



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผลของการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร
Effect of Pulsed Electric Fields on Oxidation in Foods

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2552
จำนวน 220,000 บาท

หัวหน้าโครงการ กรรพกา อรรถนิตย์
ผู้ร่วมโครงการ เสมอขวัญ ตันติกุล

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
29 เมษายน 2554

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2552 เรื่องผลของการปล๋อยสนามไฟฟ้า เป็นจั้งหะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือ ในการดำเนินการวิจัย

ท้ายที่สุดนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน รวมถึงนักศึกษาผู้ช่วยวิจัยในระดับปริญญาตรีและปริญญาโทของคณะฯ ที่ได้ช่วยเหลือจนทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วง

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญภาพ	ข
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
บทนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการวิจัยและวิจารณ์	16
สรุปผลการวิจัย	31
เอกสารอ้างอิง	32

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	การเกิดรูบนเซลเมมเบรนเนื่องจากการหดตัวเมื่อผ่านสนามไฟฟ้า ความเข้มสูง	7
ภาพที่ 2	ผลของความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชัน ชนิดน้ำมันในน้ำที่มีปริมาณน้ำมัน 33 %	16
ภาพที่ 3	ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์	18
ภาพที่ 4	ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์	19
ภาพที่ 5	ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	20
ภาพที่ 6	ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	21
ภาพที่ 7	ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์	22
ภาพที่ 8	ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์	23
ภาพที่ 9	ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	24
ภาพที่ 10	ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	25
ภาพที่ 11	ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์	26
ภาพที่ 12	ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์	27
ภาพที่ 13	ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	28
ภาพที่ 14	ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์	29

ผลของการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร

Effect of Pulsed Electric Fields on Oxidation in Foods

กรศกา อรรคณิศจ์ และ เสมอขวัญ ตันติกุล

Kornpaka Arkanit and Samerkhwan Tantikul

คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลซิไฟเออร์ที่มีประจุแตกต่างกัน 3 ชนิด เพื่อเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีน้ำมัน 33 % ให้มีความคงตัว พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS ประจุบวก คือ DTAB ไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 เท่ากับ 1.0 1.0 9.0 และ 1.5 % (w/w น้ำมัน) ตามลำดับ ศึกษาผลของกระบวนการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะ ได้แก่ ความเข้มของสนามไฟฟ้า 16 30 43 และ 53 kV/cm และจำนวนครั้งของการปล่อยสนามไฟฟ้า 100 300 และ 500 ครั้ง ต่อการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชัน โดยวิเคราะห์ค่า PV CD และ TBARS พบว่า เมื่อความเข้มหรือจำนวนครั้งเพิ่มขึ้น ทำให้อิมัลชันเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ประจุของอิมัลซิไฟเออร์มีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชัน โดยอิมัลชันที่เกิดออกซิเดชันมากที่สุดคืออิมัลชันที่เตรียมจาก SDS รองลงมาคือ DTAB Brij 35 และ Tween 20 ตามลำดับ

คำสำคัญ: อิมัลชัน อิมัลซิไฟเออร์ การปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะ ออกซิเดชัน

Abstract

The optimum concentrations of anionic sodium dodecyl sulfate (SDS), cationic [dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB)], nonionic (polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate; Tween20), and nonionic (polyoxyethylene (23) lauryl ether; Brij35) surfactants to stabilize oil-in-water emulsions containing 33% (w/w) oil were 1.0, 1.0, 9.0, and 1.5% (w/w oil), respectively. The effect of pulsed electric field (PEF) treatment at 16, 30, 43, and 53 kV/cm with 100, 300, and 500 pulses on the oxidation of oil-in-water emulsions was investigated by peroxide value (PV), conjugated diene (CD), and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). It was found that the higher the intensity or number of pulses, the higher the oxidation which occurred. The charge of emulsifiers affected oxidation reaction in oil-in-water emulsion, with SDS having the highest oxidation followed by DTAB, Brij35, and Tween20, respectively.

Key words: emulsion, emulsifier, pulsed electric fields, oxidation

บทนำ

เทคโนโลยีที่ไม่ใช้ความร้อนเพื่อการถนอมอาหาร (nonthermal technologies) เป็นทางเลือกใหม่ในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสียและจุลินทรีย์ก่อโรคได้ โดยเทคโนโลยีนี้มีข้อได้เปรียบคือสามารถรักษาคุณค่าทางอาหารและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าการใช้ความร้อน (Barbosa-Canovas *et al.*, 1998)

การปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะ (pulsed electric fields, PEF) เป็นเทคโนโลยีที่ไม่ใช้ความร้อนแบบหนึ่ง สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้โดยการปล่อยสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงจนถึงระดับหนึ่ง (critical or threshold value) ที่ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เกิดรู (electroporation) ส่งผลให้ความสามารถในการส่งถ่ายสารของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป เซลล์จุลินทรีย์จึงเสียหายและตายในที่สุด (Lozano *et al.*, 2000)

งานวิจัยที่เกี่ยวกับอิทธิพลของ PEF ต่อคุณภาพของอาหาร มักจำกัดอยู่เพียงขอบเขตของการศึกษาทางด้านกายภาพ เช่น สี กลิ่น ด้านเคมี เช่น ปริมาณวิตามิน ด้านจุลชีววิทยา เช่น ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค (Min and Zhang, 2003) และทางด้านประสาทสัมผัส เช่น รสชาติ เท่านั้น อย่างไรก็ตาม ประจุลบหรืออิเล็กตรอนของสนามไฟฟ้าที่ถูกปล่อยจากเครื่อง อาจมีผลต่อส่วนประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร ส่วนประกอบหลักที่สำคัญอย่างหนึ่ง ได้แก่ ไขมันหรือน้ำมัน ซึ่งสามารถเกิดปฏิกิริยาเคมี โดยเฉพาะออกซิเดชัน ทำให้อาหารเสียคุณภาพ มีกลิ่นหืน และไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคได้ นอกจากนี้ออกซิเดชันยังสามารถเปลี่ยนรูปแบบของกรดไขมันชนิดที่มีความจำเป็นต่อร่างกายในโครงสร้างของโมเลกุลไขมัน ไปเป็นกรดไขมันที่มีโทษต่อร่างกายได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาวิธีการเตรียมอิมัลชันที่มีความคงตัว
2. ศึกษาอิทธิพลของ PEF ต่อการเกิดออกซิเดชันในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์ที่สามารถเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการได้
2. อุตสาหกรรมอาหารสามารถนำความรู้ไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณภาพสูงขึ้นและปลอดภัย สามารถเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและพัฒนาศักยภาพการแข่งขันในเวทีการค้าโลก

การตรวจเอกสาร

1. การปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงเป็นจังหวะ

การปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงเป็นจังหวะ (high intensity pulsed electric field, PEF) เป็นการใช้นสนามไฟฟ้า (electric field) ที่มีความเข้มสูง 20-40 kV/cm ปล่อยเป็นจังหวะที่มีระยะเวลาสั้นๆ เพียง microseconds ถึง milliseconds เพื่อให้ได้ปริมาณหรือระดับในการฆ่าเชื้อตามที่ต้องการ โดยสัมพันธ์กับจำนวนครั้งของการปล่อยสนามไฟฟ้าที่เหมาะสม (กรศภา, 2549)

1.1 การเกิดสนามไฟฟ้า

การเกิดสนามไฟฟ้าจะอาศัยการทำงานของวงจรไฟฟ้า โดยเริ่มต้นจากแหล่งกำเนิดพลังงานส่งกระแสไฟฟ้าไปชาร์จที่คาปาซิเตอร์ เมื่อคาปาซิเตอร์ถูกชาร์จจนถึงระดับที่ต้องการแล้ว สวิตช์จะปิดวงจรทำให้กระแสไฟฟ้าสามารถไหลเข้าไปในส่วนของถังใส่อาหาร (treatment chamber) ที่มีอาหารบรรจุอยู่ได้ การใช้นสนามไฟฟ้าที่มีความเข้มสูงที่ในกระบวนการอาจมีรูปร่างของคลื่นได้หลายรูปแบบ โดยอาจอยู่ในรูปเอกซ์โปเนนเชียล (exponential) สี่เหลี่ยม (square-wave) สลับ (oscillatory) สองขั้ว (bipolar) หรือเปลี่ยนประจุไปมาอย่างรวดเร็ว (instant reverse charge pulses) เป็นต้น ประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ของคลื่นแต่ละรูปแบบจะแตกต่างกัน โดยคลื่นแบบสลับจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์น้อยที่สุด คลื่นแบบสี่เหลี่ยมจะมีการใช้พลังงานได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าคลื่นแบบเอกซ์โปเนนเชียล คลื่นแบบสองขั้วมีประสิทธิภาพดีกว่าแบบขั้วเดียว เนื่องจากสามารถทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เกิดแรงดันได้ดีกว่า การแตกตัวที่เกิดจากสนามไฟฟ้ามากกว่า ใช้พลังงานน้อยกว่า ลดการสะสมของของแข็งที่พื้นผิว อิเล็กโทรด และลดการสลายตัวของอาหารที่เป็นสาเหตุมาจากสนามไฟฟ้า (Qin *et al.*, 1994)

ส่วนประกอบที่สำคัญและซับซ้อนที่สุดในกระบวนการคือ ส่วนของถังใส่อาหาร ที่ประกอบด้วยอิเล็กโทรด 2 ด้าน วางในตำแหน่งที่เป็นฉนวน มีช่องว่างสำหรับใส่อาหารลงไป ระหว่างอิเล็กโทรด ซึ่งอิเล็กโทรดอาจมีรูปร่างเป็นแผ่นพร้อมสายไฟ ทรงกระบอกวางซ้อนกัน แผ่นเป็นแขนง หรืออื่นๆ ซึ่งลักษณะของอิเล็กโทรดเหล่านี้มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Ohshima *et al.*, 1997)

1.2 กลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

จากทฤษฎีความเสียหายเนื่องจากไดอิเล็กทริก (dielectric rupture theory) สนามไฟฟ้าที่อยู่ภายนอกสามารถเหนี่ยวนำทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างไฟฟ้าด้านนอกกับด้านในของเซลล์เมมเบรน โดยความแตกต่างที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า transmembrane potential เมื่อ transmembrane potential มีค่าสูงกว่าค่าวิกฤต หรือค่าศักย์ไฟฟ้าของเซลล์จุลินทรีย์ปกติ (1 V) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงที่เซลล์เมมเบรน โดยทำให้เซลล์เมมเบรนเกิดรู (electroporation) ส่งผลให้คุณสมบัติในการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเซลล์เมมเบรน (cell membrane permeability) เปลี่ยนแปลงไป ทำให้ปล่อยสารต่างๆ ผ่านเข้าออกเซลล์ได้ง่ายขึ้น (Glaser *et al.*, 1988) ซึ่ง threshold transmembrane potential ของเซลล์เมมเบรนนั้น จะขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์และชนิดของตัวกลางที่อยู่รอบเซลล์จุลินทรีย์ (Barbosacanos *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตาม การเกิดรูที่เซลล์เมมเบรนที่เกิดจากสนามไฟฟ้านี้จะเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ หากความเข้มของสนามไฟฟ้าภายนอกที่ใช้ในกระบวนการมีค่าเท่ากับหรือมากกว่าค่าวิกฤตเพียงเล็กน้อย

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยการใช้สนามไฟฟ้าความเข้มสูง ได้แก่ ความเข้มของสนามไฟฟ้า เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ รูปร่างของคลื่น จำนวนและช่วงของการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ รวมไปถึงคุณสมบัติของตัวกลางที่อยู่รอบจุลินทรีย์ ซึ่งการยับยั้งจุลินทรีย์จะมากขึ้นเมื่อความเข้มของสนามไฟฟ้าสูงขึ้น โดย Hulsheger *et al.* (1981) ได้เสนอความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ (s) ต่อระดับความเข้มของสนามไฟฟ้าดังสมการ

$$\ln s = -b_c(E-E_c)$$

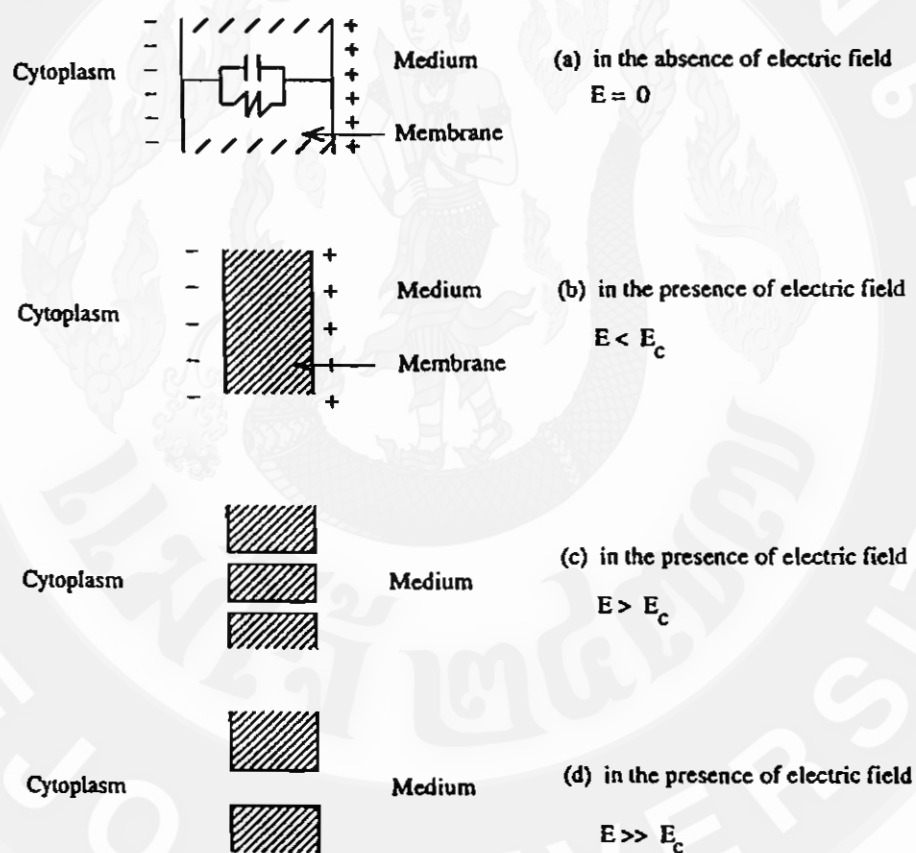
เมื่อ b_c คือค่าคงที่ของอัตราเร็ว (rate constant)

E คือความเข้มของสนามไฟฟ้าที่ปล่อยออกไป

E_c คือความเข้มของสนามไฟฟ้าที่เป็นค่าวิกฤต (critical or threshold electric field)

จากสมการดังกล่าว สามารถนำมาอภิปรายปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นกับเมมเบรนของเซลล์จุลินทรีย์ได้ดังนี้ ในสภาวะปกติ ($E=0$) เซลล์เมมเบรนเปรียบเสมือนคาปาซิเตอร์ที่วัสดุมีค่าคงที่ไดอิเล็กทริกค่า ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของเซลล์เมมเบรนสองชั้น โดยปกติมีค่าเท่ากับ 2 ซึ่งค่าคงที่ไดอิเล็กทริกภายในเซลล์จะสูงกว่าที่เซลล์เมมเบรนมาก หากค่าไดอิเล็กทริกของตัวกลางที่เซลล์อยู่มีค่าสูง ประจุที่เป็นอิสระจะสามารถเข้ามาสะสมอยู่ที่บริเวณพื้นผิวของเมมเบรนได้ ($E < E_c$) การปล่อย

สนามไฟฟ้าจากภายนอกสู่เซลล์มากขึ้น ก็จะยิ่งส่งผลทำให้มีประจุสะสมที่พื้นผิวเพิ่มมากขึ้น และทำให้ความแตกต่างของประจุระหว่างสองด้านของเมมเบรนมากขึ้น ซึ่งประจุที่สะสมอยู่ที่พื้นผิวทั้งสองด้านของเมมเบรนมีประจุที่ต่างกันทำให้มีแรงดึงดูดระหว่างกัน ส่งผลให้เมมเบรนเกิดการหดตัว และเกิดเป็นรู ($E > E_c$) ซึ่งหากยังปล่อยให้เมมเบรนได้รับสนามไฟฟ้ามากขึ้นหรือความเข้มสูงขึ้น จะทำให้เมมเบรนเกิดการแตกตัวและเซลล์ถูกทำลาย ($E \gg E_c$) ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การเกิดรูบนเซลล์เมมเบรนเนื่องจากการหดตัวเมื่อผ่านสนามไฟฟ้าความเข้มสูง
ที่มา: Qin *et al.* (1996)

2. การเกิดออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน

องค์ประกอบของไขมันหรือน้ำมันในอาหารจะสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้เมื่อมีปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิดออกซิเดชัน ได้แก่ ความร้อน เอนไซม์ ความชื้น ออกซิเจน และแสง เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดการเสื่อมเสียของไขมันหรือน้ำมัน ทำให้เกิดกลิ่นหืน สีและกลิ่นรสของน้ำมันเปลี่ยนแปลง สูญเสียกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid) และเกิดอนุมูลอิสระที่ส่งผลเสียต่อสุขภาพร่างกาย ซึ่งเป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีอายุการเก็บสั้นลง

การเกิดออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเมื่อไขมันหรือน้ำมันมีองค์ประกอบของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว คือมีพันธะคู่ในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจน และเป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง เรียกว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (autoxidation) ทำให้เกิดอนุมูลอิสระต่างๆ ขึ้น ซึ่งอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถกระตุ้นกรดไขมันที่เหลือให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีก ดังนั้นปฏิกิริยานี้จึงเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาจะแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน (Nawar, 1996) ได้แก่

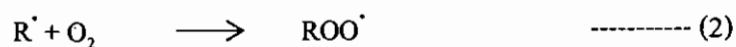
2.1 ขั้นเริ่มต้น (initiation)

เป็นขั้นตอนการเริ่มเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) เกิดกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ซึ่งไม่แข็งแรง จึงว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยเริ่มต้นที่อะตอมของคาร์บอนที่ตำแหน่งพันธะคู่ สูญเสียไฮโดรเจนอะตอม ซึ่งเกิดจากการกระตุ้นด้วยแสง รังสี หรือ โลหะ ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (R[•]) ซึ่งอะตอมอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจะว่องไวต่อปฏิกิริยา ดังสมการ 1



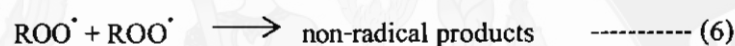
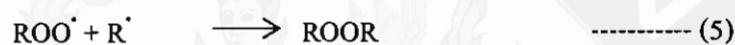
2.2 ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical, ROO[•]) และอนุมูลเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้ จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวใหม่ ได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide, ROOH) และปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องแบบเดิมไปเรื่อยๆ เป็นลูกโซ่ ดังสมการที่ 2 และ 3



2.3 ปฏิกริยาขั้นสุดท้าย (termination)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระต่างๆ เกิดการรวมตัวกันเอง และกลายเป็นสารที่ไม่มีอนุมูลอิสระ (non-radical products) ปฏิกริยาจึงสิ้นสุดลง ดังสมการที่ 4 ถึง 6



เมื่อไม่มีอนุมูลอิสระเหลือสำหรับทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับออกซิเจนแล้ว หากยังมีออกซิเจนเหลืออยู่มากพอ ก็จะเริ่มต้นเกิดปฏิกิริยาขั้นต้น (initiation reaction) ได้ใหม่ เพื่อให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ ปฏิกิริยาเริ่มต้นนี้น่าสนใจมาก เพราะเป็นปฏิกิริยาที่ใช้พลังงานในการทำลายพันธะระหว่างคาร์บอนและไฮโดรเจน ปริมาณพลังงานที่ใช้ประมาณ 80 กิโลแคลอรี และยังต้องใช้พลังงานอีกจำนวนหนึ่ง ซึ่งน้อยกว่าในการเติมออกซิเจนเข้าไปที่พันธะคู่ เพื่อให้เกิดเป็น diradical อย่างไรก็ตามพลังงานที่ใช้จะลดน้อยลงในภาวะที่มีโลหะ เอนไซม์ หรือแสงช่วยเร่งให้เกิดการออกซิเดชัน (photooxidation) (Nawar, 1996)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นตอนที่ 2 คือไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งไม่เสถียรและจะแตกตัวเกิดเป็นสารใหม่ (secondary oxidation products) จากปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น สารประกอบอัลดีไฮด์ คีโตน แอลกอฮอล์ อัลเคน กรด เป็นต้น ทำให้เกิดสี กลิ่น และรส ที่ผิดปกติของไขมันและน้ำมัน

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดออกซิเดชัน

เนื่องจากไขมันที่อยู่ในอาหารมีองค์ประกอบของกรดไขมันชนิดต่างๆ มากมาย ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งสมบัติทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งความไวต่อการเกิดออกซิเดชัน นอกจากนี้ส่วนประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหารยังอาจทำหน้าที่ร่วมออกซิไดส์ (cooxidized) หรือทำปฏิกิริยากับ

ไขมันที่ถูกออกซิไดส์แล้วหรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชัน ดังนั้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน จึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและค่อนข้างสลับซับซ้อน (Nawar, 1996) ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชัน มีดังนี้

3.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน

เนื่องจากชนิดของกรดไขมันใน โมเลกุลของไขมันและน้ำมันมีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอัตราเร็วของการเกิดจะแตกต่างกัน โดยกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากจะเกิดได้เร็วกว่ากรดไขมันที่มีพันธะคู่เดียว กรดไขมันที่อยู่ในรูปซิส-ไอโซเมอร์ (cis-isomer) จะเกิดได้เร็วกว่า ทรานส์-ไอโซเมอร์ (trans-isomer) และตำแหน่งที่เป็นพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (conjugated double bond) จะเกิดได้ไวกว่าตำแหน่งที่ไม่เป็นพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยว (nonconjugated double bond) ในการเก็บรักษาอาหารที่อุณหภูมิห้อง กรดไขมันชนิดอิ่มตัวจะไม่เกิดออกซิเดชัน จะเกิดเฉพาะกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้น แต่ที่อุณหภูมิสูงกรดไขมันชนิดอิ่มตัวก็อาจเกิดออกซิเดชันได้บ้างเช่นกัน

3.2 กรดไขมันอิสระ

กรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระจะถูกออกซิไดส์ได้ง่ายกว่าที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ (ester) กับกลีเซอรอล (glycerol) การจัดเรียงตัวของกรดไขมันแบบสุ่มในไขมันและน้ำมันจากธรรมชาติจะลดอัตราการเกิดออกซิเดชัน ซึ่งกรดไขมันจำนวนเล็กน้อยนั้นไม่มีผลกระทบต่อความคงตัวของการเกิดออกซิเดชัน แต่ถ้ามีกรดไขมันอิสระในปริมาณมากร่วมกับมีตัวเร่งปฏิกิริยาที่เป็นโลหะ ก็จะทำให้เกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

3.3 ความเข้มข้นของออกซิเจน

ในภาวะที่มีออกซิเจนมาก ความเข้มข้นของออกซิเจนจะไม่มีผลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชัน แต่ในภาวะที่มีออกซิเจนน้อยความเข้มข้นของออกซิเจนจะมีผลต่ออัตราการเกิดออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามผลของออกซิเจน ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ด้วย เช่น อุณหภูมิ และพื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจน เป็นต้น

3.4 อุณหภูมิ

เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นอัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันก็จะเพิ่มขึ้น และอุณหภูมียังมีอิทธิพลต่อความดันย่อยของออกซิเจนด้วย เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นการเปลี่ยนความดันย่อยของออกซิเจนจะมีอิทธิพลเพียงเล็กน้อยต่ออัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชัน เพราะการละลายของออกซิเจนในไขมันและน้ำจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น

3.5 พื้นที่ผิวที่สัมผัสกับออกซิเจน

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงต่อพื้นที่ผิวของไขมันที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้นหากอัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรเพิ่มขึ้นการเกิดออกซิเดชันจะเร็วขึ้นสำหรับอาหารที่เป็นอิมัลชัน (emulsion) ชนิดน้ำมันในน้ำ (oil-in-water) การเกิดออกซิเดชันจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจายของออกซิเจนเข้าไปยังส่วนที่เป็นน้ำมัน

3.6 ความชื้น

อัตราเร็วของการเกิดออกซิเดชันขึ้นอยู่กับค่า a_w โดยอาหารแห้งที่มีความชื้นต่ำมาก (ค่า a_w ประมาณ 0.1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว เมื่อค่า a_w เพิ่มขึ้นถึงประมาณ 0.3 จะเกิดออกซิเดชันของไขมันน้อยที่สุด เนื่องจากโลหะเข้าไปเร่งปฏิกิริยาได้น้อยที่สุด อย่างไรก็ตามเมื่อค่า a_w เพิ่มมากขึ้นในช่วง 0.55-0.85 อัตราการเกิดออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอีกครั้งหนึ่ง เนื่องจากมีปริมาณน้ำมากพอที่ทำให้เกิดการเคลื่อนที่ของคะตะลิสต์ (catalyst) และออกซิเจน

3.7 ลักษณะการเกิดอิมัลชัน

ในอาหารที่เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ ออกซิเจนจะต้องแพร่กระจายผ่านตัวกลางที่เป็นน้ำเข้าไปยังหยดน้ำมันผ่านชั้นระหว่างผิวของน้ำกับน้ำมัน ดังนั้นอัตราการเกิดออกซิเดชันจึงขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ขนาดของอนุภาคหยดน้ำมัน พื้นที่ผิวของ interface ความหนืดของส่วนที่เป็น aqueous phase ส่วนประกอบและความเป็นรูปทรงของส่วนที่เป็นน้ำ และค่าพีเอช (pH) เป็นต้น (McClements and Decker, 2000)

3.8 โปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidant)

แร่ธาตุหรือโลหะบางชนิดที่มีประจุมากกว่าหรือเท่ากับ 2 เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีส และนิกเกิล เป็นต้น มีสมบัติเป็น โปรออกซิแดนซ์ได้ ซึ่งที่ความเข้มข้นเพียง 0.1 ส่วนในล้านส่วน จะลดช่วงการเหนียวน้ำซึ่งเป็นช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยา ทำให้อัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น แร่ธาตุหรือโลหะเหล่านี้ได้มาจากดิน สัตว์ อุปกรณโลหะที่ใช้ในกระบวนการแปรรูป หรือมีอยู่เองตามธรรมชาติ เช่น ในน้ำมัน ไข่ น้ำผลไม้ เป็นต้น ซึ่งโลหะเหล่านี้อยู่ในรูปอิสระหรือจับกันเป็นสารประกอบ

3.9 พลังงานจากแสงหรือรังสี

แสงและรังสีต่างๆ เช่น visible light แสงอัลตราไวโอเลต และแกมมาเรดิเอชัน (γ -radiation) มีผลช่วยเร่งให้เกิดออกซิเดชันได้เร็วขึ้น

3.10 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านออกซิเดชันจะช่วยยับยั้ง หรือชะลอการเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งมีทั้งสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ เช่น วิตามินอีในน้ำมันพืช และสารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารสังเคราะห์และอนุญาตให้เติมลงในอาหารได้ เช่น โพรพิลแกลเลต (propyl gallate) บิวทิลเตคไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) และ บิวทิลเตคไฮดรอกซีโทลูอิน (butylated hydroxytoluene, BHT) เป็นต้น (Reische *et al.*, 2002; Decker, 2002)

4. วิธีการตรวจสอบการเกิดออกซิเดชันในไขมัน

การเกิดออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่ซับซ้อน และมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและทางเคมีของไขมัน การตรวจสอบเพื่อวัดการเกิดออกซิเดชันของไขมันจึงควรตรวจสอบจากหลายวิธีร่วมกัน เพื่อช่วยให้สามารถวิเคราะห์ปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อย่างถูกต้อง ซึ่งการตรวจสอบการเกิดออกซิเดชันสามารถทำได้หลายวิธี (Shahidi and Wanasundara, 2002) ดังนี้

4.1 การหาค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value, PV)

เปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกของการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งวัดปริมาณที่เกิดขึ้นได้โดยใช้ความสามารถของเปอร์ออกไซด์ที่จะทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมไอโอไดด์ ได้เป็นไอโอดีน แล้วหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นโดยการไตเตรชัน (titration) หรือไอโอดิเมตรี (iodimetry) หรือทำปฏิกิริยากับออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนให้เป็นเฟอร์ริกไอออน แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ค่าเปอร์ออกไซด์ หมายถึง มิลลิสมมูลของเปอร์ออกไซด์ออกซิเจนต่อกิโลกรัมของไขมันหรือน้ำมัน ในระหว่างการเกิดออกซิเดชันค่าเปอร์ออกไซด์จะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดสูงสุดแล้วลดต่ำลง

4.2 การทดสอบกรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid, TBA)

ผลิตภัณฑ์จากออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว จะทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกทำให้เกิดสี ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาควบแน่น (condensation) ของมาโลนาลดีไฮด์ (malonaldehyde) กับกรดไทโอบาร์บิทูริก 2 โมเลกุล ได้เป็นสีชมพู อย่างไรก็ตาม ไม่เพียงแต่มาโลนาลดีไฮด์เท่านั้นที่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกแล้วเกิดสีได้ สารประกอบพวกแอลคานาล (alkanal) แอลคีนาล (alkenals) และ 2,4-ไดอีนาล (dienals) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากออกซิเดชันเช่นกัน ก็สามารถทำปฏิกิริยาได้แล้วเกิดเป็นสีเหลือง และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร มีเพียงไดอีนาลเท่านั้นที่ให้สีชมพู และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร

4.3 เทคนิคอัลตราไวโอเลต สเปกโตรโฟโตเมทรี (ultraviolet spectrophotometry)

กรดไขมันที่มีพันธะคู่จะเกิดออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น กรดไขมันจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น conjugated diene ที่เสถียร จากนั้นใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ในย่านลำแสงอัลตราไวโอเลต วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร โดยค่าที่ได้นี้จะแปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุประสงค์และอุปกรณ์

น้ำมันถั่วเหลือง อิมัลซิไฟเออร์ชนิดที่มีประจุแตกต่างกัน ได้แก่ ประจุลบ คือ sodium dodecyl sulfate (SDS) ประจุบวก คือ dodecyl trimethyl ammonium bromide (DTAB) ไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ออกซิเดชันเป็นระดับ analytical grade

2. ศึกษาชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

เตรียมอิมัลชันที่มีน้ำมันถั่วเหลือง 33 % ในน้ำ โดยแปรผันปริมาณอิมัลซิไฟเออร์ ได้แก่ SDS 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % DTAB 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 % Tween 20 0 4.5 9 13.5 และ 18 % และ Brij 35 0 7.5 1.5 2.25 และ 3.0 % (w/w น้ำมัน) นำไปละลายด้วยโซนิเคเตอร์ 3 นาที แล้วนำมาผ่านโฮโมจิไนเซอร์ (Dhiahhan รุ่น HG15D) ที่ความเร็ว 24,000 รอบต่อนาที 3 ครั้ง ครั้งละ 1 นาที โดยเว้นระยะห่างระหว่างครั้ง 30 วินาที เก็บอิมัลชันที่ได้ในหลอดทดลอง หลอดละ 15 กรัม ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สังเกตการแยกชั้นโดยวัดความสูงของชั้นน้ำที่แยกตัวออกจากอิมัลชัน ทุกๆ 2 วัน เป็นเวลา 6 วัน

3. ศึกษาผลของ PEF ต่อออกซิเดชันในอิมัลชัน

คัดเลือกอิมัลชันที่คงตัวจากการทดลองข้างต้นมาทดลองคือ โดยใส่อิมัลชัน 20 มิลลิลิตร ลงในถังบรรจุของเครื่อง PEF แล้วปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้ม 16 30 43 และ 53 kV/cm จำนวน 100 300 และ 500 ครั้ง เก็บอิมัลชันที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา 7 วัน ดังนี้

3.1 ค่า peroxide value (PV)

ดัดแปลงตามวิธีของ Shantha and Decker (1994) นำอิมัลชัน 0.3 มิลลิลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม isooctane:isopropanol อัตราส่วน 2:1 1.5 มิลลิลิตร ปั่นผสม 10 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (Hettich รุ่น UNIVERSAL 2S) ที่ความเร็วรอบ 1,000 g 2 นาที คูณสารละลายส่วน

ใส่ด้านบนมา 200 ไมโครลิตร ใส่ลงในตัวทำละลายผสม methanol:1-butanol อัตราส่วน 2:1 2.8 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลาย thiocyanate/Fe²⁺ 30 ไมโครลิตร (เตรียมโดยผสม NH₄SCN 3.94M กับ Fe²⁺ 0.72M [BaCl₂ 0.132M : FeSO₄ 0.144M อัตราส่วน 1:1] อัตราส่วน 1:1) ทิ้งไว้ 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร

3.2 ค่า conjugated dienes (CD)

ตัดแปลงตามวิธีของ Paquot and Hautfeme (1987) นำอิมัลชัน 10 ไมโครลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม isooctane: isopropanol อัตราส่วน 2:1 10 มิลลิลิตร ปั่นผสม 1 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 232 นาโนเมตร

3.3 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

ตัดแปลงตามวิธีของ McDonald and Hultin (1987) นำอิมัลชัน 100 ไมโครลิตร มาละลายในสารละลาย TBA 2 มิลลิลิตร (trichloroacetic acid 15 กรัม thiobarbituric acid 0.375 กรัม HCl 12N 1.76 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 82.9 มิลลิลิตร) เติมน้ำกลั่น 0.7 มิลลิลิตร นำไปวางในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งให้เย็น 10 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000 g 15 นาที นำส่วนใสด้านบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร

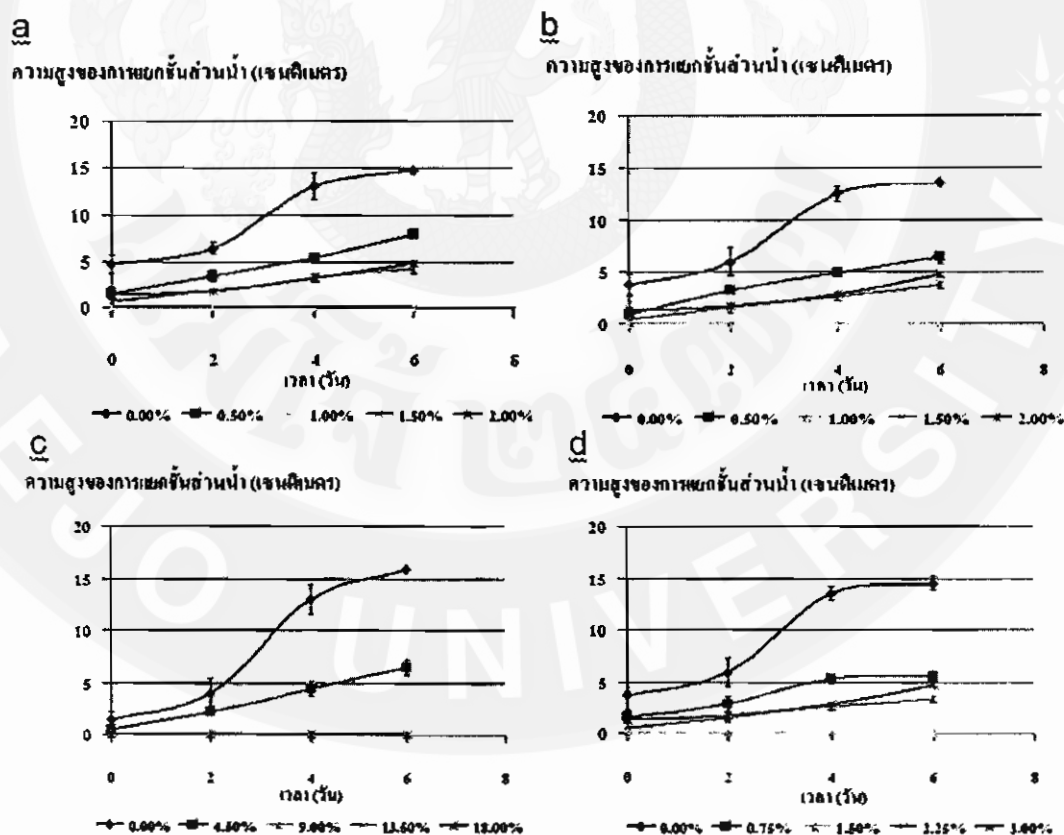
4. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์

วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ ANOVA (analysis of variance) ด้วยโปรแกรม SPSS version 15

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. ความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลซิไฟเออร์ในการเตรียมอิมัลชันที่คงตัว

เมื่อทดลองเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีปริมาณน้ำมัน 33 % โดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ที่มีประจุแตกต่างกัน พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของอิมัลซิไฟเออร์ในการเตรียมอิมัลชันที่คงตัวและไม่เกิดการแยกชั้นในระหว่างการเก็บรักษา 6 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือ SDS 1.0 % DTAB 1.0 % Tween 20 9.0 % และ Brij 35 1.5 % (ภาพที่ 2) ซึ่งหากใช้อิมัลซิไฟเออร์ความเข้มข้นต่ำเกินไป จะทำให้อิมัลชันไม่คงตัวและเกิดการแยกชั้น เนื่องจากโมเลกุลของอิมัลซิไฟเออร์ไม่เพียงพอต่อการเข้าไปครอบครองพื้นผิวระหว่างน้ำและน้ำมัน ทำให้น้ำมันเกิดการรวมตัวกันและแยกชั้นออกมาได้ หรือหากใช้อิมัลซิไฟเออร์ความเข้มข้นสูงเกินไป อาจทำให้อิมัลชันไม่คงตัวเนื่องจากมีโมเลกุลของอิมัลซิไฟเออร์อยู่ที่พื้นผิวระหว่างน้ำและน้ำมันมากเกินไปจนอิมัลซิไฟเออร์จับตัวกันเองและตกตะกอนลงมา



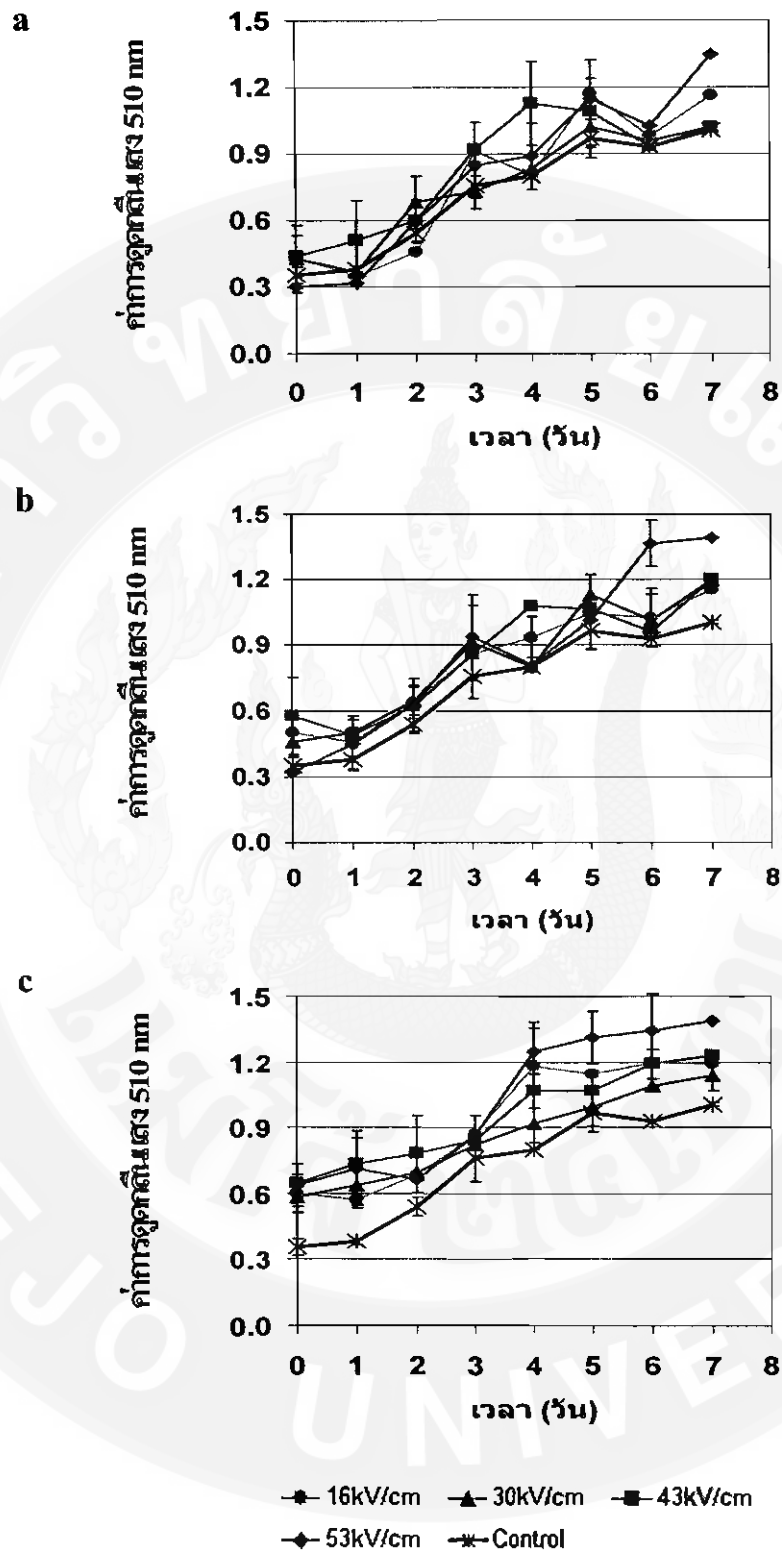
ภาพที่ 2 ผลของความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีปริมาณน้ำมัน 33 % (a, SDS; b, DTAB; c, Tween 20; d, Brij 35)

2. ผลของ PEF ต่อออกซิเดชันในอิมัลชัน

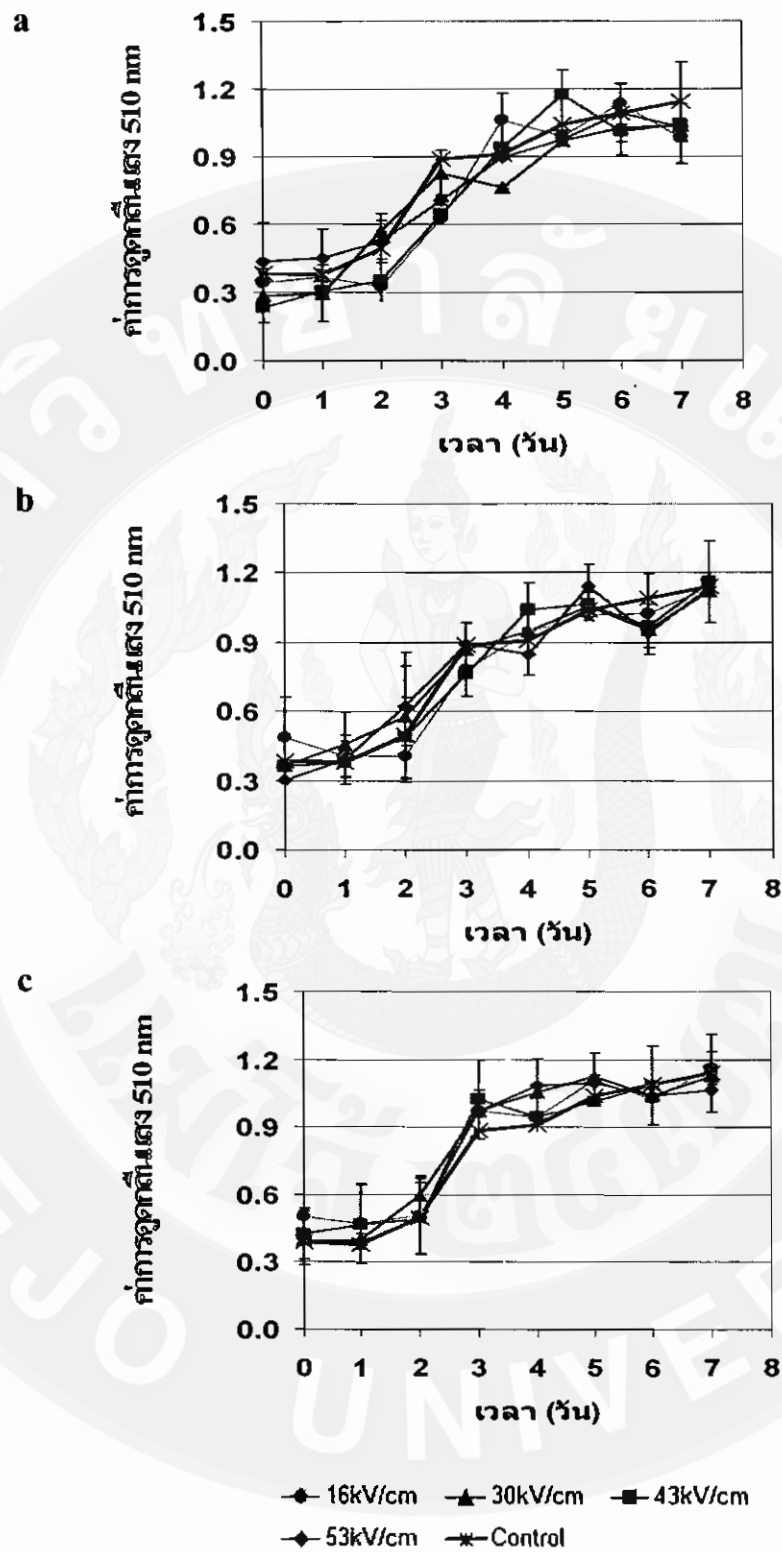
อิมัลชันไฟเออร์ทุกชนิดที่เลือกใช้ในการทดลองนี้ มีลักษณะ โครงสร้างของส่วนหางที่ชอบน้ำมันของโมเลกุลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 12 อะตอม และมีพันธะเดี่ยวตลอดสายเหมือนกันทั้งหมด เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบผลของประจุของอิมัลชันไฟเออร์ชนิดต่างๆ ที่อาจมีผลต่อออกซิเดชันในอิมัลชันได้

ในการติดตามออกซิเดชันของอิมัลชัน ได้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นแรก (primary oxidation products) คือ PV และ CD และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นที่สอง (secondary oxidation product) คือ TBARS จุดมุ่งหมาย คือ เพื่อต้องการทราบถึงการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันที่เตรียมจาก อิมัลชันไฟเออร์ประจุแตกต่างกัน โดย PV เป็นการหาปริมาณของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ที่เกิดจากออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ ในช่วงแรกของการเกิดออกซิเดชันจะมีปริมาณของไฮโดรเปอร์ออกไซด์สูง แต่เนื่องจากไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงสามารถแตกตัวเป็นสารประกอบชนิดอื่นๆ ต่อไปได้ CD เป็นการอาศัยคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของพันธะคู่สองพันธะที่วางตัวโดยมีพันธะเดี่ยวหนึ่งพันธะคั่นอยู่ตรงกลาง ซึ่งลักษณะการวางตัวของพันธะดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่เกิดออกซิเดชัน ส่วน TBARS เป็นการวิเคราะห์สารประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดจากการแตกตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยให้ทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาบิทรिक ได้ผลิตภัณฑ์เป็นมาลอนาลดีไฮด์ (malonaldehyde) (Nawar, 1984) ดังนั้นหากอิมัลชันมีค่า PV CD และ TBARS สูง แสดงว่าอิมัลชันเกิดออกซิเดชันมาก

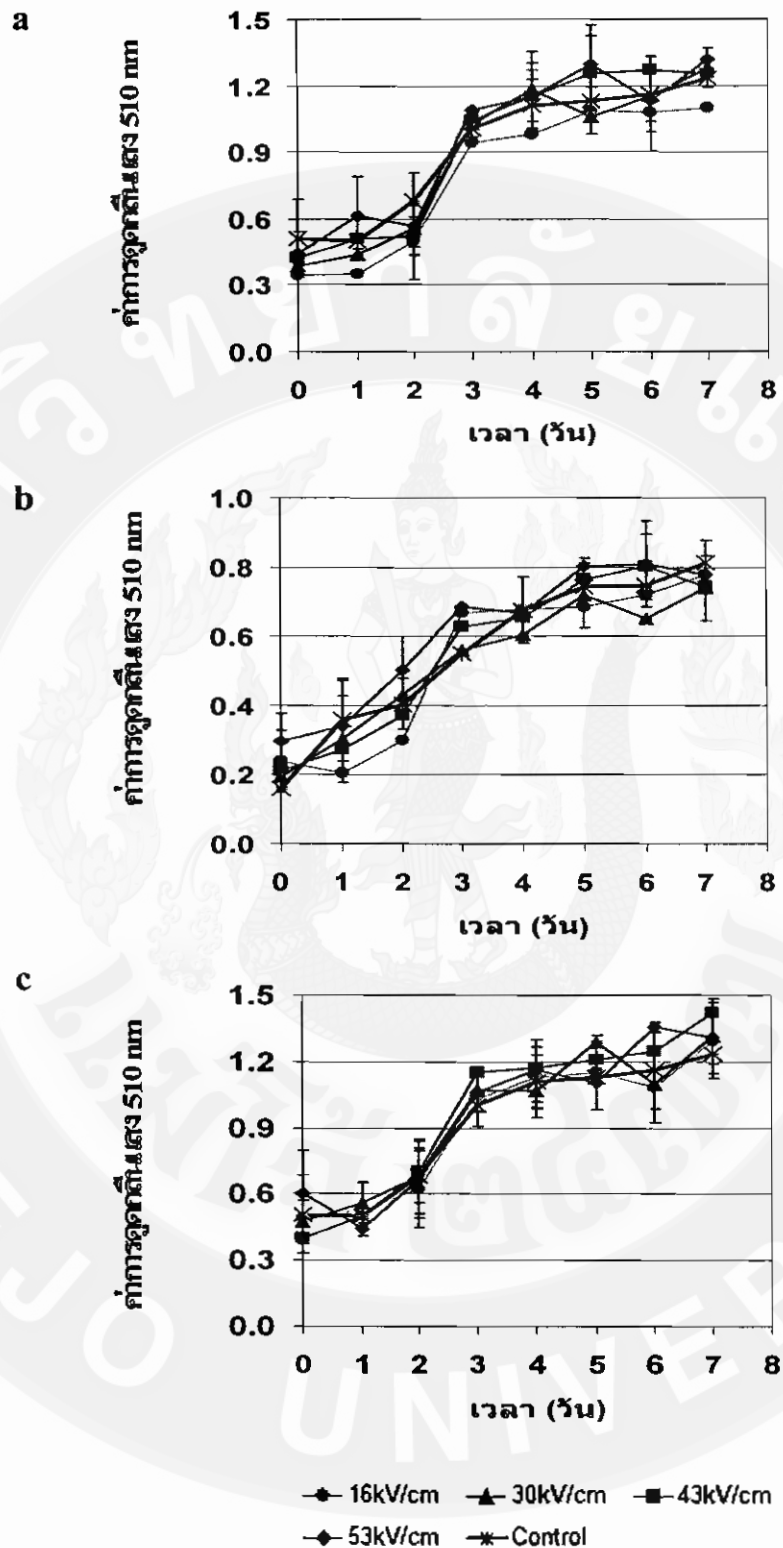
เมื่อนำอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำมาผ่าน PEF ที่ความเข้มและจำนวนครั้งต่างๆ พบว่าเมื่อความเข้มสูงขึ้นหรือจำนวนครั้งมากขึ้น จะทำให้ค่า PV CD และ TBARS ของอิมัลชันเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 3-14) ซึ่งค่าดังกล่าวบ่งบอกถึงออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในเม็ดไขมันที่แขวนลอยอยู่ในอิมัลชันมากขึ้น เป็นผลเนื่องมาจากการที่กระบวนการ PEF เป็นการปล่อยประจุลบที่เป็นอิเล็กตรอนผ่านอิมัลชัน ซึ่งอาจเหนี่ยวนำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวในเม็ดไขมันสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น โดยออกซิเดชันจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในระหว่างการเก็บรักษา



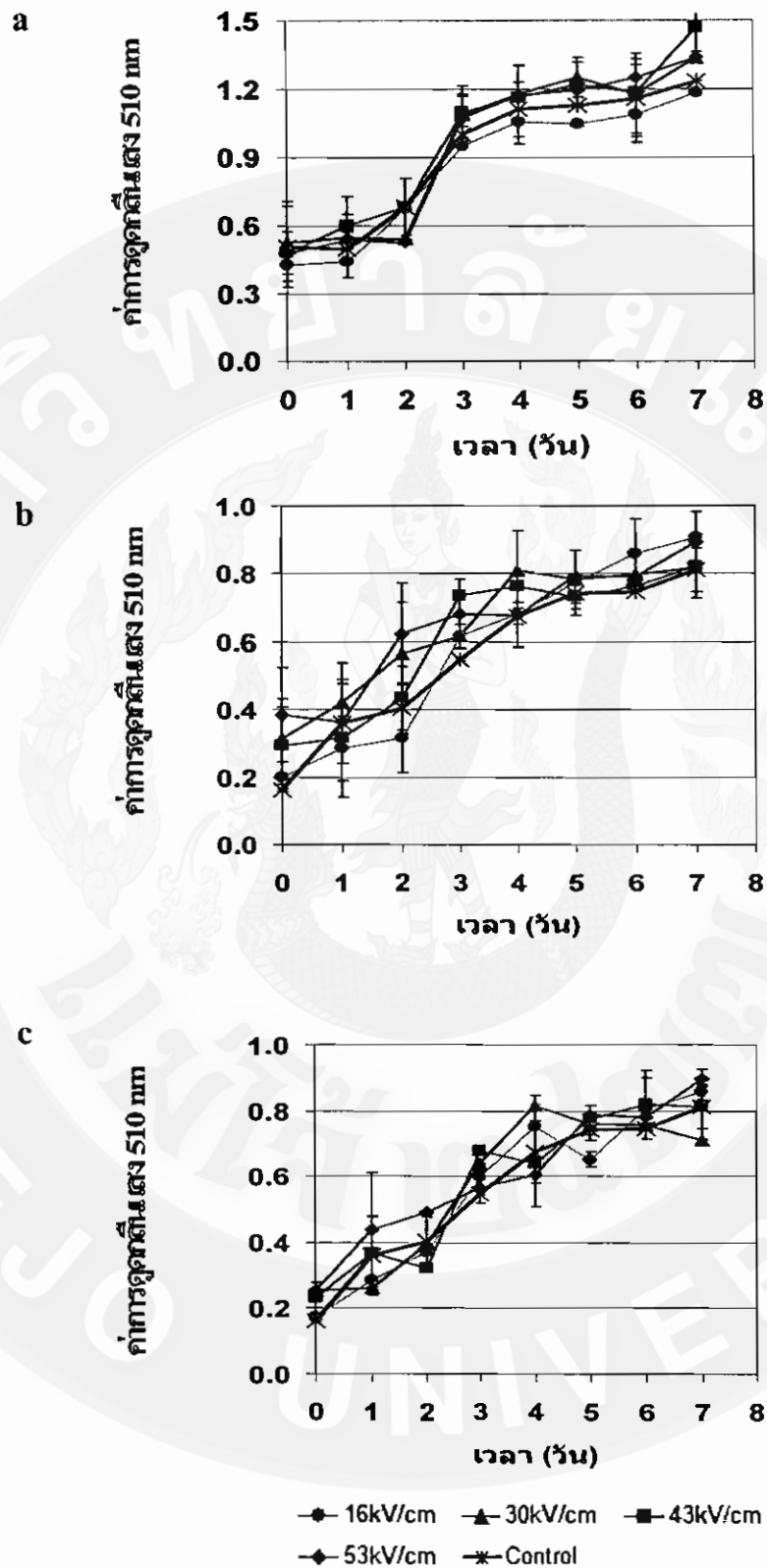
ภาพที่ 3 ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์
(a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



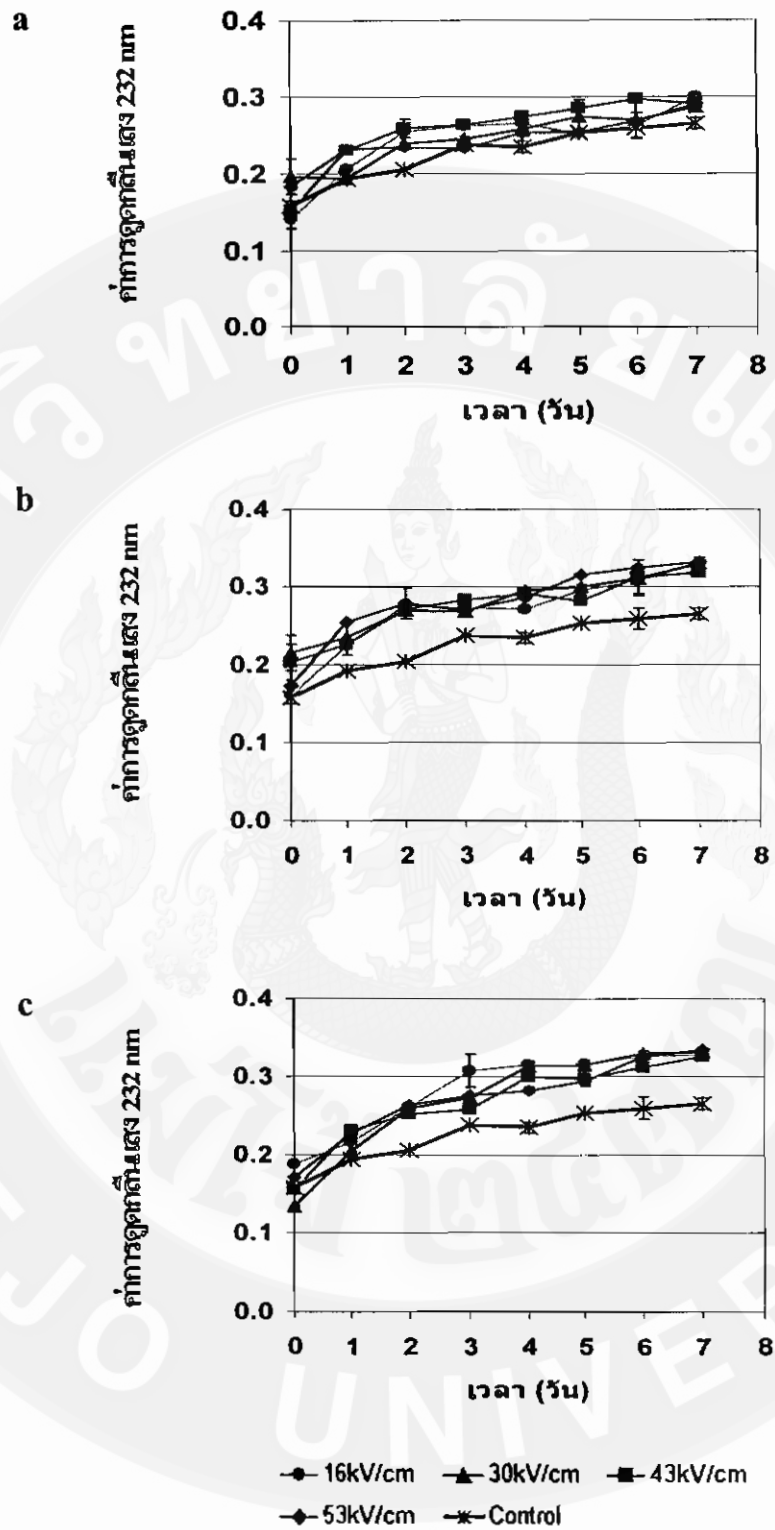
ภาพที่ 4 ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



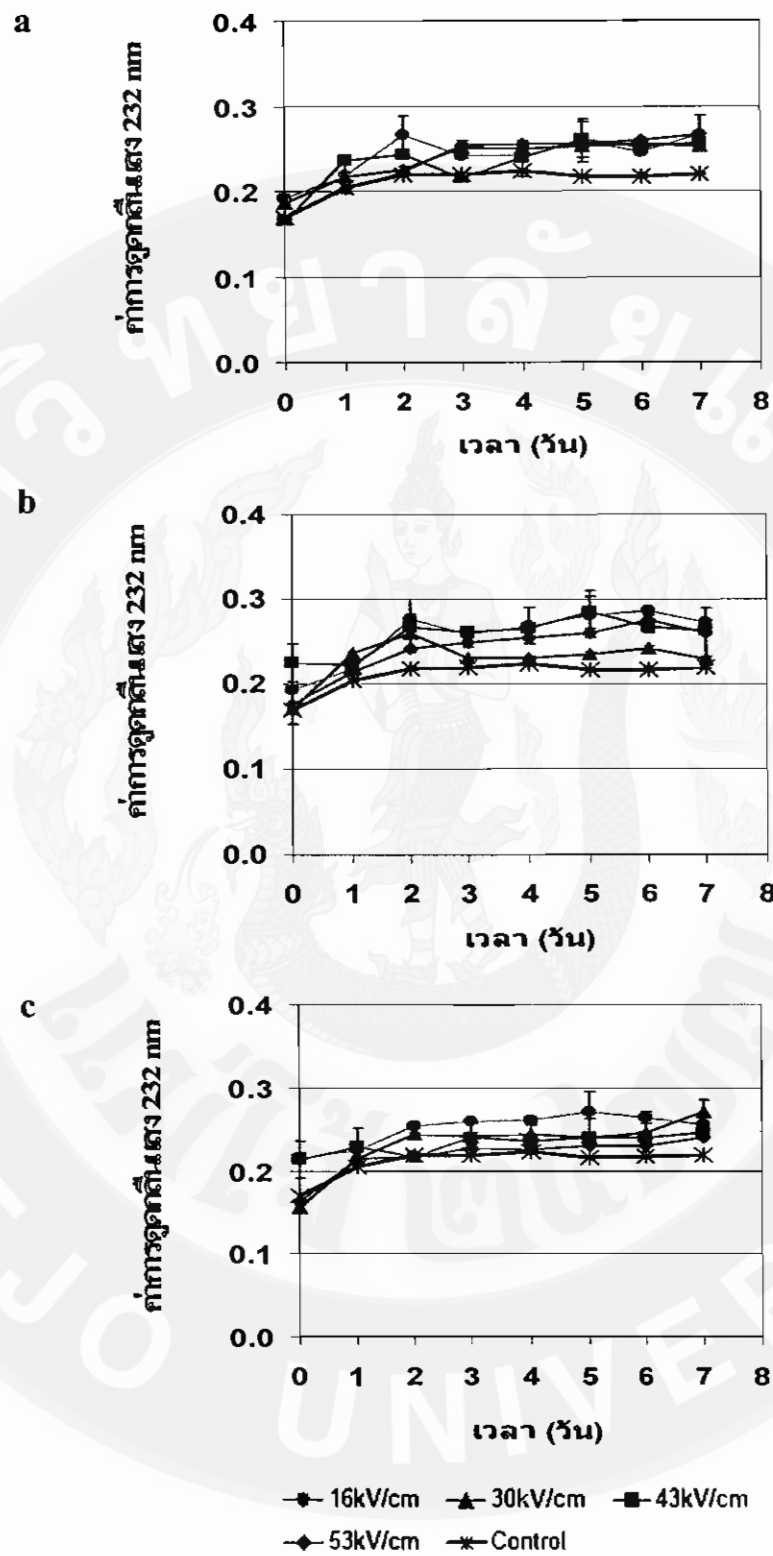
ภาพที่ 5 ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



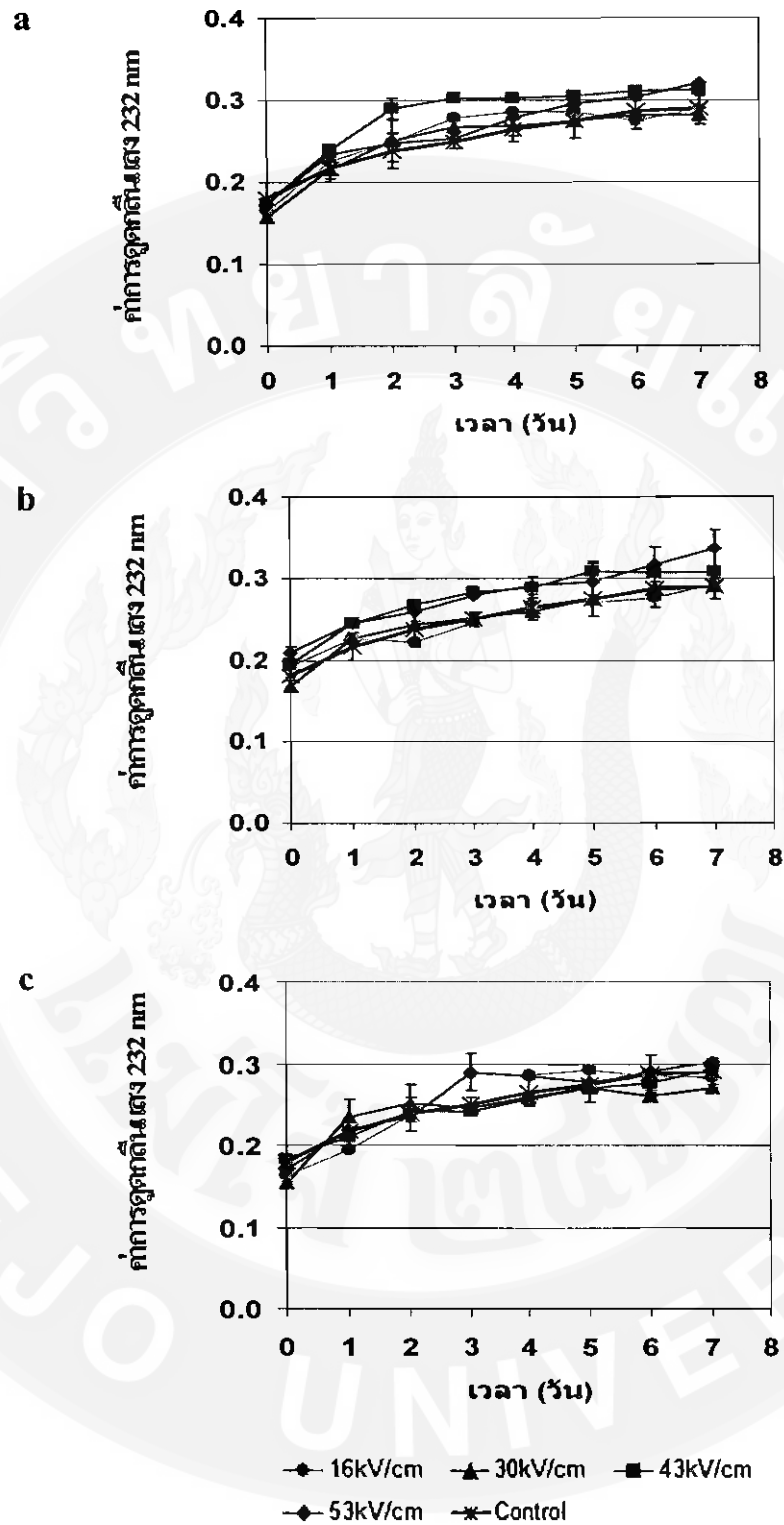
ภาพที่ 6 ผลของ PEF ต่อปริมาณ PV ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



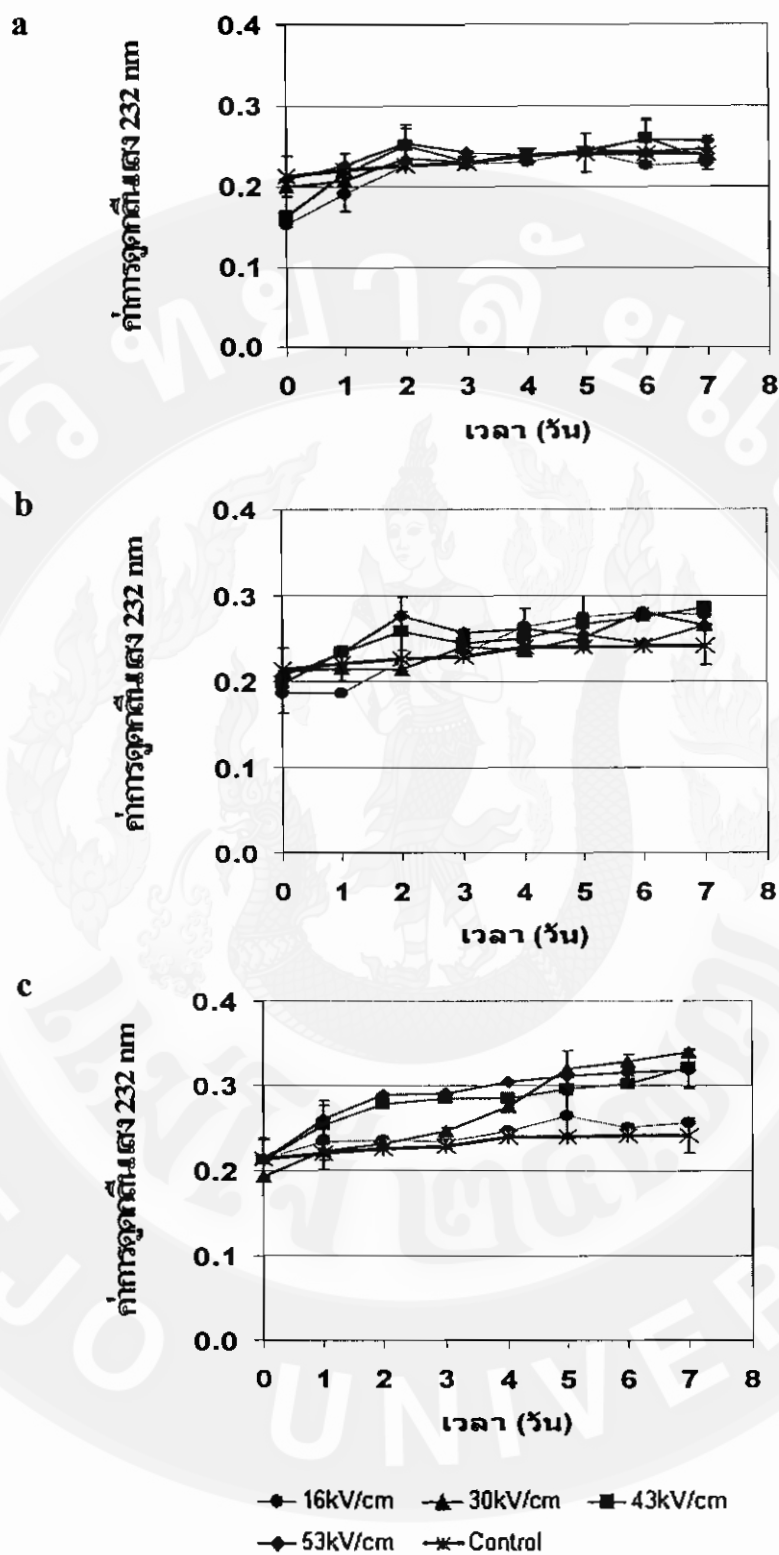
ภาพที่ 7 ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



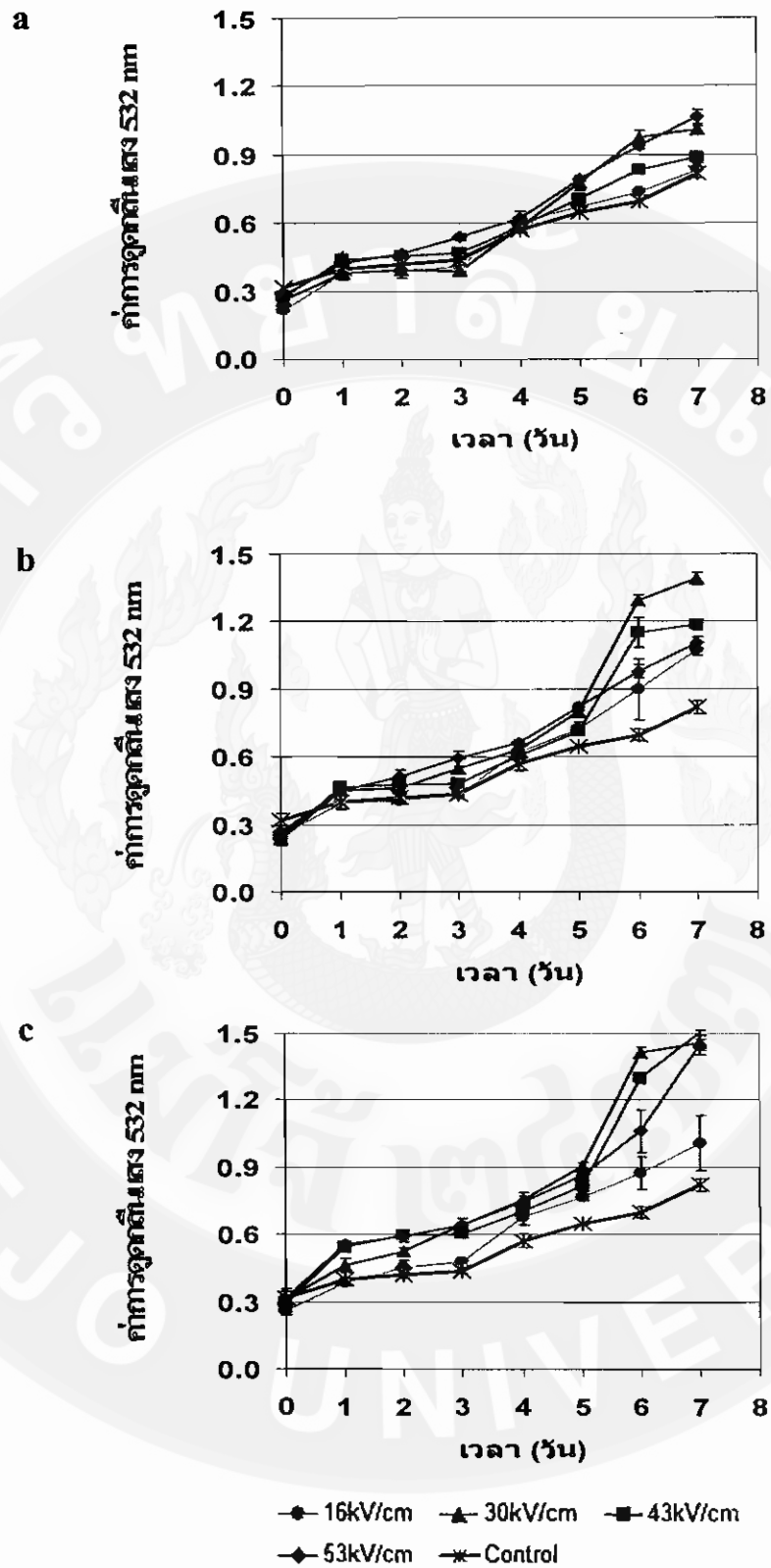
ภาพที่ 8 ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



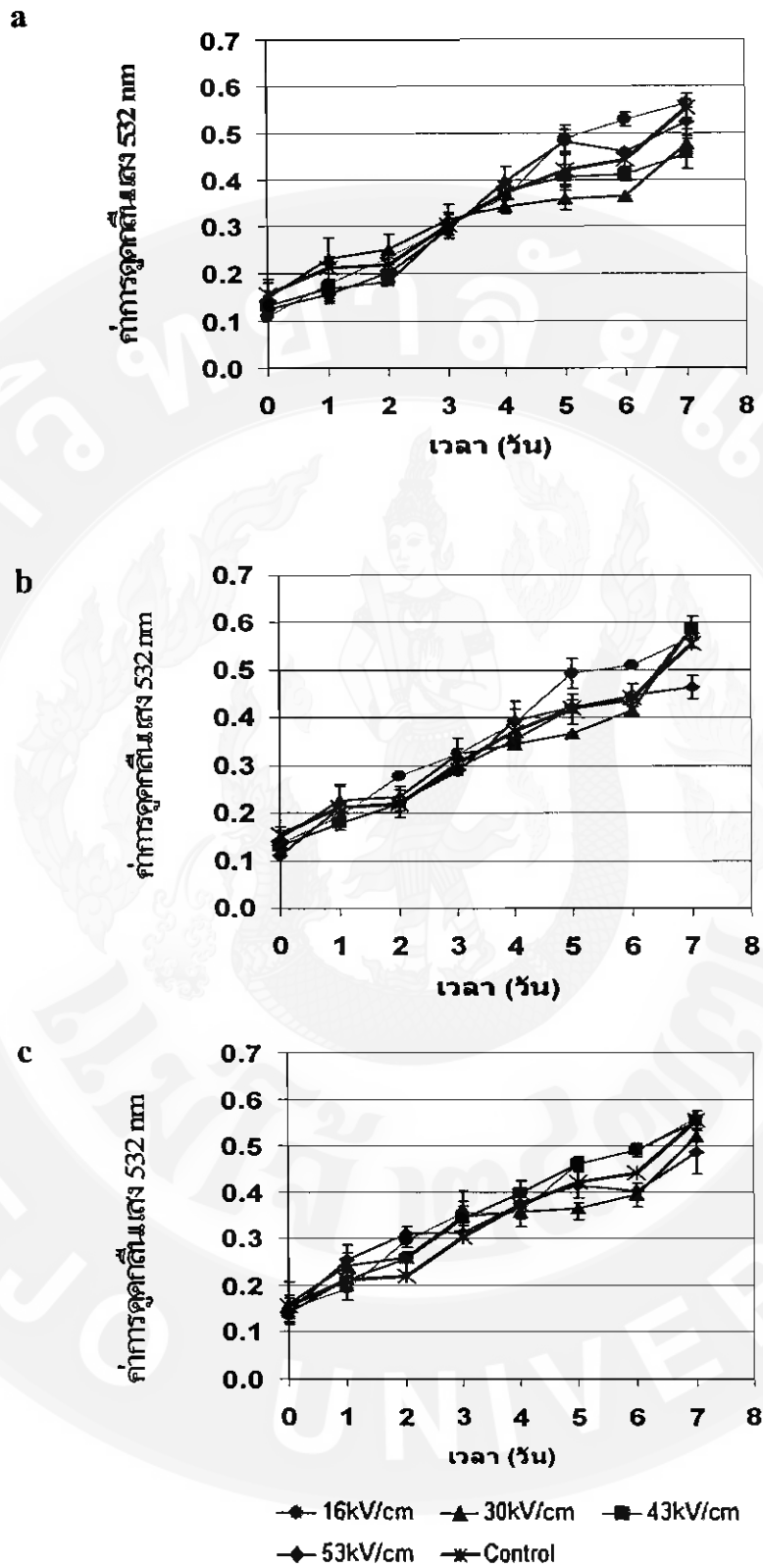
ภาพที่ 9 ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



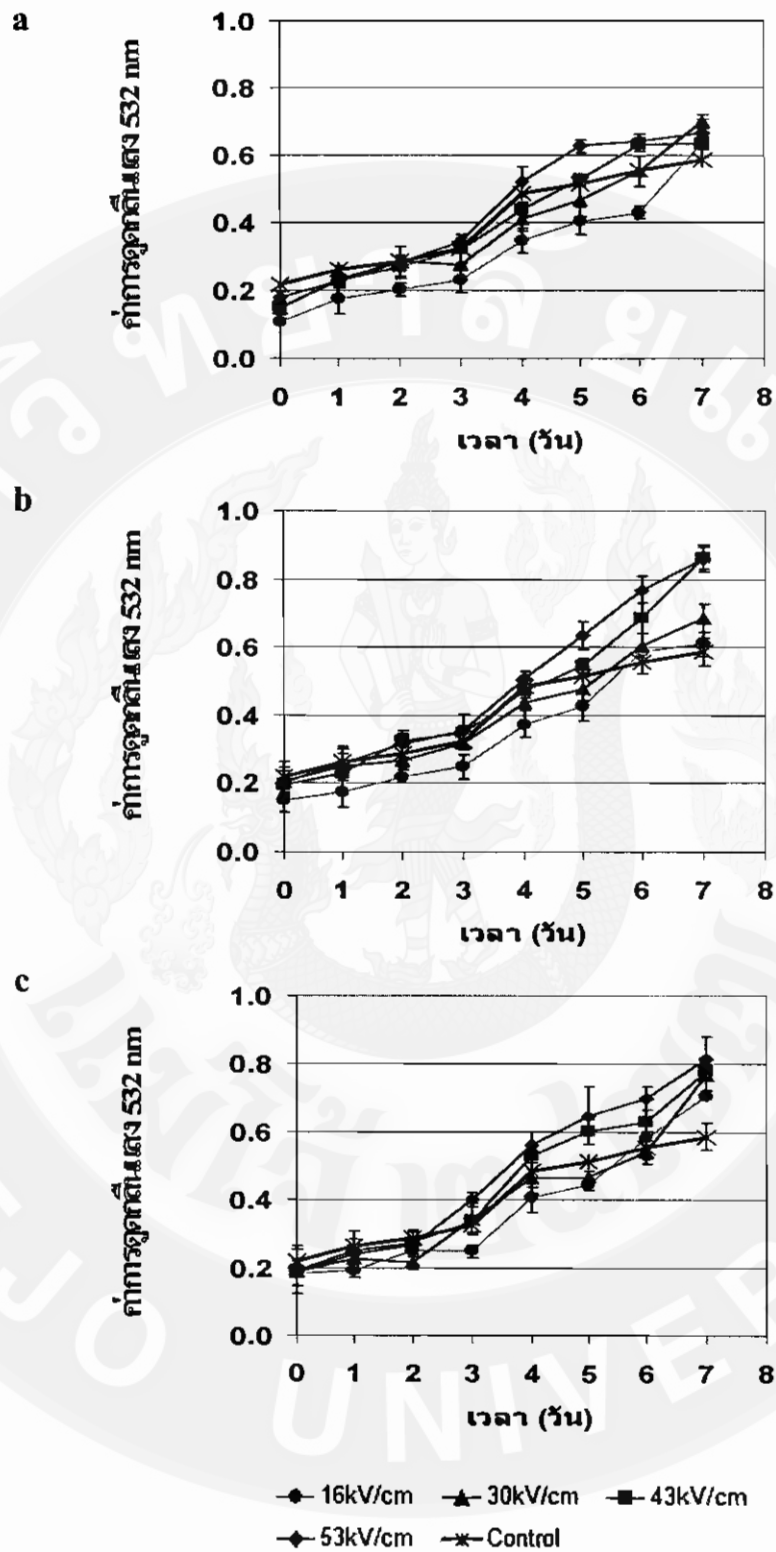
ภาพที่ 10 ผลของ PEF ต่อปริมาณ CD ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



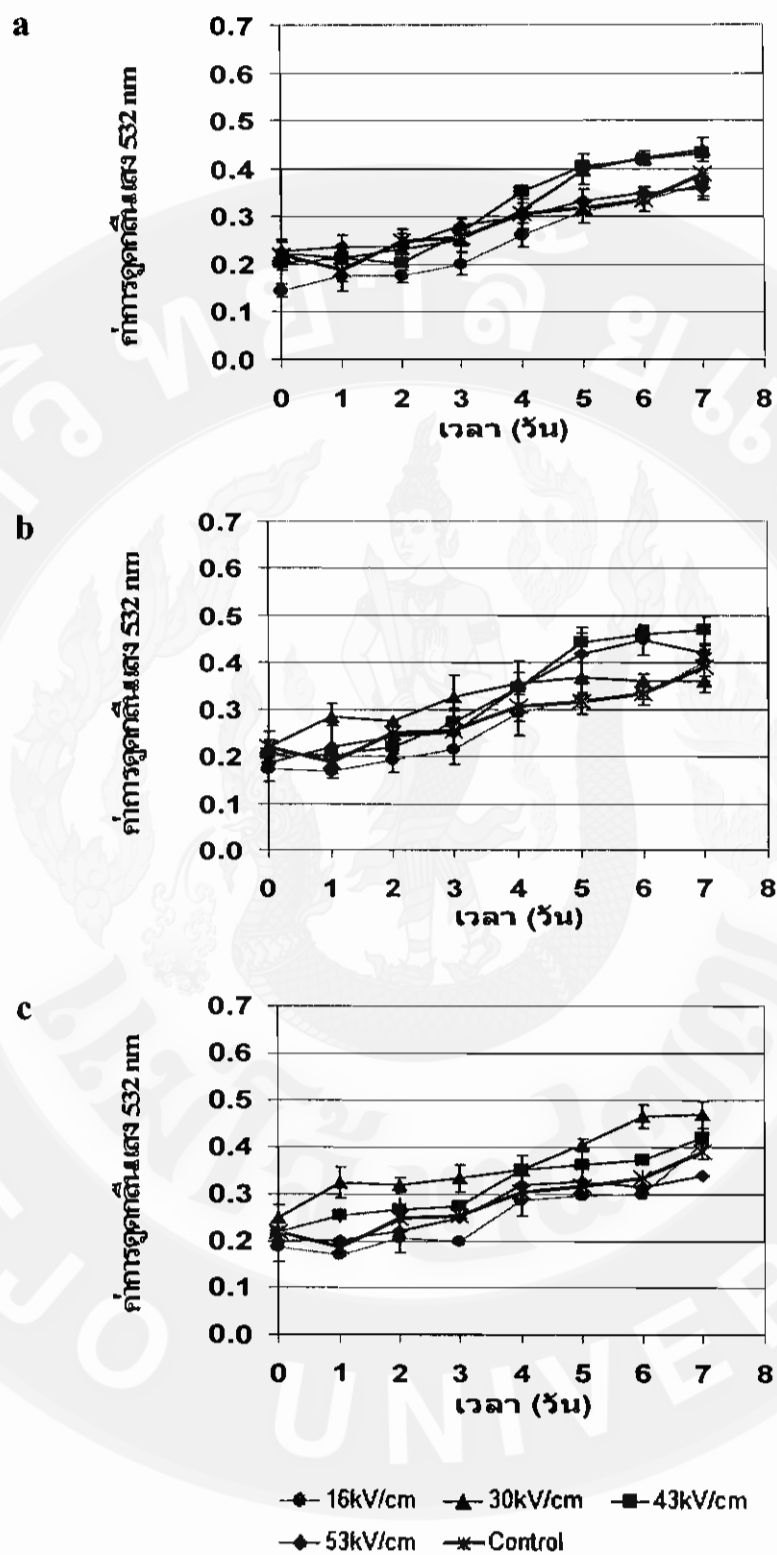
ภาพที่ 11 ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ SDS เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



ภาพที่ 12 ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ DTAB เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



ภาพที่ 13 ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Brij 35 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)



ภาพที่ 14 ผลของ PEF ต่อปริมาณ TBARS ของอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ เมื่อใช้ Tween 20 เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (a, 100 ครั้ง; b, 300 ครั้ง; c, 500 ครั้ง)

เมื่อเปรียบเทียบการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชันที่เตรียมโดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ที่มีประจุแตกต่างกัน พบว่ากระบวนการ PEF มีผลทำให้อิมัลชันที่เตรียมโดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS เกิดออกซิเดชันมากที่สุด ซึ่งอาจเป็นไปได้ที่ประจุลบของอิมัลซิไฟเออร์ที่ล้อมรอบเม็ดไขมันที่แขวนลอยอยู่ในอิมัลชัน ช่วยเสริมผลของอิเล็กตรอนจาก PEF ให้เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเม็ดไขมันได้เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่อิมัลชันที่เตรียมโดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุบวก คือ DTAB เกิดออกซิเดชันน้อยกว่า อาจเนื่องจากอิเล็กตรอนซึ่งเป็นประจุลบถูกลดทอนประสิทธิภาพในการเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระลงจากประจุบวกของอิมัลซิไฟเออร์ ส่วนอิมัลชันที่เตรียมโดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Brij 35 และ Tween 20 จะเกิดออกซิเดชันน้อยที่สุด ซึ่งการที่โมเลกุลของอิมัลซิไฟเออร์ไม่มีประจุ อาจทำให้อิเล็กตรอนจาก PEF ไม่สามารถส่งผลกระทบต่อเข้าไปถึงเม็ดไขมันที่อิมัลซิไฟเออร์นี้ล้อมรอบอยู่ได้ ดังจะเห็นได้จากผลการทดลอง โดยอิมัลชันที่เตรียมจากอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ เมื่อผ่าน PEF แล้ว จะเกิดออกซิเดชันใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมคืออิมัลชันที่ไม่ผ่าน PEF

สรุปผลการวิจัย

1. การเตรียมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำที่มีปริมาณน้ำมัน 33 % ต้องใช้อิมัลซิไฟเออร์ที่ความเข้มข้นเหมาะสม คือ SDS 1.0 % DTAB 1.0 % Tween 20 9.0 % และ Brij 35 1.5 % เพื่อให้ได้อิมัลชันที่มีความคงตัวและไม่เกิดการแยกชั้นในระหว่างการเก็บรักษา
2. กระบวนการ PEF จะเหนี่ยวนำให้อิมัลชันเกิดออกซิเดชัน โดยเมื่อความเข้มและจำนวนครั้งของ PEF มากขึ้น อิมัลชันจะเกิดออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น
3. ประจุของอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในการเตรียมอิมัลชัน มีผลต่อออกซิเดชันของอิมัลชัน โดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS จะเหนี่ยวนำให้อิมัลชันเกิดออกซิเดชันได้มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

- กรมการอาหาร. 2549. เอกสารประกอบการสอนวิชา ทอ 500 เทคโนโลยีทางอาหารขั้นสูง. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่. 89 หน้า.
- Barbosa-Canovas, G. V., Pothakamury, U. R., Palou, E., and Swanson, B. G. 1998. *Nonthermal Preservation of Food*. Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Decker, E. A. 2002. Antioxidant mechanisms, pp 517-542. *In Food Lipids; Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C. C., and Min, D. B., (eds.). 2nd ed., revised and expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, New York, USA.
- Glaser, R. W., Leikin, S. L., Chemomordik, L. V., Pastushenko, V. F., and Sokirko, A. I. 1988. Reversible electrical breakdown of lipid bilayers: Formation and evolution of pores. *Biochem. Biophys. Acta.* 940: 275-287.
- Hulsheger, R., Potel, J., Niemann, E. G. 1981. Killing of bacteria with electric pulses at high electric strength. *Radiat. Environ. Biophys.* 20: 53-65.
- Lozano, J. E., Anon, C., Parada-Arias, E., and Barbosa-Canovas, G. V. 2000. *Trends in Food Engineering*. Technomic Publishing Company, Inc., Pennsylvania, USA.
- McClements, D. J., and Decker, E. A. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. *J. Food Sci.* 65(8): 1270-1282.
- McDonald, R. E., and Hultin, H. O. 1987. Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation system in the microsomal fraction of flounder skeletal muscle. *J. Food Sci.* 52: 15-21.
- Min, S., Min, S. K., and Zhang, Q. H. 2003. Inactivation kinetics of tomato juice lipoxygenase by pulsed electric fields. *J. Food Sci.* 68: 1995-2000.
- Nawar, W. W. 1984. Chemical changes in lipids produced by thermal processing. *J. Chem. Edu.* 61: 299-302.
- Nawar, W. W. 1996. Lipids, pp 225-319. *In Food chemistry*. Fennema, O. R., (ed.). 3rd ed., Marcel Dekker, New York, USA.
- Ohshima, T., Sato K., Terauchi, H., and Sato, M. 1997. Physical and chemical modifications of high-voltage pulse sterilization. *J. Electrostat.* 42: 159-166.

- Paquot, C., and Hautfenne, H. 1987. *IUPAC Standard Methods of Analysis of Oils Fats and Derivatives*. Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK.
- Qin, B. L., Pothakamury, V. R., Barbosa-Canovas, G. V., and Swanson, B. G. 1996. Non thermal pasteurization of liquid foods using high-intensity pulsed electric fields. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 36(6): 603-627.
- Qin, B. L., Zhang, Q., Barbosa-Canovas, G. V., Swanson, B. G., and Pedrow, P.D. 1994. Inactivation of microorganisma by pulsed electric fields with different voltage waveforms. *IEEE Trans. Dielec. Elec. Insul.* 1(6): 1047-1057.
- Reische, D. W., Lillard, D. A., and Eitenmiller, R. R. 2002. Antioxidants, pp 489-516. *In Food Lipids; Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C. C., and Min, D. B., (eds.). 2nd ed., revised and expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, New York, USA.
- Shahidi, F., and Wanasundara, U. N. 2002. Methods for measuring oxidative rancidity in fats and oils, pp 465-487. *In Food Lipids; Chemistry, Nutrition, and Biotechnology*. Akoh, C. C., and Min, D. B., (eds.). 2nd ed., revised and expanded, Marcel Dekker, Inc., New York, New York, USA.
- Shantha, N. C., and Decker, E. A. 1994. Rapid, sensitive, iron-based spectrophotometric methods for determination of peroxide values of food lipids. *J. AOAC Intl.* 77(2): 421-424.