บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ลิ้นจี่เป็นไม้ผลยืนต้นในสกุล Nephelium มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chines* Sonn. โดยทั่วไปนิยม เรียกว่า Litchi หรือ Lychee มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบตอนใต้ของประเทศจีน ในระหว่างเส้นรุ้งที่ 23-27 องศาเหนือ บริเวณมณฑลเสฉวน กวางเจาและยูนาน (Menzel และ Simpson, 1988) ปัจจุบันลิ้นจี่ปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศจีน ไต้หวัน อินเดีย ปากีสถาน ไทย เวียดนาม อินโดนีเซีย แอฟริกาใต้ ออสเตรเลีย และมาดากาสคาร์ (Kadam และ Deshapande, 1995) ปริมาณผลผลิตแสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.1 ผลผลิตลิ้นจี่ในประเทศต่างๆ

ประเทศ	ผลผลิต (x 10^3)
ไต้หวัน	131.00
อินเดีย	91.86
จีน	61.82
มาดากาสคาร์	35.00
ไทย	8.40
แอฟริกาใต้	6.27

ที่มา : Kadam และ Deshapande (1995)

ลิ้นจี่เป็นผลไม้ในกลุ่มบ่มไม่สุก (non-climacteric) การเก็บเกี่ยวผลผลิตที่ปลูกในพื้นที่บริเวณเส้นศูนย์สูตร จะอยู่ในช่วงปลายเดือนพฤษภาคมจนถึงต้นเดือนมิถุนายน ส่วนบริเวณพื้นที่ใต้เส้นศูนย์สูตรจะเก็บเกี่ยวผลผลิตในช่วงเดือนพฤศจิกายนและเดือนกุมภาพันธ์

ลิ้นจี่พันธุ์ฮงฮวย เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุดทางภาคเหนือของประเทศไทย เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ติดผลได้ดีเกือบทุกปี ลักษณะประจำพันธุ์ จะมีทรงพุ่มกว้างใหญ่ แตกกิ่งห่าง ผิวเปลือกของต้นออกสีหม่นตกกระสีขาว มีเปลือกบาง ใบใหญ่ยาวรี โคนใบกว้าง ริมใบเป็นคลื่น ปลายใบไม่แหลมมาก แตกยอดอ่อนมีสีเขียวอมแดง ชุดละ 6-8 ใบ ทั้งช่อจะมีใบประมาณ 150 ใบ ก้านดอกยาว 20-30 เซนติเมตร ก่อนออกดอกต้องการอากาศหนาวเย็นปานกลาง ออกดอก

กลางเดือนธันวาคมถึงกลางเดือนมกราคม ดอกจะบานประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ ดอกที่ยังไม่บานมีสีดำปนน้ำตาลคล้ายเขม่าจับ ช่วงเวลาแตกช่อถึงดอกบานใช้เวลาประมาณ 2 เดือน ดอกบานครั้งแรกเป็นดอกตัวผู้บาน 8 ช่วงๆ ละ 3 วัน เมื่อผลเจริญเต็มที่ผลจะแก่ประมาณกลางเดือนถึงสิ้นเดือนพฤษภาคม อายุการติดผล 100-150 วัน ผลมีลักษณะสีแดงอมชมพู รูปทรงของผลกลมรีรูปไข่ ไหล่กว้าง มีขนาดผลโตปานกลาง ผลลิ้นจี่ 1 กิโลกรัม จะมี 30-40 ผล หนามห่าง เมื่อแก่จัดหนามจะเป็นตุ่มสั้นกว่าผลที่ยังไม่แก่ เปลือกผลมีสีเหลืองแกมชมพูหรือแดงระเรื่อ เนื้อหนาสีขาวขุ่น เนื้อตรงส่วนที่สัมผัสกับเมล็ดจะเป็นเยื่อหุ้มสีน้ำตาลเป็นเส้น มีกลิ่นหอม เมล็ดมีขนาดใหญ่ยาว หัวจุกโตปานกลาง (กลุ่มเกษตรสัญจร, 2530)

2.1 ส่วนประกอบทางเคมีของผลลิ้นจี่

ส่วนประกอบทางเคมีของผลลิ้นจี่จะแปรผันไปตามสายพันธุ์ ระยะความแก่-อ่อน พื้นที่เพาะปลูก และการดูแลระหว่างการเพาะปลูก โดยพบว่าผลลิ้นจี่มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 77-83 % ลิ้นจี่สายพันธุ์ Brewster และ Kwai Mi มีปริมาณความชื้น 81 % และ 77.6 % ตามลำดับ (Wenkam และ Miller, 1965) สำหรับลิ้นจี่ 6 สายพันธุ์ ในประเทศอินเดียมีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วง 83-87 % โปรตีนในลิ้นจี่ทั่วไปอยู่ในช่วง 0.8-1.5 % และไขมันน้อยกว่า 1 % (Mathew และ Pushpa, 1964) ในประเทศไต้หวันปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ของลิ้นจี่ 23 สายพันธุ์ อยู่ในช่วง 14.0-20.3 % (Yen, 1988) ลิ้นจี่สดสายพันธุ์ Brewster มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 16.8 % ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ประมาณ 51.1 % ที่เหลืออีก 30.1 % และ 18.8 % เป็นน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลฟรุกโตส ตามลำดับ (Chan *et al.*, 1975)

ลิ้นจี่ 12 สายพันธุ์ ในประเทศอินเดียมีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.20-0.64 % ส่วนลิ้นจี่สดสายพันธุ์ Brewster มีปริมาณกรดทั้งหมด 0.52 % ทั้งนี้กรดมาลิกเป็นกรดอินทรีย์ที่มีมากที่สุดประมาณ 80 % รองลงมาได้แก่ กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกมีอยู่ประมาณ 10 % และ 5 % ตามลำดับ กรดที่มีปริมาณเล็กน้อยได้แก่ กรดซัคซินิก มาโลนิก ฟอสฟอริก แลคติก กลูตาลิก และลีวูลินิก (Kadam และ Deshpande, 1995)

ผลลิ้นจี่เป็นแหล่งของวิตามินซีที่ดี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในลิ้นจี่สายพันธุ์ Kwai Mi เท่ากับ 80.8 มิลลิกรัม/100 กรัม (Wenkam และ Miller, 1965) ลิ้นจี่สายพันธุ์ Brewster มีปริมาณกรดแอสคอร์บิกเท่ากับ 44 มิลลิกรัม/100 กรัม (Chadha และ Rajpoot, 1969) ปริมาณกรดแอสคอร์บิกในเนื้อลิ้นจี่ไม่ระบุสายพันธุ์เท่ากับ 90 มิลลิกรัม/100 กรัม (Thompson, 1955) ทั้งนี้ปริมาณกรดแอสคอร์บิกลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นและระยะเวลา

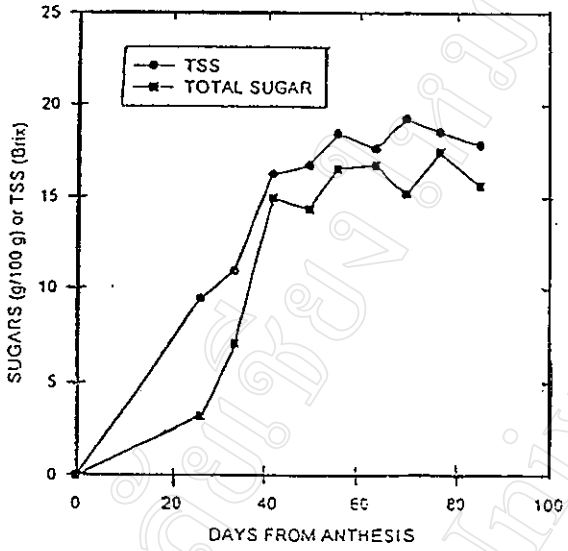
การเก็บรักษานานขึ้น นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุบางชนิดในผลลิ้นจี่ได้แก่ ไทอามิน ไรโบฟลาวิน แคลเซียม ฟอสฟอรัส และเหล็ก (Kadam และ Deshapande, 1995)

ผลลิ้นจี่เมื่อมีระยะความแก่มากขึ้น จะมีการเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้น แสดงดังรูป 2.1 แต่ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity) ลดลงและค่าพีเอช (pH) เพิ่มขึ้น แสดงดังรูป 2.2 ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสามารถชี้บ่งถึงระยะความแก่-อ่อน ของผลลิ้นจี่ได้ ดังนั้นปัจจัยที่ใช้เป็นดัชนีในการพิจารณาระยะการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม อาจพิจารณาได้จากหลายปัจจัย เช่น ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรดและอัตราส่วนระหว่างปริมาณน้ำตาลต่อปริมาณกรด (sugar : acid ratio) เป็นต้น (เบญจมาศ, 2544)

ตาราง 2.2 ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของผลลิ้นจี่สดและลิ้นจี่อบแห้งในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม

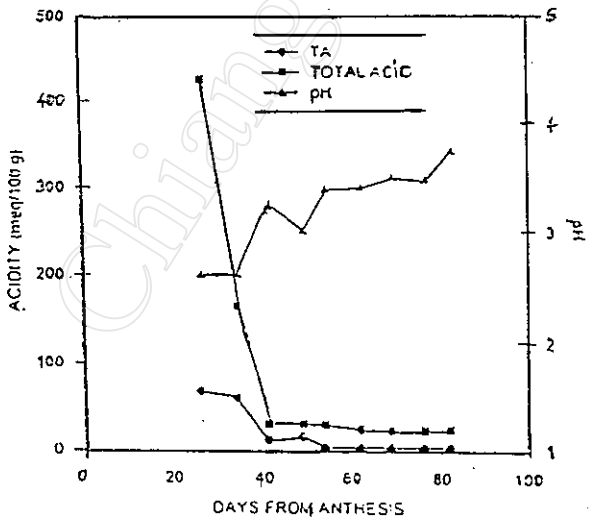
ส่วนประกอบ	ลิ้นจี่สด	ลิ้นจี่อบแห้ง
พลังงาน (แคลอรี)	63.0-64.0	277.0
ความชื้น (เปอร์เซ็นต์ ต่อ 100 กรัม)	81.90-84.83	17.90-22.30
โปรตีน (กรัม/100 กรัม)	0.68-1.00	2.90-3.80
ไขมัน (กรัม/100 กรัม)	0.30-0.58	0.20-1.2
คาร์โบไฮเดรท (กรัม/100 กรัม)	13.31-16.40	70.70-77.50
เส้นใยอาหาร (กรัม/100 กรัม)	0.23-0.40	1.40
เถ้า (กรัม/100 กรัม)	0.37-0.50	1.50-2.00
แคลเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	8.0-10.0	33.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/100 กรัม)	30.0-42.0	-
เหล็ก (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.4	1.7
โซเดียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	3.0	3.0
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/100 กรัม)	170.0	1,100
วิตามินบี 1 (ไทอามิน) (ไมโครกรัม/100 กรัม)	28.0	-
วิตามินบี 2 (ไรโบฟลาวิน) (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.40	-
ไนอะซิน (กรดนิโคตินิก) (มิลลิกรัม/100 กรัม)	0.05	0.05
วิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) (มิลลิกรัม/100 กรัม)	24.0-60.0	42.0

ที่มา : www.hort.purdue.edu/newcrop/morton/lychee.html โดย Purdue University Center for New Crops α Plant Produres (1999)



รูป 2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (TSS) และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในผลลิ้นจี่ระหว่างการเจริญและพัฒนา

ที่มา : *Holcroft และ Mitcham (1996)*

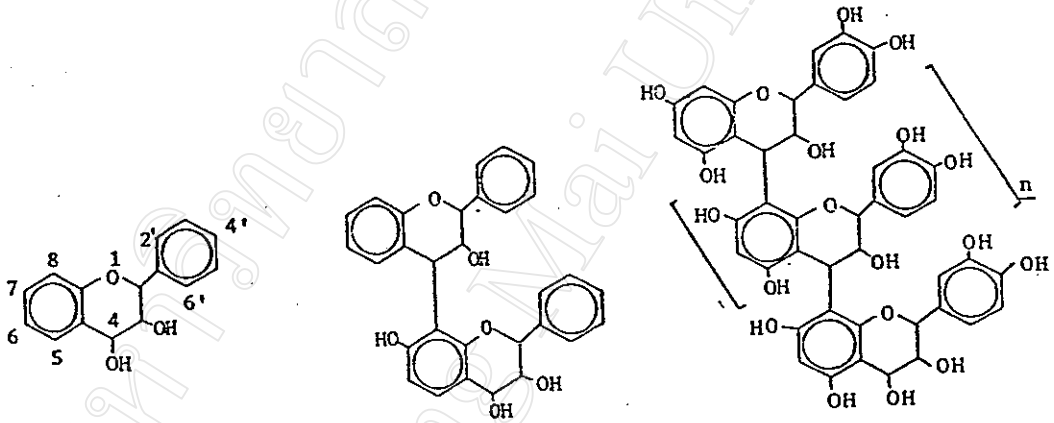


รูป 2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดที่สามารถไตเตรทได้ (TA) และค่าพีเอชในผลลิ้นจี่ระหว่างการเจริญและพัฒนา

ที่มา : *Holcroft และ Mitcham (1996)*

2.2 โปรแอนโทไซยานิดิน (Proanthocyanidin)

โปรแอนโทไซยานิดินเป็นรงควัตถุที่ไม่มีสี จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สามารถเปลี่ยนเป็น แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่มีสี เมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด (Zapsalis และ Beck, 1985) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ ลิวโคแอนโทไซยานิดิน (leucoanthocyanidins) หรือ ลิวโคแอนโทไซยานิน (leucoanthocyanins) ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็น monomeric หรือ flavon-3,4-diol ดังรูป 2.3 สารนี้อาจรวมตัวกันเป็น dimer, trimer หรือ polymer โดยเชื่อมต่อพันธะกันที่ตำแหน่ง 4⟶8 หรือ 4⟶6 ถ้าลิวโคแอนโทไซยานินเชื่อมต่อกันหลายๆ monomer จะเรียกว่าเป็น condensed tannin (flavolan)

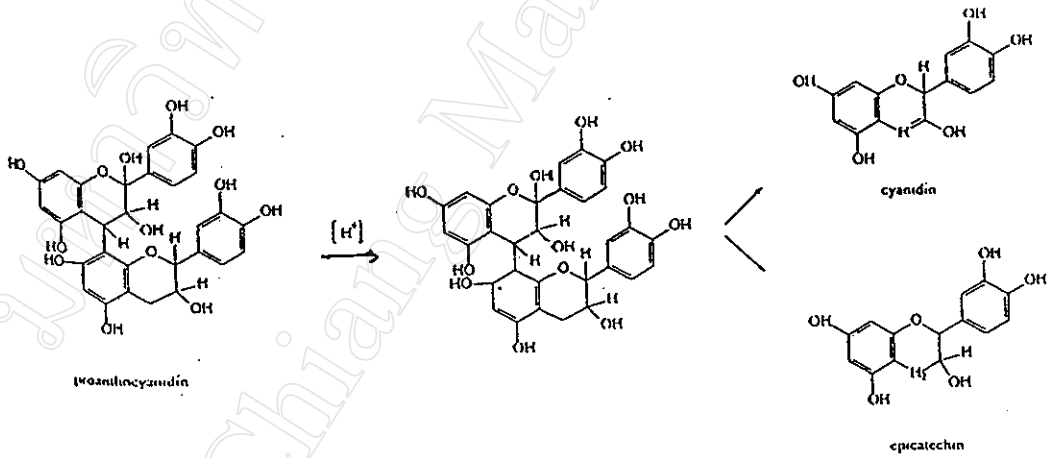


(1) flavon-3,4-diol (2) dimeric leucoanthocyanidins (3) condensed tannin

รูป 2.3 โครงสร้างของสารในกลุ่มโปรแอนโทไซยานิดิน ได้แก่ (1) โครงสร้างของ flavon-3,4-diol (2) โครงสร้างของ dimeric leucoanthocyanidins (3) โครงสร้างของ condensed tannin (flavolan)

ที่มา : *Zapsalis และ Beck (1985)*

โปรแอนโทไซยานิดิน มีความสำคัญกับอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากสามารถเปลี่ยนจากสารที่ไม่มีสีเป็นสารที่มีสี เมื่อโปรแอนโทไซยานิดิน ได้รับความร้อนจากกระบวนการแปรรูป ถูกย่อยสลายกลายเป็นไซยานิดิน (cyanidin) และอิพิแคทีชิน (epicatechin) ในสภาวะที่เป็นกรด แสดงดังรูป 2.4 โครงสร้างของโปรแอนโทไซยานิดินที่พบใน แอปเปิล สาลี และผลไม้อื่นๆ เป็นโครงสร้างแบบ dimeric (ประกอบด้วย flavon-3,4-diol 2 กลุ่ม) พืชที่มีโครงสร้างแบบนี้จะสลายตัวเมื่อสัมผัสกับอากาศหรือถูกแสงจะกลายเป็นสารสีแดง-น้ำตาลที่มีความคงตัวซึ่งมีผลอย่างมากต่อสีของน้ำแอปเปิล และน้ำผลไม้อื่นๆ นอกจากนี้ยังทำให้อาหารบางชนิดมีรสขม เพราะโปรแอนโทไซยานิดินที่มีโพลีเมอร์จำนวน 2-8 หน่วย รวมตัวกับโปรตีน โปรแอนโทไซยานิดินที่ถูกย่อยสลายปกติจะให้สารพีลาร์โกนิดิน (pelargonidin) พีทูนิดิน (petunidin) หรือเดลฟีนิดิน (delphinidin) (von Elbe และ Schwartz, 1996)



รูป 2.4 กลไกของปฏิกิริยาโปรแอนโทไซยานิดินเมื่อถูกย่อยสลายด้วยกรด

ที่มา : von Elbe และ Schwartz (1996)

2.2.1 สาเหตุการเกิด pink discolouration ในผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่

เนื่องจากผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่กระป๋อง พบปัญหาการเกิด pink discolouration ขึ้นในเนื้อลิ้นจี่ภายหลังกระบวนการแปรรูป Wu (1970) ยืนยันว่าอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้อ และพีเอช เป็นปัจจัยสำคัญต่อการพัฒนาไปสู่กระบวนเกิด pink discolouration ในเนื้อลิ้นจี่กระป๋อง กลไกของปฏิกิริยาเกิดจากสารพวก condensed tannin ที่มีอยู่ในเนื้อลิ้นจี่ถูกไฮโดรไลซ์เมื่อได้รับความร้อนสูงกลายเป็นแคทีซีนและลิวโคแอนโทไซยานิน ซึ่งสารทั้ง 2 ชนิดจะสลายตัวกลายเป็นแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในสภาวะที่เป็นกรดจึงให้สีชมพูกับผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่ เช่นเดียวกับ Adams และ Blundstone (1971) ที่รายงานว่า pink discolouration เกิดจากลิวโคแอนโทไซยานินสลายตัวกลายเป็นแอนโทไซยานิน เมื่อได้รับความร้อนในสภาวะที่เป็นกรด ขณะที่ Hwang และ Cheng (1986) รายงานว่าสายพันธุ์และความแก่-อ่อนของผลลิ้นจี่เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิด pink discolouration Davidek *et al.* (1990) รายงานว่า pink discolouration ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีในผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่ (discolour) เกิดจากโปรแอนโทไซยานิดินรวมตัวกับโลหะซึ่งเป็นส่วนประกอบในผลไม้ หรือกระป๋องที่ใช้เป็นภาชนะบรรจุ เมื่อโปรแอนโทไซยานิดิน (สารไม่มีสี) ได้รับความร้อนจะถูกไฮโดรไลซ์จนกลายเป็นแอนโทไซยานิน (สารมีสี) ในสภาวะที่เป็นกรดพบมากในผลไม้ในกลุ่ม สาลี่ ลูกท้อ และลิ้นจี่ ซึ่งสอดคล้องกับ Macrae *et al.* (1993) ที่รายงานว่า pink discolouration เกิดจากลิวโค-แอนโทไซยานิดิน และลิวโคแอนโทไซยานิน รวมตัวกับโลหะพวก ดีบุก และเหล็ก ซึ่งเป็นส่วนผสมของโลหะที่ใช้ทำกระป๋อง ในปี 1992 Wu พบว่า เอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase และ dihydroquercetin-4-reductase เป็นสาเหตุสำคัญทำให้เกิด pink discolouration กลไกของปฏิกิริยาเริ่มจากสารในกลุ่มฟลาโวนอลซึ่งเป็นส่วนประกอบในลิ้นจี่สดกลายเป็น eriodictyol ในขั้นตอนการปอกเปลือกและเจาะแกน ต่อมาถูกเอนไซม์ flavanone-3-hydroxylase ไฮโดรไลซ์กลายเป็น dihydroquercetin จากนั้นถูกเอนไซม์ dihydroquercetin-4-reductase ไฮโดรไลซ์กลายเป็นลิวโคไซ-ยานิดิน (สารไม่มีสี) เมื่อเริ่มสู่กระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน ลิวโคไซยานิดินจะสลายตัวกลายเป็นไซยานิดิน (สารมีสี) ขณะเดียวกัน Wu และ Fang (1993) ทดลองพบว่าการเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 30 องศาบริกซ์ การปรับพีเอชให้ต่ำด้วยกรดซิตริก รวมทั้งการเติมสารโพลีฟอสเฟต 0.2 % ล้วนเป็นปัจจัยสำคัญที่เร่งการเกิด pink discolouration ในลิ้นจี่บรรจุกระป๋อง

2.2.2 วิธีลดและป้องกันการเกิด pink discolouration ในผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่

มีนักวิจัยหลายท่านที่ให้ความสนใจศึกษาวิธีลดและป้องกันการเกิด pink discolouration ในปี 1974 Chakraborty *et al.* พบว่าสีของลิ้นจี่ที่บรรจุกระป๋องขนาด 301x411 ไม่เปลี่ยนแปลงในสภาวะที่มีน้ำเชื่อมความเข้มข้น 30 องศาบริกซ์ เติมกรดซิตริก 0.1-0.15 % พีเอช 4.4-4.5 และใช้ระยะเวลาฆ่าเชื้อในน้ำเดือดไม่เกิน 10 นาที รวมทั้งการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ความเข้มข้น 300 ส่วนต่อล้านส่วน (ppm) ก็มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิด pink discolouration เช่นเดียวกัน แต่ข้อเสียคือผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีกลิ่นซัลไฟท์ ขณะเดียวกัน Hwang และ Cheng (1986) ก็พบว่าการลดระยะเวลาระหว่างการสกัดน้ำลิ้นจี่กับการฆ่าเชื้อให้สั้นที่สุด รวมทั้งการนำลิ้นจี่สดไปแช่สารละลายโซเดียมไบซัลไฟท์ก่อนการฆ่าเชื้อ สามารถลดการเกิด pink discolouration ในผลิตภัณฑ์ลิ้นจี่ได้ ส่วน Wu และ Fang (1993) ยืนยันว่าการเติมน้ำเชื่อม ความเข้มข้น 30 องศาบริกซ์ เป็นปัจจัยสำคัญที่เร่งการเกิด pink discolouration แต่สามารถลดการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวได้ หากปรับความหวานของน้ำเชื่อมให้อยู่ในระดับเดียวกับในวัตถุดิบ

นอกจากนี้มีนักวิจัยหลายท่านได้ให้ความสนใจค้นคว้าวิจัยหาวิธีป้องกันการเกิด pink discolouration ในผลิตภัณฑ์อื่นๆ โดยในปี 1954 Guyer และ Erickson พบว่ามีอัตราการเกิด pink discolouration ในกล้วยตีปนต่ำสุด เมื่อปรับค่าพีเอชเป็น 4.2 ต่อมาในปี 1966 Ranganna *et al.* พบว่าการเติมน้ำเชื่อม 0.06 % กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกอย่างละ 0.125 % สามารถป้องกันการเกิด pink discolouration ในฝรั่งบรรจุกระป๋องได้เช่นเดียวกัน ขณะที่ Furia (1968) พบว่าการ treat ลูกท้อบรรจุกระป๋องด้วย disodium salt ของ ethylenediaminetetracetic acid, citrate หรือ phosphate ก่อนผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อน สามารถยับยั้งการเกิด pink discolouration ได้ ทั้งนี้เนื่องจากกรดเหล่านี้จะทำหน้าที่จับโลหะ ซึ่งได้แก่ ทองแดง เหล็ก ดีบุก และ สังกะสี ทำให้โลหะเหล่านี้ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับลิวโคแอนโทไซยานินได้ เพราะถ้าหากโลหะปฏิกิริยากับลิวโคแอนโทไซยานิน จะทำให้ลิวโคแอนโทไซยานินสลายตัวกลายเป็นแอนโทไซยานินได้

2.3 กระบวนการให้ความร้อนระดับสเตอริไลซ์ (Heat Sterilization)

การศึกษากระบวนการให้ความร้อนระดับสเตอริไลซ์แก่ผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิททั้ง กระป๋อง ขวด และถุงรีทอร์ทเพาท์ เป็นปัจจัยสำคัญที่ผู้ผลิตอาหารให้ความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากการสเตอริไลซ์ส่งผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของอาหารทั้งในด้านสี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และยังมีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นั้นๆ ด้วย หากการสเตอริไลซ์ไม่เพียงพอจุลินทรีย์จะยังคงมีเหลืออยู่ เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารเน่าเสีย และอาจก่อให้เกิดโรคแก่ผู้บริโภคได้ หากการสเตอริไลซ์ใช้เวลามากเกินไปจะเป็นเหตุให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีลักษณะเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมาก ทั้งในด้านสี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการตลอดจนอาจส่งผลให้เปอร์เซ็นต์ผลผลิตที่ได้ต่ำลง ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ดังนั้นการศึกษากระบวนการให้ความร้อนที่เหมาะสมในเชิงการค้าจึงเป็นสิ่งจำเป็นต้องดำเนินการ

การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน (Process Establishment)

การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาคือ

2.3.1 คุณสมบัติในการทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร (heat resistance of microorganisms)

2.3.2 อัตราการแทรกผ่านความร้อน (heat penetration)

2.3.1 คุณสมบัติในการทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหาร

2.3.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อความทนทานความร้อนของจุลินทรีย์

2.3.1.1.1 ชนิดของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน

เชื้อราและสปอร์ส่วนใหญ่ถูกทำลายด้วยความร้อนชื้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 5-10 นาที แต่มีบางสปีชีส์ที่ทนต่อความร้อนได้สูงกว่านี้ จากการศึกษาพบว่า *Aspergillus*, *Penicillium* และ *Mucor* บางสปีชีส์ จะทนความร้อนได้ดีกว่าเชื้อราชนิดอื่น (สุมาลี, 2542) ส่วนเชื้อราที่ทนทานต่อความร้อนได้สูงมากและพบในผลไม้ ได้แก่ *Byssochlamys fulva (Paecillomyces)* (Ramaswamy และ Abbatemarco, 1996) สปอร์ของราทนต่อความร้อนแห้งได้ดี จากรายงานต่างๆ พบว่าความร้อนแห้งที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ยังไม่สามารถทำลายสปอร์ของราชนิดที่ทนต่อความร้อนได้

แบคทีเรียแต่ละชนิดทนทานต่อความร้อนได้ต่างกัน เช่น พวกเชื้อโรคจะถูกทำลายได้ง่าย แต่พวกเทอร์โมฟายล์ (thermophiles) อาจต้องใช้ความร้อนสูงถึง 80-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหลายนาที เช่น *Cl. bolulinum* เชื้อบริสุทธิ์ถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที แต่ถ้าอยู่ในอาหารจำเป็นต้องปรับสภาวะการฆ่าเชื้อให้เหมาะสม การทนทานต่อความร้อนของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เซลล์แบคทีเรียที่มีรูปร่างกลมจะทนต่อความร้อนได้ดีกว่ารูปร่างแท่ง แบคทีเรียชนิดเทอร์โมฟายล์ ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูงทนทานต่อความร้อนได้ดีกว่าชนิดอื่น การเกาะกันเป็นกลุ่มหรือสร้างแคปซูลจะช่วยให้แบคทีเรียทนต่อความร้อนได้ดีขึ้น และเซลล์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบสูงทนต่อความร้อนได้ดีกว่าเซลล์ปกติ (สุมาลี, 2542) สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำลายจุลินทรีย์บางชนิด แสดงดังตาราง 2.3

ตาราง 2.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำลายจุลินทรีย์บางชนิด

ชนิดของจุลินทรีย์	สภาวะที่ใช้ในการทำลาย	
	เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (^{o}ซ)
Vegetative cell	10	80
Yeast ascospores	5	60
Fungi	30-60	88
Thermophilic organism		
Bacillus stearothermophilus	4	121.1
Clostridium thermosaccharolyticum	3-4	121.1
Mesophilic organisms		
Clostridium botulinum spores	3	121.1
Clostridium botulinum toxin Types A&B	0.1-1	121.1
Clostridium sporogenes	1.5	121.1
Bacillus subtilis	0.6	121.1

ที่มา : Holdsworth (1997)

2.3.1.1.2 ปริมาณของเซลล์หรือสปอร์ของจุลินทรีย์เริ่มต้น

อาหารที่มีจำนวณเซลล์หรือสปอร์ในปริมาณมาก จำเป็นต้องใช้ความร้อนสูงเป็นระยะเวลาที่นานขึ้น เพื่อให้สามารถทำลายเซลล์และสปอร์ที่ก่อให้เกิดอันตรายได้

2.3.1.1.3 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและเวลา

ภายใต้สภาวะที่กำหนด เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการทำลายจุลินทรีย์ เวลาที่ใช้จะลดลง (สุมาลี, 2542)

2.3.1.1.4 อายุของจุลินทรีย์

ความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ ขึ้นกับช่วงระยะการเจริญของจุลินทรีย์ โดยที่จุลินทรีย์จะมีความทนทานต่อความร้อนได้สูงสุดในช่วง stationary phase (old cell) รองลงมาคือช่วง lag phase ซึ่งเป็นช่วงที่จุลินทรีย์พักตัวก่อนการเจริญและช่วง logarithmic phase เป็นช่วงที่จุลินทรีย์ไม่ทนทานต่อความร้อน

2.3.1.1.5 ส่วนประกอบของอาหาร

ก. พีเอชของอาหาร

เป็นปัจจัยสำคัญมากที่ต้องคำนึงถึงในกระบวนการฆ่าเชื้อ ทั้งนี้พีเอชมีผลโดยตรงต่อกระบวนการให้ความร้อน ตามปกติจุลินทรีย์จะทนต่อความร้อนได้ดีที่สุด เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่มีพีเอชเป็นกลางหรือใกล้เคียง ดังนั้นการเพิ่มพีเอชให้กับอาหารจะทำให้ความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ลดลง

อาหารได้ถูกแบ่งตามพีเอชได้ 2 กลุ่มดังนี้

1) อาหารที่มีความเป็นกรดและความเป็นกรดสูง เป็นอาหารที่มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 และ 3.7 เช่น น้ำผลไม้ ส้ม มะนาว สับปะรด เป็นต้น อาหารในกลุ่มนี้เกิดการเน่าเสียโดยจุลินทรีย์ที่ชอบความเป็นกรด ได้แก่ ยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyc. Candida, Torulopsis*, ราสายพันธุ์ *Aspergillus Rhizopus* และแบคทีเรียบางชนิด ความเป็นกรดยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างสปอร์) และทำให้จุลินทรีย์มีความทนทานต่อความร้อนได้น้อยลงจึงถูกทำลายได้ง่าย การฆ่าเชื้ออาหารประเภทนี้โดยทั่วไปมุ่งทำลายจุลินทรีย์พวกยีสต์และรา การให้ความร้อนโดยทั่วไปใช้ความร้อนที่อุณหภูมิน้ำเดือดปกติ ที่ 100 องศาเซลเซียส

2) อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ เป็นอาหารที่มีค่าพีเอชสูงกว่า 4.5 เช่น เนื้อสัตว์ อาหารทะเล ผัก ข้าวโพด อาหารในกลุ่มนี้มักเกิดการเน่าเสียง่าย โดยจุลินทรีย์หลากหลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียซึ่งส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ดีที่สุดที่พีเอชเป็นกลางโดยเฉพาะ *Cl. botulinum* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อันตรายที่สุดสามารถสร้างสปอร์และมีความทนทานต่อความร้อน โดยสามารถเจริญและสร้างสารพิษเอ็กโซทอกซิน (exotoxin) ซึ่งเป็นอันตรายแม้มีปริมาณเล็กน้อยได้ ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนและในภาชนะบรรจุปิดสนิท ดังนั้นอาหารกระป๋องจึงเป็นสภาวะที่เหมาะสำหรับการเจริญและสร้างสารพิษ จึงต้องใช้ความร้อนสูงถึง 116–121 องศาเซลเซียส เพื่อทำลายเซลล์และสปอร์ของแบคทีเรียชนิดนี้ ซึ่ง *Cl. botulinum* เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวบ่งชี้ที่สำคัญของการฆ่าเชื้ออาหารกระป๋องที่มีความเป็นกรดต่ำ เนื่องจากสามารถสร้างสารพิษที่เป็นชนิดเฉียบพลันและมีพิษร้ายแรงมาก แต่สามารถทำลายได้ด้วยความร้อนชื้นที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที (วิไล, 2543)

โดยทั่วไปความร้อนที่ให้แก่อาหารจะให้ในปริมาณที่มากกว่าความต้องการต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากอาจมีจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียและทนทานต่อความร้อนมากกว่าอยู่ในอาหาร ดังตาราง 2.4 แสดงความทนทานต่อความร้อนของแบคทีเรียในอาหารที่มีพีเอชต่างๆ ในรูปค่า D และค่า z

ข. *ค่าแอคติวิตี้ของน้ำ (Water activity ; a_w)*

เป็นตัวเลขที่บ่งชี้ถึงปริมาณน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ จุลินทรีย์สามารถทนต่อความร้อนได้มากขึ้นเมื่อ a_w ในอาหารลดลง สารประกอบต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบอาหารจะลด a_w ของอาหารลงได้ เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรท เกลือ (เกลือของแคลเซียมและแมกนีเซียม) รวมทั้งเกลือและน้ำตาลที่เติมลงไป ซึ่งจะมีผลไปช่วยเพิ่มความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ แต่สารประกอบที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (inhibitory compounds) ทั้งที่มีในอาหารเองตามธรรมชาติหรือถูกเติมลงไปในอาหารจะไปลดความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ ความร้อนชื้นมีประสิทธิภาพสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ดีกว่าความร้อนแห้ง (ทิพาพร, 2535 ; Fellow, 1993)

อาหารกระป๋องโดยทั่วไปจะมี $a_w > 0.98$ ซึ่งมีโอกาสที่จุลินทรีย์ทุกชนิดสามารถเจริญได้ แต่ถ้า $a_w < 0.80$ โอกาสที่จุลินทรีย์จะเจริญมีน้อยลง ดังตาราง 2.5 แสดงค่า a_w ขั้นต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ (สุมาลี, 2542)

ตาราง 2.4 ความทนทานต่อความร้อนของแบคทีเรียในอาหารที่มีพีเอชต่างๆ

ชนิดของอาหารและแบคทีเรีย	ช่วงความทนทานต่อความร้อน	
Low –acid และ medium acid (พีเอช > 4.5)		
Thermophiles (35-55 °ซ สร้างสปอร์ได้)	D_{250} หรือ D_{121} (นาที)	z (°ฟ)
Flat-sour (*B. stearothermophilus*)	4.0-5.0	14-22
Gaseous-spoilage (*Cl. thermosaccharolyticum*)	3.0-4.0	16-22
Sulfide stinkers (*Cl. nigrificans*)	2.0-3.0	16-22
Mesophiles (spore)		
Putrefactive anaerobes		
Cl. botulinum (type A&B)	0.1-0.2	14-18
Cl. sporogenes (PA3679)	0.1-1.5	14-18
Acid-food (พีเอช 4.0-4.5)		
Thermophiles (spores)		
B. coagulans (facultatively mesophilic)	0.01-0.07	14-18
Mesophiles (spores)	D_{212} หรือ D_{100} (นาที)	z (°ฟ)
B. polymyxa และ *B.macerans*	0.1-0.5	12-16
Butyric anaerobes		
Cl. pasteurianum	0.1-0.5	12-16
High-acid food (พีเอช≤4.0)		
Mesophilic non-spore forming bearing bacteria	D_{150} หรือ D_{65} (นาที)	z (°ฟ)
Lactobacillus spp, Leuconostoc spp, ยีสต์และรา	0.5-1.0	8-10

ที่มา : *Stumbo (1965)*

ตาราง 2.5 ค่า a_w ขั้นต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้

ชนิดของจุลินทรีย์	ค่า a_w ต่ำสุดสำหรับการเจริญ
Pseudomonas sp.	0.97
Pseudomonas sp.	0.96
Bacillus subtilis	0.95
Enterobacter aerogenes	0.945
Clostridium botulinum	0.93
Many yeasts	0.88
Staphylococcus aureus	0.86
Many moulds	0.80
Halophilic bacteria	0.75
Xerophilic fungi	0.65
Osmophilic yest	0.60

ที่มา : สุมาลี (2542), เมธินี (2542b)

2.3.1.2 ค่าต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการวัดการทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์

ในการคำนวณเวลาในการฆ่าจุลินทรีย์ด้วยความร้อน (thermal destruction) ตามกระบวนการผลิตอาหารกระป๋อง มีสัญลักษณ์ที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ 3 ตัว คือ D, z และ F ตัวแปรเหล่านี้ บอกให้ทราบถึงความทนทานต่อความร้อนของแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์แต่ละชนิด และบ่งชี้ว่าการให้ความร้อนในการฆ่าเชื้อนั้นๆ มีประสิทธิภาพต่อการทำลายมากเท่าไร (วิไล, 2543)

2.3.1.2.1 ค่า D (Decimal reduction time หรือ Death rate constant หรือ D value)

หมายถึงเวลาในการให้ความร้อนในหน่วยเป็นนาที ที่อุณหภูมิคงที่เพื่อทำลายจุลินทรีย์ลง 90 % ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ ไม่ว่าจะมีจุลินทรีย์เริ่มต้นเท่าใด

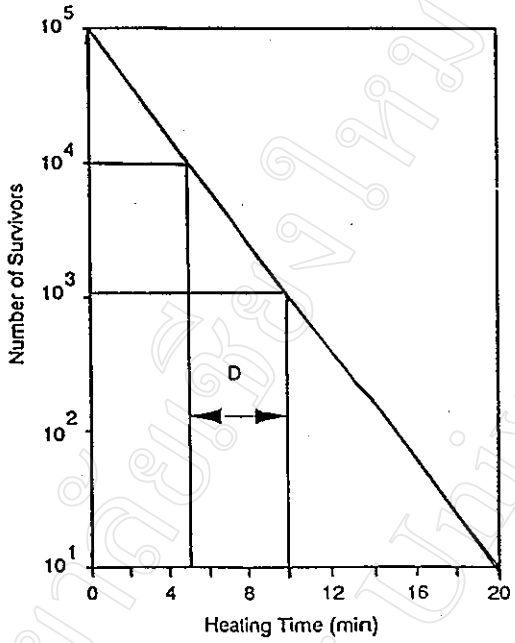
จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีค่า D แตกต่างกันไป การหาค่า D ทำได้โดยการใส่สปอร์ของจุลินทรีย์ที่ทราบจำนวนแน่นอนลงในภาชนะบรรจุแล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิคงที่ โดยใช้เวลานานแตกต่างกัน ข้อมูลที่ได้นำมาแสดงในรูปกราฟซึ่งเป็นกราฟความอยู่รอด (survivor curve) บนกระดาษเซมิล็อก โดยพลอทระหว่าง $\log_{10}$ ของจำนวนเชื้อที่อยู่รอด (survivor) บนแกนล็อก (แกน Y) และเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิหนึ่งๆ บนแกนธรรมดา (แกน X) กราฟที่ได้จะมีความ

สัมพันธ์เป็นเส้นตรง แสดงดังรูป 2.5 เมื่อให้ความร้อนแก่สปอร์จำนวน 10,000 สปอร์ ที่อุณหภูมิ 240 องศาฟาเรนไฮต์ และพบว่าต้องใช้เวลา 10 นาที เพื่อลดจำนวนสปอร์จาก 10,000 ให้เหลือ 1,000 หรือลดลง 90 % (1 log cycle) ดังนั้นค่า D_{240} = 10 นาที ตัว subscript ที่อยู่ข้างล่างตัว D บอกอุณหภูมิที่ใช้ในการหาค่า D ปัจจัยที่มีผลต่อค่า D คือชนิดของสปอร์หรือชนิดของอาหารที่สปอร์แขวนลอยอยู่ เป็นต้น

รูป 2.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนสปอร์ที่เหลือรอดและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิคงที่ 3 อุณหภูมิ log-scale บนแกน Y ทำให้ง่ายต่อการหาค่า D เพราะถ้านับลงมา 1 log cycle การลดลง 90 % ของจำนวนเริ่มต้น จุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์จะมีค่า D ไม่เท่ากัน จุลินทรีย์ที่มีค่า D สูงทำลายยากกว่าจุลินทรีย์ที่มีค่า D ต่ำกว่า เช่น *Clostridium thermosaccharolyticum* ซึ่งมีค่า D_{121} ในช่วง 3-4 นาที จะถูกทำลายได้ยากกว่า *Cl. botulinum* (type A และ B) ซึ่งมีค่า D_{121}= 0.10-0.20 นาที ค่า D ของจุลินทรีย์ชนิดเดียวกันอาจต่างกันในอาหารต่างชนิด

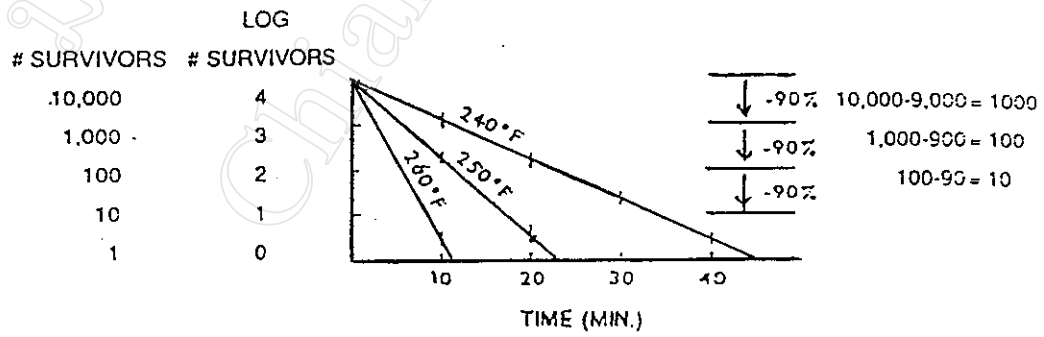
เนื่องจากค่า D จะแปรผันตามอุณหภูมิที่ใช้ อุณหภูมิยิ่งสูงอัตราการทำลายของสปอร์ยิ่งเพิ่มขึ้น และจากรูป 2.6 จะเห็นว่ายิ่งอุณหภูมิฆ่าเชื้อสูง อัตราการทำลายจะยิ่งสูงขึ้น slope ของกราฟมีความชันมากขึ้น นั่นคือใช้เวลาเพียงไม่กี่นาทีก็สามารถลดจำนวนแบคทีเรียลงได้ 90 % จากรูป 2.5 ใช้เวลาเพียง 3 นาที ในการลดจำนวนจุลินทรีย์ลง 90 % ที่อุณหภูมิ 260 องศาฟาเรนไฮต์ ซึ่งมีค่า D_{260} = 3 นาที แต่เมื่อลดอุณหภูมิฆ่าเชื้อเป็น 240 องศาฟาเรนไฮต์ และ 250 องศาฟาเรนไฮต์ เวลาฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นเป็น 10 และ 7 นาที ตามลำดับ นั่นคือมีค่า D_{240} = 10 นาที และ D_{250} = 7 นาที

ในทางทฤษฎีไม่สามารถทำลายแบคทีเรียให้เหลือ 0 ได้เลย เห็นได้จากกราฟแสดงการอยู่รอดไม่เคยลดลงถึง 0 สิ่งที่ทำได้ก็เพียงทำให้เหลือจำนวนใกล้เคียงศูนย์มากที่สุดเท่าที่จะสามารถทำได้ ดังนั้นอาหารที่ผ่านการสเตอริไลซ์จึงไม่ปลอดเชื้อโดยสมบูรณ์ไม่ว่าจะใช้เวลาในการให้ความร้อนนานแค่ไหนก็ตาม แต่สามารถทำนายความเป็นไปได้ที่จุลินทรีย์จะเหลือเพียง 1 สปอร์ จากอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน ซึ่งเป็นที่มาของหลักการฆ่าเชื้อแบบเชิงการค้า ยกตัวอย่าง เช่น ในกระบวนการที่ต้องการลดจุลินทรีย์ลง 8D สำหรับอาหารซึ่งมีสปอร์เริ่มต้นอยู่ 10^5 สปอร์ต่อกระป๋อง จะสามารถลดจุลินทรีย์ลงเหลือ 10^{-3} สปอร์ต่อกระป๋อง หมายความว่าจะมีจุลินทรีย์อยู่ 1 สปอร์ในทุก 1,000 กระป๋อง จำนวนยกกำลังที่มีค่าติดลบเป็นการอธิบายโอกาสที่อาจเกิดขึ้นได้ (probability) ที่จะมีสปอร์เหลือรอดอยู่ได้



รูป 2.5 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนสปอร์และเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิคงที่

ที่มา : Ramaswamy และ Singh (1997)



รูป 2.6 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนสปอร์ที่เหลือรอดและเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิคงที่ 3 อุณหภูมิ

ที่มา : ทิพาพร (2535)

การทราบว่าจุลินทรีย์ชนิดใดเป็นจุลินทรีย์หลักที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารกระป๋องเกิดการเน่าเสีย เป็นสิ่งจำเป็นในการกำหนดเวลาการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ในกระบวนการฆ่าเชื้อ เพื่อให้เกิดความมั่นใจว่าความร้อนที่ให้กับผลิตภัณฑ์เพียงพอที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์ปลอดเชื้อ ในเชิงการค้าชนิดของจุลินทรีย์ที่คาดว่าจะปนเปื้อนวัตถุดิบเป็นตัวกำหนดระดับความอยู่รอดของเชื้อในอุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้ "กระบวนการ 12D" หมายถึงการลดจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นลง 90 % เป็นจำนวน 12 ครั้ง นั่นคือจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่มีจำนวน 10 % ของ 10 %...12 ครั้ง หรือ 10^{-12} ของจำนวนเริ่มต้น เช่น ถ้าจุลินทรีย์เริ่มต้นมี 10^{6} (1 ล้าน) เมื่อผ่านกระบวนการ 12D เหลือจุลินทรีย์สุดท้ายเป็น 10^{-6} หรือ 1 ใน 1,000,000 กระป๋อง ดังตาราง 2.6 แสดงจำนวนสปอร์ที่เหลือรอดหลังผ่านกระบวนการ 12D

การใช้ค่า D จากตาราง 2.4 ต้องระวังเพราะค่าเหล่านี้ได้จากการใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์แทนอาหารจริง ค่าในอาหารจริงจึงอาจแตกต่างกันไป เพราะคุณสมบัติและส่วนประกอบของอาหารที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงต้องศึกษาผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด ระดับความร้อนที่ต้องใช้ในแต่ละผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับการคาดหมายว่าน่าจะมีจุลินทรีย์ชนิดใดปนเปื้อนในวัตถุดิบ เช่น กระบวนการ 12D จะใช้ในกรณีที่คาดว่าน่าจะมี *Cl. botulinum* แต่สำหรับจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุทำให้อาหารเน่าเสียและทนทานต่อความร้อนน้อยกว่า *Cl. botulinum* การนำกระบวนการ 12D มาใช้จะทำให้อาหารได้รับความร้อนมากเกินไปและทำให้คุณภาพลดลง ดังนั้นในทางปฏิบัติจึงใช้กระบวนการ 5D หรือ 8D ซึ่งจะทำให้โอกาสที่จะเกิดการเน่าเสียของอาหารในเชิงเศรษฐศาสตร์เหมาะสมมากที่สุด การนำกระบวนการ 12D มาใช้จะประสบผลสำเร็จได้หรือไม่ ขึ้นอยู่กับปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบเป็นสิ่งสำคัญ จะต้องสามารถควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบให้อยู่ในระดับที่ต่ำด้วยวิธีการเตรียม ตัดแต่งวัตถุดิบ และการลวกโดยใช้หลักสุขาภิบาลที่เกี่ยวข้องก่อนนำไปสู่กระบวนให้ความร้อน ผลิตภัณฑ์บางชนิดกระบวนการให้ความร้อนไม่ประสบผลสำเร็จจึงทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่เดิมเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว พบเสมอว่าทำให้ผลิตภัณฑ์เน่าเสียในระหว่างการเก็บรักษา ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี incubation test ก่อน เพื่อความแน่ใจว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยในระดับที่เหมาะสม ก่อนนำผลิตภัณฑ์ออกจำหน่ายตามท้องตลาด (Fellow, 1993)

ตาราง 2.6 จำนวนสปอร์ที่เหลือรอดหลังจากผ่านกระบวนการ 12D

เวลาในการฆ่าเชื้อ (นาที)	จำนวนสปอร์ที่เหลือรอด
0	$1,000,000 = 10^6$
D	$100,000 = 10^5$
2D	$10,000 = 10^4$
3D	$1,000 = 10^3$
4D	$100 = 10^2$
5D	$10 = 10^1$
6D	$1 = 10^0$ = 1 สปอร์ใน 1 กระป๋อง
7D	$0.1 = 10^{-1}$ = 1 สปอร์ใน 10 กระป๋อง
8D	$0.01 = 10^{-2}$ = 1 สปอร์ใน 100 กระป๋อง
9D	$0.001 = 10^{-3}$ = 1 สปอร์ใน 1,000 กระป๋อง
10D	$0.0001 = 10^{-4}$ = 1 สปอร์ใน 10,000 กระป๋อง
11D	$0.00001 = 10^{-5}$ = 1 สปอร์ใน 100,000 กระป๋อง
12D	$0.000001 = 10^{-6}$ = 1 สปอร์ใน 1,000,000 กระป๋อง

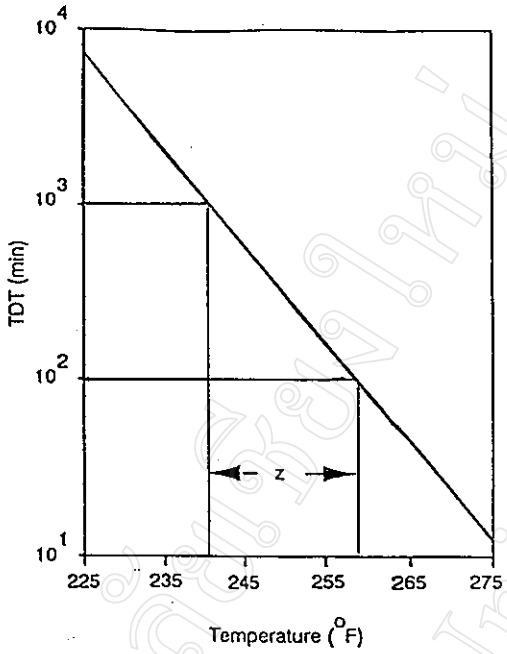
หมายเหตุ จำนวนยกกำลังที่มีค่าติดลบเป็นการอธิบายโอกาสที่อาจเกิดขึ้น (probability) เช่น 10^{-3} หมายถึงหลังให้ความร้อนนาน 9D โอกาสที่จะมีสปอร์เหลือรอดมีเพียง 1 ใน 1,000 กระป๋อง

ที่มา : ทิพาพร (2535)

2.3.1.2.2 ค่า z (z value)

หมายถึง จำนวนองศาเซลเซียส หรือองศาฟาเรนไฮต์ ที่ทำให้ค่า D เปลี่ยนไป 1 วงจรล็อก (log cycle) ค่า z ได้จากการหาค่า D ของสปอร์สายพันธุ์เดียวกันที่หลายอุณหภูมิ แล้วแสดงข้อมูลที่ได้ในรูปของกราฟ โดยพลอทระหว่าง log ของค่า D กับอุณหภูมิที่ใช้ในการหาค่า D แต่ละค่าจะได้ Thermal Death Time Curve (TDT) ดังรูป 2.7 การเปลี่ยนแปลง 1 log cycle (จาก 10 เป็น 1) จะมีค่าเท่ากับการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการฆ่าเชื้อไป 20 องศาฟาเรนไฮต์ ดังนั้น ค่า z = 20 องศาฟาเรนไฮต์ ซึ่งเป็นตัวบอกว่า ถ้าอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้น 20 องศาฟาเรนไฮต์ เวลาในการฆ่าเชื้อสามารถลดลงมา 10 เท่า (1 log cycle) จากรูป 2.7 ถ้าใช้อุณหภูมิ 240 องศาฟาเรนไฮต์ จะใช้เวลาฆ่าเชื้อ 10 นาที แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิอีก 20 องศาฟาเรนไฮต์ เป็น 260 องศาฟาเรนไฮต์ เวลาที่ใช้ฆ่าเชื้อจะลดลง 10 เท่า เหลือ 1 นาที โดยให้ผลการฆ่าเชื้อได้เท่าเดิม (ทิพาพร, 2535)

ค่า z มีประโยชน์ในการคำนวณกระบวนการให้ความร้อนที่ให้ผลเท่ากันที่อุณหภูมิต่างๆ เปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง



รูป 2.7 Thermal death time curve

ที่มา : Ramaswamy และ Singh (1997)

2.3.1.2.3 ค่า F (F-value) หรือ Sterilizing value

หมายถึง ระยะเวลาเป็นนาทีที่อุณหภูมิหนึ่งซึ่งใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่ทราบจำนวนในอาหารภายใต้สภาวะที่กำหนด การใช้ค่า F ต้องระบุอุณหภูมิที่ใช้และค่า z ของจุลินทรีย์เป้าหมายด้วย (ทิพาพร, 2535)

สัญลักษณ์ที่ใช้คือ F^{z}_{t} ถ้า z = 18 องศาฟาเรนไฮต์ หรือ 10 องศาเซลเซียส และค่า t = 250 องศาฟาเรนไฮต์ หรือ 121.1 องศาเซลเซียส จะได้ F^{18}_{250} หรือ F^{10}_{121} ใช้สัญลักษณ์ย่อแทนว่า F_0 ซึ่งคือระยะเวลาเป็นนาทีที่อุณหภูมิ 250 องศาฟาเรนไฮต์ (หรือ 121 องศาเซลเซียส) ที่ใช้เพื่อทำลายจุลินทรีย์ซึ่งมีค่า z = 18 องศาฟาเรนไฮต์ (หรือ 10 องศาเซลเซียส) ลงจำนวนหนึ่ง

ค่า F เป็นความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ของกระบวนการ (lethality) หรืออัตราการทำลาย (lethal rate) ซึ่งเป็นค่าที่มีความสำคัญ โดยเฉพาะเมื่อต้องการหาประสิทธิภาพในการทำลาย (lethal effect) ของช่วงอุณหภูมิที่กำลังให้ความร้อนแต่ยังไม่ถึงอุณหภูมิที่ต้องการและช่วงที่กำลังทำให้เย็นในรูปของความสามารถในการทำลายจุลินทรีย์ของกระบวนการที่จะใช้สำหรับเปลี่ยนเวลาในการฆ่าจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิต่างๆ ให้เป็นเวลาในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นั่นคือสามารถแสดงค่า F ที่อุณหภูมิอื่นๆ (นอกเหนือจากอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส)

เช่น การให้ความร้อนแก่อาหารที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 13 นาที มีผลในการทำลายจุลินทรีย์ที่มีค่า z = 10 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1 นาที ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (วิไล, 2543)

2.3.2 อัตราการแทรกผ่านความร้อน (Rate of heat penetration)

การถ่ายเทความร้อนจากไอน้ำหรือน้ำจะถูกแรงดันอัดผ่านภาชนะสู่อาหาร ได้มากน้อยเพียงใด ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนดังนี้ (www.IFTPS.com, 2001; Institute for Thermal Processing Specialists)

2.3.2.1 ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อนสู่อาหารกระป๋อง

2.3.2.1.1 ผลิตภัณฑ์

ก. สูตรการผลิตและสัดส่วนของสูตรที่ใช้ ในการผลิตควรเลือกสูตรที่มีส่วนผสมที่เป็นสูตรการผลิตที่คาดว่าจะมีการคาดเคลื่อนมากที่สุดเมื่อผลิตจริง (worst case) ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงสูตรการผลิตจะต้องหาอัตราการแทรกผ่านความร้อนใหม่

ข. น้ำหนักบรรจุ การให้ความร้อนแต่ละครั้ง จะต้องระบุน้ำหนักบรรจุ (fill weight) น้ำหนักสุทธิ (net weight) น้ำหนักเนื้อ (drained weight) และอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเนื้อต่อน้ำหนักสุทธิ (drained weight : net weight) ปกติน้ำหนักบรรจุเพื่อหาการแทรกผ่านความร้อนมักจะบรรจุให้เกินน้ำหนักปกติ 5 % ซึ่งถือว่าเป็น worst case ของการผลิต น้ำหนักบรรจุเป็นสิ่งที่ต้องคำนึงโดยเฉพาะพวกผักใบ เช่น ผักโขม (spinach) ต้องระบุน้ำหนักผักและน้ำหนักน้ำเกลือที่บรรจุชัดเจน เพราะถ้าบรรจุผักมากเกินไป จะทำให้การถ่ายเทความร้อนเป็นแบบ conduction นั่นหมายความว่าการถ่ายเทความร้อนภายในช้าลง

ค. ความหนืด (Consistency หรือ Viscosity) ชนิดและความเข้มข้นของสารให้ความหนืดมีผลอย่างมากในแง่ของการถ่ายเทความร้อน อาหารที่มีความหนืดสูงจะเคลื่อนที่ได้น้อย การถ่ายเทความร้อนจึงต่ำ ขณะที่อาหารที่มีความหนืดต่ำจะเคลื่อนที่ได้ง่าย การถ่ายเทความร้อนเกิดได้ดี อาหารที่มีแป้งเป็นส่วนผสม เช่น ซุปข้าวโพด ขณะที่ยังไม่ได้รับความร้อนความหนืดจะต่ำ การถ่ายเทความร้อนเป็นแบบ convection แต่เมื่อได้รับความร้อนมากขึ้นความหนืดของแป้งจะเพิ่มขึ้น ทำให้การถ่ายเทความร้อนเป็นแบบ conduction ดังนั้นแป้งจึงมีผลต่อการแทรกผ่านความร้อน การใส่แป้งมากเกินไปหรือใช้แป้งผิดชนิดอาจทำให้เกิดปัญหาการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ

ง. ขนาด รูปร่าง และน้ำหนักของแข็งที่เป็นส่วนประกอบก่อนและหลังการฆ่าเชื้อ

จ. การเปลี่ยนแปลงขนาดและการรวมตัวของของแข็งที่เป็นส่วนประกอบ เมื่อเริ่มกระบวนการฆ่าเชื้อ มีผลต่ออุณหภูมิและตำแหน่งของจุดร้อนช้าที่สุดของผลิตภัณฑ์

ฉ. วิธีการเตรียมวัตถุดิบก่อนการบรรจุ ควรปฏิบัติให้ใกล้เคียงการผลิตจริง เช่น มีการลวก หรือแช่ในน้ำหรือสารละลายก่อนหรือไม่ ควรกำหนดอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ลวกผัก เพราะการลวกผักนานเกินไปทำให้ผักนิ่มและอาจจะทำให้บรรจุกระป๋องแน่นเกินไป เหลือพื้นที่ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดการไหลเวียนของน้ำเกลือ การแทรกผ่านความร้อนจึงเกิดขึ้นไม่ดี

ช. การดูดคืนน้ำของของแข็งที่เป็นส่วนประกอบ (Rehydration) เนื่องจากความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์จะขึ้นกับสภาวะแวดล้อม ถ้าอยู่ในสภาพที่เปียกชื้น เช่น ในสารละลายความทนทานต่อความร้อนจะต่ำ แต่ถ้าจุลินทรีย์อยู่ในสภาพที่แห้ง ความทนทานต่อความร้อนจะสูง ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบเป็นของแข็งอยู่ด้วยไม่ว่าจะเป็นถั่วแห้ง โปรตีนแห้งจากถั่วเหลือง พาสต้า ข้าวหรือสาคู ในขั้นตอนการเตรียมจะต้องแช่น้ำให้มีการดูดซึมสม่ำเสมอ เพื่อให้ส่วนผสมเหล่านี้มีความหนาแน่นและขนาดสม่ำเสมอ เมื่อได้รับความร้อนการฆ่าเชื้อภายในชิ้นอาหารจะได้เป็นไปอย่างทั่วถึง เพราะถ้ามีส่วนที่แห้งอยู่ อาจมีจุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ในส่วนนั้นได้ ในกรณีที่ได้เผื่อให้การดูดซึมน้ำเกิดขึ้นในระหว่างการให้ความร้อนจะต้องระวังเรื่องอุณหภูมิและเวลาที่ใช้มาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มอุณหภูมิ เพื่อลดเวลานั้น ถึงแม้ว่าจะได้ค่า F_0 ที่ต้องการ แต่ถ้าเวลาที่ใช้สั้นเกินไป การดูดซึมน้ำไม่เพียงพอ ก็เป็นสาเหตุทำให้จุลินทรีย์หลงเหลืออยู่ได้

ซ. สมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ สมบัติทางกายภาพกำหนดลักษณะการเคลื่อนที่ผลิตภัณฑ์ว่าเป็นแบบ convection, conduction หรือ broken สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีการเคลื่อนที่เป็นแบบ broken เมื่อเริ่มต้นให้ความร้อนจะเคลื่อนที่แบบ convection ก่อน ต่อมาจะเปลี่ยนเป็น conduction เช่น ซุปที่มีแป้งเป็นส่วนประกอบ การเปลี่ยนแปลงลักษณะการเคลื่อนที่เกิดขึ้นเนื่องจากแป้งเกิดปฏิกิริยาเจลาติไนเซชัน (gelatinization) เมื่อถึงอุณหภูมิที่เหมาะสม นอกจากนี้สูตรการผลิตและสารที่เป็นส่วนประกอบล้วนมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์เปลี่ยนการเคลื่อนที่จาก convection เป็น conduction เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลา

ฌ. a_w ค่า a_w แสดงปริมาณน้ำในอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้หรือเพียงพอที่จะเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ อาหารกระป๋องส่วนใหญ่มีค่า $a_w > 0.98$ ดังนั้นจุลินทรีย์และสปอร์จึงสามารถเจริญได้ดี ถ้า $a_w < 0.95$ จุลินทรีย์ เช่น *Staphylococcus aureus* จะถูกยับยั้งทำให้ปริมาณความร้อนที่ต้องใช้ในการฆ่าเชื้อลดลง

ญ. วัตถุกันเสียและสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์และสปอร์ (Preservative) ได้แก่ ไนเตรท ไนไตรท์ เกลือ และน้ำตาล ซึ่งถ้ามีการใช้สารกันเสียเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจะสั้นลง

ฎ. พีเอช เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่จะตัดสินว่าควรใช้กระบวนการให้ความร้อนแบบใด เพื่อจะให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยในเชิงการค้า เพราะพีเอชมีผลต่อชนิดของจุลินทรีย์ที่เจริญได้และปริมาณความร้อนที่ต้องการในการฆ่าเชื้อ อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (พีเอช > 4.5) ปริมาณ

ความร้อนที่ใช้จะต้องสามารถทำลายสปอร์ทั้งหมดของ *Cl. botulinum* รวมทั้งของแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่ทนทานต่อความร้อนซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรค โดยอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจะต้องสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่เน่าเสียในสภาพการเก็บธรรมดาที่ไม่ได้แช่เย็น สำหรับอาหารที่มีความเป็นกรดและอาหารที่ถูกปรับให้เป็นกรด (พีเอช < 4.5) ปริมาณความร้อนที่ใช้จะน้อยกว่า เพราะจุลินทรีย์ที่ต้องทำลายทนทานต่อความร้อนได้น้อยกว่า อาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ

2.3.2.1.2 บรรจุภัณฑ์

ก. ชนิดของบรรจุภัณฑ์ บรรจุภัณฑ์ที่นิยมใช้ทั่วไปได้แก่ กระป๋อง แก้ว พลาสติก และถุงรีทอร์ทเพาท์ ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการนำความร้อนและการแทรกผ่านความร้อนของบรรจุภัณฑ์แต่ละชนิด เช่น การส่งผ่านความร้อนผ่านโลหะจะเร็วกว่าผ่านแก้วหรือพลาสติก เนื่องจากความแตกต่างเรื่องคุณสมบัติการนำความร้อน

ข. สุญญากาศและช่องว่างเหนืออาหารในกระป๋อง (Vacuum และ Head space) มีผลต่อการให้ความร้อนแก่ผลิตภัณฑ์ เพราะถ้ามีอากาศหลงเหลืออยู่ในกระป๋อง จะทำให้ตำแหน่งของจุดร้อนช้าที่สุด (cold point) เปลี่ยนแปลงได้อาหารจะได้รับความร้อนเนื่องจากการหมุนเวียนของไอน้ำภายในกระป๋อง การรักษาความเป็นสุญญากาศให้ได้ค่าสูงๆ (ในกระป๋องมีอากาศหลงเหลือน้อย) ทำให้การถ่ายเทความร้อนเกิดได้ดี แต่ถ้าความเป็นสุญญากาศน้อย (ในกระป๋องมีอากาศเหลืออยู่มาก) การถ่ายเทความร้อนจะเกิดได้ไม่ค่อยดี เพราะอากาศเป็นฉนวนของความร้อน

ค. ความหนาของบรรจุภัณฑ์ (Thickness) เช่น ถุงรีทอร์ทเพาท์ มีผลโดยตรงต่อจุดร้อนช้าที่สุดของบรรจุภัณฑ์ การศึกษาเพื่อหาการแทรกผ่านความร้อนควรระบุความหนาของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ด้วย

ง. การจัดเรียงกระป๋องในตะกร้า ควรบรรจุเต็มตะกร้า (fully loaded) หรือวางตามการผลิตจริง (Orientation of can in basket) การจัดเรียงกระป๋องอาจวางในแนวตั้ง (vertical) วางแนวนอน (horizontal) หรือวางแบบไม่เรียงกระป๋อง (jumble load) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงวิธีการเรียงกระป๋องในหม้อฆ่าเชื้อมีผลโดยตรงต่อการไล่อากาศ และ come-up time

จ. ตำแหน่งของกระป๋องในตะกร้า ควรควบคุมให้เหมือนกับการผลิตจริง

ฉ. ขนาดของกระป๋อง ต้องเป็นขนาดเดียว เพราะถ้าใช้กระป๋องขนาดต่างกันเวลาฆ่าเชื้อก็จะต่างกัน โดยทั่วไปกระป๋องขนาดใหญ่จะใช้เวลานานกว่า การกำหนดกระบวนการฆ่าเชื้อของกระป๋องขนาดต่างๆ โดยทั่วไปสามารถทำได้ 2 วิธี คือ จากการคำนวณใหม่โดยอาศัยข้อมูลการแทรกผ่านความร้อนของกระป๋องขนาดใดขนาดหนึ่ง หรือทำการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนของกระป๋องทุกๆ ขนาด ซึ่งวิธีการที่ถูกต้อง คือการหาการแทรกผ่านความร้อนของกระป๋องแต่ละขนาด

ใหม่เพื่อให้ข้อมูลที่ได้มีความถูกต้องที่สุด ทั้งนี้เพราะการเปลี่ยนขนาดกระป๋องทำให้ช่องว่างภายในหม้อฆ่าเชื้อไม่เหมือนกัน การถ่ายเทความร้อนก็แตกต่างกันไปด้วย

ช. การใช้แผ่นกั้นกระป๋อง (divider plate) ลักษณะของแผ่นกั้น และ % open area มีผลต่อการแทรกผ่านความร้อน

ซ. บริษัทผู้ผลิตกระป๋อง ตราหรือยี่ห้อ ของกระป๋องต้องมีการบันทึก เพราะมีผลต่อวิธีการบรรจุ การปิดผนึก และการแปรรูป

ฌ การตรวจสอบความผิดปกติของบรรจุภัณฑ์หลังจากผ่านกระบวนการแปรรูป โดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์ที่ตรวจสอบพบว่า ร้อนช้าที่สุด (slowest heating) และ ร้อนเร็วที่สุด (fastest heating) เป็นสิ่งที่ควรทำอย่างยิ่งโดยเฉพาะบรรจุภัณฑ์ที่เป็นแบบ flexible packages เช่น ถุงรีทอร์ท-เพาท์ การตรวจสอบควรทำตามวิธีการตรวจสอบอย่างระมัดระวัง ถ้าตรวจสอบพบว่าตำแหน่งที่เสียบเทอร์โมคัปเปิลคลาดเคลื่อน นั่นหมายความว่าข้อมูลการแทรกผ่านความร้อนผิดพลาดใช้ไม่ได้

2.3.2.1.3 วิธีการบรรจุ

ก. อุณหภูมิขณะบรรจุ ควบคุมอุณหภูมิขณะบรรจุให้เหมือนกับที่ระบุใน scheduled process เพราะมีผลต่ออุณหภูมิเริ่มต้นของผลิตภัณฑ์ ซึ่งมีอิทธิพลต่อตัวแปรที่เกี่ยวข้องกับการแทรกผ่านความร้อน ได้แก่ lag factor และ come-up time

ข. วิธีบรรจุและน้ำหนักสุทธิ มีผลต่ออัตราการแทรกผ่านความร้อน

ค. สาเหตุอื่นๆ การควบคุมปริมาตรช่องว่างเหนืออาหารในกระป๋อง (head space) โดยการหาน้ำหนักสุทธิเพียงอย่างเดียว ไม่เพียงพอสำหรับการควบคุมคุณภาพผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามที่กำหนด เพราะปริมาตรอากาศที่หลงเหลือในกระป๋องหรือบรรจุภัณฑ์อื่นๆ มีผลโดยตรงต่อปริมาตรช่องว่างเหนืออาหาร และความเป็นสุญญากาศภายในกระป๋อง

2.3.2.1.4 การปิดผนึกฝาภาชนะบรรจุ

เครื่องมือและวิธีการปิดฝาควรสามารถปิดผนึกได้สนิท ความเป็นสุญญากาศในกระป๋อง และขวดแก้ว โดยทั่วไปกำหนดให้มีค่าเท่ากับ 35-70 กิโลปาสคาล หรือ 10 – 20 นิ้วปรอท เมื่อวัดที่อุณหภูมิห้อง ความเป็นสุญญากาศมีความสำคัญเพราะมีผลต่อหลายๆ ปัจจัย เช่น ปริมาตรช่องว่างเหนืออาหาร อุณหภูมิของอาหาร การไล่อากาศ และประสิทธิภาพของเครื่องมือผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น ผักบรรจุกระป๋อง จะใช้ความเป็นสุญญากาศที่วัดได้ต่ำสุดเป็นจุดวิกฤต ส่วนผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในภาชนะอื่นๆ เช่น ถุงรีทอร์ทเพาท์ ถาดแข็งทนความร้อน ภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด ความเป็นสุญญากาศที่ระบุไว้ มีผลต่อปริมาตรของอากาศที่เหลือในภาชนะบรรจุ

2.3.2.1.5 หม้อฆ่าเชื้อ (Retort)

หม้อฆ่าเชื้อที่ใช้ มีผลอย่างมากต่อการแทรกผ่านความร้อนสู่ผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนจึงควรระบุด้วยว่าใช้หม้อฆ่าเชื้อชนิดใด เครื่องไหน รวมทั้งระบุสภาวะขณะทดสอบ

*ก. **Come-up time*** คือ เวลาที่นับตั้งแต่เริ่มต้นเปิดไอน้ำจนกระทั่งถึงอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อที่ต้องการ ควรเลือก come-up time ที่สั้นที่สุด ซึ่งหาได้จากผลการศึกษาการกระจายความร้อน (temperature distribution) การศึกษาการแทรกผ่านความร้อนในห้องปฏิบัติการทั่วไป หม้อฆ่าเชื้อที่ใช้มักมีขนาดเล็กกว่าที่ใช้ตามโรงงานทั่วไป ดังนั้น come-up time จึงสั้นกว่าและเวลาที่ใช้ในการหล่อเย็น (cooling) ก็เร็วกว่า ฉะนั้นก่อนจะนำสภาวะที่ทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการไปใช้กับงานที่โรงงานจริง จำเป็นต้องปรับสภาวะให้เหมาะสมก่อนที่จะนำไปใช้งานจริงๆ

*ข. **ถาด/ตะกร้า/ตะแกรง สำหรับวางภาชนะบรรจุ (Racking)*** ไม่ว่าจะเป็นกระป๋อง ขวด ถุงรีทอร์ทเพาท์ ถาดแข็งทนความร้อน หรือภาชนะอลูมิเนียมพร้อมฝาปิด ความหนาของที่วางภาชนะบรรจุต้องไม่เกินกว่าที่ระบุไว้ใน scheduled process นอกจากนี้ตำแหน่งและวิธีการจัดวางก็มีผลต่อการแทรกผ่านความร้อนสู่ผลิตภัณฑ์

*ค. **หม้อฆ่าเชื้อแบบนิ่ง (Still batch retort)*** ระบบการทำงานของหม้อฆ่าเชื้อชนิดนี้ขึ้นอยู่กับตัวกลางความร้อน (heating medium) ได้แก่ ไอน้ำ ไอน้ำ/อากาศ น้ำแบบฉีดพ่นฝอย และน้ำแบบจุ่ม

- *ชนิดของหม้อฆ่าเชื้อ* เป็นแบบตั้งหรือแบบนอน
- *วิธีทำให้ตัวกลางกระจายความร้อน* (method of heating medium) เป็นแบบใช้พัดลม ปั๊ม หรือพ่นอากาศ รวมทั้งปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการเคลื่อนที่ของความร้อน

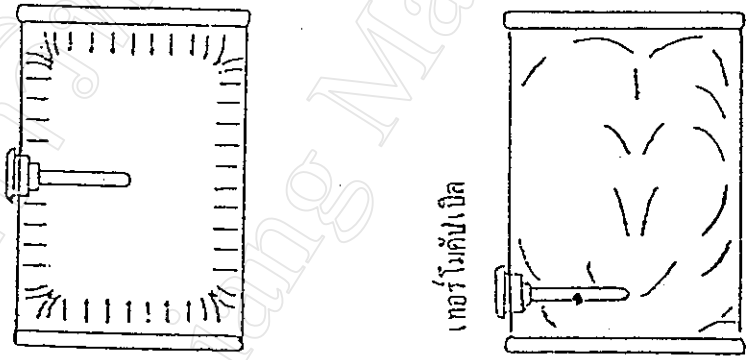
*ง. **หม้อฆ่าเชื้อแบบหมุน (Rotation batch retort)*** หม้อฆ่าเชื้อแบบนี้ถูกออกแบบมา เพื่อหมุนตะกร้าที่บรรจุผลิตภัณฑ์ การหมุนช่วยเพิ่มอัตราการแทรกผ่านความร้อน โดยเฉพาะอาหารที่มีความหนืดหรืออาหารกึ่งแข็ง เช่น เมล็ดถั่วในซอสมะเขือเทศ ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงในการศึกษาอัตราการแทรกผ่านความร้อนของหม้อชนิดนี้ คือ ช่องว่างภายในกระป๋อง ความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์ สัดส่วนของแข็งต่อของเหลว อุณหภูมิเริ่มต้น ขนาดกระป๋อง ความเร็วและรัศมีของการหมุน และควรเก็บข้อมูลทุกๆ 15 วินาที

*จ. **หม้อฆ่าเชื้อแบบต่อเนื่อง (Continuous retort)*** การศึกษาการแทรกผ่านความร้อนโดยใช้เทอร์โมคัปเปิลแทบจะทำไม่ได้ เนื่องจากระบบการทำงานของเครื่องหากต้องการศึกษาอาจใช้ process simulator หรือ self contained temperature measurment and data storage modules

2.3.2.2 การถ่ายเทความร้อนของอาหาร

อัตราเร็วที่ปริมาณความร้อนแทรกผ่านไปยังจุดร้อนช้าที่สุดของอาหารกระป๋องขึ้นอยู่กับลักษณะการถ่ายเทความร้อนของอาหารแต่ละชนิด ซึ่งเกิดขึ้นไม่เท่ากัน สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท คือ

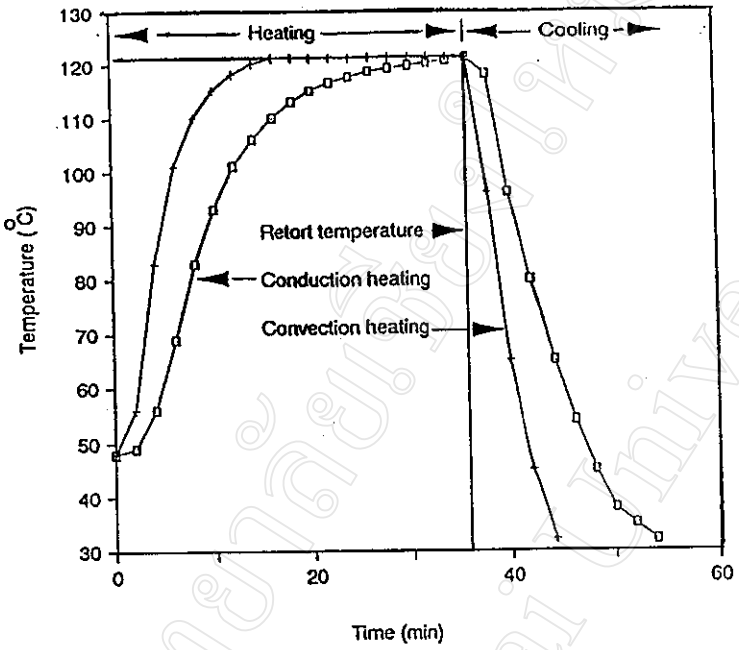
2.3.2.2.1 อาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบการนำความร้อน (Conduction heating curve) อาหารในกระป๋องจะได้รับความร้อนในทุกทิศทางผ่านผนังกระป๋อง แล้วผ่านจากโมเลกุลหนึ่งไปยังอีกโมเลกุลหนึ่ง โดยมีทิศทางไปยังจุดร้อนช้าที่สุดของอาหาร ซึ่งอยู่ที่จุดกึ่งกลางกระป๋อง (geometric center) นั่นคือพลังงานความร้อนจะถูกถ่ายเทจากบริเวณที่มีอุณหภูมิสูง (อาหารที่อยู่ติดผนังกระป๋อง) ไปยังบริเวณที่มีอุณหภูมิต่ำ (จุดที่ร้อนช้าที่สุด) โดยผ่านโมเลกุลของอาหารที่ไม่เคลื่อนที่ เนื่องจากการถ่ายเทความร้อนแบบการนำนั้น อนุภาคอาหารไม่สามารถเคลื่อนที่ภายในกระป๋อง (Dennis และ Richard, 1997) การถ่ายเทความร้อนจึงไม่รวดเร็วเหมือนกับการพาความร้อนแบบธรรมชาติ (natural convection)สำหรับตำแหน่งของเทอร์โมคัปเปิล แสดงดังรูป 2.8



การนำความร้อน **การพาความร้อน**

รูป 2.8 ตำแหน่งของเทอร์โมคัปเปิล

ที่มา : Dennis และ Richard (1997)



รูป 2.9 ลักษณะการถ่ายเทความร้อนของอาหารแบบ conduction และ convection

ที่มา : *Ramaswamy และ Singh (1997)*

2.3.2.2.2 อาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบการพา (Convection heating curve) ถ้าเป็นการพาความร้อนแบบธรรมชาติ ซึ่งเกิดขึ้นโดยมีสาเหตุเกิดจากความหนาแน่นของตัวกลาง (อาหารเหลว) ที่แตกต่างกัน โดยโมเลกุลของอาหารที่มีความหนาแน่นน้อยกว่าจะเคลื่อนที่ขึ้นข้างบน ขณะที่โมเลกุลที่มีความหนาแน่นมากกว่า (หนักกว่า) จะเคลื่อนที่ลงมาแทนที่ ทั้งนี้เนื่องจากอาหารที่มีความหนาแน่นน้อยกว่ามีอุณหภูมิสูงกว่า จึงเคลื่อนที่ได้เร็วกว่า ทำให้เกิดการไหลเวียนของอาหารเหลวภายในกระป๋อง เป็นเหตุให้สมมาตรของอาหารกระป๋องเสียไป (Larousse และ Brown, 1997) ลักษณะการถ่ายเทความร้อน แสดงดังรูป 2.9 ดังนั้นจุดร้อนช้าที่สุดของอาหารกระป๋องจะอยู่ที่ประมาณ 3/4 นิ้ว นับจากขอบล่างของกระป๋องสำหรับกระป๋องขนาดเล็ก และสำหรับกระป๋องขนาดใหญ่ เช่น กระป๋องเบอร์ 10 จุดร้อนช้าที่สุดจะอยู่ประมาณ 1 ½ นับจากขอบล่างของกระป๋อง ตำแหน่งของเทอร์โมคัปเปิล แสดงดังรูป 2.8

อาหารนั้นมีการถ่ายเทความร้อนแบบพาบังคับ (forced convection) จะมีแรงภายนอกมาบังคับให้โมเลกุลของอาหารเหลวเคลื่อนที่ เกิดการผสมของของเหลวภายในกระป๋อง ทำให้การถ่ายเท

ความร้อนเป็นไปได้เร็วขึ้น เช่น การฆ่าเชื้ออาหารในเครื่องฆ่าเชื้อแบบหมุน (agitating cooker) ซึ่งจะมีการหมุนของกระป๋องระหว่างการฆ่าเชื้อ ในกรณีนี้มักไม่พบจุดร้อนช้าที่สุด หรือถ้ามีก็จะอยู่ที่จุดกึ่งกลางกระป๋อง อาหารที่มีการเคลื่อนที่แบบการพาความร้อนได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มและน้ำผลไม้

2.3.2.2.3 อาหารที่มีการถ่ายเทความร้อนแบบผสม (Broken heating curve) อาหารในกลุ่มนี้ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ที่มีแป้งหรือสารให้ความหนืดเป็นส่วนประกอบ หรือผลิตภัณฑ์ที่มีชิ้นอาหารขนาดใหญ่ๆ ในของเหลว เช่น ข้าวโพดฝักอ่อน เห็ด ผักชิ้นใหญ่ๆ ในน้ำเกลือ อาหารเหล่านี้จะมีการถ่ายเทความร้อนได้ทั้ง 2 แบบ คือ ในช่วงต้นการถ่ายเทความร้อนจะเกิดได้เร็วมากเป็นแบบ convection แล้วเปลี่ยนเป็นแบบ conduction เมื่อถ่ายเทความร้อนไปยังอาหารที่เป็นของแข็ง หรืออาหารที่มีความข้นหนืดมาก ตำแหน่งร้อนช้าที่สุดของการถ่ายเทความร้อนแบบนี้ไม่แน่นอน ดังนั้นจึงมีการกำหนดตำแหน่งร้อนช้าที่จุดต่างๆ กัน เช่น 2 เซนติเมตรนับจากขอบล่างของกระป๋อง หรือ 1/3 ของความสูงกระป๋อง หรือจุดกึ่งกลางระหว่าง convection กับ conduction อย่างไรก็ตามถ้าต้องการทราบตำแหน่งที่แน่นอนสามารถหาได้จากการทดลอง โดยทำการวัดอุณหภูมิหลายๆ จุดแล้วพิจารณาดูว่าจุดใดที่อุณหภูมิเปลี่ยนช้าที่สุด

2.3.2.3 การวัดอัตราการแทรกผ่านความร้อนในอาหาร

จุดประสงค์ของการศึกษาการแทรกผ่านความร้อนก็เพื่อวัดลักษณะการกระจายความร้อนในช่วงการฆ่าเชื้อ และการทำให้เย็นของผลิตภัณฑ์ในหม้อฆ่าเชื้อ เพื่อนำข้อมูลที่ได้มากำหนดกระบวนการผลิตที่ปลอดภัย และประเมินค่าการเบี่ยงเบนของกระบวนการผลิต

ในการทดลองเพื่อเก็บข้อมูลการแทรกผ่านความร้อน เครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิภายในกระป๋องคือ เทอร์โมคัปเปิล ซึ่งประกอบด้วย ลวดโลหะ 2 ชนิด คือ โลหะทองแดง (copper) และโลหะคอนสแตนตัน (constantan) หรือเป็นพวกโลหะนิโครม (nicrome) และโลหะคอนสแตนตัน ซึ่งสายเทอร์โมคัปเปิลจะถูกนำมาเสียบต่อเข้ากับเครื่องวัดความต่างศักย์ (potentiometer) อ่านค่าออกมาเป็นองศา ปัจจุบันเครื่องวัดความต่างศักย์มีการพัฒนาก้าวหน้ามาก สามารถบันทึกอุณหภูมิและคำนวณค่า F_0 ได้โดยตรงจากเครื่อง

วิธีการวัดอัตราการแทรกผ่านความร้อน ทำได้โดยนำกระป๋องที่ต้องการหาการแทรกผ่านความร้อนมาเจาะรูกลวงด้วยเครื่องเจาะกระป๋อง ณ ตำแหน่งที่ร้อนช้าที่สุด ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของอาหารที่บรรจุว่ามีการถ่ายเทความร้อนแบบใด ในกรณีที่ไม่ทราบว่าอาหารนั้นมีการถ่ายเทความร้อนแบบใด ต้องทดลองทำหลายๆ ตำแหน่ง ตามแนวกลางในแนวตั้ง โดยทำเพียงตำแหน่งละหนึ่งกระป๋องและทำซ้ำจนทราบว่าตำแหน่งใดเป็นจุดร้อนช้าที่สุด จึงกำหนดให้จุดนั้นเป็นจุด

สำหรับการทดลองเพื่อเก็บข้อมูลต่อไป ที่เจาะทะลุให้ปิดด้วยหัวเทอร์โมคัปเปิลตามขนาดของกระป๋องด้วย lock nut เพื่อป้องกันการรั่วของอาหาร เสียบ space bar จากนั้นนำกระป๋องที่เสียบ space bar มาบรรจุอาหารที่มีวิธีการและส่วนผสมเหมือนที่ผลิตจริง (รัตนา, 2544) โดยทั่วไปการบรรจุจะใช้น้ำหนักบรรจุมากกว่าน้ำหนักปกติ 5-10 % เพื่อให้เกิดสภาพที่เรียกว่า "worst case" เป็นการเผื่อความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้น และถ้าอาหารที่บรรจุมีลักษณะเป็นชิ้น จะต้องนำอาหารเป็นชิ้นเหล่านั้นมาเสียบบนเข็มของเทอร์โมคัปเปิลจนเต็มเข็ม และต้องมั่นใจว่าเสียบแน่น ชิ้นอาหารไม่หลุดออกมาจากเข็มของหัวเทอร์โมคัปเปิลขณะฆ่าเชื้อ จากนั้นนำกระป๋องที่มีการเสียบสายเทอร์โมคัปเปิลแล้ว นำมาวางเรียงในตะกร้าตรงตำแหน่งที่ได้รับไอน้ำน้อยที่สุด (cold zone) ของหม้อฆ่าเชื้อ โดยวางกระป๋องบรรจุอาหารตามปกติลงไปด้วยจนเต็มตะกร้า และจัดเรียงกระป๋องเหมือนที่ผลิตจริง อุณหภูมิเริ่มต้น (initial temperature : I.T.) ที่ใช้เพื่อศึกษาการแทรกผ่านความร้อนมีความสำคัญมากควรใช้อุณหภูมิเริ่มต้นที่ทางโรงงานถือว่าเป็น worst case ของการผลิต และต้องระบุไว้ใน scheduled process จากนั้นปิดฝาหม้อฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว ก่อนจะเปิดไอน้ำเข้าให้ตรวจสอบดูว่าอุปกรณ์การบันทึกอยู่ในสภาพพร้อมที่จะใช้งานหรือไม่ ในกรณีของ convection pack ให้ทำการบันทึกทุกๆ ครึ่งนาที เพราะอุณหภูมิจะเปลี่ยนแปลงเร็วมาก ส่วน conduction pack อาจบันทึกทุกๆ 1 นาที ความดันไอเป็นสิ่งสำคัญที่ต้องตรวจสอบ การทดลองจะเริ่มต้นเมื่อความดันไอในท่อไม่ต่ำกว่า 90 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ทั้งนี้เพื่อให้แน่ใจว่าการไล่อากาศเป็นไปตามระยะเวลาที่กำหนดและสามารถรักษาอุณหภูมิภายในหม้อฆ่าเชื้อให้คงที่ได้ตลอดเวลาการฆ่าเชื้อ (เมธินี, 2542a)

หม้อฆ่าเชื้อที่ใช้ในการวัดอัตราการแทรกผ่านความร้อนจะต้องผ่านการตรวจสอบว่ามีอุปกรณ์ต่างๆ ครบถ้วนและได้มาตรฐาน และมีการตรวจสอบการกระจายความร้อนภายในหม้อฆ่าเชื้อเพื่อจะได้ทราบตำแหน่งร้อนช้าที่สุดภายในหม้อฆ่าเชื้อ โดยการใช้เทอร์โมคัปเปิลตรวจวัดและบันทึกอุณหภูมิตามตำแหน่งต่างๆ ในหม้อฆ่าเชื้อ การตรวจสอบการกระจายความร้อนจะต้องกระทำก่อนการทดสอบหาการแทรกผ่านความร้อนในอาหาร

2.3.2.4 การเก็บข้อมูลการแทรกผ่านความร้อน

นอกเหนือจากอุณหภูมิภายในกระป๋องที่บันทึกโดยเครื่องบันทึกแล้ว ข้อมูลอื่นๆ ที่ต้องบันทึกควบคู่กันไปด้วย (เมธินี, 2542a) ดังนี้

1. วันที่ทำการทดลอง
2. ขนาดกระป๋อง
3. ตำแหน่งของเทอร์โมคัปเปิล
4. ตำแหน่งกระป๋องตัวอย่าง
5. อุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารก่อนเปิดไอน้ำ
6. เวลาเปิดไอน้ำ
7. เวลาปิดไอน้ำ
8. Come-up time/temperature
9. เวลาไล่อากาศ
10. อุณหภูมิที่ปิดท่อไล่อากาศ
11. จำนวนตะกร้า
12. จำนวนกระป๋องต่อตะกร้า
13. ทำ cut out ในผลิตภัณฑ์หลังการฆ่าเชื้อ โดยวิธีการสุ่มตัวอย่างกระป๋องออกมาเพื่อตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

- ความเป็นสุญญากาศ
- ปริมาตรช่องว่างเหนืออาหาร
- น้ำหนักสุทธิ
- น้ำหนักเนื้อ
- พีเอชก่อนและหลังการฆ่าเชื้อ
- ความเข้มข้นของน้ำเกลือหรือน้ำเชื่อม

2.3.2.5 การคำนวณเวลาในการฆ่าเชื้อ (Process time calculation)

วิธีที่นิยมใช้มี 2 วิธี ได้แก่

2.3.2.5.1 วิธีทั่วไป (General หรือ Graphical method)

2.3.2.5.2 วิธีใช้สูตร (Formula method)

2.3.2.5.1 วิธีทั่วไป

วิธีนี้เป็นวิธีแรกที่ใช้ในการหาความร้อนที่ใช้ในกระบวนการ โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากกราฟ เวลาที่ทำลายเชื้อด้วยความร้อน (TDT curve) และข้อมูลจากการแทรกผ่านความร้อนเข้าสู่ภาชนะบรรจุ (heat penetration data) โดยการใช้สภาวะที่เวลาและอุณหภูมิต่างๆ กัน เพื่อให้ได้ผลของการฆ่าเชื้อ (lethal rate)

โดยที่ lethality มีสัญญาลักษณ์ย่อที่ใช้ "L" คือ เวลาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ T เป็นเวลา 1 นาที จะเทียบเท่ากับผลของการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิอ้างอิง เป็นเวลา L นาที

การคำนวณหา lethality ของเชื้อที่แต่ละอุณหภูมิ หาได้จากสูตร

$$L = 10^{(T-T_{ref})/z}.t \qquad \text{.....(1)}$$

T คือ อุณหภูมิใดๆ มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส หรือองศาฟาเรนไฮต์

T_{ref} คืออุณหภูมิอ้างอิง มีหน่วยเป็นองศาเซลเซียส หรือองศาฟาเรนไฮต์

สำหรับการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ อุณหภูมิอ้างอิงที่ใช้อยู่ในช่วง 115-130 องศาเซลเซียส (240-270 องศาฟาเรนไฮต์) สำหรับค่า F_0 กำหนดอุณหภูมิอ้างอิง คือ 121 องศาเซลเซียส (250 องศาฟาเรนไฮต์) เมื่อ z = 10 องศาเซลเซียส (18 องศาฟาเรนไฮต์) ส่วนการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไลซ์ อุณหภูมิอ้างอิงที่ใช้อยู่ในช่วง 70-100 องศาเซลเซียส (160-212 องศาฟาเรนไฮต์) (Holdsworth, 1997)

สำหรับค่า F_t ของ acid food ทาง NFPA กำหนดอุณหภูมิอ้างอิงเท่ากับ 93.3 องศาเซลเซียส (200 องศาฟาเรนไฮต์) เมื่อ z = 8.9 องศาเซลเซียส (16 องศาฟาเรนไฮต์)

ค่า z คือจุลินทรีย์เป้าหมายที่ต้องการทำลาย โดยทั่วไปสำหรับการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์และพาสเจอร์ไรซ์มีค่า z = 10 องศาเซลเซียส (18 องศาฟาเรนไฮต์) และ 5.6 องศาเซลเซียส (10 องศาฟาเรนไฮต์) ตามลำดับ แต่ค่า z ที่กำหนดไม่ใช่ค่าที่แน่นอนตายตัว ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์เป้าหมาย และลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ทดสอบ

ตัวอย่าง เช่น

$$L = 10^{(T-T_{ref})/z}$$

$$L = 10^{(240 - 250)/18}$$

$$L = 0.28$$

หมายความว่าการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 240 องศาฟาเรนไฮต์ นาน 1 นาที จะเทียบเท่ากับการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 250 องศาฟาเรนไฮต์ นาน 0.28 นาที

การหาค่า F สามารถหาได้จากสมการ

$$F = \int L dt$$

$$= 10^{(T-T_{ref})/z} . \Delta t \qquad \text{.....(2)}$$

F คือ เวลาเป็นนาที ที่ใช้ในการทำลายเชื้อปริมาณที่ต้องการที่อุณหภูมิอ้างอิง

Δt คือ เวลาที่เพิ่มขึ้นในกระบวนการ (นาที)

เนื่องจากในการหา total process time ของกระบวนการฆ่าเชื้อ จะนับตั้งแต่เริ่มต้นให้ความร้อนจนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการทำให้เย็น ดังนั้น การหาค่า F ของกระบวนการจึงหาได้จากสมการ ตัวอย่างการคำนวณแสดงดังตาราง 2.7

$$F_{total} = F_{heating} + F_{holding} + F_{cooling} \qquad \text{.....(3)}$$

วิธีนี้จะสามารถใช้ได้ในกรณีที่มีการกำหนดขนาด อุณหภูมิเริ่มต้น และอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้ออย่างชัดเจน แต่ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงข้อมูลทั้งสามนี้ เวลาที่คำนวณได้ด้วยวิธีนี้จะไม่สามารถนำไปใช้ได้ ดังนั้นวิธีนี้จึงเหมาะสำหรับการควบคุมขณะทำการผลิตจริง

ตาราง 2.7 ตัวอย่างการคำนวณเพื่อหาเวลาฆ่าเชื้อในผลิตภัณฑ์แอปเปิลเป็นชิ้นบรรจุกระป๋องด้วยวิธีการให้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 212 องศาฟาเรนไฮต์ โดยใช้วิธีคำนวณแบบ Improved general (numerical integration)

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ (°ฟ)	$L = 10^{(T-180)/10}$	L x t	$\sum$ (L x t)
-4	80	0.00	0.00	0.00
-2	91	0.00	0.00	0.00
0 (cut)	130	0.00	0.00	0.00
1	145	0.00	0.00	0.00
2	160	0.01	0.01	0.01
3	170	0.10	0.10	0.11
4	180	1.00	1.00	1.11
5	188	6.31	6.31	7.42
6	195	31.62	31.62	39.04
7	190	10.00	10.00	49.04
8	185	3.16	3.16	52.20
9	170	0.10	0.10	52.30
10	160	0.01	0.01	52.31
11	140	0.00	0.00	52.31
12	130	0.00	0.00	52.31
			F (นาที)	**52.31**

ที่มา : Ramasawamy และ Abbatemarco (1996)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2.3.2.5.2 วิธีใช้สูตร

วิธีนี้สามารถคำนวณเวลาการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อในภาชนะบรรจุขนาดต่างๆ กัน โดยใช้สมมุติฐานที่ตั้งขึ้นมาจากลักษณะของกระบวนการให้ความร้อนตามทฤษฎีของ Ball เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากในการคำนวณหาเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ เพราะให้ค่าที่เที่ยงตรงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการคำนวณวิธีอื่นๆ สามารถคำนวณหาค่า F_0 ได้ แต่ค่า F_0 ที่ได้ไม่เที่ยงตรงเท่ากับวิธีทั่วไป

ก. ขั้นตอนของการสร้างกราฟ

1. เส้นกราฟการให้ความร้อน (heating curve) : ใช้กระดาษกราฟแบบ semilog (ชนิด 3 cycle) กลับหัวกระดาษกราฟ ให้ตัวเลขบนแนวดิ่งด้านขวามือเป็นสเกลล็อก แสดงค่าความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อกับอุณหภูมิกระป๋อง (T_r-T) และค่าในแนวดิ่งด้านซ้ายมือเป็นอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ แล้วพลอทค่าอุณหภูมิของกระป๋องบนสเกลล็อกเทียบกับเวลาบนสเกลปกติ เส้นกราฟของการให้ความร้อนที่มีส่วนของเส้นเดียวเรียกว่า "simple heating curve" แสดงดังรูป 2.10 และเส้นกราฟแบบ semilog heating แสดงดังรูป 2.13 ถ้าอาหารนั้นมีเส้นกราฟการให้ความร้อนส่วนที่เป็นเส้นตรงมากกว่า 1 เส้น เรียกว่า "broken heating curve" แสดงดังรูป 2.12

2. เส้นกราฟทำให้เย็น (cooling curve) : การพลอทข้อมูลไม่กลับกระดาษกราฟ แต่จะแบ่งสเกลเป็น Tc+1 และเพิ่มเป็น Tc+10 และ Tc+100 ตามลำดับ จากนั้นพลอทค่าอุณหภูมิของกระป๋องที่เปลี่ยนไปในระหว่างทำให้เย็น แสดงดังรูป 2.11 และเส้นกราฟแบบ semilog cooling แสดงดังรูป 2.14

ข. สูตรที่ใช้ในการคำนวณ

1. ในกรณีที่เส้นกราฟที่พลอทได้ เป็นแบบ simple heating curve การคำนวณหาเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ สมการที่ใช้คือ

$$B = f_h(\log j_{ch} I_h - \log g) \qquad \text{.....(1)}$$

เมื่อ

- B = เวลาในการให้ความร้อน (นาที)
- f_h = เวลาเป็นนาทีที่ทำให้เส้นกราฟส่วนที่เป็นเส้นตรงเปลี่ยนไป 1 log cycleหรือ 90 %
- come-up time คือเวลาเป็นนาทีที่ทำให้อุณหภูมิภายในหม้อฆ่าเชื้อมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่ต้องการ

- CZ (corrected zero) คือเวลาเริ่มต้นของการฆ่าเชื้อที่แก้ไขแล้ว โดยคิดจาก 58 % ของ come-up time

$$CZ = \text{come-up time} \times 0.58$$

- T_r คืออุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อ (องศาเซลเซียส)
- T_0 หรือ I.T. คืออุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารก่อนเปิดไอน้ำ (องศาเซลเซียส)
- T_l (pseudo-initial product temperature) หรือ I′T′ เป็นจุดตัดของส่วนที่เป็นเส้นตรงกับแกนอุณหภูมิที่เวลาปรับสูตร (corrected zero)
- J_{ch} (heating lag factor) เป็น lag time ก่อนที่ผลต่างของ (T_r-CT) จะเป็นเส้นตรงซึ่งคำนวณได้จาก

$$j_{ch} = \frac{T_r - T_l}{T_r - T_0} \qquad \text{.....(2)}$$

- g หรือ g_h เป็นจำนวนองศา (องศาฟาเรนไฮต์ หรือ องศาเซลเซียส) แล้วแต่หน่วยที่เลือกใช้ตลอดกระบวนการ) ของกระป๋องที่ต่ำกว่า T_r ณ จุดที่สิ้นสุดการให้ความร้อน

$$g = T_r - CT_{\text{steam off}}$$

- F (Process lethality) คือเวลาเป็นนาทีที่ต้องการทำลายเชื้อปริมาณที่ต้องการที่อุณหภูมิ T ใดๆ
- F_i คือเวลาเป็นนาทีที่ต้องใช้ทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่งที่อุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อเมื่อค่า F ที่อุณหภูมิอ้างอิงมีค่าเท่ากับ 1

$$F_i = 10^{(T-Tr)/z} \qquad \text{.....(3)}$$

- U (sterilizing value) คือเวลาเป็นนาทีของอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อที่มีค่าความสามารถในการทำลายเท่ากับกระบวนการที่กำหนดค่า F ไว้

$$U = FF_i \qquad \text{.....(4)}$$

- f_h/U สามารถหาได้จากสมการ

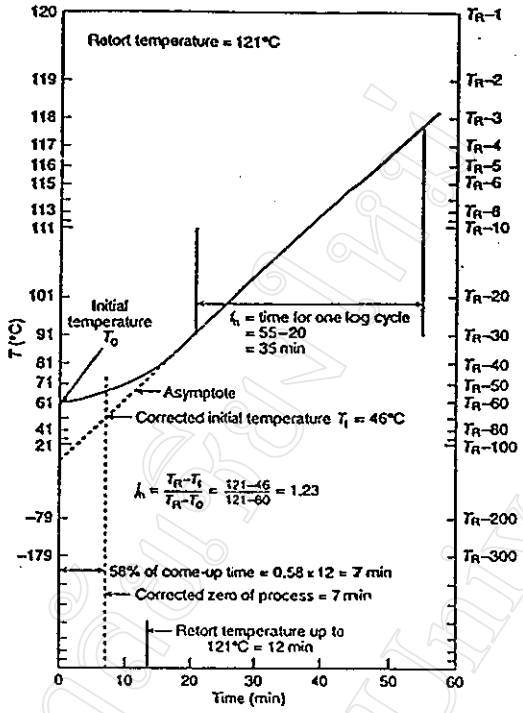
$$f_h/U = \frac{f_h}{(F)x(F_j)} \qquad \text{.....(5)}$$

- j_{cc} lag factor สำหรับ cooling curve คล้ายคลึงกับ j_{ch} แต่ต้องหาจากกราฟของช่วงหล่อเย็น แสดงดังรูป 2.15

$$j_{cc} = \frac{T_c - T'_1}{T_c - T'_0} \qquad \text{.....(6)}$$

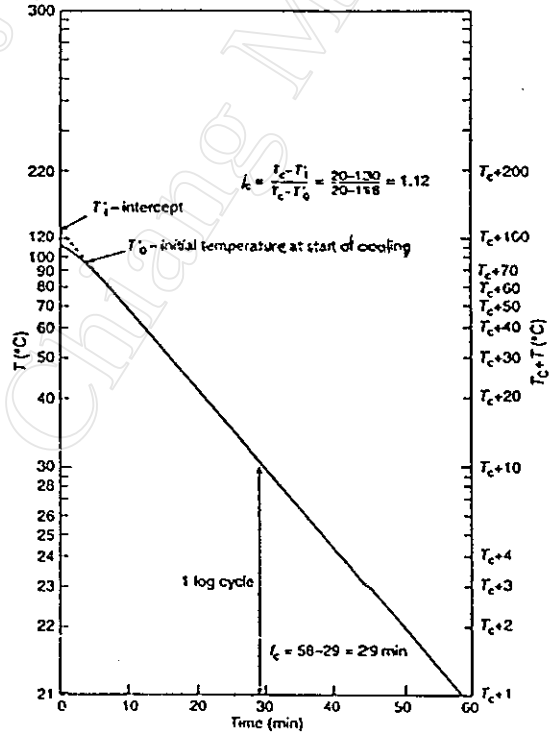
จากนั้นสามารถคำนวณหาค่า g ได้จากการเปิดตารางหาค่า g โดยใช้ค่า f_h/U (สมการที่ 5) และค่า j_{cc} (สมการที่ 6) ดังตารางหาค่า g ในภาคผนวก ง แล้วนำค่า g ที่ได้ไปแทนค่าในสมการที่ 1 ก็จะสามารถหาเวลาฆ่าเชื้อ (process time) ได้นอกจากนี้เมื่อทราบเวลาฆ่าเชื้อแล้วสามารถนำข้อมูลเหล่านี้ไปหาค่า F_0 ได้ ตัวอย่างการคำนวณเพื่อหาเวลาฆ่าเชื้อแสดงดังตาราง 2.8 และตัวอย่างการคำนวณเพื่อหา ค่า F (process lethality) แสดงดังตาราง 2.9

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



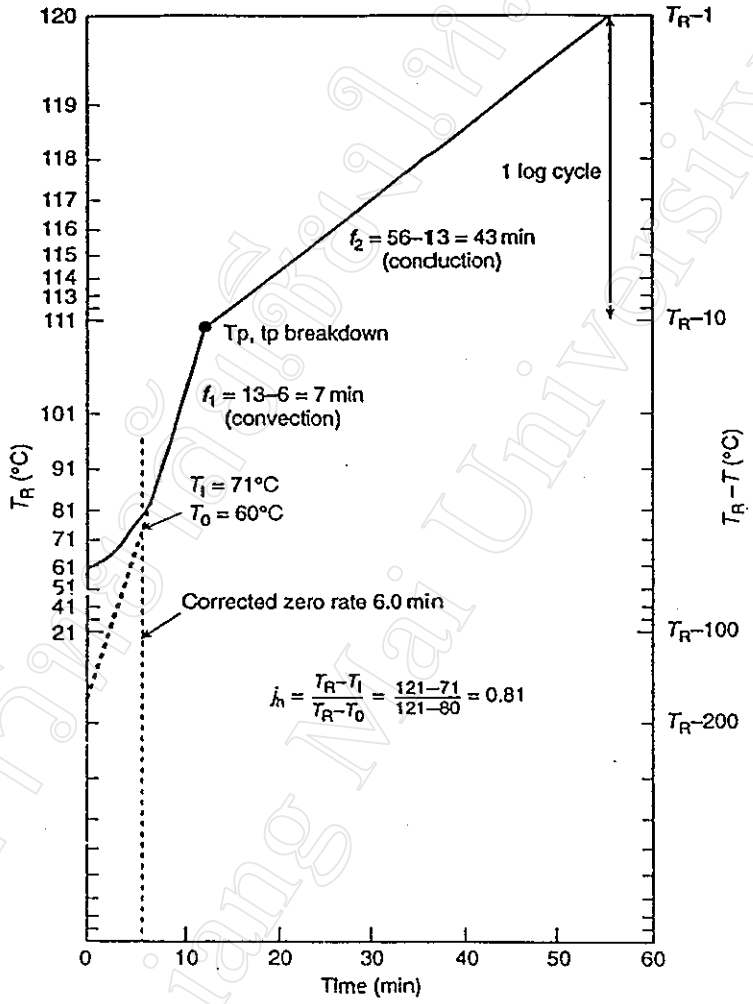
รูปที่ 2.10 กราฟแทรกผ่านความร้อนแบบ Simple heating curve

ที่มา : *Holdsworth (1997)*



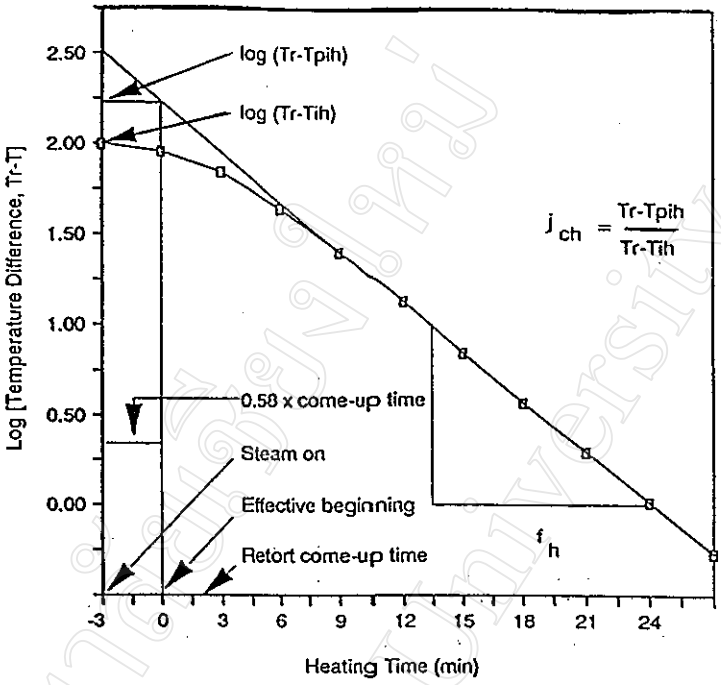
รูปที่ 2.11 กราฟแทรกผ่านความร้อนแบบ Cooling curve

ที่มา : *Holdsworth (1997)*



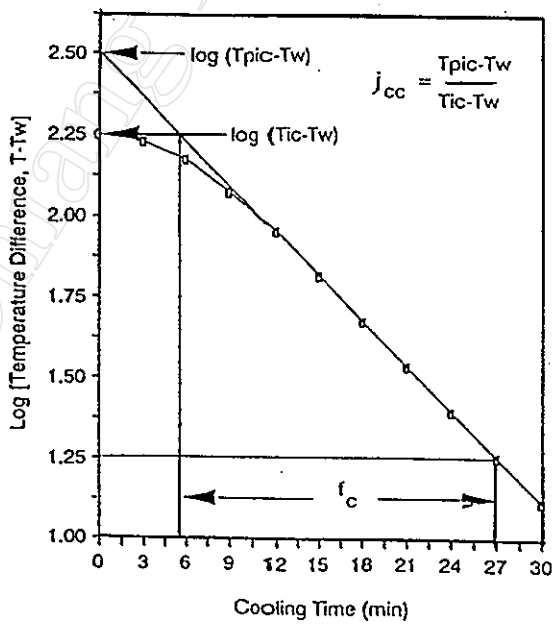
รูปที่ 2.12 กราฟแทรกผ่านความร้อนแบบ Broken heating curve

ที่มา : *Holdsworth (1997)*



รูป 2.13 Semilog heating curve และ heating parameter

ที่มา : Ramaswamy และ Singh (1997)



รูป 2.14 Semilog cooling curve และ cooling parameter

ที่มา : Ramaswamy และ Singh (1997)

ตาราง 2.8 ตัวอย่างการคำนวณหาเวลาฆ่าเชื้อ (Process time) โดยใช้วิธี Ball formula

1. j_{ch}	1.2	
2. f_h	10.6	นาที
3. Process lethality (F)	40.0	นาที
4. Retort temperature (T_r)	200	°ฟ
5. Initial temperature (T_0)	20	°ฟ
6. $I_h = T_r - T_0$	180	°ฟ
7. $j_{ch} . I_h$	216	
8. $\log (j_{ch} . I_h)$	2.33	
9. z	10	°ฟ
10. $F_i = 10^{((T-Tr)/Z)} = 10^{((180-200)/10)}$	0.01	
11. $f_h/U = f_h (F \times F_i)$	26.5	
12. j_{cc}	1.8	
จากตาราง Stumbo สำหรับ z = 10°ฟ และ j_{cc} =1.8		
หาค่า g ได้จาก		
f_h/U	**g value**	
25.0	9.26	
30.0	10.02	
ดังนั้น f_h/U ที่ 26.5	**9.488**	
13. log g (จากข้อ 12)	0.977	
14. $B = f_h[\log(j_{ch} . I_h) - \log g]$	**14.4**	**นาที**

ที่มา : *Ramaswamy และ Abbatemarco (1996)*

ตาราง 2.9 ตัวอย่างการคำนวณหา Process Lethality (F) โดยใช้วิธี Ball formula

1. j_{ch}	1.4	
2. f_h	15	นาที
3. Process time	20	นาที
4. Retort temperature (T_r)	200	°ฟ
5. Initial temperature (T_{ih})	20	°ฟ
6. $I_h = T_r - T_I$	180	°ฟ
7. $j_{ch} \cdot I_h$	252	
8. $\log (j_{ch} \cdot I_h)$	2.401	
9. z	10	°ฟ
10. $F_i = 10^{((T-Tr)/z)} = 10^{((180-200)/10)}$	0.01	
11. B/f_h	1.333	
12. $\log(g) = \log(j_{ch} \cdot I_h) - B/f_h$	1.0168	
13. g	11.69	
14. j_{cc}	1.6	

จากตาราง Stumbo สำหรับ z = 10°ฟ และ j_{cc} =1.6

หาค่า g ได้จาก

f_h/U	g value
50.0	11.57
60.0	12.33
ดังนั้น f_h/U ที่ 51.7	**11.69**

15. $F_0 = f_h[(f_h/U) \times F_i]$	**29**	**นาที**

ที่มา : Ramaswamy และ Abbatemarco (1996)

2. การคำนวณในกรณีที่กราฟเป็นแบบ **broken heating** สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$B = f_h \log jI + (f_2 - f_h)\log g_{bh} - f_2 \log g_{h2} \quad (\text{เมื่อ } f_c = f_2) \ldots \quad (7)$$

- X_{bh} คือเวลาเป็นนาทีที่นับจากเส้นปรับสูตรถึงจุดหักของเส้นกราฟการให้ความร้อน
- f_2 คือเวลาเป็นนาทีที่ทำให้เส้นกราฟส่วนที่เป็นเส้นตรงส่วนที่ 2 เปลี่ยนไป 1 log cycle หรือ 90 %
- g_{bh}คือความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างอุณหภูมิของหม้อฆ่าเชื้อกับอุณหภูมิภายในกระป๋อง ณ จุดที่ heating curve เริ่มเปลี่ยน slope สามารถหาได้จากกราฟ แต่เปลี่ยนจากค่า f_h/U เป็น f_h/U_2
- r_{bh} เปิดจากตารางโดยใช้ค่า $\log_{bh}$

$$\log g_{bh} = \log jI - \frac{X_{bh}}{f_h} \qquad \ldots\ldots\ldots\ldots(8)$$

$$f_h/U_2 = \frac{f_2}{FF_i + r_{bh}(f_2 - f_h)/(f_h - U_{bh})} \qquad \ldots\ldots\ldots\ldots(9)$$

2.3.3 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

เพื่อเป็นการยืนยันว่ากระบวนการที่กำหนดสามารถใช้ในการผลิตได้จริง จะต้องทำการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์เพื่อเป็นการยืนยันผลการทดลอง โดยสามารถศึกษารายละเอียดได้จากข้อกำหนดของสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม เรื่องวิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา เล่ม 1 อาหารกระป๋อง (มอก. 335 เล่ม 1-2523)

2.4 การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ของอาหารกระป๋องชนิดที่มีความเป็นกรด

ในการศึกษากระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนสำหรับอาหารพวกที่เป็นกรด จำเป็นต้องจำแนกความเป็นกรดของอาหารออกเป็นประเภทตามพีเอชของอาหาร ตลอดจนพิจารณาถึงจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง สำหรับอาหารในกลุ่มที่เป็นกรด (พีเอชน้อยกว่า 4.6) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. acid foods หมายถึง อาหารที่มีความเป็นกรดตามธรรมชาติ พีเอชมีค่าเท่ากับหรือต่ำกว่า 4.6 ได้แก่ พวกผลไม้ต่างๆ ที่มีรสเปรี้ยว รวมทั้งมะเขือเทศ

2. acidified foods หมายถึง อาหารที่โดยธรรมชาติมีพีเอชมากกว่าหรือเท่ากับ 4.6 แต่ได้รับการเติมพวก acid foods หรือเติมกรด เช่น กรดซิตริก หรือกรดอินทรีย์อื่นๆ ลงไป เพื่อลดพีเอชให้ต่ำกว่า 4.6 ซึ่งได้แก่ อาหารหมักดองทั่วไป เช่น พริกโดยธรรมชาติ จะมีพีเอชประมาณ 5 แต่เมื่อดองแล้วจะมีพีเอชอยู่ระหว่าง 3.0-3.5 (เมธินี, 2542b)

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ทนทานต่อความร้อนต่ำ ดังนั้นหากพบว่าทำให้อาหารเน่าเสีย น่าจะมีสาเหตุมาจากการฆ่าเชื้อไม่เพียงพอ (underprocessing) หรือตะเข็บกระป๋องเกิดรูรั่ว ปกติเซลล์ยีสต์ส่วนใหญ่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 66 องศาเซลเซียส อาจมีบางสายพันธุ์ที่ทนทานต่อความร้อนและอยู่ในรูปแบบสปอร์ ต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ถ้าใช้ความร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จะสามารถทำลายเซลล์และสปอร์ของยีสต์ทุกชนิดได้ Garg *et al.* (1997) ศึกษาความทนทานต่อความร้อนของยีสต์ 2 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces bailii* และ *S. bisporus* ของผลิตภัณฑ์มะม่วงฝานเป็นชิ้นในน้ำเชื่อมบรรจุกระป๋อง โดยศึกษาความทนทานต่อความร้อนของสปอร์จุลินทรีย์ซึ่งแสดงค่าในรูปของค่า D พบว่าสปอร์ของ *S. bailii* มีค่า D_{65} = 10 นาที และสปอร์ของ *S. bisporus* มีค่า D_{60} = 10 นาที นอกจากนี้ยังศึกษาพบว่าเซลล์ยีสต์ในรูปสปอร์สามารถทนทานต่อความร้อนได้สูงกว่าเซลล์ยีสต์ธรรมดา 4-8 เท่า สำหรับจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามวัตถุประสงค์ คือ

1. เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคจากจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ซึ่งได้แก่ *Escherichia coli* 0157 : H7, Listeria monocytogenes

2. เพื่อเก็บรักษาได้นานโดยปราศจากการเน่าเสีย จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

2.1 พวกสร้างสปอร์ ซึ่งได้แก่ *Bacillus coagulans*, *Clostridium butyrium*, *Cl. thermosaccharolyticum*, *Cl. pasteurianum*, *Alicyclobacillus* และเชื้อราชนิดทนความร้อน

2.2 พวกไม่สร้างสปอร์ ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacillus แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *B. coagulans* ซึ่งอยู่ในกลุ่ม thermophilic aerobic sporeformer สามารถเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชมากกว่า 4.0 โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ โดยที่ *B. coagulans* มีค่า

D_{250} = 0.1 นาที (หรือ D_{212} = 20 นาที) และมีค่า F_0 = 0.5 นาที (เมื่อฆ่าเชื้อในหม้อฆ่าเชื้อหรือกระบวนการฆ่าเชื้อแบบ HTST process) จึงเป็นจุลินทรีย์ที่คล้ายคลึงกับ *B. polymyxa* สำหรับจุลินทรีย์ในกลุ่ม butyric anaerobes ได้แก่ *Cl. pasteurianum* และ *Cl. butyrium* ที่สามารถเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชมากกว่า 3.8 โดยเฉพาะมะเขือเทศและผลไม้ปกติ *Cl. pasteurianum* และ *Cl. butyrium* มีความทนทานต่อความร้อนต่ำ ดังนั้นที่พีเอชมากกว่า 4.3 จุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าวจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 205 องศาฟาเรนไฮต์ และที่พีเอชน้อยกว่า 4.1 จะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 184 องศาฟาเรนไฮต์ จากรายงานของ Azizi และ Ranganna (1993a) พบว่า *B. licheniformis* และ *Cl. sporogenes* เป็นจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญทำให้กระป๋องบวมในผลิตภัณฑ์มะม่วงตีป่นสายพันธุ์ *Alphonso* ดังนั้นจึงทดลองเพื่อหาความสามารถในการทนทานต่อความร้อนของสปอร์ (D) ของจุลินทรีย์ดังกล่าว ผลการศึกษาพบว่าที่พีเอช 4.2 *B. licheniformis* มีค่า D_{100} = 1.25 นาที และที่พีเอชเท่ากับ 7 มีค่า D_{100} = 3.12 นาที ส่วน *Cl. sporogenes* ที่พีเอช 4.5 มีค่า D_{100} = 6.8 นาที และที่พีเอช 7 มีค่า $D_{121.1}$ = 0.51 นาที จึงสรุปว่าความร้อนขั้นต่ำที่ใช้ในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชน้อยกว่าหรือเท่ากับ 4.0 ต้องสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ ส่วนผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชอยู่ในช่วง 4.0-4.5 ความร้อนขั้นต่ำที่ใช้ฆ่าเชื้อต้องสามารถทำลายสปอร์ของ *B. licheniformis* ได้ เนื่องจาก *B. licheniformis* เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีพีเอชอยู่ในช่วง 4.2-4.5 ยกเว้นในผลิตภัณฑ์ที่เสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น *B. coagulans* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบในมะเขือเทศ

สำหรับ *Alicyclo bacillus* จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic sporeformer พบมากในน้ำผลไม้ เช่น น้ำแอปเปิล น้ำองุ่น น้ำมะเขือเทศ ที่มีพีเอชมากกว่า 3.0 มีความทนทานต่อความร้อนสูง โดยเฉพาะในน้ำผลไม้เข้มข้น และมีความทนทานต่อความเป็นกรดได้ดี มีค่า D_{190} = 81 นาที, D_{196} = 38 นาที และ D_{212} = 0.8 นาที

เชื้อราชนิดทนร้อน ได้แก่ *Byssochlamy, Taiaromyces, Neosartorya* สปอร์ที่สร้างขึ้นเป็นชนิด ascospore สามารถเจริญได้ในผลิตภัณฑ์ที่มีพีเอชมากกว่า 2.5 ได้แก่น้ำผลไม้ ผลไม้กระป๋อง น้ำผลไม้เข้มข้น เครื่องดื่มเสริมสุขภาพ มีความทนทานต่อสารกันเสีย และในสภาวะที่มีปริมาณ O_2 น้อย (Morton, 2000) นอกจากนี้เชื้อราในกลุ่มนี้ยังก่อให้เกิดการเสื่อมเสียในแยมเยลลี่ มาร์มาเลด และอาหารอื่นๆ แต่ถูกทำลายได้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที เมื่อเปรียบชนิดของกรดที่เป็นส่วนประกอบในอาหาร พบว่าในอาหารที่มีกรดมาลิก กรดซิตริก และกรดทาร์ทาริก เป็นส่วนประกอบ *B. fulva* มีความทนทานต่อความร้อนได้ดีกว่าอาหารที่มีกรดแลคติกและอะซิติก เป็นส่วนประกอบ

ความร้อนที่ใช้เพื่อถนอมอาหารพวกผลไม้ไม่จำเป็นต้องทำลายสปอร์ของ *Cl. botulinum* เพราะไม่เจริญในอาหารที่มีพีเอชต่ำกว่า 4.6 ความทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ในผลไม้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ปริมาณและชนิดของน้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบ พีเอช และชนิดของกรดที่เป็นส่วนประกอบ กรดอินทรีย์มีผลต่อการสร้างสารพิษ โดยพบว่าที่พีเอชต่ำแบคทีเรียสร้างสารที่เป็นพิษสูง ดังนั้นจึงได้มีการเติมสารปรับกรดบางชนิดลงไปเพื่อปรับพีเอชอาหารให้สูงขึ้น ทำให้เวลาในการฆ่าเชื้อลดลง (Ramaswamy และ Abbatemarco, 1996)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University