

เครื่องปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูง เป็นเทคโนโลยีที่ไม่ใช้ความร้อนเพื่อยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้เสื่อมเสียในอาหาร มีลักษณะกระป๋องเป็นช่วงสั้นๆ โดยสามารถทำลายผนังเซลล์ให้หดตัวและเกิดรูพรุน ส่งผลให้ระบบขนส่งสารเข้าและออกจากเซลล์เสียหายจนเซลล์ไม่สามารถทำงานได้เป็นปกติ การออกแบบวงจรเครื่องปล่อยสนามไฟฟ้าต้นแบบแบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ แบบแรงดันไฟฟ้าต่ำ ควบคุมการปล่อยแรงดันด้วย Timer IC-555 สำหรับสร้างสัญญาณความถี่ มีทรานซิสเตอร์ 2 ตัวช่วยขับ ทำให้เกิดแรงดันไฟฟ้า 5-20 kV/cm และแบบแรงดันไฟฟ้าสูง ใช้ไอซีเบอร์ SG35225 เป็นตัวกำหนดและผลิตความถี่ร่วมกับ Power Mos. Fet (IRF504) ทำให้เกิดแรงดันไฟฟ้า 50-65 kV/cm จากการทดลองพบว่าแบบแรงดันไฟฟ้าสูงมีประสิทธิภาพในการลดเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า โดยเมื่อปล่อยสนามไฟฟ้าจำนวน 100-500 ครั้ง สามารถลดเชื้อ *E. coli* ได้ 3 Log CFU/ml และเชื้อ *S. aureus* ได้ 1-2 Log CFU/ml ในขณะที่แบบแรงดันไฟฟ้าต่ำ เมื่อปล่อยสนามไฟฟ้าจำนวน 15,000 ครั้ง สามารถลดเชื้อ *E. coli* ได้ 1-2 Log CFU/ml และเชื้อ *S. aureus* ได้ 1-2 Log CFU/ml

เครื่องปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงแบบแรงดันไฟฟ้าสูงสามารถลดจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่า จึงนำมาใช้ในการทดสอบอิทธิพลของความเข้มและจำนวนครั้งของการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ในสารละลายเปปโตน 0.1% พบว่าที่ความเข้ม 16 kV/cm 100-500 ครั้ง สามารถลดเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ 1 Log CFU/ml และลดลงได้มากถึง 3 Log CFU/ml เมื่อเพิ่มความเข้มเป็น 53 kV/cm 400-500 ครั้ง แต่การปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูงถึง 53 kV/cm 500 ครั้ง สามารถลดเชื้อ *S. aureus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เล็กน้อยเพียง 1 Log CFU/ml เมื่อพิจารณาความสามารถในการคืนสภาพของเซลล์จุลินทรีย์หลังผ่านการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มสูง พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้ม 16-43 kV/cm 100-500 ครั้ง ที่อุณหภูมิ 37°C จะคืนสภาพเพิ่มขึ้น 5 Log CFU/ml หลังการเก็บรักษา 2 วัน และที่ความเข้ม 53 kV/cm 100-500 ครั้ง จะคืนสภาพเพิ่มขึ้น 4 Log CFU/ml หลังการเก็บรักษา 6 วัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เซลล์ที่บาดเจ็บจากความเข้ม 16-53 kV/cm พบว่าเซลล์สามารถคืนสภาพได้น้อยกว่า 1 Log ส่วน

เซลล์บาดเจ็บของ *S. aureus* จากทุกความเข้มข้นสนามไฟฟ้าและจำนวนครั้งที่ทดลอง ที่อุณหภูมิ 37°C จะคืนสภาพได้ 2.5 Logs หลังการเก็บรักษา 2-4 วัน แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เซลล์จะคืนสภาพได้เพียง 1 Log หลังการเก็บรักษา 2 วัน เซลล์ของ *E. coli* และ *S. aureus* ที่คืนสภาพมีแนวโน้ม ลดจำนวนลงหลังการเก็บรักษา 8 วัน ที่อุณหภูมิ 37°C และ 4°C เมื่อเปรียบเทียบกับ การเก็บรักษาในสารละลาย เปปโตน 1% เชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ในทุกความเข้มข้นสนามไฟฟ้า และทุกจำนวนครั้งที่อุณหภูมิ 37°C เชื้อเพิ่มจำนวนขึ้นถึง 4 Log CFU/ml ใน 2 วัน จะเพิ่มขึ้นเป็น 6 Log CFU/ml ใน 4 วัน แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C จะคืนสภาพได้เพียง 1 log ในวันที่ 8 เนื่องจากมีสารอาหารมากพอต่อการคืนสภาพและเพิ่มจำนวนของเซลล์จุลินทรีย์

เมื่อทดสอบอิทธิพลของความเข้มข้นและจำนวนครั้งของการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มข้นสูงในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์โดยเปลี่ยนตัวกลางจากสารละลายเปปโตนเป็นน้ำส้ม พบว่าเชื้อ *E. coli* ที่ความเข้ม 16 kV/cm 100-200 ครั้ง เชื้อลดลง 1 Log CFU/ml และที่ความเข้ม 30-53 kV/cm 100-500 ครั้ง เชื้อลดลง 1.5 Log CFU/ml ส่วนเชื้อ *S. aureus* พบว่าในทุกความเข้มข้นสนามไฟฟ้าและทุกจำนวนครั้ง สามารถลดเชื้อได้น้อยกว่า 1 Log CFU/ml เมื่อนำมาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37°C เซลล์ *E. coli* ในทุกความเข้มข้นสนามไฟฟ้าและทุกจำนวนครั้ง เชื้อมีแนวโน้มเพิ่มจำนวนขึ้น 2 Log CFU/ml ใน 2 วัน และจะเพิ่มขึ้นถึง 4 Log CFU/ml ใน 6 วัน แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เซลล์ *E. coli* จะคืนสภาพได้น้อยกว่า 1.5 Log CFU/ml ใน 2 วัน และไม่เพิ่มจำนวนขึ้นเมื่อเก็บรักษา 8 วัน ส่วนเซลล์ *S. aureus* เมื่อเก็บรักษาที่ 37°C และ 4°C ในทุกความเข้มข้นและทุกจำนวนครั้ง เชื้อเริ่มคืนสภาพที่ 1 Log CFU/ml ใน 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายเปปโตนการคืนสภาพของเซลล์จุลินทรีย์ ทั้ง 2 ชนิด มีความสามารถในการคืนสภาพของเซลล์ได้น้อยกว่าในสารละลายเปปโตน

การทดลองปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มข้นสูงเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำส้ม เลือกใช้ความเข้มที่ 16 kV/cm 300 ครั้ง และ 30 kV/cm 200 ครั้ง เนื่องจากสามารถลดเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ที่เติมลงในน้ำส้มได้เท่ากับที่ 1 Log CFU/ml โดยเปรียบเทียบกับน้ำส้มที่ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ความร้อนที่ 70°C และน้ำส้มสด ปริมาณจุลินทรีย์ในน้ำส้มสดพบว่า มีปริมาณเชื้อทั้งหมดและปริมาณยีสต์และราที่ 2 Log CFU/ml หลังผ่านการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มข้นสูงแล้ว สามารถลดปริมาณเชื้อยีสต์และราได้น้อยกว่า 0.5 Log CFU/ml และไม่สามารถลดเชื้อทั้งหมดได้ ในขณะที่น้ำส้มผ่านความร้อน 70°C ลดปริมาณเชื้อยีสต์และราได้ 1 Log CFU/ml และลดปริมาณเชื้อทั้งหมด 0.5 Log CFU/ml เมื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้ม พบว่ามีปริมาณวิตามินซี 2.68% หลังผ่านการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มข้นสูงที่ 16 kV/cm 300 ครั้ง 30 kV/cm 200 ครั้ง และน้ำส้มผ่านความร้อน 70°C มีปริมาณวิตามินซีเหลืออยู่ 2.40%, 2.42% และ 1.79% ตามลำดับ โดยความเข้ม 30 kV/cm 300 ครั้ง มีปริมาณวิตามินซีใกล้เคียงกับน้ำส้มสดมากที่สุด การทดสอบทางประสาทสัมผัสหลังผ่านการแปรรูป ผู้ทดสอบให้คะแนนของสี กลิ่นสัมผัส รสชาติของส้ม และการยอมรับรวมในน้ำส้มที่ผ่านการปล่อยสนามไฟฟ้าความเข้มข้น 30 kV/cm 200 ครั้ง ใกล้เคียงกับน้ำส้มสดมากที่สุด ความหนืดไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนกลิ่นเหม็นและรสขม แตกต่างกัน โดยน้ำส้มที่ผ่านความร้อน 70°C เกิดกลิ่นเหม็นและมีรสขมมากกว่าน้ำส้มสดและน้ำส้มแปรรูปด้วยสนามไฟฟ้าความเข้มข้นสูง

Pulsed electric field (PEF) is a non-thermal technology applied to liquid food to inactivate both spoilage and pathogenic microorganisms by destroying the cells to become shrunken and perforated thus affecting the input and output of the cell leading to its inability to work naturally. In this research, two kinds of PEF were used, namely: low voltage PEF controlled by IC-555 timer with 2 transistors to produce 5-20 kV/cm; and high voltage PEF controlled by IC No. SG35225, to provide frequency signal Power Mos. Fet (IRF504) in producing 50-65 kV/cm. Results showed that high voltage PEF was much better in reducing the microbes as the release of 100-500 PEF was able to reduce *E. coli* to 3 Log CFU/ml and *S. aureus* to 1-2 Log CFU/ml while for low voltage PEF, release of 15,000 pulses decreased *E. coli* 1-2 Log CFU/ml and *S. aureus* to 1-2 Log CFU/ml.

As the high voltage PEF had higher ability to decrease *E. coli* and *S. aureus*, therefore, it was used to study the influence of intensity and frequency to inactivate *E. coli* and *S. aureus* in 0.1% peptone solution. Results showed that intensity of 16 kV/cm at 100-500 pulses was able to decrease 1 Log CFU/ml of gram-negative *E. coli* and a high of 3 Logs CFU/ml of *E. coli* when the intensity was increased to 53 kV/cm at 400-500 pulses but this intensity had only a slight reducing effect of 1 Log CFU/ml of gram-positive *S. aureus*. When considering the recovery of cells after PEF, it was found that *E. coli* cells at intensity 16-43 kV/cm at 100-500 pulses under 37°C, showed an increase of 5 Logs CFU/ml after 2-day storage while an increase of 4 Logs CFU/ml was showed at 6 days after 53 kV/cm with 100-500 pulses intensity treatment and stored at 4°C. Meanwhile, cells exposed to 16-53 kV/cm were able to recover at less than 1 Log CFU/ml. As for the injured *S. aureus* due to exposure to intensity and frequency of pulses at 37°C, they were found to have recovered to 2.5 Logs CFU/ml after 2-4 day storage. But at 4°C, cells recovered to only 1 Log CFU/ml at 2 days after treatment. The recovery of *E. coli* and *S. aureus* cells had the tendency to decrease after 8-day treatment at 37°C and

at 4°C. In comparison to 1% peptone water, the injured *E. coli* and *S. aureus* cells increased to 4 Logs at 37°C for 2 days and 6 Logs for 4 days at every pulse and every electric field intensity. But when stored at 4°C, only 1 Log recovered at the 8th day because there was enough peptone for cell recovery and increase.

In the study on the effect of intensity and frequency of high voltage pulses in the inactivation of microbial cells by using orange juice instead of peptone, results showed that *E. coli* treated with intensity of 16 kV/cm with 100-200 pulses, decreased to 1 Log CFU/ml or 1.5 Logs CFU/ml when intensity was increased to 30-53 kV/cm with 400-500 pulses. Meanwhile, the increase in every number of pulses and electric field intensity was less than 1 Log CFU/ml of *S. aureus*. When stored at 37°C, *E. coli* cells tended to increase to 2 Logs CFU/ml at 2-day treatment and increase of 4 Logs CFU/ml at 6-day treatment. But at 4°C, *E. coli* could recover to only less than 1.5 Logs CFU/ml in 2-days and definitely showed no increase at 8-day treatment. At every electric field intensity and number of pulses, *S. aureus* cells showed a recovery of 1 log at 4-days when stored at 37°C and 4°C. When compared to the use of peptone, the recovery of both microbes had less increase than in peptone.

In the study on the use of high voltage PEF to inactivate microbes in orange juice, the intensity of 16 kV/cm with 300 pulses and 30 kV/cm with 200 pulses could either be selected because *E. coli* and *S. aureus* decreased to 1 Log CFU/ml when added with same quantity of orange juice. In comparison between heat treatment at 70°C of orange juice with fresh orange juice, the number of *E. coli*, *S. aureus*, yeast and mold were found at 2 Logs CFU/ml in fresh orange juice. After PEF, yeasts and mold decreased at less than 0.5 Log CFU/ml, but were not able to decrease all the microbes. Meanwhile, orange juice heated at 70°C showed a decrease of yeasts and mold at 1 Log CFU/ml and decrease of total microbes at 0.5 Log CFU/ml. Analysis showed that total vitamin c was 2.68% and after PEF treatment at 16 kV/cm with 300 pulses, 30 kV/cm with 200 pulses and heating at 70°C, vitamin c amount was reduced to 2.40%, 2.42% and 1.79%, respectively. At 30 kV/cm with 200 pulses, total vitamin c amount was similar to fresh orange juice. Sensory analysis after processing showed that scores for color, orange odor, orange flavor and overall acceptance after PEF at 30 kV/cm with 200 pulses, were very similar to fresh orange juice with had no significant difference. Off-odor and bitterness were significantly different although orange juice after heating at 70°C was found to have higher off-odor and bitterness than fresh orange juice and PEF processed orange juice.