



รายงานผลการวิจัย

เรื่อง ผลของการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร
Effect of Pulsed Electric Fields on Oxidation in Foods

ได้รับการจัดสรรงบประมาณวิจัย ประจำปี 2553
จำนวน 230,000 บาท

หัวหน้าโครงการ กรมภา อรรถนิตย์
ผู้ร่วมโครงการ เสมอขวัญ ตันติกุล

งานวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์
30 มีนาคม 2555

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2553 เรื่องผลของการปล่อยสนามไฟฟ้า เป็นจังหวะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และสาขาวิชาวิศวกรรมเกษตรและอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือ ในการดำเนินการวิจัย

ท้ายที่สุดนี้ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ประจำคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน รวมถึงนักศึกษาผู้ช่วยวิจัยในระดับปริญญาตรีและปริญญาโทของคณะฯ ที่ได้ช่วยเหลือจนทำให้การวิจัยสำเร็จลุล่วง

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
สารบัญภาพ	๗
บทคัดย่อ	1
Abstract	2
บทนำ	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
การตรวจเอกสาร	5
อุปกรณ์และวิธีการ	14
ผลการวิจัยและวิจารณ์	18
สรุปผลการวิจัย	28
เอกสารอ้างอิง	29

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 การเกิดรูบนเซลลემเมเบรอนเนื่องจากการหดตัวเมื่อผ่านสนามไฟฟ้า ความเข้มสูง	7
ภาพที่ 2 ค่า CD ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับ พาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	19
ภาพที่ 3 ค่า PV ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับ พาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	20
ภาพที่ 4 ค่า TBARS ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับ พาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	20
ภาพที่ 5 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และ ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	21
ภาพที่ 6 ค่า CD ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์	22
ภาพที่ 7 ค่า PV ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์	23
ภาพที่ 8 ค่า TBARS ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์	24
ภาพที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์	25

ผลของการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะต่อการเกิดออกซิเดชันในอาหาร

Effect of Pulsed Electric Fields on Oxidation in Foods

กรพกา อรรคณิษฐ์ และ เสมอขวัญ ตันติกุล

Kornpaka Arkanit and Samerkhwan Tantikul

คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของการปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะ (pulsed electric fields, PEF) ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง ต่อคุณภาพของอาหาร 2 ชนิด คือ นมโคและน้ำกะทิ โดยวิเคราะห์การเกิดออกซิเดชัน ได้แก่ ค่า conjugated dienes (CD) ค่า peroxide (PV) และค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) และวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด พบว่านมที่ผ่าน PEF และน้ำนมที่ผ่านพาสเจอร์ไรเซชัน โดยการให้ความร้อนที่ 72.5 องศาเซลเซียส 15 วินาที มีค่า CD และ PV เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยค่า CD และ PV จะสูงที่สุดเมื่อเก็บรักษา 6 วัน หลังจากนั้นจะค่อยๆ ลดลง ซึ่งไม่ต่างจากตัวอย่างนมดิบควบคุมที่ไม่ผ่านกระบวนการใดๆ ส่วนค่า TBARS ของนมทุกตัวอย่างจะมีแนวโน้มลดลงตลอดในระหว่างการเก็บรักษา 8 วัน กระบวนการ PEF และพาสเจอร์ไรเซชัน สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในนมดิบได้ 2 และ 5 log cycles ตามลำดับ โดยนมดิบและนมที่ผ่าน PEF จะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน 10^9 CFU/ml เมื่อเก็บรักษา 6 วัน เมื่อศึกษาผลของ PEF ต่อ น้ำกะทิ ที่ทำให้คงตัวโดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ 3 ชนิด ได้แก่ sodium dodecyl sulfate (SDS) polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20) และ polyoxyethylene (23) lauryl ether (Brij 35) พบว่าระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ค่า CD ของน้ำกะทิจะเพิ่มขึ้น และจะสูงสุดเมื่อเก็บรักษา 0 5 และ 2 วัน ตามลำดับ ส่วนค่า PV ของน้ำกะทิทุกตัวอย่างจะมีค่าสูงสุดเมื่อเก็บรักษา 3-4 วัน ในขณะที่ค่า TBARS ของน้ำกะทิที่ใช้ SDS จะเพิ่มขึ้นมากที่สุดในวันที่ 5 ส่วนน้ำกะทิที่ใช้ Tween 20 และ Brij 35 มีแนวโน้มใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม กระบวนการ PEF สามารถลดปริมาณ จุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำกะทิได้ 0.5 log cycles โดยน้ำกะทิที่ใช้ SDS และผ่าน PEF จะมีอัตราการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์น้อยกว่า น้ำกะทิที่ไม่ได้ผ่าน PEF ในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนน้ำกะทิที่ใช้ Tween 20 และ Brij 35 ที่ผ่าน และไม่ผ่าน PEF มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

คำสำคัญ: นมโค น้ำกะทิ การปล่อยสนามไฟฟ้าเป็นจังหวะ ออกซิเดชัน อิมัลซิไฟเออร์

Abstract

The effect of pulsed electric fields (PEF) at 53 kV/cm 500 pulses on the quality of cow's milk and coconut milk was investigated. The oxidation reaction indices: conjugated dienes (CD), peroxide value (PV), and thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), and total microbial counts were analyzed. It was found that CD and PV of PEF treated milk, pasteurized milk (72.5 °C 15 sec), and unprocessed raw milk increased during storage at 4 °C and reached the maximum value on day 6 before gradually decreasing. TBARS of all milk samples tended to decrease during 8 days of storage. PEF and pasteurization treatment reduced the microbial count of raw milk by 2 and 5 log cycles, respectively. The microbial count of raw milk and PEF treated milk were more than 10^9 CFU/ml after storage for 6 days. The PEF treated coconut milk was stabilized using 3 different emulsifiers. During storage at 4 °C, CD of PEF treated coconut milk prepared with sodium dodecyl sulfate (SDS), polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20), and polyoxyethylene (23) lauryl ether (Brij 35) increased and reached the maximum value on day 0, 5, and 2, respectively. The PV of all coconut milk samples reached the greatest value on day 3-4. TBARS of PEF treated coconut milk prepared with SDS had the highest value on day 5. The course of TBARS of PEF treated coconut milk prepared by Tween 20 or Brij 35 was similar to that of the control. PEF treatment reduced the microbial count of coconut milk by 0.5 log cycle. The PEF treated coconut milk prepared with SDS had lower microbial growth rate than untreated samples during storage. When prepared with Tween 20 or Brij 35, the microbial growth rate of PEF treated and untreated coconut milks were similar.

Key words: cow's milk, coconut milk, pulsed electric fields, oxidation, emulsifier

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 เซลล์จุลินทรีย์จึงเสียสมดุลและตายในที่สุด (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. เปรียบเทียบการเกิดออกซิเดชันในนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อน
2. ศึกษาอิทธิพลของ emulsifier ต่อการเกิดออกซิเดชันในน้ำกะทิที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้องค์ความรู้ใหม่ทางวิทยาศาสตร์ที่สามารถเผยแพร่ในวารสารทางวิชาการได้
2. อุตสาหกรรมอาหารสามารถนำความรู้ไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารให้มีคุณภาพสูงขึ้นและปลอดภัย สามารถเพิ่มมูลค่าสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออกและพัฒนาศักยภาพการแข่งขันในเวทีการค้าโลก

การตรวจเอกสาร

1. การปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงเป็นจังหวะ

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

1.1 การเกิดสนามไฟฟ้า

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

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

1.2 กลไกการทำลายเชื้อจุลินทรีย์

จากทฤษฎีความเสียหายเนื่องจากไดอิเล็กทริก (dielectric rupture theory) สนามไฟฟ้าที่อยู่ภายนอกสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดความแตกต่างระหว่างไฟฟ้าดำนอกกับด้านในของเซลล์เมมเบรน 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 (Barbosacanvas *et al.*, 1998) อย่างไรก็ตาม การเกิดรูที่เซลล์เมมเบรนที่เกิดจากสนามไฟฟ้านี้จะเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้ หากความเข้มของสนามไฟฟ้าภายนอกที่ใช้ในกระบวนการมีค่าเท่ากับหรือมากกว่าค่าวิกฤตเพียงเล็กน้อย

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

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

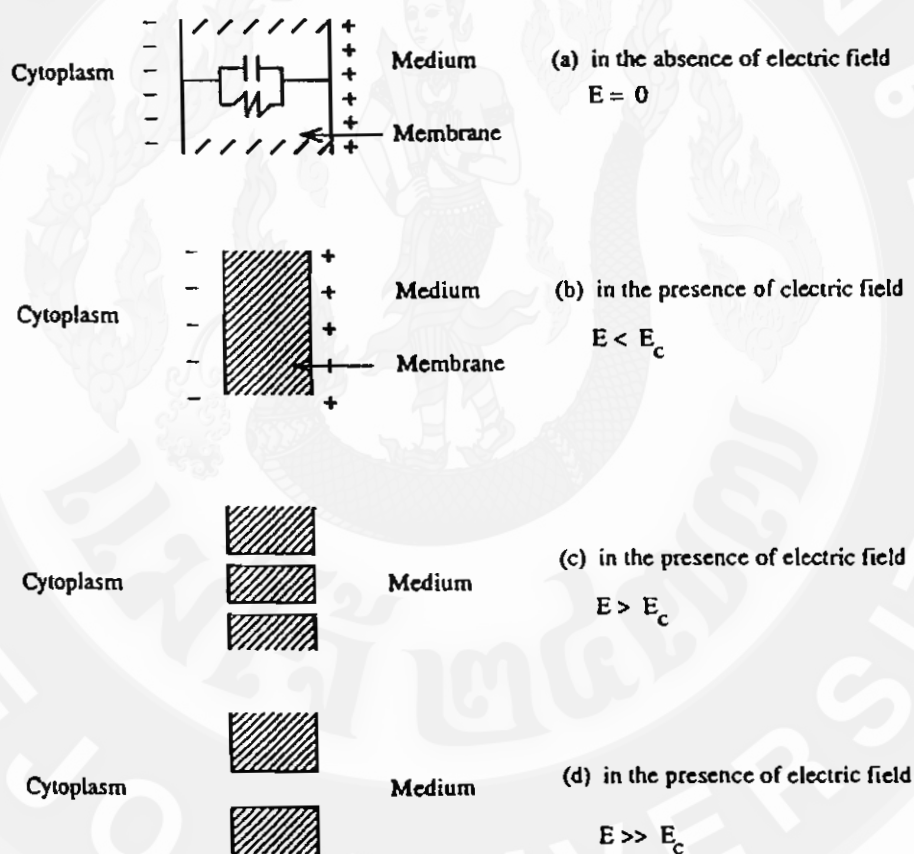
เมื่อ b_c คือค่าคงที่ของอัตราเร็ว (rate constant)

E คือความเข้มของสนามไฟฟ้าที่ปล่อยออกไป

E_c คือความเข้มของสนามไฟฟ้าที่เป็นค่าวิกฤต (critical or threshold electric field)

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

สนามไฟฟ้าจากภายนอกสูงเซลล์มากขึ้น ก็จะทำให้ส่งผลทำให้มีประจุสะสมที่พื้นผิวเพิ่มมากขึ้น 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

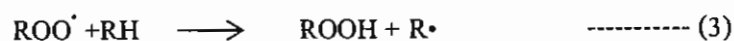
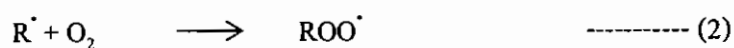
2.1 ขั้นเริ่มต้น (initiation)

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



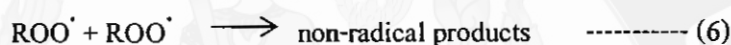
2.2 ปฏิกิริยาขั้นต่อเนื่อง (propagation)

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



2.3 ปฏิกิริยาขั้นสุดท้าย (termination)

เป็นขั้นที่อนุมูลอิสระต่างๆ เกิดการรวมตัวกันเอง และกลายเป็นสารที่ไม่มีอนุมูลอิสระ (non-radical products) ปฏิกิริยาจึงสิ้นสุดลง 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 นอกจากนี้มีส่วนประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหารยังอาจทำหน้าที่ร่วมออกซิไดส์ (cooxidized) หรือทำปฏิกิริยากับ

ไขมันที่ถูกออกซิไดส์แล้วหรือผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชัน ดังนั้นปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน จึงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องและค่อนข้างสลับซับซ้อน (Nawar, 1996) ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเกิดออกซิเดชัน มีดังนี้

3.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน

เนื่องจากชนิดของกรดไขมันในโมเลกุลของไขมันและน้ำมันมีผลกระทบต่ออัตราเร็วของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเท่านั้นที่จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และอัตราเร็วของการเกิดจะแตกต่างกัน โดยกรดไขมันที่มีพันธะคู่มากจะเกิดได้เร็วกว่ากรดไขมันที่มีพันธะคู่ย่อย 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 และอุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อความดันย่อยของออกซิเจนด้วย 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) ปฏิกริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว 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 ส่วนประกอบและความเป็นรูพรุนของส่วนที่เป็นน้ำ และค่าพีเอช (pH) เป็นต้น (McClements and Decker, 2000)

3.8 โปรออกซิแดนซ์ (pro-oxidant)

แร่ธาตุหรือโลหะบางชนิดที่มีประจุมากกว่าหรือเท่ากับ 2 เช่น โคบอลต์ ทองแดง เหล็ก แมงกานีส และนิกเกิล เป็นต้น มีสมบัติเป็นโปรออกซิแดนซ์ได้ ซึ่งที่ความเข้มข้นเพียง 0.1 ส่วนในล้านส่วน จะลดช่วงการเหนี่ยวนำซึ่งเป็นช่วงแรกของการเกิดปฏิกิริยา ทำให้อัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น แร่ธาตุหรือโลหะเหล่านี้ได้มาจากดิน สัตว์ อุปกรณ์โลหะที่ใช้ในกระบวนการแปรรูป หรือมีอยู่เองตามธรรมชาติ เช่น ในน้ำมัน ไข่ น้ำผลไม้ เป็นต้น ซึ่งโลหะเหล่านี้อยู่ในรูปอิสระหรือจับกันเป็นสารประกอบ

3.9 พลังงานจากแสงหรือรังสี

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

3.10 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านออกซิเดชันจะช่วยยับยั้ง หรือชะลอการเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งมีทั้งสารต้านออกซิเดชันในธรรมชาติ เช่น วิตามินอีในน้ำมันพืช และสารต้านออกซิเดชันที่เป็นสารสังเคราะห์และอนุญาตให้เติมลงในอาหารได้ เช่น โพรพิลแกลเลต (propyl gallate) บิวทิลเตตไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) และ บิวทิลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (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)

เปอร์ออกไซด์เป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกของการเกิดออกซิเดชัน 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 ไม่เพียงแต่มาลอนาลดีไฮด์เท่านั้นที่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาร์บิทูริกแล้วเกิดสีได้ สารประกอบพวกแอลคานาล (alkanals) 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. วัสดุและอุปกรณ์

- นํ้านม โคและนํ้ากะทิ ซึ่้มาจากตลาดแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่
- อิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ sodium dodecyl sulfate (SDS) และอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35
- สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ออกซิเดชัน ได้แก่ ammonium thiocyanate, ferrous chloride, trichloroacetic acid, butylated hydroxytoluene และ thiobarbituric acid ยี่ห้อ Merck (Germany)
- สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ออกซิเดชัน ได้แก่ isooctane, isopropanol, methanol, butanol และ ethanol 95% ยี่ห้อ Ajax (Australia)
- Bacto peptone และ อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ยี่ห้อ Difco (USA)

2. เปรียบเทียบการเกิดออกซิเดชันในนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อน

นํ้านม โคมาตีให้เข้ากันโดยใช้ไฮโมจีนไนเซอร์ (KINEMATICA, model PT 3100 Polytron, Switzerland) ที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที 5 นาที แล้วแบ่งออกเป็นสามส่วน ส่วนแรกเก็บรักษาไว้ ส่วนที่สองนำไปฆ่าเชื้อด้วย PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง ใช้เวลา 5 นาที ส่วนที่สามนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 72.5 องศาเซลเซียส 15 วินาที วิเคราะห์ด้วยอย่างนมทั้งสามส่วนในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังนี้

2.1 ค่า conjugated dienes (CD)

คัดแปลงตามวิธีของ Silvestre et al. (2000) และ Huang et al. (1996) นํ้านม 2 มิลลิลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม isooctane/isopropanol (3:2, v/v) 10 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยง (ANDREAS HETTICH, model UNIVERSAL 32, Germany) ที่ความเร็ว 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที คูณสารละลายส่วนใสด้านบนมา 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในตัวทำละลายผสม methanol/butanol (2:1, v/v) 9 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที คูณสารละลายที่ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในตัวทำละลายผสม methanol/butanol (2:1, v/v) 4 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที นำไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Thermo, model Evolution 300, UK) ที่ 233 นาโนเมตร

2.2 ค่า peroxide value (PV)

คัดแปลงตามวิธีของ Yen and Hsieh (1998) นำนม 2 มิลลิลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม isooctane/isopropanol (3:2, v/v) 10 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที คูดสารละลายส่วนใสด้านบนมา 200 ไมโครลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม methanol/butanol (2:1, v/v) 2.8 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย ammonium thiocyanate ความเข้มข้น 30% 0.1 มิลลิลิตร และสารละลาย ferrous chloride (ในกรด HCl 3.5%) ความเข้มข้น 20 mM 0.1 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที ตั้งสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 500 นาโนเมตร เช็ทเครื่องโดยใช้ reagent blank การวิเคราะห์ค่า PV ทำในสภาพแวดล้อมที่มีแสงน้อยและเสร็จภายใน 10 นาที

2.3 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

คัดแปลงตามวิธีของ Botsoglou et al. (1994) นำนม 4 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย trichloroacetic acid ความเข้มข้น 10% 1 มิลลิลิตร และสารละลาย butylated hydroxytoluene ความเข้มข้น 0.85% ใน ethanol 95% 1 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที แยกส่วนของสารแขวนลอยด้านบนทิ้งไป แล้วนำส่วนใสซึ่งเป็นน้ำอยู่ด้านล่าง 2 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย thiobarbituric acid ความเข้มข้น 0.60% 2 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปแช่ใน water bath (Memmert, Model TW 20, USA) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยการเปิดน้ำไหลผ่าน ปั่นเหวี่ยงให้ใสที่ความเร็วรอบ 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

2.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ใช้วิธีของ US FDA (BAM, 1998) นำนมมาทำให้เจือจางในระดับที่เหมาะสมโดยใช้สารละลายเปปโตน 0.1% หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

3. ศึกษาอิทธิพลของ emulsifier ต่อการเกิดออกซิเดชันในน้ำกะทิที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF

นำน้ำกะทิมาทำให้คงตัว โดยเติมอิมัลซิไฟเออร์ชนิดต่างๆ ได้แก่ sodium dodecyl sulfate (SDS) ความเข้มข้น 1.0% Tween 20 ความเข้มข้น 0.6% และ Brij 35 10% ตีให้เข้ากันโดยใช้โฮโมจิไนเซอร์ที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที 5 นาที แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วย PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง ใช้เวลา 5 นาที วิเคราะห์น้ำกะทิ 3 ตัวอย่าง คือ น้ำกะทิที่ไม่เติมอิมัลซิไฟเออร์ (ตัวอย่างควบคุม) น้ำกะทิที่เติมอิมัลซิไฟเออร์และผ่าน homogenization แล้ว และน้ำกะทิที่เติมอิมัลซิไฟเออร์ผ่าน homogenization และ PEF แล้ว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังนี้

3.1 ค่า conjugated dienes (CD)

คัดแปลงตามวิธีของ Silvestre et al. (2000) และ Huang et al. (1996) นำน้ำกะทิ 2 มิลลิลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม isooctane/isopropanol (3:2, v/v) 10 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที คูณสารละลายส่วนใสด้านบนมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในตัวทำละลายผสม methanol/butanol (2:1, v/v) 9 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 233 นาโนเมตร

3.2 ค่า peroxide value (PV)

คัดแปลงตามวิธีของ Yen and Hsieh (1998) นำสารละลายที่ใช้ในการวัดค่า CD จากข้อ 3.1 1 มิลลิลิตร มาละลายในตัวทำละลายผสม methanol/butanol (2:1, v/v) 10 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที คูณสารละลายที่ได้มา 4 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย ammonium thiocyanate ความเข้มข้น 30% 0.2 มิลลิลิตร และสารละลาย ferrous chloride (ในกรด HCl 3.5%) ความเข้มข้น 20 mM 0.2 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที ตั้งสารละลายไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการ

ดูคลิ่นแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 500 นาโนเมตร เซ็ทเครื่องโดยใช้ reagent blank การวิเคราะห์ค่า PV ทำในสภาพแวดล้อมที่มีแสงน้อยและเสร็จภายใน 10 นาที

3.3 ค่า thiobarbituric acid reactive substances (TBARS)

คัดแปลงตามวิธีของ Botsoglou et al. (1994) นำน้ำกะทิ 4 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย trichloroacetic acid ความเข้มข้น 10% 4 มิลลิลิตร และสารละลาย butylated hydroxytoluene ความเข้มข้น 0.85% ใน ethanol 95% 4 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที แยกส่วนของสารแขวนลอยด้านบนทิ้งไป แล้วนำส่วนใสซึ่งเป็นน้ำอยู่ด้านล่าง 3 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย thiobarbituric acid ความเข้มข้น 0.60% 3 มิลลิลิตร ปั่นผสม 15 วินาที 3 ครั้ง แล้วนำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำให้เย็นทันทีโดยการเปิดน้ำไหลผ่าน ปั่นเหวี่ยงให้ใสที่ความเร็วรอบ 4,600 รอบต่อนาที 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

3.4 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

ใช้วิธีของ US FDA (BAM, 1998) นำน้ำกะทิมาทำให้เจือจางในระดับที่เหมาะสมโดยใช้สารละลายเปปโดน 0.1% หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 24-48 ชั่วโมง

4. การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์

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

ผลการวิจัยและวิจารณ์

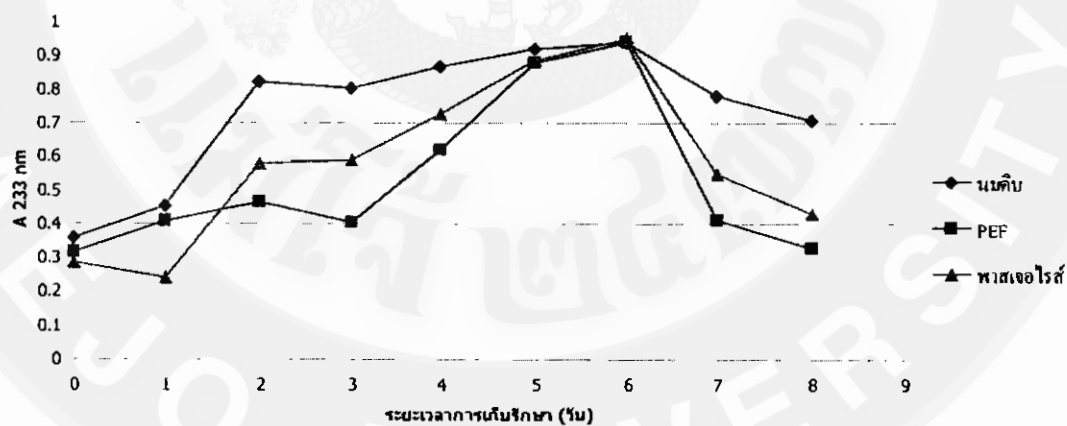
1. เปรียบเทียบการเกิดออกซิเดชันในนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อน

โดยปกติแล้ว การฆ่าเชื่อน้ำนมดิบด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน (pasteurization) จะกระทำที่อุณหภูมิ 72.5 องศาเซลเซียส 15 วินาที ความร้อนระดับดังกล่าว สามารถทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganisms) ในน้ำนมได้ทั้งหมด และสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสีย (spoilage microorganisms) ได้บางส่วน ดังนั้น นมพาสเจอร์ไรส์จึงต้องเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาให้ได้ 7-10 วัน การวิจัยนี้ ได้ทดลองใช้ PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง เพื่อฆ่าเชื้อในน้ำนมดิบเปรียบเทียบกับ การฆ่าเชื้อด้วยความร้อน แล้ววิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของการเกิดออกซิเดชันและปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด เมื่อเก็บรักษานมที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

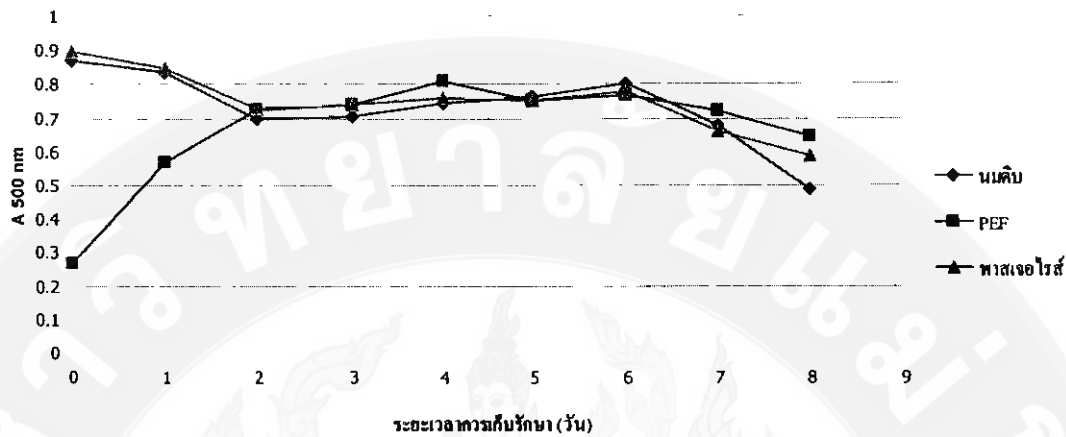
ในการติดตามออกซิเดชันของนม ได้วิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นแรก (primary oxidation products) คือ CD และ PV และผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นที่สอง (secondary oxidation product) คือ TBARS โดย CD เป็นการอาศัยคุณสมบัติการดูดกลืนแสงของพันธะคู่สองพันธะที่วางตัวโดยมีพันธะเดี่ยวหนึ่งพันธะคั่นอยู่ตรงกลาง (conjugated dienes) ซึ่งลักษณะการวางตัวของพันธะดังกล่าวจะเกิดขึ้นเมื่อกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่เกิดออกซิเดชัน PV เป็นการหาปริมาณของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ที่เกิดจากออกซิเดชันของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ ในช่วงแรกของการเกิดออกซิเดชันจะมีปริมาณของไฮโดรเปอร์ออกไซด์สูง แต่เนื่องจากไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา จึงสามารถแตกตัวเป็นสารประกอบชนิดอื่นๆ ต่อไปได้ ส่วน TBARS เป็นการวิเคราะห์สารประกอบอัลดีไฮด์ที่เกิดจากการแตกตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยให้ทำปฏิกิริยากับกรดไทโอบาบิทูริก ได้ผลิตภัณฑ์เป็นมาลonaldไฮด์ (malonaldehyde) (Nawar, 1984) ดังนั้น หากนมมีค่า PV CD และ TBARS สูง แสดงว่านมเกิดออกซิเดชันมาก

เมื่อนำนมมาผ่านกระบวนการ PEF และความร้อน พบว่า ค่า CD ของนมที่ผ่านกระบวนการ PEF และความร้อน ลดลงจากนมดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการใดๆ เพียงเล็กน้อยในวันที่ 0 ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นมดิบจะมีค่า CD เพิ่มขึ้นเร็วกว่านมที่ผ่านกระบวนการ PEF และความร้อน โดยนมทุกตัวอย่างจะมีค่า CD สูงสุดในวันที่ 6 หลังจากนั้นค่า CD

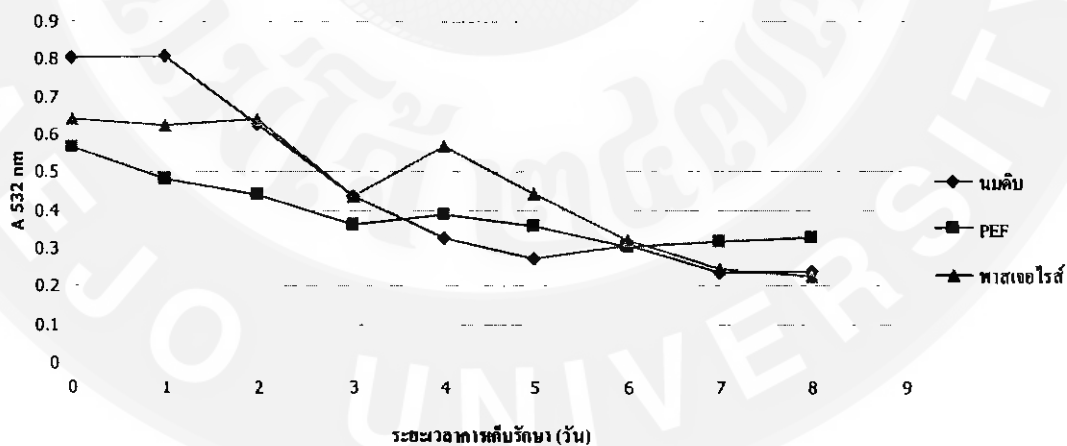
จะลดลง (ภาพที่ 2) ในขณะที่ค่า PV ของนมที่ผ่าน PEF จะลดลงทันทีหลังกระบวนการเมื่อเทียบกับตัวอย่างนมดิบและนมที่ผ่านความร้อนในวันที่ 0 แต่อย่างไรก็ตาม ค่า PV ของทุกตัวอย่างจะกลับมาเท่ากันในวันที่ 2 และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนถึงวันที่ 6 จากนั้นจะค่อยๆ ลดลง (ภาพที่ 3) ส่วนค่า TBARS ของนมที่ผ่าน PEF และความร้อน จะลดลงต่ำกว่านมดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการใดๆ ทันทีหลังกระบวนการในวันที่ 0 ซึ่งค่า TBARS จะมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 4) จากการทดลองจะเห็นได้ว่ากระบวนการ PEF และความร้อน ไม่ได้เร่งให้นมเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ซึ่งตัวอย่างนมจะเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยค่า CD และ PV จะสูงสุดในวันที่ 6 หลังจากนั้นค่าจะลดลงเนื่องจาก conjugated dienes และไฮโดรเปอร์ออกไซด์แตกตัวเป็นสารประกอบชนิดอื่นๆ ส่วนค่า TBARS ที่มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานั้น อาจเป็นเพราะยังมีมาลonalดีไฮด์อยู่ในปริมาณเพียงเล็กน้อย เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในตัวอย่างนมสร้างผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นแรกในปริมาณมาก และอาจจะยังไม่แตกตัวออกเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นที่สอง ซึ่งก็คือมาลonalดีไฮด์นั่นเอง



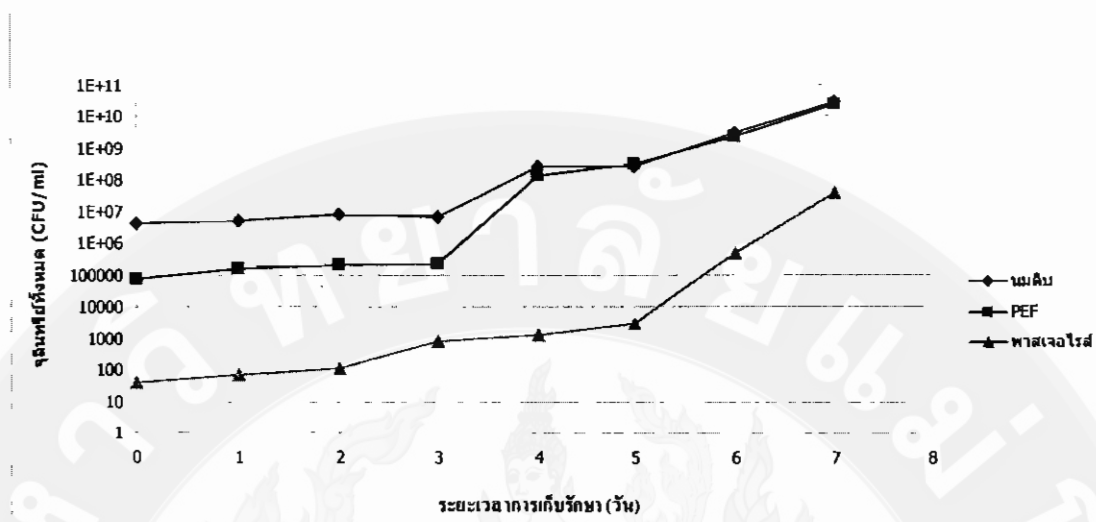
ภาพที่ 2 ค่า CD ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 3 ค่า PV ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4 ค่า TBARS ของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

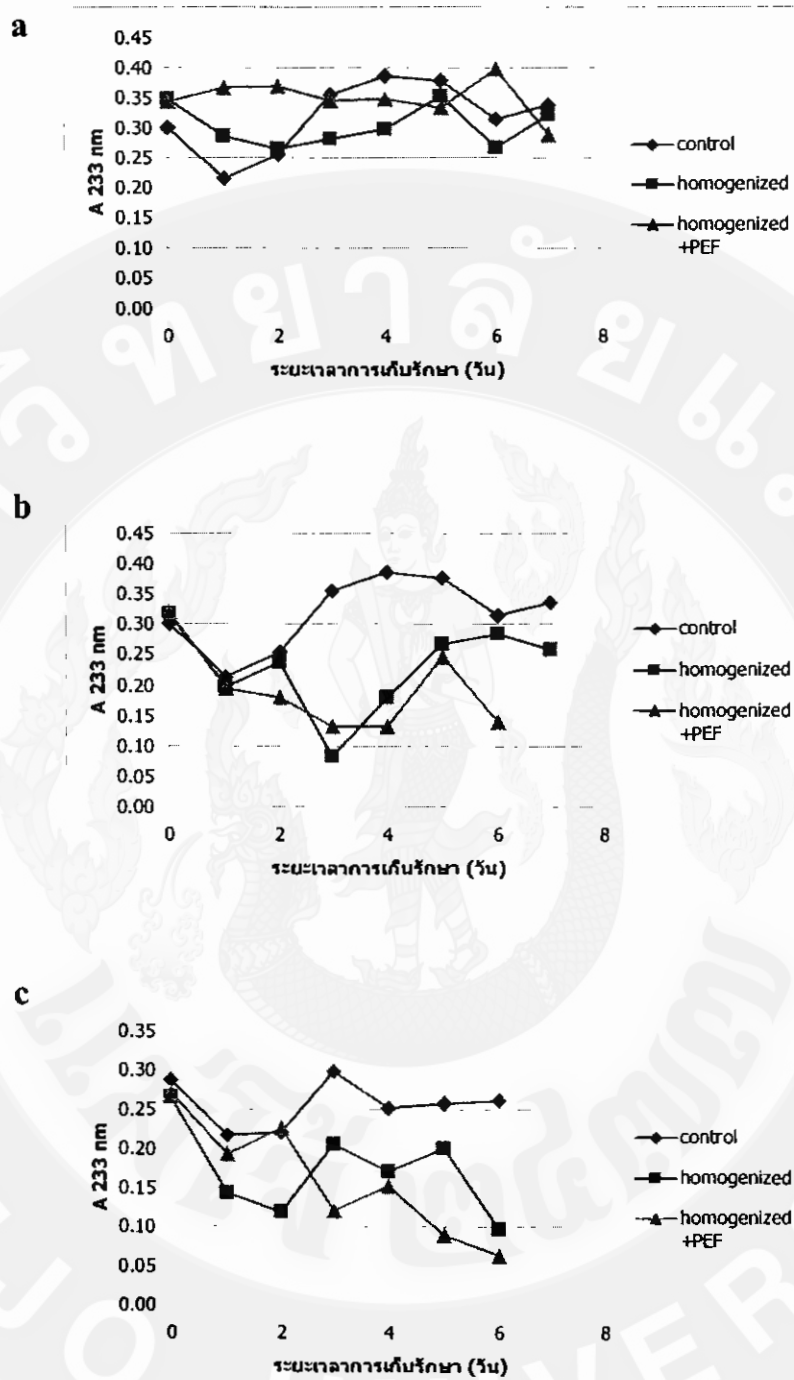


ภาพที่ 5 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF และความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ชั้น เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

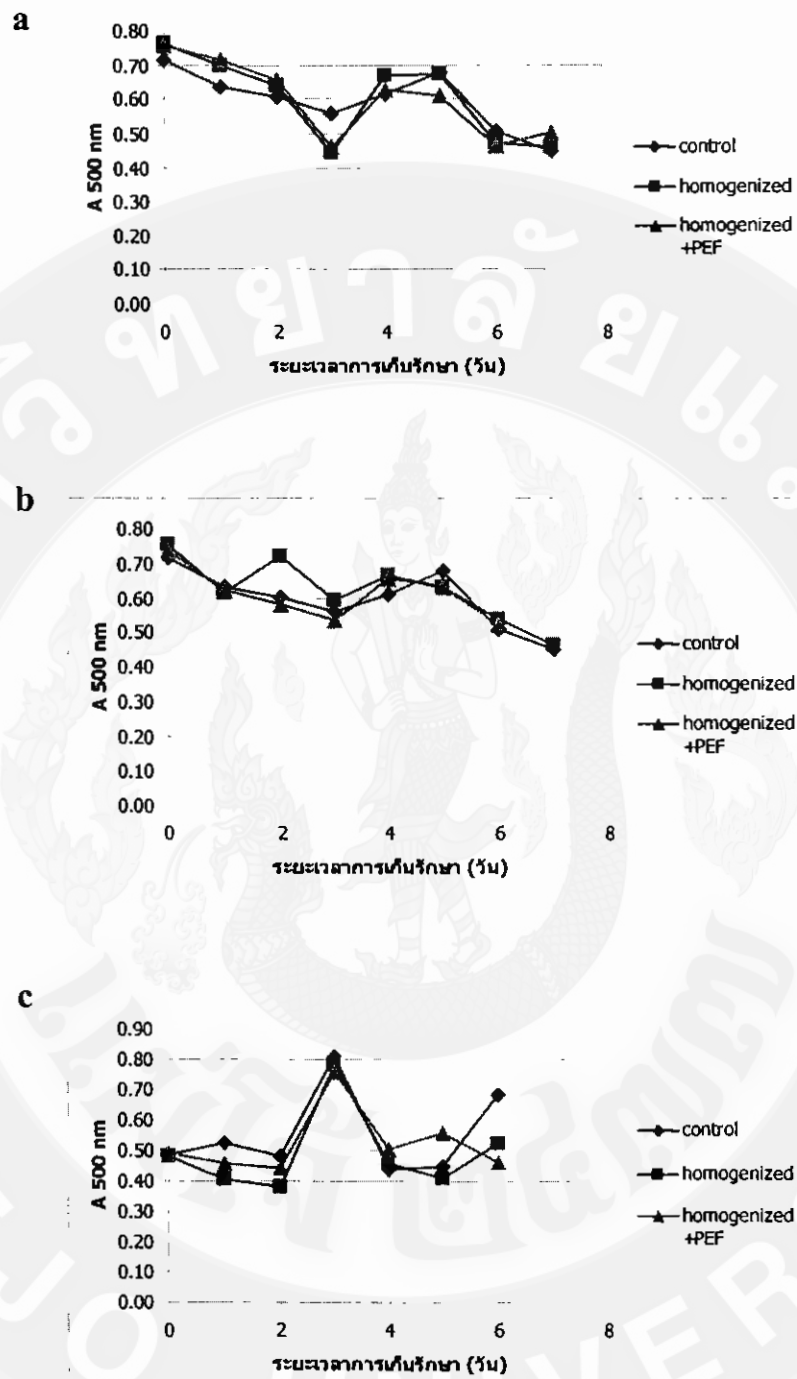
การฆ่าเชื้อในนมดิบด้วย PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในนมดิบได้ประมาณ 1.5-2 log cycles ในขณะที่การฆ่าเชื้อในนมดิบด้วยความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ชั้นที่อุณหภูมิ 72.5 องศาเซลเซียส 15 วินาที สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในนมดิบได้ถึง 5 log cycles (ภาพที่ 5) โดยนมดิบและนมที่ผ่าน PEF จะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน 10⁹ CFU/ml ในวันที่ 6 และเป็นวันเดียวกับที่ค่า CD และ PV มีค่าสูงสุด ซึ่งนมดิบและนมที่ผ่าน PEF จะเกิดการเสื่อมเสียและไม่สามารถบริโภคได้แล้วในวันที่ 6 ในขณะที่นมพาสเจอร์ไรส์ยังไม่เกิดการเสื่อมเสียในวันดังกล่าว

2. ศึกษาอิทธิพลของ emulsifier ต่อการเกิดออกซิเดชันในน้ำกะทิที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย PEF

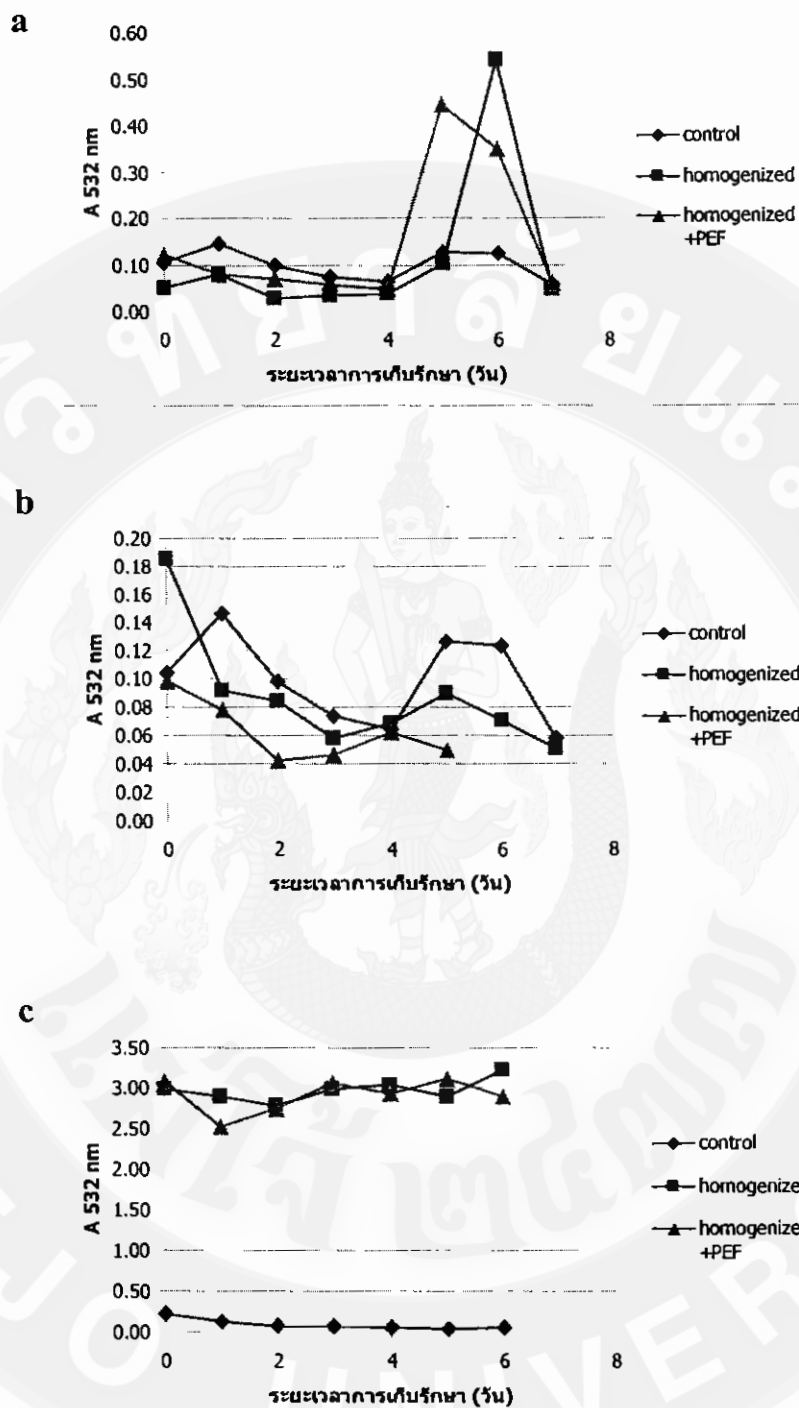
อิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในการทดลองนี้ ได้แก่ SDS, Tween 20 และ Brij 35 ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างของส่วนหางที่ชอบน้ำมันของโมเลกุลที่ประกอบด้วยคาร์บอน 12 อะตอม และมีพันธะเดี่ยวตลอดสายเหมือนกันทั้งหมด ในขณะที่ส่วนหัวที่ชอบน้ำ จะมีประจุที่แตกต่างกัน คือ SDS มีประจุลบ ส่วน Tween 20 และ Brij 35 ไม่มีประจุ เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบผลของประจุของอิมัลซิไฟเออร์ที่อาจมีผลต่อออกซิเดชันในน้ำกะทิได้



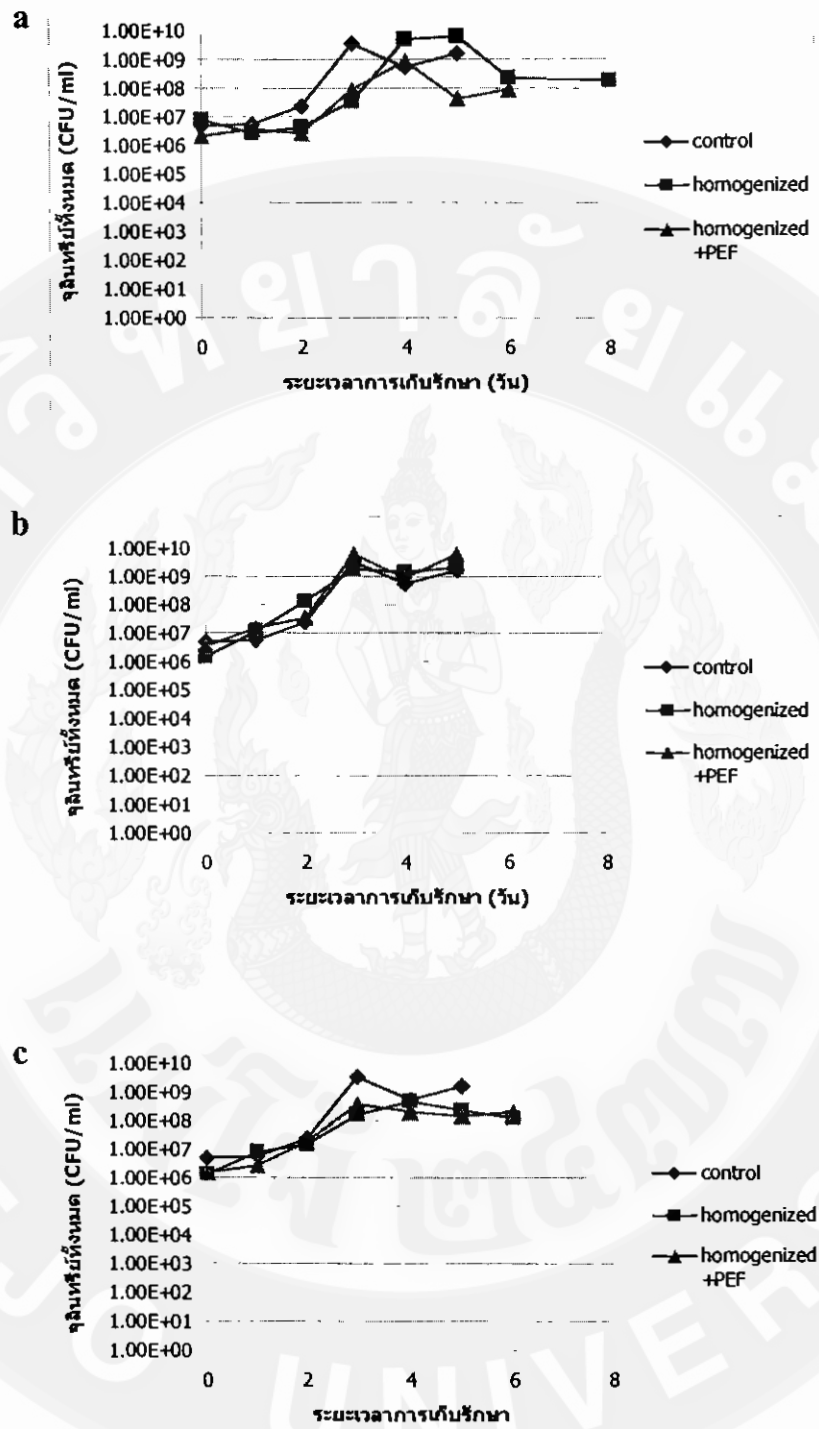
ภาพที่ 6 ค่า CD ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์



ภาพที่ 7 ค่า PV ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์



ภาพที่ 8 ค่า TBARS ของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์



ภาพที่ 9 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำกะทิ เมื่อใช้ SDS (a) Tween 20 (b) และ Brij 35 (c) เป็นอิมัลซิไฟเออร์

เมื่อนำน้ำกะทิที่ทำให้คงตัวโดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ชนิดต่างๆ มาผ่านขบวนการ homogenization และ PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง พบว่าน้ำกะทิที่ใช้ SDS จะมีค่า CD สูงขึ้นจากตัวอย่างควบคุมทันทีเมื่อนำไปผ่าน homogenization และ PEF ในขณะที่น้ำกะทิที่ใช้ Tween 20 และ Brij 35 มีค่า CD ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมหลังผ่าน homogenization+PEF เมื่อเก็บรักษาน้ำกะทิที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำกะทิที่ใช้ SDS และผ่าน homogenization+PEF แล้ว จะให้ค่า CD สูงกว่าตัวอย่างควบคุมและมีค่า CD สูงสุดอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 0 นั่นคือจะเกิดออกซิเดชันมากกว่าตัวอย่างควบคุม ซึ่งตัวอย่างควบคุมจะต้องใช้เวลาถึง 3-4 วัน จึงจะให้ค่า CD สูงสุด ในขณะที่น้ำกะทิที่ใช้ Tween 20 และ Brij 35 จะต้องใช้เวลาถึง 5-6 วัน และ 2-3 วัน จึงจะให้ค่า CD สูงสุด ตามลำดับ (ภาพที่ 6) ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า เนื่องจากกระบวนการ PEF เป็นการปล่อยประจุที่เป็นอิเล็กตรอนเข้าสู่อาหาร ซึ่งอาจเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระในเม็ดไขมันสร้างอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น เมื่อมีการเตรียมน้ำกะทิโดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS อาจเป็นไปได้ที่ประจุลบของอิมัลซิไฟเออร์ที่ล้อมรอบเม็ดไขมันที่แขวนลอยอยู่ในน้ำกะทิ ช่วยเสริมผลของอิเล็กตรอนจาก PEF ให้เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวในเม็ดไขมันได้เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่น้ำกะทิที่เตรียมโดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 จะเกิดออกซิเดชันน้อยกว่า ซึ่งการที่โมเลกุลของอิมัลซิไฟเออร์ไม่มีประจุ อาจทำให้อิเล็กตรอนจาก PEF ไม่สามารถส่งผลกระทบต่อเข้าไปถึงเม็ดไขมันที่อิมัลซิไฟเออร์นี้ล้อมรอบอยู่ได้ ดังจะเห็นได้จากผลการทดลอง โดยน้ำกะทิที่เตรียมจากอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ เมื่ผ่าน PEF แล้ว จะเกิดออกซิเดชันใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม

เมื่อพิจารณาค่า PV พบว่าน้ำกะทิที่ผ่าน homogenization และ PEF มีค่าไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมในทุกตัวอย่างของน้ำกะทิที่เตรียมโดยใช้ SDS Tween 20 และ Brij 35 โดยทุกตัวอย่างจะใช้เวลา 3-4 วัน ในการทำให้ค่า PV สูงสุด (ภาพที่ 7) ซึ่งแสดงให้เห็นว่ากระบวนการ homogenization PEF และประจุของอิมัลซิไฟเออร์ ไม่มีผลต่อการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์

ค่า TBARS ของตัวอย่างน้ำกะทิที่เตรียมโดยใช้ SDS ในช่วง 4 วันแรกของการเก็บรักษา มีค่าคงที่และใกล้เคียงกันทุกตัวอย่าง TBARS เป็นการวัดปริมาณของมาลอนาลดีไฮด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นที่สอง จึงอาจต้องใช้เวลาในการเก็บรักษาช่วงหนึ่งเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากออกซิเดชันขั้นแรกแตกตัวให้มาลอนาลดีไฮด์ อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 5 น้ำกะทิที่ใช้ SDS และผ่าน homogenization+PEF แล้ว จะให้ค่า TBARS สูงขึ้นกว่าตัวอย่างอื่นๆ อย่างเห็นได้ชัด ตามมาด้วยน้ำกะทิที่ใช้ SDS และผ่าน homogenization ในวันที่ 6 ในขณะที่น้ำกะทิที่ใช้ Tween

20 และผ่าน homogenization และ PEF ให้ค่า TBARS ใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม ส่วนในตัวอย่าง น้ำกะทิที่ใช้ Brij 35 และผ่าน homogenization และ PEF ให้ค่า TBARS สูงกว่าตัวอย่างควบคุมมาก (ภาพที่ 8) แต่เมื่อพิจารณาแนวโน้มของค่า TBARS ในระหว่างการเก็บรักษาแล้วพบว่าค่าไม่เปลี่ยนแปลง นั่นคือออกซิเดชันไม่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา แต่สาเหตุที่ค่า TBARS ของ น้ำกะทิที่ใช้ Brij 35 สูงกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่ได้ใช้ Brij 35 นั้น อาจเนื่องมาจาก Brij 35 สามารถ ให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

การใช้ PEF ที่ความเข้ม 53 kV/cm 500 ครั้ง เพื่อนำเชื้อในน้ำกะทิที่ใช้ไขมันลิไฟเออร์ทั้ง 3 ชนิด สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำกะทิได้เพียง 0.5 log cycles (ภาพที่ 9) เมื่อเก็บรักษา น้ำกะทิที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าน้ำกะทิที่ไม่ได้ผ่าน PEF จะมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิน 10^9 CFU/ml ในวันที่ 3 ซึ่งน้ำกะทิที่เตรียมโดยใช้ SDS และผ่าน PEF เมื่อเก็บไว้ 6 วัน จะยังคงมี ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต่ำกว่า 10^9 CFU/ml อาจเป็นไปได้ว่า แม้ PEF จะไม่สามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ลงได้ทันทีหลังกระบวนการ แต่ PEF อาจก่อให้เกิดอาการบาดเจ็บและไม่สามารถ เจริญเติบโตต่อได้ภายหลังในช่วงระหว่างการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาน้ำกะทิที่เตรียมโดยใช้ Tween 20 และ Brij 35 พบว่าน้ำกะทิที่ผ่านและไม่ผ่าน PEF มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน ซึ่งอาจอธิบาย ได้ว่าเนื่องจากกระบวนการ PEF เป็นการปล่อยประจุลบที่เป็นอิเล็กตรอนเข้าสู่อาหาร การใช้ไขมันลิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS อาจช่วยเสริมประสิทธิภาพในการฆ่าจุลินทรีย์ของ PEF ได้ ในขณะที่การใช้ไขมันลิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 จะไม่มีผลใดๆ ต่อการฆ่าจุลินทรีย์ ของ PEF

สรุปผลการวิจัย

1. กระบวนการ PEF และความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชัน ไม่มีผลในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันในนม โดยนมคิบ นมที่ผ่าน PEF และนมที่ผ่านความร้อน จะเกิดออกซิเดชันมากที่สุดในวันที่ 6 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งนมคิบและนมที่ผ่าน PEF จะเกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์แล้วในวันที่ 6 ในขณะที่นมที่ผ่านความร้อนยังไม่เกิดการเสื่อมเสีย
2. ประจุของอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในการทำให้น้ำกะทิคงตัว มีผลต่อออกซิเดชัน โดยอิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS จะทำให้ปริมาณ conjugated dienes และมาลอนาลดีไฮด์ในน้ำกะทิเพิ่มขึ้นหลังผ่าน homogenization และ PEF เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการใช้อิมัลซิไฟเออร์ ส่วนอิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 ไม่มีผลต่อออกซิเดชัน
3. อิมัลซิไฟเออร์ชนิดประจุลบ คือ SDS จะเสริมประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำกะทิของ PEF ในขณะที่การใช้อิมัลซิไฟเออร์ชนิดไม่มีประจุ คือ Tween 20 และ Brij 35 จะไม่มีผลใดๆ

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.
- Botsoglou, N.A., D.J. Fletouris, G.E. Papageorgiou, V.N. Vassilopoulos, A.J. Mantis and A.G. Trakatellis. 1994. Rapid, sensitive, and specific thiobarbituric acid method for measuring lipid peroxidation in animal tissue, food, and feedstuff samples. *J. Agric. Food Chem.* 42(9): 1931-1937.
- 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.
- Huang, S.-W., E.N. Frankel, K. Schwarz, R. Aeschbaeh and J.B. German. 1996. Antioxidant activity of carnosic acid and methyl carnosate in bulk oils and oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 44: 2951-2956.
- 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.
- 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.
- 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.
- Silvestre, M.P.C., W. Chaiyasit, R.G. Brannan, D.J. McClements and E.A. Decker. 2000. Ability of surfactant headgroup size to alter lipid and antioxidant oxidation in oil-in-water emulsions. *J. Agric. Food Chem.* 48(6): 2057-2061.
- U.S. Food and Drug Administration. 1998. Bacteriological Analytical Manual (BAM). 8th ed., Revision A, AOAC International, Gaithersburg, MD
- Yen, G.C. and C.L. Hsieh. 1998. Antioxidant activity of extracts from Du-zhong (*Eucommia ulmoides*) toward various peroxidation models in vitro. *J. Agric. Food Chem.* 46(10): 3952-3957.