย์สินทางปัญญาและสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้องทั้งในและต่างประเทศพบว่ามีการพัฒนาระบบดังกล่าวอย่างต่อเนื่องและมีการผลิตเพื่อเชิงพาณิชย์กันอย่างกว้างขวางทั้งระดับห้องปฏิบัติการและอุตสาหกรรม [4]–[16] เช่น Mosqueda-Melgar *et al*. [4] ได้ศึกษาเกี่ยวกับการพาสเจอร์ไรซ์แบบไม่ใช้ความร้อนแต่ใช้ความเข้มสนามไฟฟ้าสูงแบบพัลส์สำหรับการต้านจุลชีพตามธรรมชาติ โดยผลของความเข้มสนามไฟฟ้าสูงแบบพัลส์ (Hi Pulsed Electric Field: HIPEF) ในการตรวจสอบจำนวนเชื้อ *S. enteritidis* และ *E. coli* ที่มีในน้ำแอปเปิ้ล น้ำลูกแพร์ น้ำส้มและน้ำสตอเบอรี่ ตรวจสอบอิทธิพลจากการใช้ เวลาและความถี่ เพื่อดูจำนวนเชื้อที่เหลือผสมกรดซิตริกหรือน้ำมันเปลือกอบเชย พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลมากต่อเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้เมื่อฆ่าเชื้อด้วย HIPEF วิเคราะห์ *S. enteritidis* และ *E. coli* ลดลงมากกว่า 5 log10 ขณะที่น้ำสตอเบอรี่ น้ำแอปเปิ้ลและน้ำลูกแพร์เมื่อฆ่าเชื้อด้วย HIPEF ร่วมกับกรดซิตริกเชื้อจะลดลง 0.5%, 1.5% และ 1.5% ตามลำดับ และเมื่อฆ่าเชื้อด้วย HIPEF ร่วมกับน้ำมันเปลือกอบเชย เชื้อจะลดลง 0.05%, 0.1% และ 0.1% ตามลำดับ Heinz *et al*. [5] ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิที่สัมพันธ์กับอัตราการตายจากการพาสเจอร์ไรซ์น้ำแอปเปิ้ล โดยใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์โดยประยุกต์ หลักการใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ (Pulsed Electric) สำหรับการพาสเจอร์ไรซ์น้ำแอปเปิ้ลเพื่อกำจัดเชื้อ *E. coli* โดยผลการทำงานร่วมกับอุณหภูมิที่ 35–36°C สามารถยับยั้งปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงจาก 100 ให้น้อยกว่า 40 kJ/kg ตรวจสอบการฆ่าเชื้อโดยดูจากอัตราการตายที่ลดลงใน 6 log Cycles ตามกราฟแสดงอัตราการตายแล้วเปรียบเทียบกับการพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้ความร้อน ซึ่งพบว่า การพาสเจอร์ไรซ์แบบใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเชื้อได้ดี และผลิตภัณฑ์ที่ได้เหมือนอาหารสด ยังสามารถลดการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการได้อีกด้วย Gao *et al*. [6] ได้ศึกษาเรื่องการพัฒนากระบวนการพาสเจอร์ไรซ์สำหรับการควบคุมเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในเปลือกอัลมอนด์ โดยการใช้พลังงานคลื่นความถี่วิทยุพบว่าคลื่นความถี่วิทยุ (Radio Frequency, RF) เป็นวิธีการที่มีศักยภาพและควบคุมเชื้อ *S. enteritidis* ในอัลมอนด์ที่ไม่ก่อให้เกิดการสูญเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์มากมาย โดยความร้อนจะทำให้ความต้านทานของเชื้อ *S. enteritidis* ลดลง การฆ่าเชื้อ RF ที่ออกแบบมาควรมีการเพิ่มความชื้นใช้คลื่น 27 MHz และ 6 kW ใช้ความร้อนอย่างรวดเร็ว 1.7 kg ล้างเปลือกในอากาศร้อน 55°C สำหรับการอบแห้งและการระบายความร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อโดย RF นาน 20 min สามารถลดความชื้นลง 5.7% กรดไขมันและสีเมล็ดของอัลมอนด์ได้ตามเกณฑ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานอุตสาหกรรมถั่ว Evrendilek *et al*. [7] ได้ศึกษาเรื่องสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ในเบียร์และวิเคราะห์คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์และประสาทสัมผัส พบว่า 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 พบว่าจากการศึกษาเทคโนโลยีสามารถนำมาใช้ในการฆ่าเชื้ออาหารหรือใช้ในการบรรจุภัณฑ์ ฯลฯ เช่น เทคโนโลยีการฉายรังสี การใช้แรงดันสูง พัลส์ความเข้มสูง และสนามแม่เหล็ก แต่การศึกษาส่วนใหญ่จะเน้นในเรื่อง เทคโนโลยีความดันสูง (HHP) และเทคโนโลยีสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ โดยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์ เป็นเทคโนโลยีใหม่ที่สามารถฆ่าเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังการฆ่าเชื้อจะยังรักษาอาหารและวิตามินให้คงอยู่สูงรวมถึงยังคงคุณค่าทางประสาทสัมผัสสูง แต่อาจไม่สามารถยับยั้งสปอร์ของเชื้อไว้ได้หมดและควรอยู่ใต้สภาวะการตรวจสอบควบคุมจากผู้เชี่ยวชาญ Miyahara [9] ได้ทำการศึกษา วิธีการและอุปกรณ์สำหรับการผลิตอาหารโดยให้กระแสไฟฟ้าผ่านไปยังอาหารรวมทั้งภาชนะบรรจุของวัสดุฉนวนที่เปิดในด้านตรงข้ามสำหรับการรับอาหาร อิเล็กโทรดตั้งอยู่ด้านตรงข้ามของภาชนะบรรจุ มีขดลวดวงแหวนรอบภาชนะบรรจุ เป็นขดลวดกระแสไฟฟ้า เพื่อให้ความร้อนรักษาและฆ่าเชื้อในอาหาร 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 เป็นอย่างดี เป็น 0, 10, 20, 30, 40, 50 และ 60% สำหรับเมมเบรน 50,000 Daltons) ในแง่ของการพัลส์ซึ่งทดลองสนามไฟฟ้า ความแรงของสนามไฟฟ้า (50, 58 และ 66 kV/cm ± 1) และจำนวนของพัลส์ (2, 4, 8 และ 16) ปัจจัยที่ถูกตรวจสอบการตอบสนองปัจจัยเหล่านี้ได้รับการประเมินสำหรับการหาจุลินทรีย์คือนับแผ่นแอโรบิก ยีสต์และเชื้อรา แบคทีเรีย Acid Uric และคุณลักษณะที่มีคุณภาพ เช่น pH ความเป็นกรดของแข็งที่ละลายน้ำและสี (Dalton คือ หน่วยมวลอะตอม) Jeyamkondan *et al*. [11] ได้ศึกษาเรื่องการพาสเจอร์ไรซ์อาหารเหลวโดยใช้สนามไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์พบว่าการใช้สนามไฟฟ้าแบบพัลส์เป็นการพาสเจอร์ไรซ์โดยไม่ใช้ความร้อนเรียกอีกอย่างว่าการพาสเจอร์ไรซ์เย็น ใช้แรงดันไฟฟ้าแบบพัลส์ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์จนแตกส่งผลเซลล์จุลชีพตาย ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อสั้นใช้กับอาหารเหลวได้หลายชนิดและวิธีการนี้ยังมีแนวโน้มเพิ่มการใช้มากยิ่งขึ้น Geren [12] ได้ศึกษากระบวนการและเครื่องมือสำหรับการทำลายจุลินทรีย์จำนวนมากในแหล่งกำเนิดโดยการป้อนไฟฟ้ากระแสสลับแบบพัลส์ที่มีความหนาแน่นสูงในระยะเวลาสั้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งโครงสร้างของเซลล์ที่มีจำนวนมากจะไม่ถูกทำลายและอุณหภูมิที่ใช้อยู่ในระดับที่สูงกว่าที่จะประเมินค่าได้ แต่ปัจจุบันได้มีการลำเลียงอิเล็กโตรดไปยังจุลินทรีย์โดยการนำไปแช่/จุ่ม ซึ่งจะทำให้จุลินทรีย์จำนวนมากในอิเล็กโตรดอ่อนแอลง พัลส์ที่ใช้เกิดขึ้นโดยเฟสการควบคุมแบบทรานซิสเตอร์

แต่เนื่องจากระบบดังกล่าวมีราคาสูงหลายล้านบาท จึงทำให้มีการศึกษาค่อนข้างน้อยในประเทศไทย โดยนิติพงษ์และคณะ [17] ได้พัฒนาวงจรกำเนิดพัลส์แรงดันไฟฟ้าสำหรับการสร้างสนามไฟฟ้าพัลส์ความถี่ 10 กิโลเฮิร์ทซ์สำหรับการพาสเจอร์ไรซ์อาหารเหลว ซึ่งสามารถปรับเพิ่มแรงดันได้สามระดับ คือจาก 24 V เป็น 300 V และ 5,000 V ซึ่งมีข้อจำกัดคือ ภายในห้องยับยั้งเชื้อไม่มีความสม่ำเสมอในการกระจายตัวของสนามไฟฟ้า ทำให้โอกาสที่จุลินทรีย์จะตายทั้งหมดมีน้อย ต่อมา วิกานดา และคณะ [18] ได้นำเสนอการประยุกต์ใช้สนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนม โดยได้ทำการพัฒนาระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนมด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์ในระดับห้อง

ปฏิบัติการที่ประกอบด้วย แหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงแบบพัลส์ ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ระบบการไหลของของไหล โดยน้ำนมจะถูกลำเลียงจากถังบรรจุน้ำนมเข้าสู่ห้องยับยั้งเชื้อที่อัตราการไหล 2 L/min ซึ่งเป็นพื้นที่ที่มีการสร้างสนามไฟฟ้าพัลส์ที่ความเข้มสูง 55.3 kV/cm โดยอาหารเหลวจะไหลผ่านระหว่างขั้วอิเล็กโทรดที่ถูกจ่ายแรงดันไฟฟ้าแบบพัลส์ 30 kV ที่ความถี่ 10 kHz โดยได้ทำการทดสอบการทำงานเบื้องต้นของระบบด้วยน้ำนมไขมันต่ำที่ผ่านการยับยั้งเชื้อแล้วผสมกับเชื้อ *E. coli* ซึ่งจากการทดสอบพบว่าเชื้อ *E. coli* มีการลดลงจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นจาก 3.28×10^5 CFU/mL ไปเป็น 1.09×10^4 CFU/mL ที่ระยะเวลาที่น้ำนมไหลหมุนเวียนในห้องยับยั้งเชื้อประมาณ 30 นาที โดยน้ำนมจะมีอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อ 2–3°C จากอุณหภูมิของน้ำนมก่อนเข้าห้องยับยั้งเชื้อและระบบมีการใช้พลังงานทั้งหมดเท่ากับ 2.73×10^4 J/ kg อย่างไรก็ตาม เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพการยับยั้งสูงขึ้นและจากข้อจำกัดของผลงานวิจัยที่ผ่านมา จึงจำเป็นต้องมีปรับปรุงการศึกษาคุณลักษณะทางไฟฟ้าของห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อให้ดียิ่งขึ้น และควรมีการทดสอบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในของเหลวชนิดอื่นด้วย ซึ่งอาจจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไป เช่น น้ำโกโก้ น้ำชา น้ำส้มสายชู น้ำผลไม้ หรือน้ำผลไม้ที่มีเกล็ดเนื้อผสมอยู่ด้วย รวมทั้งการพัฒนาระบบป้องกันอันตรายจากแรงดันสูงเพื่อความปลอดภัยต่อผู้ใช้ด้วย

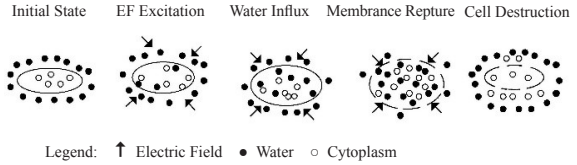
ดังนั้น โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้และสร้างต้นแบบของระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มอุตสาหกรรมโดยใช้สนามไฟฟ้าพัลส์พลังงานต่ำระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้เครื่องมือ วัสดุอุปกรณ์ และระบบควบคุม ที่สามารถพัฒนาและหาได้ภายในประเทศ ทดแทนชิ้นส่วนจากต่างประเทศและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค จะช่วยลดการใช้พลังงานในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มพาสเจอร์ไรซ์ รวมไปถึงลดต้นทุนการผลิต ลดการใช้ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ และในการศึกษานี้จะนำร่องโดยนำไปทดสอบการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในซานมก่อนและหลังจากนั้นจะมีการขยายผลไปยังหน่วยงานที่ให้ความร่วมมือ เช่น บริษัท ผึ้งน้อยเบเกอรี่ จำกัด และบริษัท เฮลตี้ บี จำกัด



รูปที่ 1 หลักการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์

2. หลักการยับยั้งเชื้อในอาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์

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



รูปที่ 2 ลำดับขั้นของกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันที่เกิดขึ้นกับเซลล์ของจุลลินทรีย์ [19]

หุ้มเซลล์ รูพรุนดังกล่าวจะนำไปสู่กระบวนการตายของเซลล์ (Programmed Cell Death) ซึ่งมีสองลักษณะคือ อะพอพโตสิส (Apoptosis) และเน็คโคสิส (Necrosis) โดยลำดับขั้นของกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันที่เกิดขึ้นกับเซลล์ของจุลลินทรีย์แสดงไว้ในรูปที่ 2 โดยแรงดันไฟฟ้าที่ตกคร่อมเยื่อหุ้มเซลล์สามารถคำนวณได้จาก [18]

$$V_{cell} = fr_{cell} E_{cell} \quad (1)$$

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

ตารางที่ 2 ขนาดของเซลล์แรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่ตกคร่อมเยื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลลินทรีย์ [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. momocytogenes1	0.76	1.7	0.99
C. albicans	4.15	-	2.63

ตารางที่ 2 แสดงขนาดของเซลล์และแรงดันไฟฟ้าสูงสุดที่ตกคร่อมเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์เกิดรูพรุนจะทำให้เกิดการถ่ายเทระหว่างของเหลวภายนอกเซลล์กับไซโทพลาซึม (Cytroplasm) ซึ่งเป็นของเหลวภายในเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดการขยายตัวเพิ่มขึ้นและนำไปสู่การเบรกดาวน์ของเยื่อหุ้มเซลล์การเกิดรูพรุนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์อันเนื่องมาจากความเครียดสนามไฟฟ้า รูพรุนที่เกิดขึ้นต้องมีขนาดใหญ่พอที่จะนำไปสู่การตายของเซลล์โดยลักษณะของการเกิดรูพรุนที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ รูพรุนแบบไฮโดรฟิลิก (Hydrophilic) และไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) โดยพลังงานที่ใช้ในกระบวนการจะขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย อาทิเช่น ความนำไฟฟ้า อัตราการไหลของอาหารเหลว และความเข้มสนามไฟฟ้า ซึ่งในทางทฤษฎีสามารถคำนวณกำลังไฟฟ้าสูงสุด (P_{max}) ที่ใช้ในการสร้างพัลส์สนามไฟฟ้าของห้องยับยั้งเชื้อได้จากสมการ [14]

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

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

$$k = \frac{L}{D} \quad (3)$$

สำหรับห้องยับยั้งเชื้อที่มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนแกนร่วม (Coaxial Treatment Chambers) ค่าความเครียดสนามไฟฟ้าสามารถหาได้จาก [20]

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

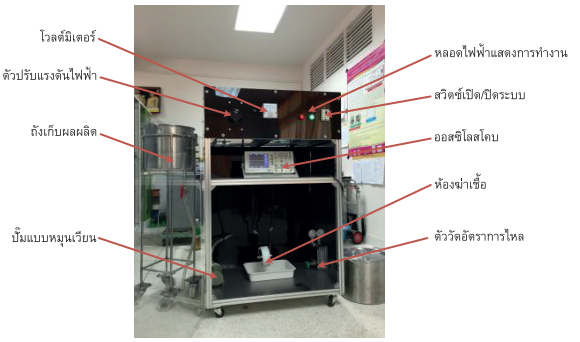
เมื่อ V คือแรงดันไฟฟ้าที่จ่ายให้กับขั้วอิเล็กโทรดของห้องยับยั้งเชื้อ
r คือระยะรัศมี
r_1 และ r_2 คือระยะรัศมีของขั้วอิเล็กโทรดด้านในและด้านนอก

3. ระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มสำหรับอุตสาหกรรม

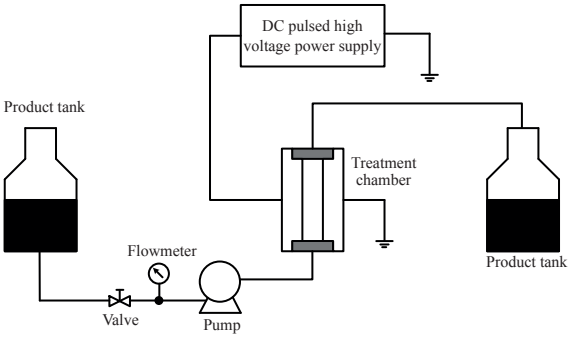
ในงานวิจัยนี้ได้ออกแบบและสร้างระบบการยับยั้งเชื้อจุลลินทรีย์ในเครื่องดื่มด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ที่ใช้พลังงานต่ำที่เหมาะสมต่อการทำงานระดับห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานภายในประเทศ และลดการพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศ ดังนั้น เพื่อให้บรรลุเป้าหมายที่ตั้งไว้ห้องยับยั้งเชื้อฯที่ออกแบบนั้นจะต้องสามารถกำจัดเชื้อจุลชีพในอาหารเหลวที่ทำให้เกิดโรคคือ *E. coli* และเชื้อจุลชีพพื้นฐานจาก

กระบวนการอิเล็กโทรโพเรชันที่ได้กล่าวมาในข้างต้น กระบวนการตายของเซลล์เชื้อจุลชีพจะต้องมีค่าความเข้มของสนามไฟฟ้าภายในห้องยับยั้งเชื้อจะต้องมีค่ามากกว่า 25 kV/cm และมีลักษณะเป็นพัลส์ในช่วง (Pulse Duration) 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 ต้นแบบถูกออกแบบโครงสร้างให้ไม่ซับซ้อน มีจำนวนชิ้นส่วนประกอบน้อย จึงทำให้สามารถถอดล้างทำความสะอาดและประกอบและติดตั้งได้ง่าย และมีราคาต้นทุนในการสร้างถูก และนอกจากนี้ห้องยับยั้งเชื้อที่ออกแบบจะต้องมีความปลอดภัยในการใช้งานและมีการบำรุงรักษาต่ำ

โดยอันตรายอันดับแรกจะเกิดขึ้นจากห้องยับยั้งเชื้อฯ คือไฟฟ้าแรงสูง (High Voltage) ที่จ่ายให้กับขั้วอิเล็กโทรดที่อยู่ด้านในเพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่มีความเครียดสูง ซึ่งอันตรายจากไฟฟ้าแรงสูงสามารถทำให้ลดลงได้โดยทำการฉนวนไฟฟ้าทั้งสายไฟฟ้าแรงสูงและจุดที่มีการเชื่อมต่อกัน การแยกอุปกรณ์ไฟฟ้าแรงสูงใดๆ ออกจากกันและการใช้วัสดุฉนวนที่มีความเป็นฉนวนไฟฟ้าเพียงพอเพื่อป้องกันการเกิดประกายไฟฟ้าและการลัดวงจรไฟฟ้าในขณะปฏิบัติงาน และยังมีการป้องกันการแพร่กระจายของ



(ก) รูปถ่ายเครื่องต้นแบบ



(ข) แผนภาพการทำงาน

รูปที่ 3 ต้นแบบระบบยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มฯ พัลส์ที่พัฒนาขึ้น

สนามไฟฟ้าและสนามแม่เหล็กอื่นจากระบบสู่ผู้ปฏิบัติงานด้วยลูกกรงฟาราเดย์ (Faraday Cage) และระบบกราวด์ที่โครงสร้างของเครื่องต้นแบบฯ

รูปที่ 3 แสดงต้นแบบระบบยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มพัลส์ที่จะพัฒนาขึ้น โดยระบบที่พัฒนาขึ้นจะประกอบด้วยแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงพัลส์ (DC Pulsed High Voltage Power Supply) ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Treatment Chamber) และระบบการไหลของของไหล (Fluid Flow System) การทำงานของระบบจะเริ่มต้นโดยการใช้ปั๊มไหลเวียนเครื่องดื่มจากถังเก็บผลผลิต (Product Tank) เข้าสู่ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนแกนร่วมและที่ขั้วอิเล็กโทรดด้านในจะถูกจ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสตรงแบบพัลส์เพื่อสร้างสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงภายในห้องยับยั้งเชื้อฯ ประมาณ

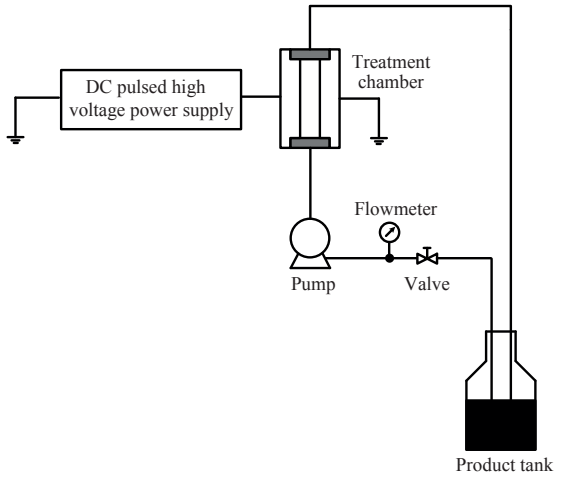
20 kV/cm ส่งผลให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในอาหารเหลวหรือเครื่องดื่มที่ผ่านเข้าไปในห้องยับยั้งเชื้อถูกทำลายด้วยกระบวนการอิเล็กโตรโพเรชันและหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อแล้วเครื่องดื่มจะถูกนำไปเก็บไว้ในถังเก็บผลผลิต ตารางที่ 3 แสดงสมบัติของระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่พัฒนาขึ้น

ตารางที่ 3 คุณสมบัติของระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ฯ ที่พัฒนาขึ้น

เงื่อนไขในการออกแบบ	คุณสมบัติ
ขนาด	ระดับห้องปฏิบัติการ
ชนิดของอาหารเหลว	น้ำโกโก้ น้ำชา และน้ำส้มสายชู
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 กำลังการผลิต	1–5 L/min 50–200 L/hr
ขนาดมิติของห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	ห้องยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์จะมีลักษณะเป็นท่อทรงกระบอกซ้อนแกนร่วมที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อทรงกระบอกด้านในและนอกเท่ากับ 10 mm และ 25 mm ตามลำดับ
การซ่อมบำรุง	สามารถถอดล้างทำความสะอาดและติดตั้งได้ง่าย เนื่องจากถูกออกแบบให้มีจำนวนชิ้นส่วนประกอบน้อยชิ้นและไม่ซับซ้อน
ราคาต้นแบบ	60,000 บาท

4. วิธีการทดลอง

รูปที่ 4 แสดงแผนภาพการทดสอบประสิทธิภาพของต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ฯ จะประกอบด้วยถังบรรจุชานมเย็นขนาด 10 ลิตร ทำหน้าที่บรรจุชานมเย็น โดยส่วนผสมของชานมตัวอย่างประกอบด้วยชาผง 400 กรัม น้ำตาลทราย 1,000 กรัม ครีมเทียม 1,000 กรัม ครีมเทียมข้นหวาน ชนิดพร่องไขมัน 2,000 กรัม และผลิตภัณฑ์นม



รูปที่ 4 แผนภาพการทดสอบประสิทธิภาพของต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง

สำหรับปรุงอาหาร 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 และห้องยับยั้งเชื้อทำหน้าที่ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่มีในชานมเย็นโดยจะทำงานร่วมกับแหล่งจ่ายไฟฟ้าแรงดันสูงที่พัฒนาขึ้นจากวงจรเรียงกระแสแบบเต็มคลื่นกับช่องว่างหมุนจุดประกาย (Rotating Spark Gap) ในการศึกษานี้จะการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในชานมเย็นทำโดยใช้แบคทีเรีย *E. coli* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB นำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เตรียมสารแขวนลอยของ *E. coli* ที่มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10^8 CFU/mL เติมในชานมเย็นที่เป็นตัวอย่างในการยับยั้งเชื้อด้วยต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อ โดยทำการทดลองแบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง (Continuous Recirculation) ที่แรงดันพัลส์เท่ากับ 20 kV อัตราพัลส์หรือความถี่เท่ากับ 1 Hz จำนวน 1,000 พัลส์ โดยทำการทดลองซ้ำอย่างน้อย 2 ซ้ำ ตารางที่ 4 แสดงเงื่อนไข

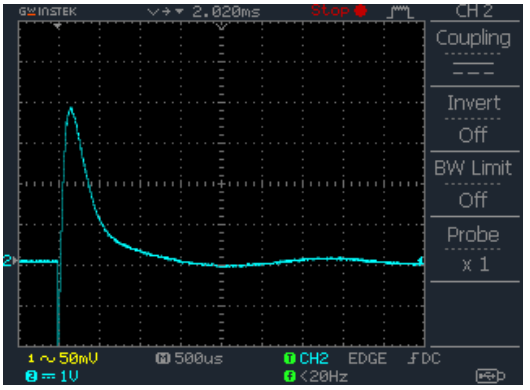
ตารางที่ 4 เงื่อนไขในการทดลองต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

รายละเอียด	ช่วงการทดสอบ
ความกว้างพัลส์	2.5 ms
ความถี่พัลส์	1–2 Hz
จำนวนพัลส์	1000
เวลา	0–30 min
แรงดันพัลส์	20 kV
ความเข้มสนามไฟฟ้า	20 kV/cm
อัตราการไหลของอาหารเหลว	1 L/min

ในการทดลองต้นแบบระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นทำการเก็บตัวอย่างชานมเย็นปริมาณ 10 mL ในหลอดทดลอง นำตัวอย่างที่เก็บมา มาทำการเจือจางและเพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด 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 เพื่อวัดค่า OD A620

5. ผลการวิจัยและอภิปรายผล

รูปที่ 5 แสดงลักษณะของรูปคลื่นแรงดันพัลส์ของแหล่งจ่ายแรงดันพัลส์ที่แรงดันพัลส์ประมาณ 20 kV จำนวนพัลส์ 1 พัลส์ต่อวินาที หรือความถี่ 1 Hz ทำการวัดสัญญาณแรงดันพัลส์ด้วยออสซิลโลสโคปแบบดิจิตอลของ Tektronix โมเดล TDS 210 ผ่านหัววัดไฟฟ้าแรงดันสูง Fluke โมเดล 80K-40 โดยทำการปรับ Volts/Div = 1 V และ Time/Div = 500 µs จากรูปพบว่ารูปคลื่นของแรงดันพัลส์ที่พบมีลักษณะเป็นแบบพัลส์เอกซ์โพเนนเชียลดีเคย์ (Exponential Decay Pulses) มีความกว้างพัลส์ตั้งแต่ค่าสูงสุดไปจนถึงค่าต่ำสุดประมาณ 1,500 µs ตารางที่ 5 แสดงค่าความนำไฟฟ้าและความต้านทานไฟฟ้าของชานม



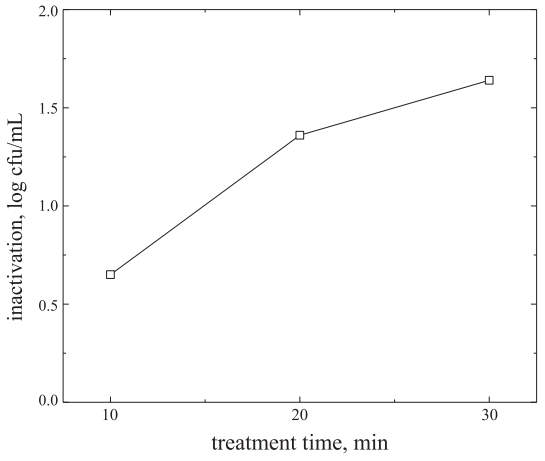
รูปที่ 5 ลักษณะของรูปคลื่นแรงดันพัลส์ของแหล่งจ่ายแรงดันพัลส์

ที่ได้จากการคำนวณหาจากค่ากระแสและแรงดันไฟฟ้าที่วัดได้ โดยทำการจ่ายแรงดันไฟฟ้ากระแสตรง 10 V ให้กับห้องยับยั้งเชื้อแล้วทำการวัดค่ากระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่านห้องยับยั้งเชื้อจะได้กระแสไฟฟ้าเท่ากับ 0.83 A ดังนั้น จะได้ค่าความนำไฟฟ้าของชานมประมาณ 0.083 S/m หรือมีความต้านทานไฟฟ้าเท่ากับ 12.04 Ω

ตารางที่ 5 ค่าความนำไฟฟ้าและความต้านทานไฟฟ้าของชานม

รายละเอียด	ค่าที่วัดได้
กระแสไฟฟ้า	0.83 A
แรงดันไฟฟ้า	10 V
ค่าความนำไฟฟ้า	0.083 S/m
ค่าความต้านทานไฟฟ้า	12.04 Ω

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณเชื้อ *E. coli* ในชานมหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาที กำหนดให้แรงดันพัลส์ 20 kV จำนวนพัลส์ 2 พัลส์ต่อวินาที หรือความถี่ 2 Hz และอัตราการไหล 1 L/min โดยที่เวลา 0 นาที มีปริมาณเชื้อ 7.04 log CFU/mL เมื่อทำการไหลหมุนเวียนชานมผ่านห้องยับยั้งเชื้อที่เวลา 10, 20 และ 30 นาที จะทำให้ปริมาณเชื้อ *E. coli* ลดลงเหลือ 6.43, 5.72 และ 5.43 log CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งการลดลงของเชื้อ *E. coli*



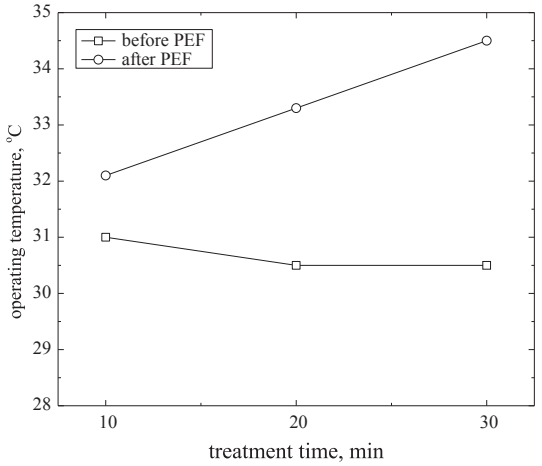
รูปที่ 6 การลดลงของเชื้อ *E. coli* ในชานมเย็นหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องที่ระยะเวลาต่างๆ

ในชานมเย็นหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาทีแสดงดังรูปที่ 6 จากรูปพบว่าการลดลงของเชื้อ *E. coli* ในชานมเย็นหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์ คือ 0.65, 1.35 และ 1.64 log CFU/mL ที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาที ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อขึ้นมีผลในการลดลงของเชื้อ *E. coli* มากขึ้น

ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อ *E. coli* ในชานมหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่องที่ระยะเวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	การลดลงของเชื้อ *E. coli* (log CFU/mL)
0	7.04
10	6.43
20	5.72
30	5.43

รูปที่ 7 แสดงอุณหภูมิของชานมก่อนและหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์แบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง (Continuous Recirculation) ที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาที กำหนดให้แรงดันพัลส์ 20 kV



รูปที่ 7 อุณหภูมิของชานมก่อนและหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์

จำนวนพัลส์ 2 พัลส์ต่อวินาที หรือความถี่ 2 Hz และอัตราการไหล 1 L/min จากรูปพบว่าอุณหภูมิก่อนผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์ของชานมที่เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาที จะอยู่ในช่วง 31, 30.5 และ 30.5°C และอุณหภูมิหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์ของชานมเท่ากับ 32.25, 33.25 และ 34.5°C ที่เวลาในการยับยั้งเชื้อ 10, 20 และ 30 นาที ทำให้ทราบว่าระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของชานมที่ไหลผ่านระบบยับยั้งเชื้อสนามไฟฟ้าพัลส์ หากเพิ่มระยะเวลาการทำงานของระบบอุณหภูมิของชานมจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามไปด้วย

6. สรุป

ในโครงการวิจัยนี้ได้ทำการออกแบบและสร้างระบบการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องดื่มด้วยสนามไฟฟ้าพัลส์สำหรับกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ระดับห้องปฏิบัติการ โดยได้ทำการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ในชานมแบบไหลหมุนเวียนอย่างต่อเนื่อง ซึ่งจากการทดสอบพบว่าประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *E. coli* เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มสนามไฟฟ้าและจำนวนพัลส์เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มอัตราการไหลของชานมมีผลทำให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อลดลง โดยอุณหภูมิของชานมเพิ่มขึ้นหลังจากผ่านห้องยับยั้งเชื้อ 2–3°C จากอุณหภูมิของชานมก่อนเข้าห้องยับยั้งเชื้อ

โดยการลดลงของเชื้อ *E. coli* ในชานมหลังผ่านสนามไฟฟ้าพัลส์มากสุดคือ 1.64 log CFU/mL ที่ระยะเวลาในการยับยั้งเชื้อ 30 นาที

อย่างไรก็ตาม มาตรฐานปฏิบัติการ 5-log Reduction ที่กฎหมายบังคับใช้ในการผลิตอาหารเหลวจะต้องสามารถลดจำนวนของจุลินทรีย์ได้อย่างน้อยถึง 100,000 เท่า (0% หรือเหลืออย่างน้อย 1–2 เซลล์) ภายใต้กฎหมายนี้ 5-log Reduction จะต้องยับยั้งโรคที่เป็นปัญหาอย่างแท้จริงในการผลิตอาหารเหลวจึงจะเป็นที่ยอมรับ ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรมีปรับปรุงแหล่งจ่ายแรงดันพัลส์ให้สามารถจ่ายแรงดันพัลส์ที่ความถี่หรือจำนวนพัลส์ที่สูงขึ้นได้ทำให้จำนวนพัลส์ต่อปริมาตรห้องยับยั้งสูงขึ้น การศึกษาเกี่ยวกับอิทธิพลของความกว้างพัลส์และรูปร่างลักษณะของรูปคลื่นพัลส์ต่อประสิทธิภาพการยับยั้ง และการทดสอบเพิ่มเติมการยับยั้งจุลินทรีย์ในของเหลวชนิดอื่นด้วย ซึ่งอาจจะมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไป เช่น น้ำผลไม้ หรือน้ำผลไม้ที่มีเกล็ดเนื้อผสมอยู่ด้วย

7. กิตติกรรมประกาศ

ผลการวิจัย พัฒนา และวิศวกรรมภายใต้โครงการนี้ได้รับการสนับสนุนจากเงินทุนอุดหนุนโครงการวิจัย พัฒนาและวิศวกรรมเพื่อแก้ไขปัญหาท้องถิ่นของสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เครือข่ายภาคเหนือ ประจำปีงบประมาณ 2556 ขอขอบคุณกลุ่มวิจัยการประยุกต์ใช้ไฟฟ้าสถิตในงานด้านพลังงานและสิ่งแวดล้อม วิทยาลัยเทคโนโลยีและสหวิทยาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนาเอื้อเฟื้ออุปกรณ์เครื่องมือและสถานที่ในการทดสอบทั้งนี้

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 KMUTNB*, vol. 21, No. 1, pp. 198–207, 2011.

[4] J. Mosqueda-Melgar, R. M. Raybaudi-Massilia, and O. Martín-Belloso, "Non-thermal Pasteurization of Fruit Juices by Combining High-intensity Pulsed Electric Fields with Natural Antimicrobials," *Innovative 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, SI 1, 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] D. K. Geren, "Sterilization Apparatus". U.S. Patent, 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," *KMUTT 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," *KMUTT 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