

บทที่ 2

สาระสำคัญจากเอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลผลิตจากน้ำพริกหนุ่ม

น้ำพริกหนุ่มเป็นอาหารพื้นเมืองทางภาคเหนือที่นิยมบริโภคทั่วไป โดยนิยมรับประทานกับผักสด ผักลวก หมูทอด ปลานึ่ง แคบหมู และข้าวเหนียว เป็นอาหารที่ปรุงขึ้นโดยมีส่วนประกอบหลัก คือ พริกหนุ่มหรือพริกชี้ฟ้าเขียว หอมแดง และกระเทียม สมัยก่อนชาวภาคเหนือนิยมนำน้ำพริกหนุ่มไปทำบุญตักบาตรในงานพิธีต่างๆ เช่น งานขึ้นบ้านใหม่ งานสมรส งานบวช งานทำบุญต่างๆ ถือเป็นน้ำพริกที่ได้รับความนิยมมากอีกชนิดหนึ่ง (จรรยา, 2547)

นอกจากจะใช้เป็นเครื่องจิ้มแล้ว ยังใช้เป็นเครื่องปรุงของแกงพื้นเมืองหลายชนิด หรือเติมมะนาวและน้ำตาลให้ออกรสเปรี้ยวหวาน ใช้เป็นน้ำจิ้มอาหารอื่นๆ ได้ ซึ่งในปัจจุบันน้ำพริกหนุ่มมีผู้นิยมบริโภคเพิ่มขึ้น ทั้งชาวภาคเหนือ และนักท่องเที่ยวโดยทั่วไป (เมธินีและคณะ, 2543)

2.1.1 ส่วนประกอบที่สำคัญและกระบวนการผลิตน้ำพริกหนุ่ม

น้ำพริกหนุ่มมีส่วนประกอบหลักได้แก่ พริกชี้ฟ้าสด หอมแดง กระเทียม และเครื่องปรุงรส ในกระบวนการผลิตน้ำพริกหนุ่มจะนำพริกมาเผาหรืออบ จากนั้นนำมาแกะเปลือกแล้วนำมาผสมกับส่วนผสมต่างๆ และเครื่องปรุงรส (อรุณี, 2549)

2.1.1.1 พริก

พริกเป็นพืชเครื่องเทศสำคัญชนิดหนึ่งของโลก สำหรับในประเทศไทยนั้น พริกเป็นพืชที่มีความสำคัญอย่างมากในชีวิตประจำวันและในทางเศรษฐกิจ เนื่องจากสามารถใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสชาติอาหาร รวมทั้งผลิตภัณฑ์แปรรูปอื่นๆ พริกที่มีการปลูกมากที่สุด คือ พริกชี้ฟ้าหนุมเม็ดใหญ่ รองลงมาคือพริกใหญ่หรือพริกชี้ฟ้า และพริกชี้ฟ้าสวนตามลำดับ (สุชีลา, 2549)

นอกจากประโยชน์ของพริกในด้านเครื่องปรุงรสแล้ว พริกยังมีประโยชน์ในด้านคุณค่าทางยา เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารและโภชนาการมากมาย โดยพริกเป็นแหล่งให้วิตามินและเกลือแร่ที่

ตาราง 2.1 คุณค่าทางอาหารโดยเฉลี่ยของพริกชี้ฟ้า (ต่อส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม)
ที่มา : สุชีลา, 2549

คุณค่าทางอาหาร	พริกชี้ฟ้า
พลังงาน (kcal)	53.00
โปรตีน (g)	3.00
ไขมัน (g)	1.10
คาร์โบไฮเดรต (g)	8.00
แคลเซียม (mg)	14.00
ฟอสฟอรัส (mg)	75.00
เหล็ก (mg)	1.10
ไทอามีน (วิตามินบี 1) (mg)	0.11
ไรโบเฟลวิน (วิตามินบี 2) (mg)	0.01
ไนอาซิน (mg)	0.00
วิตามินซี (mg)	90.00
เบต้า-แคโรทีน (RE)	31.09

สำคัญหลายชนิด ได้แก่ วิตามินซี วิตามินเอ แคลเซียมและฟอสฟอรัส ดังตาราง 2.1 นอกจากนี้ในพริกยังมีสารให้รสเผ็ดร้อน คือ แคปไซซิน (capsaicin) ซึ่งอยู่ในรูปของ vanillyl amide ของ isodecyanic acid ที่อยู่ในรกของผลพริก พบว่า capsaicin อยู่ในรูป capsaicinoid 48.6 – 69 % และ hydrocapsaicin 22 % ที่เหลือเป็นสารอื่นๆ อีกประมาณ 9 % ซึ่งสารประกอบพวกนี้ให้รสเผ็ดน้อยกว่า capsaicin แต่มีประโยชน์ทางเภสัชหลายประการ อาทิ บรรเทาอาการปวดข้ออักเสบ ชะลอความเสื่อมของร่างกาย และเสริมภูมิคุ้มกันต้านทานอีกด้วย (สุชีลา, 2549)

เมื่อทำการแบ่งพันธุ์พริกตามลักษณะทางพฤกษศาสตร์ สามารถแบ่งเป็นกลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ *Capsicum baccatum*, *C. pubescens* R. and P., *C. annuum* L., *C. frutescens* L. และ *C. chinense* Jacq. ซึ่งในประเทศไทยพบว่ากลุ่มพริก *C. annuum* มีการปลูกมากที่สุดเมื่อเทียบกับ

พริกชนิดอื่น รวบรวมได้มากกว่า 31 สายพันธุ์ เช่น พริกชี้ฟ้า พริกชี้ฟ้าใหญ่ พริกชี้ฟ้าหนู พริกหวาน และพริกยักษ์ เป็นต้น (มณีฉัตร, 2541)

พริกพันธุ์จักรพรรดิ (*C. annuum* L. var. *Chakrapad*) ปรับปรุงพันธุ์โดยบริษัทเพื่อนเกษตรทรงต้นตั้งเป็นพุ่มเป็นรูปตัววี สูงประมาณ 1 - 1.5 เมตร เมื่อเริ่มให้ผล (อายุ 90 วัน หลังจากย้ายกล้าลงปลูก) และจะสูงประมาณ 150 ซม. ทรงพุ่มกว้างประมาณ 80 ซม. ผลห้อยลง ผลอ่อนสีเขียวผลแก่สีแดงออกสีส้ม ยาวประมาณ 15 - 20 ซม. (รุ่นแรกๆยาว 20 - 23 ซม. โดยรุ่นแรกๆมักจะยาวกว่ารุ่นหลัง) โคนผลจะใหญ่และจะเรียวไปหาปลาย ผลค่อนข้างอ้วนปานกลาง รสชาติเผ็ดทั้งผลสดและผลแห้ง ซึ่งพริกพันธุ์นี้มีข้อดีคือ ให้ผลผลิตเป็นพริกสดในฤดูฝน เฉลี่ยอยู่ที่ 4,000 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตพริกสดมีคุณภาพดีตรงกับความต้องการของตลาด เก็บผลผลิตได้นาน ทนต่อไวรัส ผลดก เก็บเกี่ยวได้เร็ว ผลผลิตครั้งแรก 80 วัน และ ทรงต้นสูงสม่ำเสมอ

2.1.1.2 กระเทียม

กระเทียมเป็นทั้งพืชเครื่องเทศและสมุนไพร ชื่อสามัญคือ Garlic และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Allium sativum* Linn. สารสำคัญที่พบในกระเทียมได้แก่ Allicin, Coumarins, Allyl propyl disulphide, peroxidase และ myrosinase (รุ่งรัตน์, 2540) ซึ่ง Allicin เป็นสารสำคัญในกระเทียม ที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆได้ เนื่องจากมีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหายใจหรือการเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ (นิจศิริ, 2542) ในประเทศไทยใช้กระเทียมเพื่อการบริโภคสด เพื่อป้องกันโรงานอาหารกระป๋อง โรงงานน้ำพริก รวมทั้งใช้เป็นยาสมุนไพร (รุ่งรัตน์, 2540) คุณค่าทางอาหารของกระเทียมแสดงไว้ดังตาราง 2.2

2.1.1.3 หอมแดง

หอมแดงใช้เป็นทั้งพืชเครื่องเทศและสมุนไพร ชื่อสามัญคือ Shallot และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์คือ *Allium ascalonicum* Linn. ส่วนที่นำมาใช้คือส่วนหัวและต้น โดยในหอมแดงจะมีสาร Coumarins มีรสขม เผ็ดร้อนซึ่งมีกำมะถันอยู่ ทำให้รู้สึกระคายเคืองตาแสบจมูก และทำให้ผิวหนังแสบร้อน (รุ่งรัตน์, 2540)

ตาราง 2.2 คุณค่าทางอาหารของกระเทียมสด 100 กรัม

ที่มา : รุ่งรัตน์, 2540

คุณค่าทางอาหาร	ปริมาณ
น้ำ (เปอร์เซ็นต์)	64.8
พลังงาน (แคลอรี)	126.0
ไขมัน (กรัม)	1.3
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	25.2
โปรตีน (กรัม)	0.7
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	14.0
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.3
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.25
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.10
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	9.0

2.1.2 มาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำพริกหนุ่ม

น้ำพริกหนุ่มทั่วไปควรมีส่วนประกอบที่ใช้กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ สี กลิ่น และรสชาติ ต้องดีตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่น รสอื่นที่ไม่พึงประสงค์ รวมทั้งลักษณะ เนื้อสัมผัสต้องมีเนื้อหยาบ มีความนุ่ม ชุ่มฉ่ำ และต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราข กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์ นอกจากนี้ต้องไม่มีการใช้วัตถุกันเสียและสีสังเคราะห์ทุกชนิด สำหรับคุณภาพทางจุลชีววิทยาต้องเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดดังนี้ (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2537)

1. จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม
2. ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

2.2 การเสื่อมคุณภาพของอาหาร

อาหารเน่าเสียมักเกิดจากสาเหตุใดสาเหตุหนึ่งหรือเกิดจากหลายๆสาเหตุ ซึ่งคุณสมบัติของอาหารมีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นคือ อาหารมีลักษณะนิ่ม เน่า มีเชื้อราขึ้น หรือมีกลิ่นรสผิดปกติ ยีสต์ ย่อยน้ำตาลเปลี่ยนเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนแบคทีเรียมักทำให้อาหารสด เช่น นมสด เนื้อสัตว์ ปลาและกุ้ง เกิดการเน่าเสียได้ง่าย นอกจากนี้การเน่าเสียของอาหารมีสาเหตุจากทางกายภาพอีกด้วย เช่น เกิดจากการบรรจุและระบบขนส่ง ทำให้วัตถุดิบมีการแตกหัก มีรอยชำ รอยขีดข่วน และมีการฉีกขาดของเซลล์ที่ผิวและเนื้อเยื่อของอาหารด้วย การเน่าเสียของอาหารเกิดจากสาเหตุที่สำคัญ 2 ประการคือ เกิดจากสาเหตุทางเคมี และเกิดจากจุลินทรีย์ (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546)

อาหารที่มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ส่วนใหญ่มีสาเหตุเนื่องมาจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารตามธรรมชาติ ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เอนไซม์ทำหน้าที่เปลี่ยนแปลงลักษณะคุณภาพของอาหาร ถ้าเป็นอาหารกระป๋องเอนไซม์ไม่มีบทบาทสำคัญในการทำให้อาหารเสีย เนื่องจากระบวนการแปรรูปอาหารกระป๋องมีขั้นตอนการทำลายเอนไซม์ อย่างไรก็ตามถ้าในกระบวนการแปรรูปอาหารต่างๆไม่มีการทำลายปฏิกิริยาของเอนไซม์แล้ว จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี อันเป็นสภาพที่เกี่ยวกับการเน่าเสียของอาหารอย่างเห็นได้ชัดเจน

อาหารทุกชนิดที่มีแหล่งมาจากพืชและสัตว์จะมีเอนไซม์เป็นส่วนประกอบ เอนไซม์เป็นสารอินทรีย์ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมีในอาหาร เอนไซม์จะทำให้อาหารเกิดการย่อยสลายตัวเอง เช่น ย่อยน้ำตาล โปรตีนและไขมัน เป็นต้น เอนไซม์ในผักและผลไม้ช่วยทำให้ผักและผลไม้สุกนิ่มและ และสูญเสียลักษณะเนื้อสัมผัส สำหรับเอนไซม์ในเนื้อสัตว์ทำให้เนื้อสัตว์นิ่มเช่นกัน และถ้าปล่อยให้เอนไซม์ย่อยสลายต่อไปเรื่อยๆ อาหารจะเกิดการเน่าเสีย และมีกลิ่นเหม็นเกิดขึ้น การเสื่อมคุณภาพของอาหารเช่น การเหม็นหืน และการเกิดสีน้ำตาลเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมีเช่นกัน ดังนั้นถ้าต้องการเก็บรักษาอาหารไว้ได้เป็นเวลานาน ควรทำลายเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารเสียก่อน เช่น การใช้ความร้อนในการลวกหรือต้มก็เพียงพอที่จะยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์และการเปลี่ยนแปลงทางเคมีได้ ในบางกรณีสามารถใช้ความเย็น เพื่อชะลอการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์และป้องกันการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการได้

จุลินทรีย์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีขนาดเล็กมาก พบกระจายอยู่ทั่วไปในอากาศ ดิน น้ำ อาหารและอุปกรณ์สำหรับใช้ประกอบอาหาร รวมทั้งตามมือและทางเดินอาหารของคนและสัตว์ จุลินทรีย์มีบทบาทสำคัญมากในวงการอุตสาหกรรมอาหาร เป็นสาเหตุสำคัญที่สุดที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพและเน่าเสียหรือเกิดอาหารเป็นพิษ อาหารส่วนใหญ่ในแต่ละฤดูกาลมีมากเกินกว่าจะ

บริโภคหมด มีการเน่าเสียเกิดขึ้นจนกระทั่งต้องทิ้งไป ก่อให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมาก อาหารสดที่ได้จากพืชจะมีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับสัตว์ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงหลังถูกฆ่า จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารต้องการพลังงาน เริ่มด้วยการใช้เอนไซม์ต่างๆที่มีอยู่ในเซลล์ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหาร จากนั้นจึงนำสารต่างๆที่ย่อยสลายแล้วไปใช้เพื่อการอยู่รอด การเจริญ และการขยายพันธุ์ต่อไป อาหารที่จุลินทรีย์ย่อยสลายจะมีการเสื่อมคุณภาพ มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น เช่น อาหารประเภทโปรตีน ได้แก่ กุ้ง ปลาและเนื้อสัตว์ต่างๆ จะมีกลิ่นเหม็น ส่วนอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบสำคัญจะมีกลิ่นหมักและรสเปรี้ยวเกิดขึ้น ปัจจุบันอาหารมีการส่งออกเพิ่มมากขึ้น จึงต้องการการเก็บรักษาอาหารให้นานยิ่งขึ้น จึงควรหาวิธีป้องกันผลิตภัณฑ์ไม่ให้เน่าเสียง่าย

2.2.1 ทางกายภาพ

2.2.1.1 วอเตอร์แอคติวิตีและความชื้น

การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์ จะเกิดขึ้นเร็วกว่าการเสื่อมเสียเนื่องจากปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งมักจะเกิดขึ้นอย่างช้าๆ ในระหว่างการเก็บรักษา แต่ทุกกรณีนี้เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดที่ควบคุมอัตราการเสื่อมเสีย การแสดงปริมาณน้ำในผลิตภัณฑ์อาหารสามารถอธิบายได้ดังนี้ (วิล, 2543)

การแสดงปริมาณความชื้นของอาหารแบบมาตรฐานเปียก (wet weight basis) คิดจาก

$$m = \frac{m_{\text{water}}}{m_{\text{sample}}} \times 100$$

หรือ

$$m = \frac{m_{\text{water}}}{m_{\text{water}} + m_{\text{solid}}} \times 100$$

เมื่อ m คือ ปริมาณความชื้นของอาหารแบบมาตรฐานเปียก

m_{water} คือ มวลของน้ำ

m_{solid} คือ มวลของของแข็ง

m_{sample} คือ มวลของตัวอย่าง

หรือคิดแบบมาตรฐานแห้ง (dry weight basis) ได้ดังนี้

$$M = \frac{m_{\text{water}}}{m_{\text{solid}}} \times 100$$

เมื่อ M คือ ปริมาณความชื้นของอาหารแบบมาตรฐานแห้ง

นิยมใช้ปริมาณความชื้นแบบฐานแห้งในการคำนวณเกี่ยวกับกระบวนการ ในขณะที่ปริมาณความชื้นฐานเปียกใช้บอกองค์ประกอบของน้ำในอาหาร ความรู้เรื่องปริมาณความชื้นในอาหารเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอในการคาดคะเนคุณภาพของอาหาร จึงนิยมพิจารณาค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w) ของอาหารร่วมด้วย

คำจำกัดความของ a_w คือ อัตราส่วนระหว่างความดันไอของน้ำในอาหารต่อความดันไออิ่มตัวของน้ำที่อุณหภูมิเดียวกัน (วิล, 2543)

$$a_w = \frac{P}{P_0}$$

หรือ

$$a_w = \frac{RH}{100}$$

เมื่อ a_w คือ ค่าวอเตอร์แอกติวิตีของอาหาร

P คือ ความดันไอของอาหาร

P_0 คือ ความดันไอน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิเดียวกัน

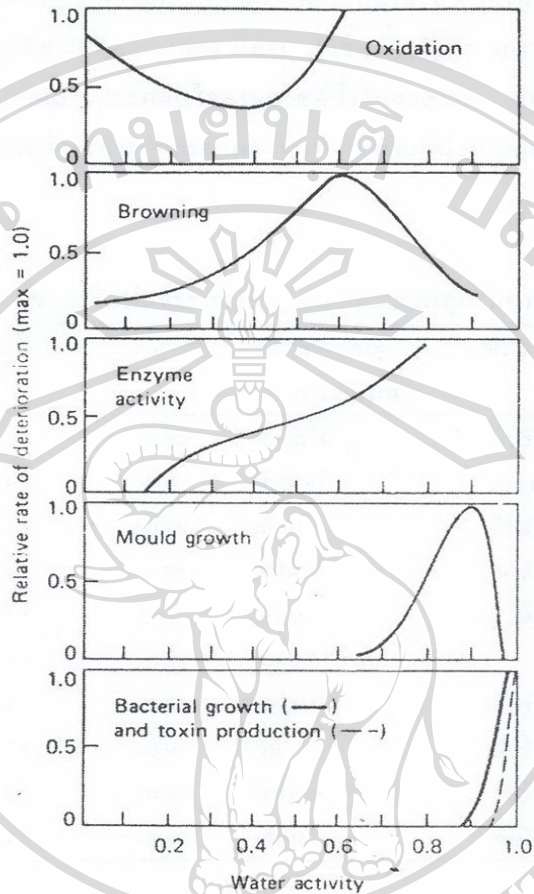
RH คือ ความชื้นสัมพัทธ์

ผลของวอเตอร์แอกติวิตีต่ออาหารแสดงไว้ดังตาราง 2.3 ซึ่งแสดงค่า a_w ต่ำสุดสำหรับจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร ส่วนภาพ 2.1 แสดงผลของ a_w ต่อปฏิกิริยาเนื่องจากจุลินทรีย์และปฏิกิริยาทางชีวเคมี กิจกรรมของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งที่ a_w ต่ำกว่า 0.6 เชื้อราส่วนใหญ่ถูกยับยั้งการเจริญที่ a_w ต่ำกว่า 0.7 เชื้อยีสต์ที่ a_w ต่ำกว่า 0.8 และแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ a_w ต่ำกว่า 0.9 ในขณะที่อาหารสด เช่น ผักผลไม้ เนื้อสัตว์รวมถึงอาหารทะเล มีค่า a_w อยู่ระหว่าง 0.97 – 1.00 ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ส่วนใหญ่

ตาราง 2.3 ค่าแอสเอร์แอกทิวิตีต่ำสุดสำหรับจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญในอาหาร
ที่มา : นวพร, 2549

จุลินทรีย์	a_w	จุลินทรีย์	a_w
Group		Group	
Most spoilage bacteria	0.9	Halophilic bacteria	0.75
Most spoilage yeasts	0.88	Xerophilic molds	0.61
Most spoilage molds	0.80	Osmophilic yeasts	0.61
Specific Organisms		Specific Organisms	
<i>Clostridium botulinum</i> , type E	0.97	<i>Candida scottii</i>	0.92
<i>Pseudomonas</i> spp.	0.97	<i>Trichosporon pullulans</i>	0.91
<i>Acinetobacter</i> spp.	0.96	<i>Candida zeylanoides</i>	0.90
<i>Escherichia coli</i>	0.96	<i>Geotrichum candidum</i>	ca. 0.9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.95	<i>Trichothecium</i> spp.	ca. 0.90
<i>Bacillus subtilis</i>	0.95	<i>Byssoschlamys nivea</i>	ca. 0.87
<i>Clostridium botulinum</i> , type A and B	0.94	<i>Staphylococcus aureus</i>	0.86
<i>Candida utilis</i>	0.94	<i>Alternaria citri</i>	0.84
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0.94	<i>Penicillium patulum</i>	0.81
<i>Botrytis cinerea</i>	0.93	<i>Eurotium repens</i>	0.72
<i>Rhizopus stolonifer</i>	0.93	<i>Aspergillus glaucus</i>	0.70
<i>Mucor spinosus</i>	0.93	<i>Aspergillus conicus</i>	0.70
		<i>Aspergillus echinulatus</i>	0.64
		<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>	0.62
		<i>Xeromyces bisporus</i>	0.61

ในกรณีที่อาหารมีค่า a_w สูง อาหารจะเกิดการเสื่อมเสียโดยแบคทีเรียเนื่องจากแบคทีเรียสามารถเจริญได้ดีกว่ายีสต์และรา ถ้าอาหารถูกควบคุมค่า a_w ให้ต่ำลง เชื้อราและยีสต์จะเจริญเติบโตได้ดีกว่าแบคทีเรีย ผลิตภัณฑ์ที่มีค่า a_w ต่ำเนื่องจากมีการเติมน้ำตาล เช่น แยม เยลลี่ จะเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากยีสต์กลุ่มชอบความดันออสโมติกสูง (osmophilic yeast) ส่วนอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือสูง จะเสื่อมเสียเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มทนความเข้มข้นของเกลือสูง (halotolerant) หรือกลุ่มที่ชอบความเข้มข้นของเกลือสูง (halophile) (วิไล, 2543)



ภาพ 2.1 ผลของวอเตอร์แอกทิวิตีต่อการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากจุลินทรีย์และเคมีในอาหาร
ที่มา : วิล, 2543

ปฏิกิริยาเอนไซม์จะลดลงอย่างมากที่ค่า a_w ต่ำกว่า BET monolayer value ทั่วไป เนื่องจากสารตั้งต้นสามารถเคลื่อนที่ได้น้อย และไม่สามารถแพร่ไปยังตำแหน่งที่ไวต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์ (active site) ได้ แต่การเปลี่ยนแปลงทางเคมียิ่งซับซ้อนกว่า สิ่งสำคัญที่สุดที่เกิดขึ้นในอาหารที่มี a_w ต่ำ คือปฏิกิริยาเมลลาร์ดและการออกซิเดชันของไขมัน ค่า a_w ที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลในอัตราเร็วสูงสุดจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดอาหาร ปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นเมื่อ a_w เพิ่มขึ้น น้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เกิดจากปฏิกิริยาการควบแน่นในปฏิกิริยาสีน้ำตาล และที่ปริมาณความชื้นสูง ปฏิกิริยาจะถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์สุดท้าย และน้ำที่ปริมาณความชื้นสูงจะทำให้สารมีความเข้มข้นต่ำลงมีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลต่ำลง (วิล, 2543)

การออกซิเดชันของไขมันเกิดที่ค่า a_w ต่ำเนื่องจากการทำงานของอนุมูลอิสระ สารยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและสารที่เลทที่จับอยู่กับอะตอมอิสระ โลหะ จะกลับมาละลายได้ใหม่เมื่อ a_w สูงขึ้น จึงทำให้อัตราการออกซิเดชันลดลง แต่ที่ค่า a_w สูงขึ้นนั้นปฏิกิริยาการเร่งของโลหะจะลดลง เนื่องจากการรวมตัวกับน้ำและการเกิดสารประกอบไฮดรอกไซด์ซึ่งไม่ละลายน้ำ (วิไล, 2543)

2.2.1.2 สี

สีและการเปลี่ยนสีของอาหารมีความสำคัญต่อคุณภาพอาหาร ถึงแม้ว่าสีจะไม่บ่งบอกถึงคุณค่าทางอาหาร รส หรือคุณสมบัติในการนำไปใช้งาน แต่สีให้ความสำคัญในแง่ของความชอบของผู้บริโภค สีในอาหารเกิดจากเม็ดสีเช่น ไมโอโกลบินในเนื้อสัตว์ หรือเกิดจากสารที่ไม่ใช่เม็ดสี เช่น การเกิดสีน้ำตาลเมื่อน้ำตาลไปเคี้ยว เป็นต้น สีอาหารอาจเกิดจากสีโดยธรรมชาติหรือเป็นการแต่งเติมสีโดยตั้งใจของผู้ผลิต ในทางอาหารสีจะบ่งบอกถึงความแตกต่างของความแก่ - อ่อนของผักผลไม้บางชนิดได้ดี บางครั้งอาจใช้สีอาหารเป็นดัชนีในการคัดเลือกวัตถุดิบ ควบคุมขั้นตอนการผลิต และจัดแบ่งชั้นคุณภาพของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป (คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546)

การวัดสีโดยใช้ระบบสี CIE (CIE Color System)

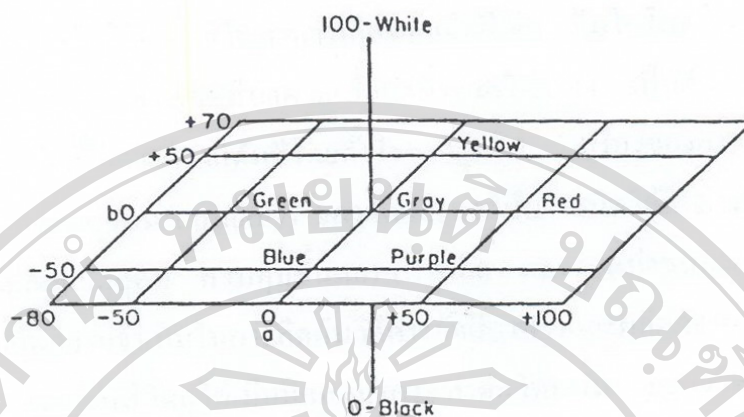
ระบบสี CIE ประกอบด้วยตัวแปรของสี 3 ตัวคือ L^* , a^* และ b^* ซึ่งมีความหมายดังนี้

L^* คือ ความสว่างของสีซึ่งมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดงที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่าเป็นบวกแสดงถึงความ
ความเป็นสีแดง ค่าเป็นลบแสดงความเป็นสีเขียว

b^* คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่าเป็นบวกแสดงถึงความ
เป็นสีเหลือง และค่าเป็นลบแสดงถึงความสีน้ำเงิน

การแบ่งสเกลในระบบ CIE แสดงไว้ดังภาพ 2.2



ภาพ 2.2 โคออร์ดิเนตแสดงการจำแนกสเกลของตัวแปรในระบบสี CIE

ที่มา : คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2546

2.2.2 ทางเคมี

2.2.2.1 เอนไซม์

1. Polyphenol Oxidase

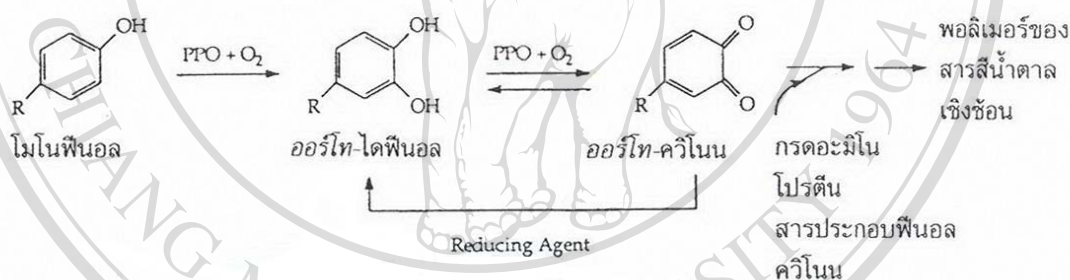
มีชื่อตามระบบคือ o-diphenol : oxygen oxidoreductase ; EC 1.10.3.1 และมีชื่อสามัญต่าง ๆ กัน เช่น Tyrosinase, Polyphenolase, Phenolase, Catechol oxidase, Cresolase และ Catecholase ชื่อเหล่านี้เรียกตามสับสเตรท เช่น Tyrosinase ได้มาจากชื่อสับสเตรท Tyrosine ต่อมาชื่อนี้จึงจำเพาะกับเอนไซม์จากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมและมีความจำเพาะกับสับสเตรท Tyrosine ต่อมามีการพบเอนไซม์นี้จากพืชชั้นสูง และกลุ่มรา ซึ่งสามารถเร่งการออกซิไดซ์พวก monophenolic และ o-diphenolic การใช้ Polyphenol oxidase มีลักษณะการใช้ตามแอคติวิตีของเอนไซม์ กล่าวคือ ในปฏิกิริยาที่จะทำให้เกิดสี จะมีการนำเอนไซม์นี้มาใช้ เช่น การบ่มชา กาแฟ ยาสูบ เพื่อให้เกิดสีน้ำตาล (ปราณี, 2535) แต่เอนไซม์ก็เป็นสาเหตุให้เกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการได้ โดยเมื่อเนื้อเยื่อพืชเกิดบาดแผลหรือฉีกขาด เป็นผลให้เอนไซม์ในพืชสัมผัสอากาศ จะกระตุ้นให้มีกิจกรรมของเอนไซม์ Polyphenol oxidase เพิ่มขึ้น เอนไซม์นี้จะออกซิไดซ์สารฟีนอลิกที่มีอยู่แล้วในเนื้อเยื่อพืช ฟีนอลิกที่ถูกออกซิไดซ์จะเปลี่ยนเป็น o-quinone และ o-quinone จะรวมตัวกันเป็นโมเลกุลใหญ่ หรืออาจรวมตัวกับกรดอะมิโนที่เป็นอิสระหรือกลุ่มอะมิโน

โนของโปรตีนกลายเป็นสารสีน้ำตาล สารสีน้ำตาลที่ไม่ละลายน้ำนี้เรียกว่า melanins (พรประภา, 2545)

ลักษณะของปฏิกิริยามี 2 ลักษณะ ดังได้กล่าวมาแล้ว คือ

1. Hydroxylation
2. Dehydrogenation (oxidation of o-diphenols)

เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส ทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชันสารประกอบโมโนฟีนอล ได้เป็นสารออร์โท-ไดฟีนอล (o-diphenol) สารนี้จะถูกออกซิไดส์ต่อไปเป็นออร์โท-ควิโนน (o-quinone) ควิโนนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO นี้ จะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลอื่นๆ หรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล ดังภาพ 2.3 (นิธิยา, 2545)



ภาพ 2.3 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ PPO

ที่มา : นธิยา, 2545

สารตั้งต้นที่ถูกออกซิไดส์ได้ด้วยเอนไซม์ PPO ได้แก่ สารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในพืชซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เช่น แอนโทไซยานิดิน ลิวโคแอนโทไซยานิดิน ฟลาโวนอล แคลทีคอล กรดคาเฟอิก แคทีชิน เอสเทอร์ของกรดซินนามิก 3,4-ไดไฮดรอกซีฟีนิลอะลานีน และไทโรซีน ฟิเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์ PPO อยู่ในช่วงฟิเอช 5 – 7 เอนไซม์นี้ไม่ค่อยคงตัว ถูกทำลายได้ด้วยความร้อน และถูกยับยั้งได้ด้วยกรดแอสไคด์ กรดฟีนอลิก ซัลไฟต์ คีเลติงเอเจนต์ และรีดิวซิงเอเจนต์ (นิธิยา, 2545)

วิธีการวัดกิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสามารถทำได้หลายวิธี (นิธิยา, 2545) ดังต่อไปนี้

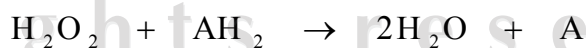
1. โดยการวัดอัตราการใช้ออกซิเจนในปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคทีคอล
2. โดยวิธี Colorimetric วัดปริมาณของสารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น ที่เกิดจากแคทีคอลหรือไพโรแกลลอล ภายในเวลา 5 นาที
3. โดยวิธี Chronometric วัดอัตราการสูญเสียวิตามินซี เนื่องจากเกิดออกซิเดชันโดยออร์โท-เบนโซควิโนน ที่เกิดจากแคทีคอล
4. โดยการวัดอัตราการเกิดสีจากสารลูโค-2,6-ไดคลอโรเบนซีนอนอินโค-3'-คลอโรฟีนอล ที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออร์โท-เบนโซควิโนน

การเปลี่ยนแปลงแอกติวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (ปราณี, 2535) มีดังนี้

1. การลด O₂ หรือการทำ substrate limitation จะไปลดปฏิกิริยาสีน้ำตาลของอาหารที่สืบเนื่องมาจากโพลีฟีนอลออกซิเดส
2. การเติม reducing agents ซึ่งจะช่วยป้องกันการสะสม หรือ polymerization ของ o-benzoquinone เช่น ascorbic acid จะปรีดิคส์ o-benzoquinone ไปเป็น o-diphenol แทนที่ที่ o-benzoquinone ถูกสร้างขึ้นมา ดังนั้นช่วยป้องกันการเกิด browning ได้
3. การเติม metal complexing agents อาทิ NaF, azide ซึ่งจะยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์โดยจับกับ essential copper ซึ่งเป็น prosthetic group ของเอนไซม์
4. การให้ความร้อน จะทำให้โปรตีนในเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ

2. Peroxidase

มีชื่อตามระบบคือ donor : hydrogen-peroxide oxidoreductase , EC 1.11.1.7 มีลักษณะปฏิกิริยาหลัก คือ peroxidatic reaction ดังนี้



1855 Schoenbein พบปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สกัดได้จากเห็ด และเนื้อเชื้อสัตว์ ว่าเป็นเหตุให้เกิดสีน้ำตาลจากสารละลาย guaiacol เมื่อมีอากาศ และสารละลาย H₂O₂ เจือจาง ซึ่งต่อมาพบว่าปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้เป็นบทบาทของ catalase และ peroxidase

Peroxidase เป็นเอนไซม์ที่พบอยู่ทั่วไปในพืชชั้นสูงทุกชนิด โดยเฉพาะ fig sap และ horseradish จะพบมาก นอกจากนี้ยังพบในเนื้อเยื่อสัตว์บางชนิดและจุลินทรีย์

เอนไซม์เปอร์ออกซิเดสแบ่งเป็นชนิดได้ดังนี้ (ปราณี, 2535)

1. Iron – containing peroxidase

1.1 Ferritoporphyrin peroxidases

เอนไซม์บริสทูธิจะมีสีน้ำตาล มี ferritoporphyrin III เป็น prosthetic group พบทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น horseradish, turnip, fig sap และพบในสัตว์ เช่น tryptophan pyrrolase รวมทั้งพบในจุลินทรีย์ เช่น cytochrome c peroxidase ซึ่ง prosthetic group ถูกแยกออกจากส่วนโปรตีนได้โดย acidic acetone

1.2 Veroperoxidases

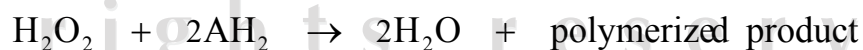
มีลักษณะที่ต่างไปจากกลุ่มที่ 1 คือ Prosthetic group ถูกแยกออกจากส่วนของโปรตีนด้วย acidic acetone ไม่ได้ และเอนไซม์บริสทูธิจะมีสีเขียว มีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 570 – 690 และ 403 nm เช่น peroxidases ที่พบใน myelocytes , นม

2. Flavoprotein peroxidases

ได้แก่ peroxidases ที่มี prosthetic group เป็น FAD เช่น peroxidases ที่สกัดจาก *Streptococci* sp. และเนื้อเยื่อสัตว์หลายชนิด

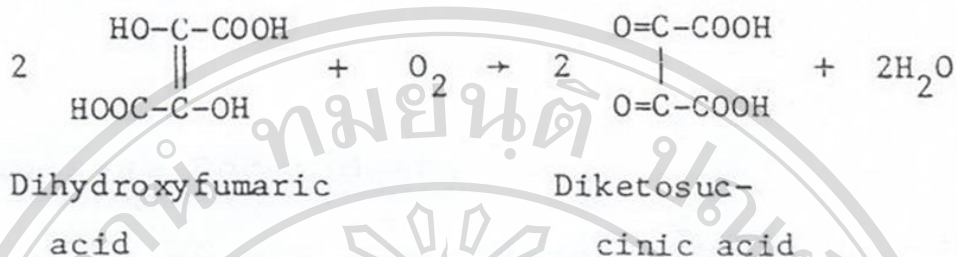
ลักษณะปฏิกิริยาของ Peroxidases สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ 4 ลักษณะ ตามชนิดสับสเตรท (ปราณี, 2535) ดังนี้

1. Peroxidatic



ปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาหลักของ peroxidases ใน *in vitro* ที่มีสับสเตรทเป็นสารประกอบฟีนอล เช่น p-cresol, guaiacol, resorcinol, aniline

2. Oxidatic



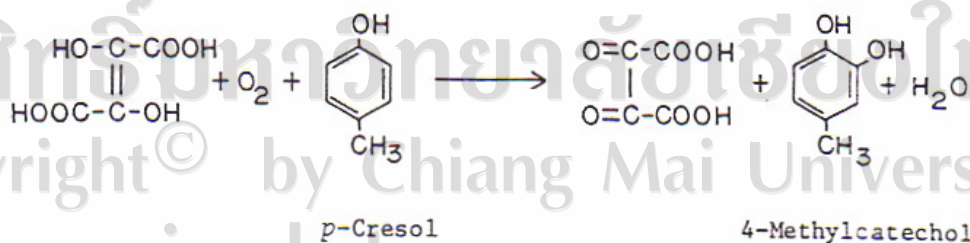
ปฏิกิริยา oxidatic จะเกิดขึ้นเมื่อมีโมเลกุลออกซิเจน (O₂) และสับสเตรทเป็นสารประกอบพวก dihydroxyfumaric acid, ascorbic acid, hydroquinone เป็นต้น

3. Catalatic



ปฏิกิริยา catalatic เกิดขึ้นได้ในกรณีที่มีขาด hydrogen donor (AH₂) และ peroxidases สามารถทำหน้าที่เหมือน catalase โดยเปลี่ยน H₂O₂ ไปเป็น H₂O และ O₂ ตามปฏิกิริยาได้บ้าง แต่ช้ากว่าแบบ peroxidatic, oxidatic อย่างน้อย 1,000 เท่า

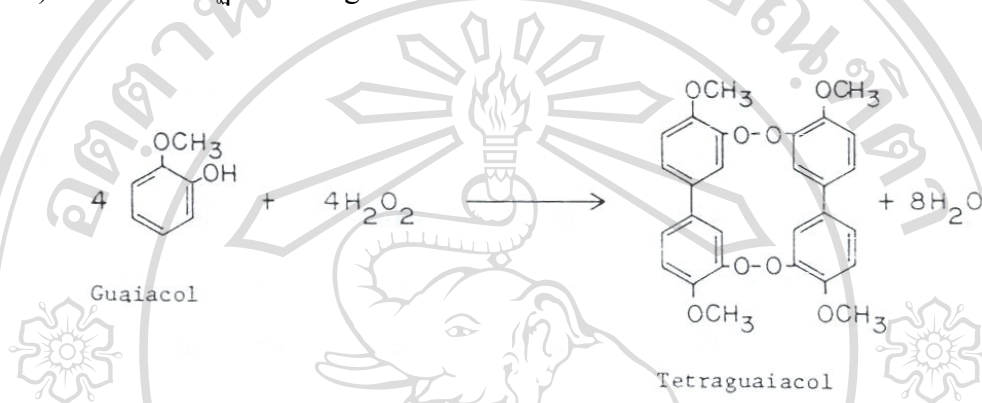
4. Hydroxylation



ในกรณีปฏิกิริยามี hydrogen donor เป็น dihydroxyfumaric acid และ molecular oxygen (O₂) peroxidase จะสามารถเติมหมู่ OH ให้กับสาร aromatic หลายชนิด เช่น *p*-cresol, tyrosine, phenylalanine, benzoic acid และ salicylic acid

ปฏิกิริยาหลักของ peroxidase เป็นแบบ peroxidatic reaction ดังนั้นในการวัดแอกติวิตีของ peroxidase จะยึดตามปฏิกิริยาหลัก โดยให้ hydrogen donors (AH_2) เป็น guaiacol, pyrogallol, mesidine, cytochrome C, uric acid

ตัว hydrogen donor ที่ใช้กันมากที่สุดในการวิเคราะห์คือ guaiacol เนื่องจากไม่ซับซ้อนเตรียมได้ง่าย รวดเร็ว และวัดผลได้โดย spectrophotometer ได้โดยตรงและต่อเนื่อง (ปราณี, 2535) โดยการเกิด ปฏิกิริยาของ guaiacol แสดงได้ดังภาพ 2.4



ภาพ 2.4 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลของ guaiacol ที่เร่งโดย peroxidase
ที่มา : ปราณี, 2535

3. Lipoxygenase

Lipoxygenase หรือ Lipoxidase มีชื่อตามระบบคือ linoleate : oxygen oxidoreductase, EC 1. 13. 1. 13 โดย lipoxygenase เป็นเอนไซม์ที่พบในพืชหลายชนิด โดยเฉพาะพืชพวก legumes ได้แก่ alfalfa, peas, beans, peanuts, radishes, potato ส่วนพืชที่มีปริมาณเอนไซม์ในปริมาณสูง คือ soy beans, urd beans และ green beans นอกจากนี้พบ lipoxygenase ในพืชแล้วยังพบในสัตว์ แต่มีความจำเพาะต่างจาก lipoxygenase ในพืช เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวในเนื้อเยื่อสัตว์นั้นมาจาก hemin catalysis (ปราณี, 2535)

ลักษณะทั่วไปของ lipoxygenase (ปราณี, 2535) มีดังต่อไปนี้

1. มีมวลโมเลกุลประมาณ 102,000 ดาลตัน
2. Peroxidation activity ของ lipoxygenase จะถูกยับยั้งด้วย nordihydro-guaiacetic acid, propyl gallate, α -tocopherol ซึ่งเป็น lipid antioxidants และถูกยับยั้งด้วย saturated monohydric alcohols เนื่องจากหมู่ $CH_3(CH_2)_4$ จับกับเอนไซม์

3. ความจำเพาะของ lipoxygenase ต่อสับสเตรท

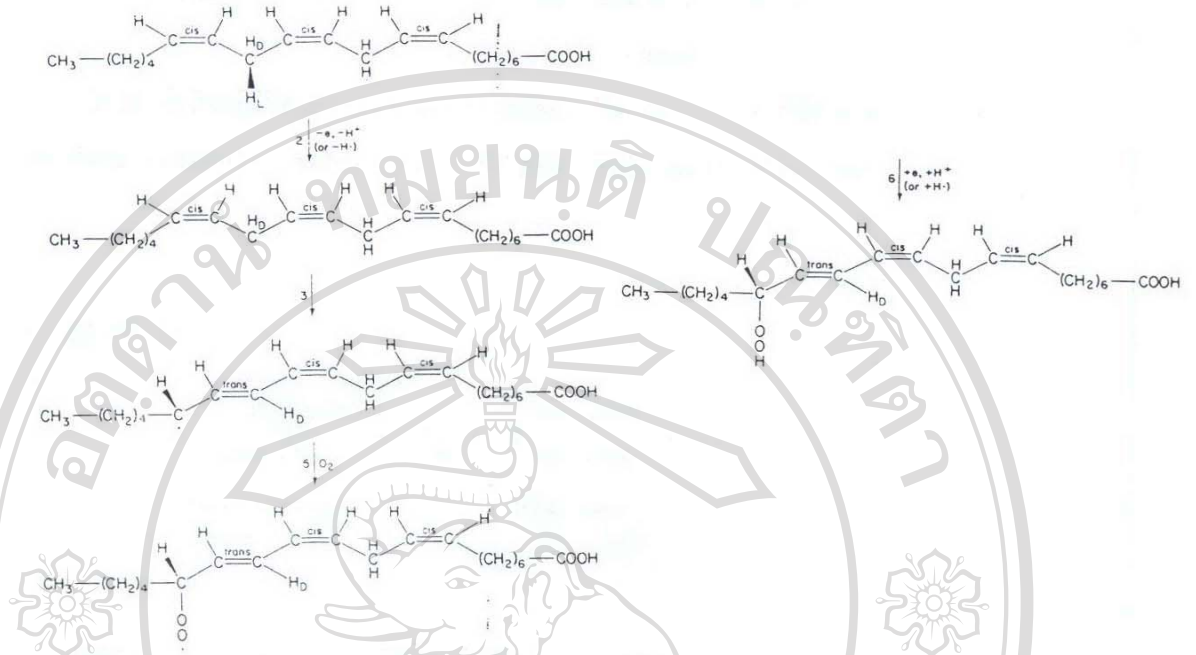
3.1 เป็นเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่อกรดไขมันและไขมันที่มี cis-cis penta-1,4-diene unit ($-\text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-$) ได้แก่ กรดไขมันพวก linoleic, linolenic และ arachidonic acid ส่วนพวก oleic acid ไม่มี diene unit จึงไม่สามารถถูกออกซิไดซ์ด้วย lipoxygenase

3.2 มีความจำเพาะต่อหมู่ $-\text{CH}_2-$ ตรงตำแหน่ง $\omega-8$ ส่วนหมู่ $-\text{CH}_2-$ ตรงตำแหน่ง $\omega-10$, $\omega-11$ ไม่จัดเป็นสับสเตรท กล่าวอีกนัยหนึ่งคือ จำนวนพันธะคู่ ไม่มีส่วนต่อความจำเพาะ

3.3 เอนไซม์มีความจำเพาะต่อ L-configuration ของ methylene group ที่ $\omega-8$ ซึ่งเป็นรูปทั่วไปของกรดไขมัน

กลไกการทำงานของ lipoxygenase เกิดเป็นลำดับดังภาพ 2.5 (ปราณี, 2535) ซึ่งอธิบายเป็นขั้นตอนได้ดังนี้

1. เอนไซม์และสารตั้งต้น ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวจับกันในลักษณะจำเพาะเป็นสารเชิงซ้อนแบบ stereospecific complex บางครั้งร่วมกับออกซิเจน (O_2) เกิดเป็น $\text{E}\text{O}\text{O}^\circ$ (radical) ร่วมด้วย
2. เอนไซม์จะดึงอิเล็กตรอน หรืออะตอมของไฮโดรเจนหรือทั้งสองอย่าง อย่างมี stereo specific จากตำแหน่ง $\omega-8$ ทำให้เกิดเป็นอนุมูลกรดไขมันที่ $\omega-8$ นี้
3. ขณะที่เกิดการเกาะกันกับเอนไซม์ กรดไขมันอิสระจะเปลี่ยน isomer เพื่อให้ที่อยู่กับ unshare electron ที่ $\omega-6$ ทำให้เกิด conjugation และ isomerization ของ double bond
4. เอนไซม์และผลิตภัณฑ์จะรวมกับออกซิเจน เพื่อให้เกิด ternary complex แม้ว่าปฏิกิริยานี้จะเป็นแบบสับสเตรท 2 ตัวก็ตาม แต่ข้อมูลมีไม่เพียงพอที่จะชี้ให้เห็นว่าเมื่อไรที่ออกซิเจนเกาะกับสับสเตรท ดังนั้นออกซิเจนควรเกาะกับสารตั้งต้นเหมือนขั้นที่ 1
5. ออกซิเจนทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระที่ตำแหน่ง $\omega-6$ ได้เป็น hydroperoxy free radical (ROO°)
6. อิเล็กตรอนแยกจากเอนไซม์ (ขั้นที่ 2) และโปรตีนแยกจากตัวกลาง หรืออนุมูล H° เท่านั้น ทำให้เกิด 15-hydroperoxy-8,11,13-eicosatrienoic acid ซึ่งในที่สุดจะแยกออกจากเอนไซม์ หรืออีกนัยหนึ่งอิเล็กตรอน (H°) สามารถถูกแยกจากโมเลกุลที่ 2 ของ 8,11,14-eicosatrienoic acid



ภาพ 2.5 กลไกการทำงานของ lipoxygenase ต่อ linoleic acid

ที่มา : ปราณี, 2535

เอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันของไขมันก่อให้เกิดผลกระทบทั้งโดยตรงและโดยอ้อมต่อคุณภาพอาหาร (ปราณี, 2535) ดังนี้

1. เกิดการเสื่อมสลายของกรดไขมันที่จำเป็น เช่น linoleic acid, linolenic acid และ arachidonic acid
2. ผลผลิตจากปฏิกิริยาทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) ที่จะไปทำลายสารอาหารอื่น เช่น วิตามิน โปรตีน
3. ผลผลิตจากปฏิกิริยาทำให้เกิดกลิ่น และรสที่ผิดปกติ (off-flavor and odor) ซึ่งถ้าเป็นกรณีของผลิตภัณฑ์พวก beans และ peas กลิ่นรสที่เกิดขึ้นเกิดจากกลิ่นหืน
4. เกิดการเปลี่ยนสี ซึ่งเกิดจาก carotene oxidation และ chlorophyll oxidation

การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารที่เกิดจากเอนไซม์นั้นค่อนข้างซับซ้อน และยับยั้งไม่ได้ทั้งหมด แต่นอกจากผลเสียที่มีต่อคุณภาพอาหารแล้ว lipoxygenase ยังมีผลกระทบในด้านที่ทำให้คุณภาพของอาหารเป็นที่ต้องการ คือ การฟอกสีในกระบวนการทำขนมปัง ซึ่งเกิดจาก carotene ถูกออกซิไดซ์หรือถูกฟอกสี

การวัดแอกติวิตีของ lipoxygenase ทำได้หลายวิธี (ปราณี, 2535) ดังนี้

1. วัดปริมาณออกซิเจนที่ใช่
2. การวัดการเกิด conjugation ของ double bond โดยวัดที่ค่าการดูดกลืนแสง 235 nm
3. วัดปริมาณ hydroperoxide ทำได้ดังนี้

3.1 วัดการเกิดออกซิเดชันของ I^- (KI) ไปเป็น I_2 ในสารละลายกรดโดยทำปฏิกิริยากับ hydroperoxide (ROOH) ดังนี้



3.2 วัดอัตราการฟอกสีของสีเหลืองของแคโรทีน ทำได้ดังนี้คือสารละลายปฏิกิริยาประกอบด้วย linoleate, carotene และเอนไซม์ที่ pH เหมาะสมจะเกิดปฏิกิริยาการฟอกสีของแคโรทีนไปเป็นสารไม่มีสีเนื่องจากเกิด free radical

2.2.2.2 วิตามิน

วิตามินเป็นกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์ และจัดเป็นสารอาหารชนิดหนึ่งที่ร่างกายต้องการเพียงเล็กน้อยมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการดำรงชีวิตของมนุษย์ โดยทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีในเมตาบอลิซึมของสารอาหาร ร่างกายของเราสังเคราะห์วิตามินไม่ได้ ต้องได้รับจากอาหารเท่านั้น ดังนั้นปริมาณของวิตามินในอาหารต่างๆ ที่ได้รับจากธรรมชาติหรืออาหารที่ผ่านการแปรรูปจึงมีความสำคัญ เพื่อจะได้เลือกบริโภคอาหารให้ถูกต้อง (นิธิยา, 2545)

วิตามินแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม (นิธิยา, 2545) คือ

1. วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี และวิตามินเค วิตามินกลุ่มนี้จะเข้าสู่ร่างกายได้ต้องอาศัยไขมันเป็นตัวทำละลาย และร่างกายสามารถสะสมส่วนที่ได้รับมากเกินไปได้ ดังนั้นการได้รับวิตามินกลุ่มนี้มากเกินไป จะทำให้เกิดพิษต่อร่างกายได้
2. วิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ได้แก่ วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินบีหก วิตามินบีสิบสอง ไนอะซิน ไรโบฟลาวิน กรดโฟลิก กรดแพนโททินิก และวิตามินซี วิตามินกลุ่มนี้ละลายได้ในน้ำ จึงถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ง่าย และร่างกายไม่สามารถสะสมไว้ได้ หากได้รับมากเกินไปร่างกายจะขับออกทางปัสสาวะ ดังนั้นวิตามินกลุ่มนี้จำเป็นต้องได้รับจากอาหารอย่างสม่ำเสมอ

วิตามินซี

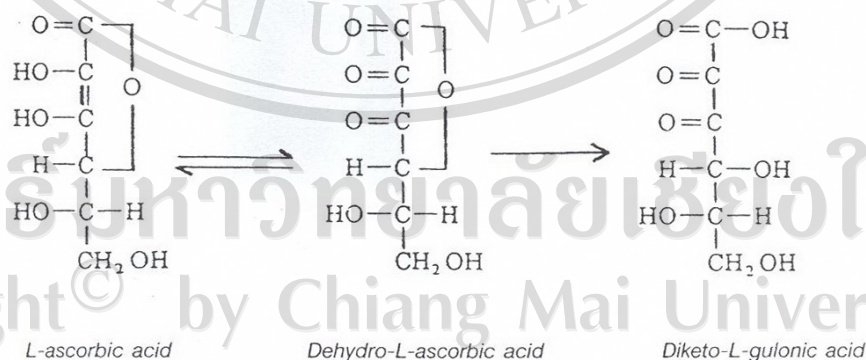
วิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก เป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลเฮกโซส ละลายได้ดีในน้ำ จึงถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และกระจายตัวไปตามเนื้อเยื่อต่างๆทั่วร่างกาย ร่างกายต้องการวิตามินซีวันละประมาณ 50 มิลลิกรัม

วิตามินซีทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างโปรตีนคอลลาเจน ดังนั้นถ้าร่างกายขาดวิตามินซีจะทำให้การสังเคราะห์โปรตีนคอลลาเจนผิดปกติมีผลให้หลอดเลือดต่างๆในร่างกายไม่แข็งแรง โดยเฉพาะเส้นเลือดฝอยจะเปราะและแตกได้ง่าย ดังนั้นเมื่อขาดวิตามินซีจึงเป็นโรคเลือดออกตามไรฟัน

วิตามินซีพบมากในผักและผลไม้สด เช่น สตรอเบอรี่ เชอรี่ มะขามป้อม ฝรั่ง ส้ม มะนาว และผักชนิดต่างๆ โดยผลไม้ส่วนใหญ่จะพบวิตามินซีที่เปลือกมากกว่าในเนื้อ

วิตามินซีเป็นสารรีดิวซ์อย่างแรง (Strong Reducing Agent) ที่มีความคงตัวต่ำ สลายตัวง่ายเมื่อถูกแสง อากาศ และความร้อน ส่วนโลหะหนัก เช่น ทองแดงไอออนและเหล็กไอออน จะเร่งการสลายตัวของวิตามินซีให้เกิดเร็วขึ้น วิตามินซีในรูป L-ascorbic acid จะมีคุณค่าทางชีวภาพ แต่ถ้าเป็น D-ascorbic acid จะไม่มีคุณค่าทางชีวภาพหรือไม่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

L-ascorbic acid เมื่อถูกออกซิไดส์จะเปลี่ยนเป็น dehydro-L-ascorbic acid ปฏิกิริยานี้ผันกลับได้ แต่ถ้าถูกออกซิไดส์ต่อเป็น diketo-L-gulonic acid จะไม่มีคุณค่าทางชีวภาพ (นิธิยา, 2545) ดังภาพ 2.6



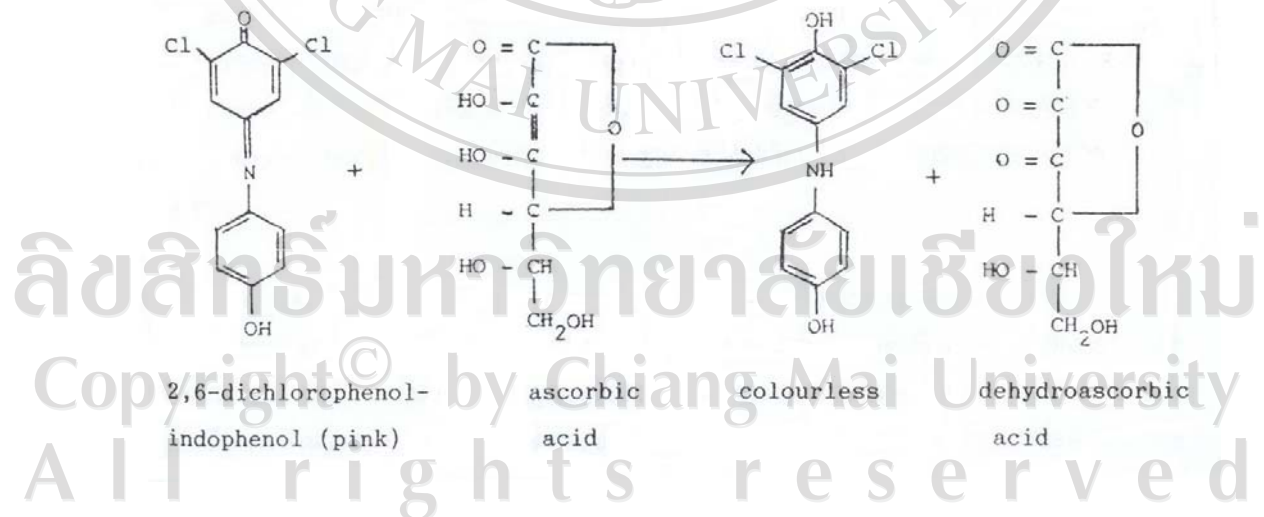
ภาพ 2.6 การเกิดออกซิเดชันของวิตามินซี

ที่มา : นิธิยา, 2545

นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์อีกหลายชนิดที่เร่งการสลายตัวของวิตามินซีได้ เช่นกรดแอสคอร์บิกออกซิเดส (ascorbic acid oxidase) ฟีนอลเลส ไซโตโครมออกซิเดส และเพอร์ออกซิเดส เอนไซม์ตัวแรกเร่งการสลายวิตามินซีโดยตรง แต่เอนไซม์ 3 ชนิดหลังเกี่ยวกับการสลายวิตามินซีในทางอ้อม เช่น เอนไซม์ฟีนอลเลสจะเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมโนและไดไฮดรอกซีฟีนอลเป็นควิโนน ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับวิตามินซี ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงได้ โดยเอนไซม์เหล่านี้พบในผักและผลไม้สด ซึ่งเมื่อเนื้อเยื่อผักและผลไม้เสียหายเอนไซม์เหล่านี้จะเร่งการสลายวิตามินซี ในกระบวนการแปรรูปผักและผลไม้จะมีการทำลายเอนไซม์เหล่านี้โดยใช้ความร้อน ซึ่งทำได้โดยการลวกผักและผลไม้ในน้ำร้อนหรืออบไอน้ำในระยะเวลาสั้นๆ การลวกโดยใช้ความร้อนจะมีการสูญเสียวิตามินซีมากกว่าการใช้ไอน้ำ และในการเก็บรักษาผักและผลไม้แช่เยือกแข็ง ยิ่งอุณหภูมิต่ำจะมีการสูญเสียวิตามินซีลดลง

กรดแอสคอร์บิกช่วยยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เร่งด้วยเอนไซม์ได้ โดยการรีดิวซ์ออร์โท-ควิโนน นอกจากนี้ยังมีบทบาทต่อการป้องกันไม่ให้สารอื่นถูกออกซิไดส์ โดยทำหน้าที่เป็นสารต้านออกซิเดชัน กำจัดอนุมูลอิสระ และกำจัดออกซิเจน

การวิเคราะห์หาวิตามินซีทำได้โดยใช้ 2,6-dichloroindophenol เนื่องจากวิตามินซีมีคุณสมบัติเป็น reducing agent สามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบ 2,6-dichloroindophenol เปลี่ยนจากสีชมพูเป็นไม่มีสี (ลักษณะและนิธิยา, 2533) มีปฏิกิริยา ดังภาพ 2.7



ภาพ 2.7 ปฏิกิริยาระหว่าง 2,6-dichloroindophenol กับวิตามินซี

ที่มา : ลักษณะและนิธิยา, 2533

2.2.3 ทางจุลชีววิทยา

อาหารที่เรบริโกลนั้นยากที่จะหลีกเลี่ยงจุลินทรีย์ แม้กระทั่งในร่างกายมนุษย์และสัตว์ยังมี จุลินทรีย์อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจุลินทรีย์ที่พบในอาหารมีทั้งที่เป็นประโยชน์และโทษ สำหรับจุลินทรีย์แปลกปลอมที่ปนเปื้อนในอาหารถือว่าเป็นสิ่งไม่พึงปรารถนา ตามปกติร่างกายของ มนุษย์มีกลไกตามธรรมชาติในการกำจัดจุลินทรีย์แปลกปลอมออกไป ถ้ากำจัดได้สำเร็จจุลินทรีย์ เหล่านี้จะไม่สามารถก่อโรคได้ แต่กรณีที่ร่างกายไม่สามารถกำจัดออกไปได้หมดหรือมีปริมาณ จุลินทรีย์แปลกปลอมมากเกินไป จุลินทรีย์ที่แปลกปลอมจะก่อให้เกิดความผิดปกติขึ้นในร่างกายได้ โรคที่เกิดจากการบริโภครอาหารเรียกว่า อาหารเป็นพิษ ซึ่งประมาณว่าโรคอาหารเป็นพิษร้อยละ 70 เกิดจากจุลินทรีย์ (สุเมธนา, 2545) การบริโภครอาหารที่ปลอดภัยจึงเป็นสิ่งสำคัญ โดยหากอาหารนั้น ไม่มีจุลินทรีย์แปลกปลอมหรือมีในปริมาณที่ร่างกายกำจัดออกไปได้ ย่อมเป็นอาหารที่ปลอดภัยต่อ ผู้บริโภคร

2.2.3.1 ความสัมพันธ์ของจุลินทรีย์กับอาหาร

จุลินทรีย์เมื่ออยู่ในอาหาร ก่อให้เกิดผลต่ออาหารจำแนกได้เป็น 3 ประการ (นวพร, 2549) คือ

1. ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย

จุลินทรีย์เป็นตัวการทำลายอาหารของมนุษย์ที่สำคัญที่สุด จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ แบคทีเรีย รา และยีสต์สาเหตุเกิดมาจากการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์ การเน่าเสียจะเป็นแบบใดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและจำนวนของจุลินทรีย์ที่เจริญ และสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์

2. ทำให้เกิดโรคจากการบริโภครอาหาร

แบคทีเรีย รา ไวรัส และจุลินทรีย์บางชนิดที่ปะปนในอาหารมีคุณสมบัติสามารถสร้าง สารพิษหรือที่ออกซิน สามารถทำลายเซลล์หรือเนื้อเยื่อทำให้เกิดโรคขึ้นได้ สารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มที่หนึ่งคือ เอ็กโซที่ออกซิน (exotoxin) เป็นสารพิษที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น และปล่อยออกนอกเซลล์ เอ็กโซที่ออกซินเกี่ยวข้องกับโรคท้องร่วง ท้องเสียและอาหารเป็นพิษ กลุ่มที่สองคือ เอนโดที่ออกซิน (endotoxin) เป็นสารพิษที่แบคทีเรียสร้างขึ้นและเก็บไว้ในเซลล์ จะปล่อยออกมาเมื่อเซลล์สลาย อาหารที่มีการปนเปื้อนโดยแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็มีอันตรายต่อผู้บริโภคร

3. ใช้เพื่อการผลิตอาหาร

เช่น ในกระบวนการหมัก (food fermentation) โดยใช้ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ทำให้เพิ่มคุณค่าของอาหาร เพิ่มราคาของอาหารบางอย่างในฤดูกาลที่ผลิตผลมีมากราคาถูก เมื่อนำมาแปรรูป จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ในราคาที่สูงขึ้น และสามารถเก็บรักษาไว้รับประทานในฤดูกาลที่ผลิตผลนั้นๆขาดแคลน

2.2.3.2 การเสื่อมสภาพของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์

ภายในเนื้อเยื่อของพืชหรือสัตว์ที่ปกติจะปราศจากจุลินทรีย์ แต่ตามผิวของผักและเนื้อสดจะปนเปื้อนด้วยจุลินทรีย์หลายชนิด ซึ่งมาจากสภาพของวัตถุดิบ วิธีการผลิต ระยะเวลาและสภาพการเก็บวัตถุดิบนั้น ถ้ามีจุลินทรีย์ในปริมาณมาก อาหารจะถูกทำลายและทำให้เกิดการเน่าเสียได้ ดังนั้นจึงต้องควบคุมปริมาณจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนให้อยู่ในระดับต่ำ

เมื่อพิจารณาถึงอาหารชนิดต่างๆ และวิธีการขนส่งแล้ว จะเห็นว่ามีโอกาสที่จุลินทรีย์จะเข้าปนเปื้อนได้ง่าย จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะเหมาะสมกับอาหารแตกต่างกัน เมื่อจุลินทรีย์เจริญเติบโตและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในอาหาร เป็นผลให้เกิดกลิ่น รส และคุณภาพของอาหารเปลี่ยนไป กระบวนการย่อยสลายอาหารโดยจุลินทรีย์อาจเป็นได้หลายแบบดังนี้ (นงลักษณ์และปรีชา, 2544)

พิวตริแฟคชัน (putrefaction) เป็นการย่อยสลายโปรตีนในสภาพไม่มีออกซิเจนให้เป็นกรดอะมิโน เอมีน แอมโมเนีย และไฮโดรเจนซัลไฟด์

กระบวนการหมัก (fermentation) เป็นการเปลี่ยนแปลงอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตให้เป็นกรด แอลกอฮอล์ และก๊าซ

การเหม็นหืน (rancidity) เกิดจากการเปลี่ยนแปลงอาหารพวกไขมัน ให้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล

นอกจากจุลินทรีย์จะย่อยสลายอาหารทำให้เกิดผลผลิตต่างๆ ดังกล่าว ซึ่งทำให้คุณภาพของอาหารเปลี่ยนไปแล้ว บางครั้งยังสังเคราะห์สารบางอย่างของจุลินทรีย์เอง เช่น จุลินทรีย์สร้างรงควัตถุ ทำให้อาหารมีสี หรือสร้างสารพวกพอลิแซ็กคาไรด์ ทำให้เกิดเมือกในอาหาร

2.2.3.3 ความต้องการสารอาหารของจุลินทรีย์

สารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (นงลักษณ์และปรีชา, 2544) มีดังนี้

1. แหล่งพลังงาน (energy source)

จุลินทรีย์ที่ต้องการแหล่งพลังงานจากแสงเรียกว่า โฟโตโทรฟ (phototroph) ส่วนจุลินทรีย์ที่ได้พลังงานจากกระบวนการออกซิเดชันสารเคมี เรียกว่า คีโมโทรฟ (chemotroph)

2. แหล่งคาร์บอน (carbon source)

แหล่งคาร์บอนอาจอยู่ในรูปคาร์บอนไดออกไซด์ แบคทีเรียที่สามารถใช้คาร์บอนไดออกไซด์ แล้วเปลี่ยนเป็นคาร์โบไฮเดรต เรียกว่า ออโตโทรฟ (autotroph) แบคทีเรียส่วนใหญ่ต้องการแหล่งคาร์บอนในรูปสารอินทรีย์ จึงเรียกว่าเฮเทอโรโทรฟ (heterotroph)

3. แหล่งของอิเล็กตรอน (electron source)

สิ่งมีชีวิตทุกชนิดต้องการแหล่งของอิเล็กตรอนเพื่อใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม บางพวกสามารถใช้สารอนินทรีย์เป็นแหล่งอิเล็กตรอน เรียกว่าลิโธโทรฟ (lithotroph) ส่วนพวกที่สามารถใช้สารอินทรีย์เป็นตัวให้อิเล็กตรอน เรียกว่าออร์แกโนโทรฟ (organotroph)

4. แหล่งของไนโตรเจน (nitrogen)

แบคทีเรียมีความสามารถในการใช้ไนโตรเจนได้กว้าง แบคทีเรียบางชนิดใช้ก๊าซไนโตรเจน บางชนิดใช้สารอนินทรีย์ไนโตรเจน เช่น แกลูตามิโน กรดแอมโมเนียม และบางชนิดใช้สารอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น กรดอะมิโน โปรตีน เพปไทด์

5. แหล่งของออกซิเจน ซัลเฟอร์ และฟอสฟอรัส

ออกซิเจนได้มาจากหลายแหล่ง เช่น น้ำ สารอาหาร ซัลเฟอร์จำเป็นในการสังเคราะห์กรดอะมิโนบางชนิด เช่น ซีสเทอีน เมไทโอนีน ส่วนความต้องการฟอสฟอรัสอาจอยู่ในรูปของฟอสเฟตที่เป็นองค์ประกอบของกรดนิวคลีอิก นิวคลีโอไทด์ ฟอสโฟลิพิด และสารอื่นๆ

6. ไอออนของโลหะ

ไอออนของโลหะบางชนิด เช่น K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+} จำเป็นต่อการเจริญตามปกติ และบางชนิดต้องการไอออนในปริมาณน้อยมาก เช่น Zn^{2+} , Cu^{2+} , Mn^{2+} , Mo^{6+} , B^{3+} และ Co^+ ที่เรียกว่า trace element ซึ่งมักมีอยู่เพียงพอในอาหารเลี้ยงเชื้อ

7. วิตามิน

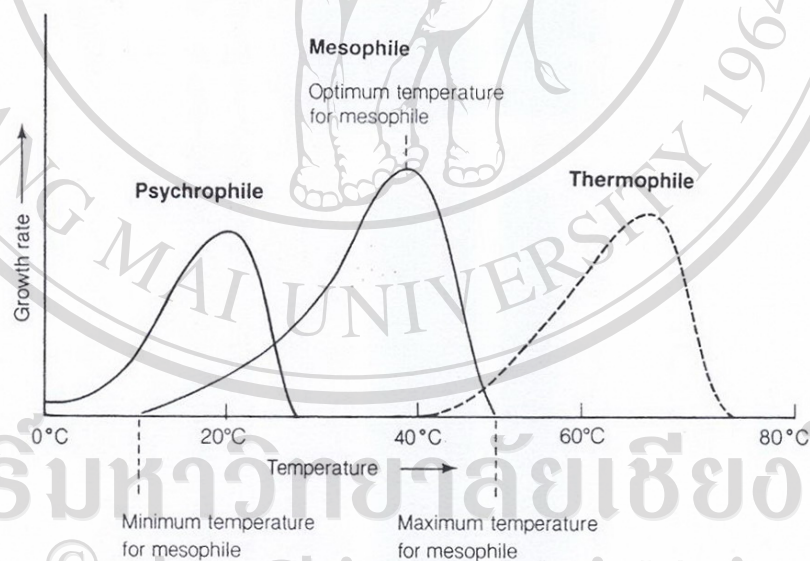
จุลินทรีย์ต้องการวิตามินเพื่อทำหน้าที่เป็นโคเอนไซม์ โดยบางชนิดสามารถสังเคราะห์วิตามินเองได้ เชื้อบางชนิดต้องการวิตามิน 1 ชนิดหรือบางชนิดอาจต้องการมากกว่า 1 ชนิดในการเจริญเติบโต

2.2.3.4 สภาพแวดล้อมที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

สภาพแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (นงลักษณ์และปรีชา, 2544) มีดังต่อไปนี้

1. อุณหภูมิ (temperature)

จุลินทรีย์มีความต้องการอุณหภูมิเพื่อการเจริญเติบโตแตกต่างกัน อุณหภูมิที่จุลินทรีย์เจริญได้ จะอยู่ระหว่างอุณหภูมิสูงสุด (Maximum temperature) และอุณหภูมิต่ำสุด (Minimum temperature) ซึ่งถ้าอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านี้จุลินทรีย์จะไม่เจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเรียกว่า อุณหภูมิเหมาะสม (Optimum temperature) อุณหภูมิทั้งสามชนิดนี้เรียกว่า อุณหภูมิคาร์ดินัล (Cardinal temperature) ที่สามารถใช้แบ่งจุลินทรีย์ออกเป็น 3 กลุ่ม (ภาพที่ 2.8) ดังนี้



ภาพที่ 2.8 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อการเจริญของจุลินทรีย์

ที่มา : นงลักษณ์และปรีชา, 2544

ก. ไชโครไฟล์ (psychrophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 0 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 15 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า พวกนี้จัดเป็น Obligate Psychrophile อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้คือ 30 องศาเซลเซียส แต่มีบางพวกมีช่วงอุณหภูมิเหมาะสมระหว่าง 25 - 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดในการเจริญคือ 35 องศาเซลเซียส จัดเป็น Facultative Psychrophile

ข. มีโซไฟล์ (mesophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางระหว่าง 25 - 40 องศาเซลเซียส โดยมีอุณหภูมิต่ำสุดที่จะเจริญได้ที่ 5 - 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเหมาะสมที่ 37 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่เจริญได้ที่ 43 องศาเซลเซียส

ค. เทอร์โมไฟล์ (thermophile) เป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงระหว่าง 45 - 60 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่จะเจริญได้อยู่ระหว่าง 60 - 85 องศาเซลเซียส อุณหภูมิเหมาะสมอยู่ที่ 50 - 55 องศาเซลเซียส เทอร์โมไฟล์บางพวกสามารถเจริญได้ในช่วงของมีโซไฟล์ จึงเรียกว่าแฟคัลเตทีฟเทอร์โมไฟล์ (Facultative Thermophile)

2. ก๊าซ (gases)

ก๊าซที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ คือ ออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสามารถจำแนกจุลินทรีย์ออกเป็น 4 กลุ่ม ตามความต้องการการออกซิเจน ดังนี้

ก. จุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจน (aerobic microorganisms) มีความต้องการออกซิเจนเพื่อใช้สร้างพลังงาน เนื่องจากไม่สามารถสร้างพลังงานโดยกระบวนการหมักได้ จึงถือว่าเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนอย่างแท้จริง ได้แก่ *Bacillus*, *Pseudomonas*

ข. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ที่มีออกซิเจนหรือไม่ก็ได้ (facultative microorganisms) พวกนี้สามารถสร้างพลังงานได้จากกระบวนการหายใจหรือกระบวนการหมัก และไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการสังเคราะห์ต่างๆ เช่น *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter*

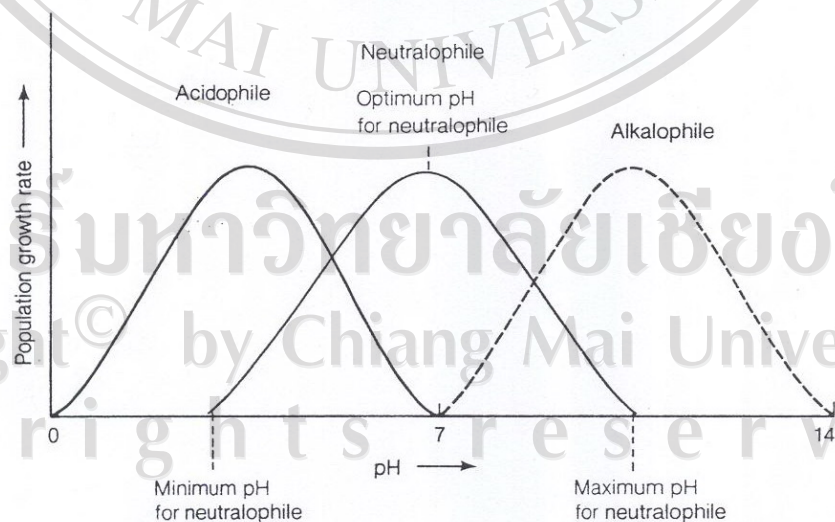
ค. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ที่มีออกซิเจนน้อย (microaerophilic microorganism) พวกนี้มีความต้องการออกซิเจนน้อยกว่า 0.02 เมกะพาสคาล อาจเนื่องจากออกซิเจนเป็นพิษต่อจุลินทรีย์เหล่านี้ เช่น *Lactobacillus*, *Neisseria*

ง. จุลินทรีย์ที่เจริญในที่ไม่มีออกซิเจน (**anaerobic microorganism**) เพราะออกซิเจนรวมกับน้ำเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นพิษ และจุลินทรีย์พวกนี้ไม่มีเอนไซม์คาตาเลส ได้แก่ *Clostridium*, *Methanobacterium*, *Bacteroides*

3. ความเป็นกรด – ด่าง (acidity or alkalinity, pH)

แบคทีเรียส่วนใหญ่มีค่า pH ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 6.5-7.5 ถึงแม้จะมีแบคทีเรียน้อยชนิดที่สามารถเจริญได้ที่ pH ช่วงอื่น ราวส่วนใหญ่และยีสต์เจริญได้ที่ pH ต่ำและ pH ที่เหมาะสมคือ 5 แต่อาจเจริญได้ที่ pH มากกว่า 7 จึงจัดเป็นพวกชอบกรดไม่แท้จริง (facultative acidophile) ส่วน *Thiobacillus*, *Sulfolobus* เจริญได้ที่ pH ต่ำมากๆ คือ pH ประมาณ 2 พวกนี้จึงจัดเป็นพวกชอบกรดอย่างแท้จริง (obligate acidophile) ส่วนจุลินทรีย์บางพวกชอบสภาพแวดล้อมที่มี pH มากกว่า 7 จึงจัดเป็นพวกชอบด่าง (alkaliphile) เช่น เชื้อ *Vibrio cholerae* สามารถเจริญที่ pH 8 ได้ จึงแยกเชื้อนี้ออกจากเชื้ออื่นๆในตำราได้ ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แสดงไว้ดังภาพที่ 2.9

เมื่อจุลินทรีย์เจริญในอาหารนานๆ จะทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของอาหารเปลี่ยนไปเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตมากจะปล่อยสารบางอย่างออกมา อาจเป็นกรดหรือด่าง จึงทำให้ pH เปลี่ยนแปลงไป และอาจไปขัดขวางการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้



ภาพที่ 2.9 ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับการเจริญของจุลินทรีย์

ที่มา : นงลักษณ์และปรีชา, 2544

4. แรงดันออสโมติก (osmotic pressure)

กระบวนการออสโมติกเกิดเมื่อความเข้มข้นของสารในสารละลายที่อยู่ภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ไม่เท่ากัน ทำให้เกิดแรงดันออสโมติก ถ้านำเซลล์แบคทีเรียใส่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นสูงกว่าภายในเซลล์ จะเกิดแรงดันออสโมติกดึงของเหลวออกนอกเซลล์ แต่หากนำเซลล์แบคทีเรียใส่ในสารละลายที่มีความเข้มข้นต่ำกว่าภายในเซลล์ จะทำให้ของเหลวจากภายนอกไหลเข้าเซลล์ การเลี้ยงเชื้อจึงควรคำนึงถึงแรงดันออสโมติกที่เหมาะสมด้วย

2.3 การบรรจุสุญญากาศ (Vacuum packing)

เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารในถุงที่ดูดอากาศออก มีผลทำให้เกิดสภาวะสุญญากาศภายในบรรจุภัณฑ์แล้วปิดผนึกเพื่อป้องกันอากาศเข้า เป็นผลให้บรรจุภัณฑ์ยุบตัวลง วิธีการนี้จะมีผลในการลดอากาศที่หลงเหลืออยู่ในบรรจุภัณฑ์ จากปกติ 0.1 เมกะพาสคาลลงเหลือ 0.03-0.04 เมกะพาสคาล (นวพร, 2549) ออกซิเจนที่ยังเหลืออยู่ในบรรจุภัณฑ์จะถูกดูดซับออกไป โดยปฏิกิริยาทางเคมีจากองค์ประกอบอาหารและกิจกรรมการหายใจของจุลินทรีย์ในอาหาร (สุมณฑา, 2545)

การบรรจุสุญญากาศใช้กับอุตสาหกรรมการผลิตเนื้อหลังชำแหละในขั้นต้นมานานแล้ว ทำให้เนื้อมีคุณภาพดี การบรรจุแบบสุญญากาศทำให้เนื้อเก็บรักษาไว้ได้นานกว่าในสภาวะที่มีอากาศถึง 5 เท่า ตามปกติเนื้อมักเน่าเสียจากแบคทีเรียแกรมลบที่ต้องการอากาศ แบคทีเรียดังกล่าวถูกยับยั้งโดยคาร์บอน ไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นในบรรจุภัณฑ์ และในบรรยากาศที่มีออกซิเจนต่ำหลังการปิดผนึกแล้ว ในสภาวะนี้จุลินทรีย์ที่เจริญได้ดีมักได้แก่แบคทีเรียที่ให้กรดแลคติก แต่การเมตาบอลิซึมดำเนินไปอย่างช้าๆ จึงไม่เกิดสารเมตาบอไลต์มากพอที่จะทำให้อาหารเน่าเสียดังเช่นการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบบางชนิดในสภาวะมีอากาศ (สุมณฑา, 2545)

อาหารอีกประเภทที่อาศัยเทคนิคการบรรจุสุญญากาศ ได้แก่ อาหารที่เรียกกันว่า sous – vide หมายถึงผลิตภัณฑ์อาหารที่บรรจุสุญญากาศก่อน แล้วนำมาผ่านความร้อนโดยการพาเสอร์ไรซ์ ซึ่งจะช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้นเมื่อเก็บโดยการแช่เย็น (สุมณฑา, 2545)

วัตถุประสงค์ของการใช้ก๊าซบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารจะแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ แต่ทั้งนี้ก็เพื่อเป้าหมายหลักเดียวกันคือชะลอหรือป้องกันการเสื่อมเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารก่อนเวลาอันควร เราสามารถจำแนกวัตถุประสงค์ของการใช้ก๊าซบรรจุผลิตภัณฑ์อาหารได้ ดังนี้ (งามทิพย์, 2537)

1. ชะลอหรือป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย สภาพบรรยากาศที่ไร้ก๊าซออกซิเจน จะช่วยชะลอหรือป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยทั่วไปจะใช้ได้ดีกับแบคทีเรียที่ชอบอากาศ (Aerobic bacteria) และเชื้อรา (Mould) ส่วนยีสต์ (Yeast) นั้นผลไม่ค่อยเด่นชัด
2. ชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหาร ปฏิกิริยาเคมีในอาหารที่สำคัญคือปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งเมื่อเกิดกับไขมันจะทำให้อาหารเหม็นหืน เมื่อเกิดกับวิตามินจะทำให้คุณค่าทางอาหารลดลง หรือสีของอาหารซีดจางลง เป็นต้น การชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยานี้จะต้องกำจัดก๊าซออกซิเจนภายในบรรยากาศล้อมรอบอาหารออกไป
3. ชะลออัตราการหายใจของพืช พืชจะหายใจช้าลงเมื่อความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนในบรรยากาศลดลง และหรือความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มขึ้น เมื่อพืชหายใจช้าลงการเสื่อมคุณภาพก็จะช้าลงด้วย โดยทั่วไปความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนไม่ควรต่ำกว่าร้อยละ 1-3 เพราะจะเกิดการหมักทำให้พืชเน่าเสียเร็วขึ้น ส่วนความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ถ้าสูงเกินไปอาจเป็นอันตรายต่อเซลล์ของพืชได้ อัตราส่วนความเข้มข้นของก๊าซที่ใช้ขึ้นกับชนิดของพืช
4. ชะลอหรือป้องกันการเจริญเติบโตและการฟักของไข่หนอน แมลงต่างๆที่อาจติดอยู่ในอาหาร ในสภาพไร้ออกซิเจน หนอน ไข่หนอนและแมลงต่างๆ ไม่สามารถเจริญเติบโตได้

2.3.1 ประเภทของการบรรจุผลิตภัณฑ์ภายใต้บรรยากาศของก๊าซ

Gas-Exchange Packing หมายถึงการบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่งหรือหลายชนิด โดยอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆจะแตกต่างจากที่พบในบรรยากาศปกติ โดยเมื่อ 30 ปีมานี้ มักเรียกการบรรจุภายใต้บรรยากาศของก๊าซนี้ว่า Controlled Atmosphere Packaging แต่เนื่องจากในทางปฏิบัติไม่สามารถควบคุมบรรยากาศรอบๆผลิตภัณฑ์ให้คงที่ตลอดเวลาได้ จึงจำแนกกระบวนการบรรจุนี้เป็น 4 ประเภท เพื่อให้สอดคล้องกับความเป็นจริง (งามทิพย์, 2537)

1. Controlled Atmosphere Packaging (CAP)

หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้สภาพบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆ แตกต่างไปจากบรรยากาศปกติ และอัตราส่วนนี้จะคงที่ตลอดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์

2. Modified Atmosphere Packing (MAP)

หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศที่มีอัตราส่วนของก๊าซชนิดต่างๆ แตกต่างไปจากบรรยากาศปกติ และอัตราส่วนนี้อาจเปลี่ยนแปลงได้ตามระยะเวลา โดยขึ้นกับชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่บรรจุ อัตราส่วนของก๊าซแรกเริ่ม วัสดุบรรจุที่ใช้ และสภาวะการเก็บผลิตภัณฑ์นั้นๆ

3. Gas-Flush Packaging

หมายถึงการบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซไนโตรเจน โดยการพ่นก๊าซนั้นๆเข้าไปแทนที่อากาศภายในภาชนะ วิธีนี้นิยมใช้สำหรับใส่ออกซิเจนในภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น อาหารที่มีไขมันมากๆ น้ำผลไม้

4. Vacuum Packaging

หมายถึง การบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้สุญญากาศ โดยการดึงอากาศภายในภาชนะและหรือภายในผลิตภัณฑ์ออกไป และไม่มีก๊าซใดๆเข้าไปแทนที่ จึงทำให้เกิดความแตกต่างระหว่างความดันภายในและภายนอกภาชนะ สังเกตได้จากการหดตัวของภาชนะบรรจุชนิดอ่อนตัว (Flexible form) หรือการยุบตัวของภาชนะประเภทกึ่งคงรูป (Semi-rigid form) โดยทั่วไป ความดันภายในภาชนะจะมีค่าประมาณ 6.67×10^{-5} ถึง 1.07×10^{-3} เมกะพาสกาล ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์และระบบการบรรจุ นอกจากนี้บรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในกระบวนการบรรจุแบบสุญญากาศจะต้องมีการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนต่ำ โดยมีการลดระดับความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนให้น้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ และมีการปิดผนึกหลังจากการไล่อากาศออก (Parry, 1993)

2.3.2 บรรจุภัณฑ์ที่ใช้

ปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมต่างๆ ได้มีการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง และมีการนำพลาสติกมาใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ กันอย่างแพร่หลาย อุตสาหกรรมอาหารนิยมใช้พลาสติกเป็นบรรจุภัณฑ์สำหรับการบรรจุ หีบห่อ ซึ่งพลาสติกที่ใช้กันอยู่มีหลายประเภท สามารถแยกตามชนิดพอลิเมอร์ น้ำหนักโมเลกุลและความหนาแน่น เช่น พลาสติกโพลีเอทิลีน (PE) สามารถแยกได้ตั้งแต่ LLDPE, LDPE, MDPE และ HDPE เป็นต้น พลาสติกแต่ละประเภทสามารถเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติโดยการทำปฏิกิริยากับพลาสติกอีกตัวให้เกิดพลาสติกใหม่เกิดขึ้น นอกจากนี้กระบวนการผลิตที่แตกต่างกันจะได้พลาสติกที่มีคุณสมบัติแตกต่างกัน (ปุ่นและสมพร, 2541) ซึ่งในการเลือกใช้พลาสติกแต่ละชนิดนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์

2.3.2.1 โพลีเอทิลีน (PE)

ในบรรดาฟิล์มพลาสติกที่ใช้สำหรับหีบห่อ PE เป็นพลาสติกที่มีการใช้กันมากที่สุดในขอบเขตที่กว้างขวาง ไม่ว่าจะเป็นผลิตภัณฑ์ผลสด ผลิตภัณฑ์อาหาร และผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆ (มยุรีและอมรรรัตน์, 2533) เนื่องจาก PE มีจุดหลอมเหลวต่ำ เมื่อเทียบกับพลาสติกอื่นๆ ทำให้ต้นทุนการผลิตต่ำ โดย PE ผลิตจากกระบวนการโพลิเมอไรเซชันของก๊าซเอทิลีน (Ethylene) ภายใต้ความดันและอุณหภูมิสูงโดยอยู่ในสภาวะปราศจากตัวเร่งปฏิกิริยาโลหะ (Metal Catalyst) ดังภาพ 2.10 การจับตัวกันของโมเลกุลในลักษณะโซ่สั้นและยาว จะส่งผลให้ PE ที่ได้ออกมามีความหนาแน่นแตกต่างกัน PE แบ่งเป็น 3 ประเภทตามค่าความหนาแน่น (ปุ่นและสมพร, 2541) คือ

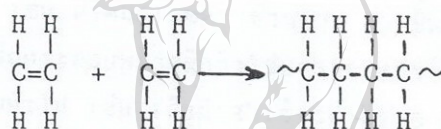
1. โพลีเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ (Low Density Polyethylene, LDPE และ Linear Low Density Polyethylene, LLDPE) ความหนาแน่น 0.910 – 0.925 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
2. โพลีเอทิลีนความหนาแน่นปานกลาง (Medium Density Polyethylene, MDPE) ความหนาแน่น 0.926 – 0.940 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
3. โพลีเอทิลีนความหนาแน่นสูง (High Density Polyethylene, HDPE) ความหนาแน่น 0.941 – 0.965 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

LDPE เป็นพลาสติกที่ใช้มากและมีชื่อสามัญว่าถุงเย็น มักใช้ทำถุงฟิล์มหัดและฟิล์มยืดขวดน้ำ และฝาขวด เป็นต้น เนื่องจากยืดหดตัวได้ดี ทนต่อการฉีกขาด พร้อมทั้งสามารถใช้ความ

ร้อนเชื่อมติดปิดผนึกได้ดี โครงสร้างของ PE สามารถป้องกันความชื้นได้ดีพอสมควร แต่ไขมันสามารถซึมผ่านได้ง่าย แต่ทนกรดและด่างทั่วไป นอกจากนี้ LDPE ยังสามารถปล่อยให้อากาศซึมผ่านได้ง่าย ด้วยเหตุนี้อาหารที่ไวต่ออากาศ เช่น ของขบเคี้ยวและของทอด เมื่อใส่ในถุงเย็นธรรมดาคุณภาพอาหารจะเปลี่ยนแปลงไปในเวลาไม่กี่วัน (ปุ่นและสมพร, 2541)

LLDPE เป็นพลาสติกที่มีการผลิตภายใต้สภาวะความดันต่ำ โดยนิยมนำมาใช้เป็นชั้นป้องกันความชื้นโดยการเคลือบกับ PE ซึ่ง LLDPE มีคุณสมบัติดีกว่า LDPE แต่จุดอ่อนคือ ขุ่นกว่า LDPE (ปุ่นและสมพร, 2541)

HDPE ส่วนใหญ่นิยมเป่าเป็นขวดเนื่องจากความหนาแน่นสูง ทำให้ HDPE เหนียวและทนต่อการซึมผ่านดีกว่า PE ที่มีความหนาแน่นต่างๆกัน แต่ยังไม่สามารถป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีนัก นอกจากขวดแล้ว HDPE ยังสามารถใช้เป่าเป็นฟิล์ม หรือทำเป็นถาดที่ไม่ต้องการความใสมากนัก (ปุ่นและสมพร, 2541)



ภาพ 2.10 การเกิดโพลิเอทิลีนของเอทิลีน

ที่มา : มยุรีและอมรรัตน์, 2533

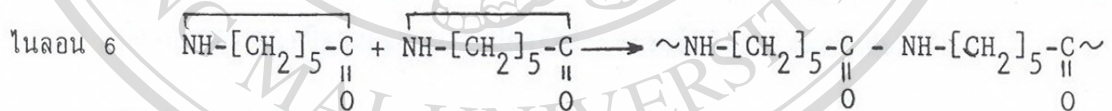
คุณสมบัติของ PE

1. โปร่งแสง โดยทั่วไปเมื่อความหนาแน่นเพิ่มขึ้นความใสจะลดลง
2. นิ่มและยืดหยุ่น
3. มีความเหนียวสูง
4. ทนทานต่อสารเคมีพวกกรดและด่าง
5. การดูดซึมน้ำต่ำมาก
6. ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี
7. ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดี
8. ป้องกันการซึมผ่านของไขมันได้ดี
9. ปิดผนึกด้วยความร้อนได้ดี ยกเว้น HDPE
10. มีความปลอดภัย สามารถใช้กับอาหารและยาได้

การใช้งาน PE นั้นมีการใช้งานในหลายประเภท ได้แก่ ใช้สำหรับเป็นถุงบรรจุอาหาร เช่น ผัก ผลไม้ อาหารแช่แข็ง ใช้สำหรับบรรจุสินค้าหนัก เช่น ผลผลิตทางการเกษตร ใช้เป็นถุงชั้นในของกระสอบพลาสติก ใช้ร่วมกับวัสดุอื่นๆ เช่น พลาสติกต่างๆ, กระดาษ, อะลูมิเนียม ในลักษณะการประกบหรือการรีดร่วม หรือการเคลือบ เพื่อเสริมคุณสมบัติการใช้งานให้เหมาะสม เช่น PET/LLDPE, Nylon/LLDPE ใช้ทำถุงบรรจุอาหารแช่แข็งที่บรรจุด้วยระบบสุญญากาศ เป็นต้น โดย LLDPE หรือ LDPE ทำหน้าที่เป็นวัสดุเชื่อมประสานในการปิดผนึก ป้องกันไอน้ำ และเพิ่มความเหนียว (มยุรีและอมรรัตน์, 2533)

2.3.2.2 โพลีเอไมด์ (PA)

Polyamide (PA) หรือที่รู้จักกันดีในชื่อของ ไนลอน ซึ่งมีหลายชนิดและเรียกตามจำนวนอะตอมของคาร์บอนในสารตั้งต้น เช่น ไนลอน 6 ไนลอน 11 เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติพิเศษต่างๆ กันไปอีก โดยการใช้สารเติมแต่งในระหว่างทำปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชัน ในบรรดาไนลอนทั้งหมด ไนลอน 6 นับว่าได้รับความนิยมใช้ในรูปของฟิล์มเพื่อการหีบห่อมากที่สุด (มยุรีและอมรรัตน์, 2533) การเกิดโพลิเมอไรเซชันของไนลอน 6 แสดงไว้ดังภาพ 2.11



ภาพ 2.11 การเกิดโพลิเมอไรเซชันของไนลอน 6

ที่มา : มยุรีและอมรรัตน์, 2533

คุณสมบัติของ PA

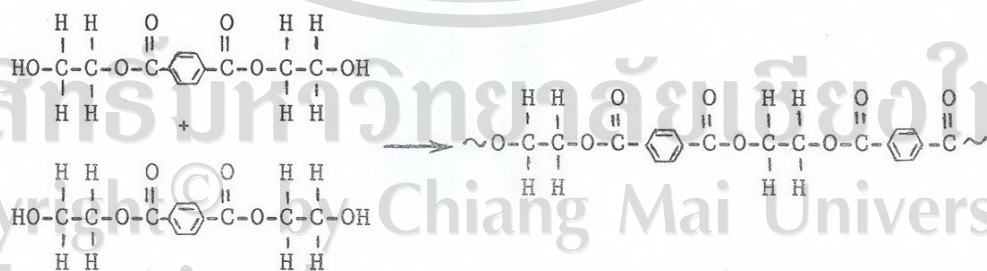
1. โปร่งใส
2. มีความเหนียวสูงโดยเฉพาะอย่างยิ่งสามารถต้านแรงทิ่มทะลุ และแรงดันทะลุได้
3. มีความคงรูป
4. มีความทนทานต่อการขีดสีสูง
5. มีความทนทานต่อสารเคมีพวกกรดและตัวทำละลาย แต่ไม่ทนทานต่อด่าง
6. ดูดซึมน้ำได้ดี

7. ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี
8. ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีมาก
9. ป้องกันการซึมผ่านของไขมันได้สูง
10. ทนทานต่ออุณหภูมิทั้งร้อนจัดและเย็นจัด สามารถใช้งานได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 160 °C และต่ำถึง -40 °C

การใช้งานไม่นิยมใช้ฟิล์ม PA เดี่ยวๆ เนื่องจากดูดซึมน้ำได้ง่าย และอุณหภูมิในการปิดผนึกสูง แต่จะใช้ร่วมกับพลาสติกชนิดอื่น ไม่ว่าจะเป็นอยู่ในลักษณะการประกบ การเคลือบ หรือการรีดรวม โดยทำถุงบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร และอุปกรณ์การแพทย์ เช่น MDPE/PA มักทำถุงประเภทต้มได้ LLDPE/PA ใช้บรรจุอาหารที่ต้องการเก็บรักษารสชาติ กลิ่น และมีอายุการเก็บรักษานานขึ้น โดยอาจบรรจุแบบธรรมดา หรือใช้สุญญากาศ (Vacuum Pack) ก็ได้ (มยุรีและอมรรัตน์, 2533)

2.3.2.3 โพลีเอทิลีนเทอร์ฟทาเลท (PET)

PET เป็นพลาสติกในกลุ่มโพลีเอสเทอร์ เพราะมีกลุ่มของเอสเทอร์ตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป อันได้มาจากปฏิกิริยาของเอทิลีนไกลคอลและไดเมทิลเทอร์ฟทาเลต ฟิล์ม PET ที่นิยมใช้มักผ่านกระบวนการการจัดเรียงโมเลกุลทั้ง 2 ทิศทางแล้ว เนื่องจากมีความใส สามารถป้องกันไอน้ำและก๊าซ และทนทานต่อสารเคมีได้ดีกว่าฟิล์ม PET ธรรมดา (มยุรีและอมรรัตน์, 2533) การเกิดโพลิเมอร์ของโพลีเอทิลีนเทอร์ฟทาเลท แสดงดังภาพ 2.12



ภาพ 2.12 การเกิดโพลิเมอร์ของโพลีเอทิลีนเทอร์ฟทาเลท

ที่มา : มยุรีและอมรรัตน์, 2533

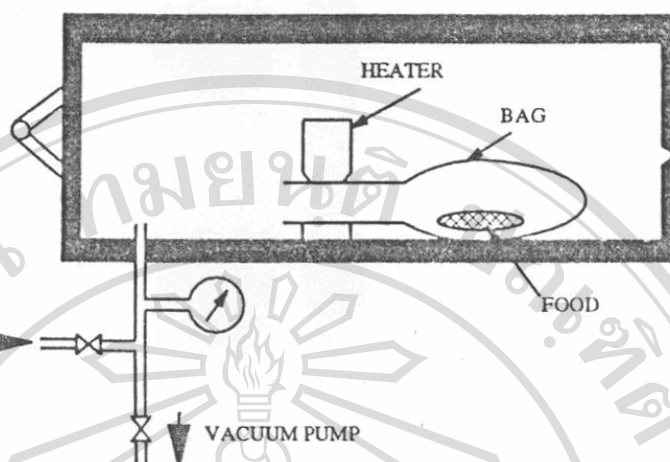
คุณสมบัติของ PET

1. โปร่งใส
2. มีความเหนียวสูง โดยเฉพาะอย่างยิ่งคุณสมบัติของค่าการต้านแรงดึง และแรงกระแทก
3. มีความทนทานต่อสารเคมีจำพวกกรดและตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดี แต่ไม่ทนด่าง
4. ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ดี
5. ป้องกันการซึมผ่านของก๊าซได้ดีมาก
6. ป้องกันการซึมผ่านของไขมันและน้ำมันได้ดี
7. ปิดผนึกด้วยความร้อนได้ แต่อุณหภูมิต้องสูงถึง $220 - 230^{\circ}\text{C}$
8. อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการใช้งานคือ สูงสุด 225°C ต่ำสุด -40°C

การใช้งานใช้เป็นวัสดุหลักในการเคลือบ หรือประกบกับพลาสติกชนิดอื่น หรือกระดาษ สำหรับทำถุงที่ต้องการใช้งานที่อุณหภูมิสูง เช่น ถุงที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน รวมทั้ง ถุงที่ใช้ในการบรรจุสุญญากาศ เป็นต้น พลาสติกที่นิยมใช้ร่วมกับฟิล์ม PET คือ PVDC, MDPE, LDPE และ CPP นอกจากนี้ยังใช้เป็นวัสดุหลักในการเคลือบกับไออะลูมิเนียม (metallizing) และการประกบกับแผ่นเปลวอะลูมิเนียม เช่น PET/Al/MDPE เป็นถุงบรรจุอาหารที่ต้องฆ่าเชื้อด้วยความร้อน met PET/LDPE เป็นถุงขนมและอาหารที่ต้องการป้องกันไอน้ำและก๊าซออกซิเจน เป็นต้น (มยุรีและอมรรัตน์, 2533)

2.3.3 เครื่องจักรสำหรับการบรรจุระบบสุญญากาศ

เครื่องจักรสำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์อาหาร ในระบบสุญญากาศสามารถแบ่งได้หลายประเภทตามลักษณะการทำงาน แต่ที่ใช้ในการทดลองนี้เป็นแบบเครื่องบรรจุระบบห้องปิด (Chamber – Type Vacuum Packaging Machine) ซึ่งมีหลักการทำงานคือ ระบบนี้การดึงอากาศจะดึงออกทั้งห้อง มิใช่เฉพาะอากาศในภาชนะ ดังนั้นการบรรจุจะกระทำภายในห้องปิด ดังแสดงในภาพ 2.13 นำภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์แล้ววางในห้องปิด ดึงอากาศทั้งห้องบรรจุออกไปซึ่งจะเป็นการดึงเอาอากาศในภาชนะด้วย ปิดผนึกภาชนะทันทีด้วยความร้อน เครื่องสุญญากาศจะหยุดทำงานและฝาห้องบรรจุจะเปิดโดยอัตโนมัติ เป็นการสิ้นสุดกระบวนการบรรจุ เครื่องบรรจุระบบห้องปิดนี้ทำงานแบบกึ่งอัตโนมัติ สามารถใส่ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ในห้องบรรจุได้ครั้งละหลายๆหน่วย ตามขนาดของห้องบรรจุและกำลังของเครื่องสุญญากาศ ระดับสุญญากาศจะสูงกว่าระบบหัวฉีด คือมีค่าประมาณ 6.67×10^{-5} ถึง 1.07×10^{-3} เมกะพาสกาล และสามารถดัดแปลงให้ใช้กับการบรรจุโดยระบบ MAP และ Gas Flush Packaging ได้ (งามทิพย์, 2537)



ภาพ 2.13 เครื่องบรรจุระบบห้องปิด (Chamber – Type Vacuum Packaging Machine)
ที่มา : งามทิพย์, 2537

2.3.4 การศึกษาผลของการบรรจุสุญญากาศต่อคุณภาพอาหาร

ในปี 2003 Murcia *et al.* ได้ทำการศึกษาปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้ารวมทั้งปริมาณจุลินทรีย์ในอาหารปรุงสุกพร้อมรับประทาน เช่น ชุปถั่วแดง ซึ่งเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ และสภาวะการตัดแปลงบรรยากาศ ซึ่งมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80 ไนโตรเจนร้อยละ 20 และทำการเปรียบเทียบกับบรรจุภัณฑ์ที่มีสภาวะบรรยากาศปกติ โดยเก็บรักษาเป็นเวลา 7 และ 29 วัน ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบว่าสภาวะสุญญากาศ และการตัดแปลงบรรยากาศ มีประสิทธิภาพสำหรับการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ถึง 29 วัน ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษามีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยในส่วนประกอบของอาหาร สำหรับปริมาณจุลินทรีย์ ยีสต์ และรา มีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาโดยไม่ขึ้นกับชนิดของบรรจุภัณฑ์ แต่จุลินทรีย์เจริญอย่างรวดเร็วในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาในสภาพบรรยากาศปกติ ต่อมา Gonzalez – Aguilar *et al.* (2004) ศึกษาผลของการบรรจุสุญญากาศ และการบรรจุโดยตัดแปลงบรรยากาศ ต่ออายุการเก็บรักษาของฟริกสดที่ผ่านการตัดแต่ง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 10 องศาเซลเซียส พบว่าฟริกสดที่เก็บรักษาโดยการตัดแปลงบรรยากาศมีคุณภาพที่ปรากฏดีกว่า โดยมีการซึมผ่านของน้ำออกมาน้อยกว่า และมีเนื้อสัมผัสแข็งกว่าการเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยจากคุณภาพของฟริกสดและปริมาณจุลินทรีย์ที่พบสรุปได้ว่าอายุการเก็บรักษาฟริกสดอยู่ที่ 14 และ 21 วัน เมื่อเก็บรักษาที่ 10 และ 5 องศาเซลเซียสตามลำดับ แม้ว่าปริมาณจุลินทรีย์ของฟริกสดที่เก็บ

รักษาภายใต้สุญญากาศมีปริมาณต่ำกว่าการบรรจุโดยตัดแปลงบรรยากาศ แต่การเก็บรักษาโดยการตัดแปลงบรรยากาศทำให้พริกสดมีคุณภาพดีกว่า ในขณะที่เดียวกัน Manurakchinakorn *et al.* (2004) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแอสคอร์บิก ปฏิกริยาออกซิเดชัน และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของมังคุดในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าสภาวะการตัดแปลงบรรยากาศ ที่มีออกซิเจนร้อยละ 5 กับคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 9 สามารถรักษาปริมาณกรดแอสคอร์บิก และชะลอปฏิกริยาออกซิเดชันในมังคุดได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับสภาวะบรรยากาศปกติ แต่ไม่มีความแตกต่างของปริมาณกรดแอสคอร์บิก การเปลี่ยนแปลงของปฏิกริยาออกซิเดชันระหว่างสภาวะการตัดแปลงบรรยากาศกับสภาวะสุญญากาศ อย่างไรก็ตามสภาวะตัดแปลงบรรยากาศสามารถรักษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของมังคุดได้ดีที่สุด ในปีเดียวกันนี้ Soliva – Fortuny *et al.* (2004) ศึกษาผลของการใช้เทคนิคหลายๆ เทคนิคเช่น การใช้ sorbic acid การลดปริมาณ a_w การเก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศ และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ต่ออายุการเก็บรักษา Avocado puree พบว่าการใช้ sorbic acid 300 mg/kg สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้มากกว่า 4 เดือน ส่วนการเก็บรักษา Avocado puree ภายใต้สภาวะสุญญากาศ ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษา Avocado puree ได้มากกว่า 112 วัน โดยไม่ไ้วัสดุกันเสีย ในปีถัดมา Cliffe – Byrnes and Beirne (2005) ศึกษาผลของการใช้สารกันเสีย ร่วมกับการบรรจุโดยตัดแปลงบรรยากาศ ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษาโคลสลอร์ โดยโคลสลอร์ที่ผ่านการแช่คลอรีนเป็นเวลา 5 นาที และเก็บรักษาที่ 4 และ 8 องศาเซลเซียส โดยการบรรจุโดยตัดแปลงบรรยากาศ พบว่าสามารถลดอัตราการหายใจของเซลล์ได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยพบว่าค่าคะแนนความชอบของโคลสลอร์ในด้านสี ลักษณะปรากฏ และกลิ่น มีคะแนนดีขึ้นเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และ Manju *et al.* (2007) ศึกษาผลของการแช่โซเดียมอะซิเตต ร่วมกับการบรรจุสุญญากาศต่ออายุการเก็บรักษาเนื้ปลา (*Etroplus suratensis*) โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็น พบว่าเนื้ปลาที่เก็บรักษาภายใต้บรรยากาศปกติมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 8 วัน ส่วนเนื้ปลาที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะสุญญากาศมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 10 วัน และเนื้ปลาที่ผ่านการแช่โซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 2 % w/v ร่วมกับการบรรจุสุญญากาศมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 15 วัน ดังนั้นการบรรจุสุญญากาศร่วมกับการแช่โซเดียมอะซิเตตช่วยลดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ได้

2.4 กระบวนการความดันสูง

การฆ่าเชื้อในอาหารโดยใช้ความร้อนหรือการสเตอริไลซ์ เป็นกระบวนการแปรรูปอาหารที่ใช้กันอย่างแพร่หลายมาเป็นเวลานาน แม้ว่าการให้ความร้อนแก่อาหารจะสามารถควบคุมจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพก็ตาม แต่ความร้อนที่ให้อาจเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติอาหาร เช่น กลิ่นรส วิตามิน ดังนั้นการแปรรูปอาหารด้วยวิธีที่ไม่ต้องใช้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อในอาหารโดยให้ผลการถนอมรักษาอาหารใกล้เคียงกัน จึงได้รับความสนใจจากบริษัทผู้ผลิตอาหารต่างๆ ปัจจุบันวิธีการแปรรูปอาหารโดยใช้ความดันสูงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง มีการวิจัยและพัฒนาเทคนิคการใช้ความดันสูงเพื่อการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารเป็นจำนวนมาก โดยเริ่มใช้กับผลิตภัณฑ์ประเภทแยม น้ำผลไม้ และในปัจจุบันมีการประยุกต์ใช้กับอาหารแปรรูปในภาชนะบรรจุด้วย (วิล, 2545)

กระบวนการความดันสูง จะสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างรวดเร็วโดยมีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้โปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์เสื่อมสภาพ มีผลต่อไขมันที่เป็นองค์ประกอบทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ปกติ คือ เสียความสามารถในการควบคุมการซึมผ่านของสารละลาย เป็นผลให้เซลล์ขาดอาหาร นอกจากนี้ความดันสูงยังทำลายผนังเซลล์และเอนไซม์ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ ผลจะทำให้เซลล์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (นาวพร, 2549) ระดับความดันที่มีผลต่อการทำลายจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ และใช้กันมากอยู่ในช่วง 300 – 700 MPa (Phua and Davey, 2007) โดยแบคทีเรียแกรมบวกจะทนต่อความดันมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากผนังเซลล์มีความหนาต่างกัน (Russel, 2002) โดยทั่วไปเซลล์ที่มีอายุน้อยจะถูกทำลายได้มากกว่าเซลล์ที่มีอายุมาก แบคทีเรียรูปท่อนจะถูกทำลายมากกว่าแบคทีเรียรูปร่างกลม และเซลล์ที่อยู่ในน้ำจะถูกทำลายได้ง่ายกว่าเซลล์ที่อยู่ในอาหารเหลว สปอร์ของแบคทีเรียทนต่อความดันสูงบางครั้งทนได้ถึง 1200 MPa ถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นความต้านทานของแบคทีเรียก็จะต่ำลง (นาวพร, 2549)

นอกจากการที่ความดันสูงสามารถทำลายจุลินทรีย์ในอาหารได้แล้ว ข้อดีของความดันสูงคือ จะไม่ทำลายสารชีวโมเลกุลขนาดเล็กในอาหาร เช่น กลิ่นรส วิตามิน สารสี ทำให้อาหารที่ผ่านความดันสูงยังมีลักษณะปรากฏ และคุณค่าทางอาหารใกล้เคียงกับของสดที่ยังไม่ผ่านการแปรรูป ซึ่งถือเป็นจุดเด่นที่น่าสนใจของเทคนิคนี้

2.4.1 หลักการและวิธีการทำงาน

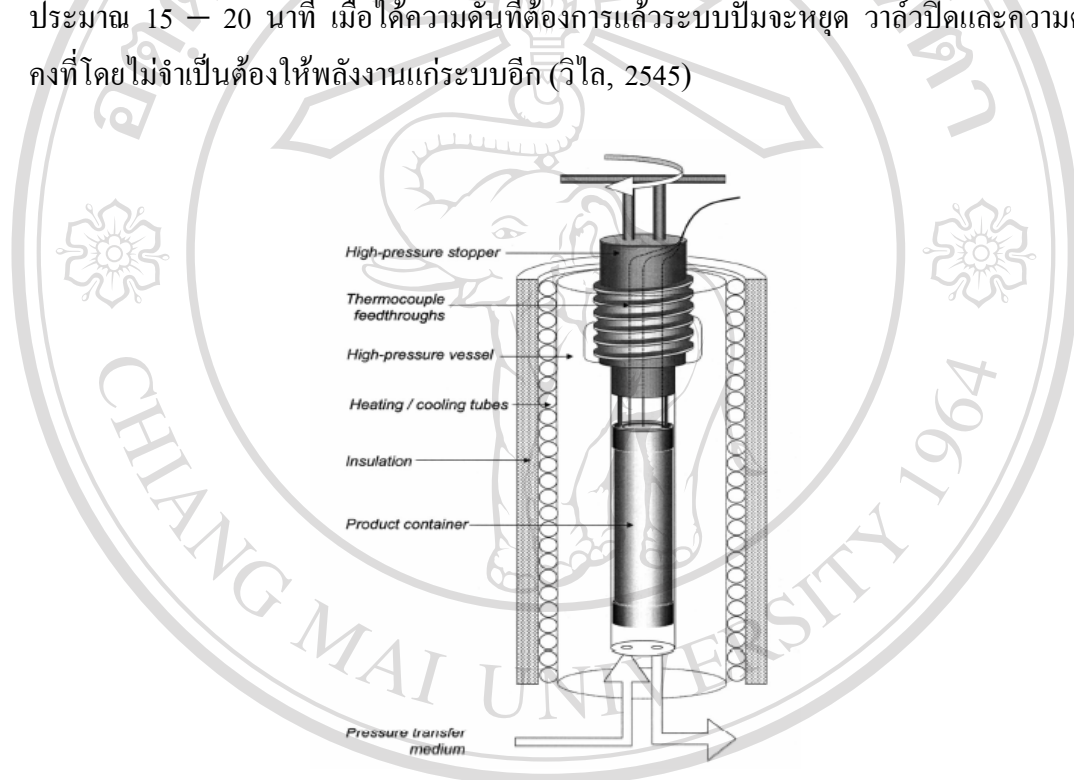
การใช้ความดันสูงจะช่วยทำลายจุลินทรีย์และเอนไซม์ รวมทั้งโปรตีนและโพลีแซคคาไรด์ ในอาหารเสียสภาพ (Chapleau *et al.*, 2006) หลักการพื้นฐานของการใช้ความดันสูงกับอาหารคือการบีบอัดน้ำที่อยู่ล้อมรอบอาหาร การลดปริมาตรน้ำที่ความดันสูงขึ้นถือว่าน้อยมาก เมื่อเปรียบเทียบกับก๊าซ น้ำจะมีปริมาตรลดลงประมาณ 4 % ที่ 100 เมกะปาสกาล 7 % ที่ 200 เมกะปาสกาล 11.5 % ที่ 400 เมกะปาสกาล ที่ 22 องศาเซลเซียส และน้ำจะเปลี่ยนเป็นของแข็งที่ความดันสูงกว่า 1,000 เมกะปาสกาล ที่อุณหภูมิห้อง (วิไล, 2545)

เมื่อสารละลายโปรตีนถูกบีบอัดตามที่ได้กล่าวมาแล้ว โปรตีนจะเกิดการเสียสภาพอย่างย้อนกลับได้หรือย้อนกลับไม่ได้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของโปรตีนนั้นรวมทั้งค่าความดันที่ให้ ทั้งนี้เนื่องจากพันธะนอนโควาเลนต์ จะถูกทำลายลงหรือมีการสร้างพันธะใหม่จากการที่ระบบมีปริมาตรลดลง พันธะโควาเลนต์จะไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงภายใต้สภาวะดังกล่าว โครงสร้างของสารประกอบขนาดใหญ่ เช่น กรดนิวคลีอิก แป้ง โพลีแซคคาไรด์ และไขมัน ซึ่งมีพันธะนอนโควาเลนต์เป็นองค์ประกอบ จะถูกทำลายและสูญเสียประสิทธิภาพการทำงานที่ความดันสูง เช่น เกิดการเสียสภาพ ตกตะกอน เกิดเจล ในขณะที่สารโมเลกุลเล็กๆ ซึ่งไม่มีพันธะนอนโควาเลนต์ เช่น วิตามิน กลีเซอรอล ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงใดๆ (วิไล, 2545)

ความดันจึงมีผลคล้ายคลึงกับความร้อนต่ออาหารและวัตถุทางชีวภาพ กล่าวคือ การใช้ความดันสูงให้ผลใกล้เคียงกับการใช้อุณหภูมิสูง แต่ข้อดีของความดันสูงคือน้ำซึ่งเป็นของเหลวจะถูกอัดแต่จะไม่มีผลต่อพันธะโควาเลนต์ ในการใช้ความดันสูงจะไม่พบผลอื่นๆ ที่อาจเกิดขึ้นหากใช้ความร้อนในการแปรรูป เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด การเกิดกลิ่นไหม้ ดังนั้นการประยุกต์ใช้ความดันสูงในการถนอมอาหาร โดยให้คงรักษากลิ่นรสธรรมชาติไว้ได้จึงเป็นเทคนิคที่น่าสนใจ ผลจากการทดลองบีบอัดไข่ในน้ำด้วยความดันสูงหลายพันเท่าของบรรยากาศ พบการตกตะกอนของโปรตีนไข่ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ไข่ขาวและไข่แดงจะตกตะกอนโดยสมบูรณ์ที่ 620 และ 400 เมกะปาสกาล ตามลำดับ โปรตีนไข่ที่ตกตะกอนจะย่อยง่ายขึ้น โดยมีกลีเซอรอลและสีตามธรรมชาติ และปริมาณวิตามินไม่ลดลง การใช้ความดันสูงโดยทั่วไปจะทำให้โปรตีนเสียสภาพ ซึ่งนับเป็นการทำลายเอนไซม์ และทำให้แป้งก่อเจล นอกจากนี้ยังทำลายจุลินทรีย์ต่างๆ โดยไม่ทำลายสารอาหาร (วิไล, 2545)

2.4.2 เครื่องความดันสูง

เครื่องมือที่ใช้ในการแปรรูปอาหารด้วยความดันสูง โดยทั่วไปเครื่องจะประกอบด้วยถังทนความดันสูงขนาด 10 – 15 ลิตร และผลิตความดันสูง เมื่อวางอาหารในภาชนะบรรจุลงในถังแล้วปิดฝาด้านบนเครื่อง ต่อจากนั้นจะเป็นการสูบลูกกลางในการให้ความดันซึ่งนิยมใช้น้ำเข้ามาได้ถึงความดันจะถูกส่งผ่านตัวกลางและอาหารอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอทั่วทั้งชิ้นอาหาร อาหารจะไม่เปลี่ยนแปลงรูปร่างเนื่องจากได้รับความดันเท่ากันทุกด้าน รอบเวลาที่ใช้ทั่วไปเป็นเวลาสั้นๆ ประมาณ 15 – 20 นาที เมื่อได้ความดันที่ต้องการแล้วระบบปั๊มจะหยุด วาล์วปิดและความดันจะคงที่โดยไม่จำเป็นต้องให้พลังงานแก่ระบบอีก (วิไล, 2545)



ภาพ 2.14 เครื่องแปรรูปอาหารด้วยความดันสูง
ที่มา : Denys *et al.*, 2000

ลิขสิทธิ์ © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4.3 ผลของความดันสูงต่อคุณภาพอาหาร

2.4.3.1 ผลของความดันต่อจุลินทรีย์

ความดันมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ซึ่งนำไปสู่การเพิ่มขึ้นของการซึมผ่านเข้าออกของสาร เมื่อมีการเพิ่มขึ้นของความดันและการลดลงของ

อุณหภูมิ จะมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของเยื่อหุ้มเซลล์ลดลง เนื่องมาจากเปลี่ยนแปลงส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์ โดยประสิทธิภาพการต้านทานต่อความดันที่แตกต่างของคาร์โบไฮเดรตภายในเยื่อหุ้มเซลล์ถูกจัดลำดับจากประสิทธิภาพสูงสุดไปต่ำสุด ได้แก่ Trehalose, Sucrose, Fructose, Glucose และ Glycerol ดังนั้นเซลล์จุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อนของ Propidium iodide หรือ Ethidium bromide รวมทั้งการเพิ่มขึ้นของ Extracellular ATP (Adenosine triphosphate) และโปรตีนถูกแยกออกจากพลาสมาเมมเบรนมากขึ้น แสดงให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเซลล์นั้นถูกทำลาย นอกจากนี้ความดันยังมีผลต่อ DNA และ RNA โดยเมื่อเพิ่มความดัน มีผลทำให้ DNA และ RNA เกิดการแยกตัว (รังสีมา, 2549) และความดันยังมีผลต่อการทำลายโปรตีนและเอนไซม์ในเซลล์ของจุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้

2.4.3.2 ผลกระทบต่ออาหาร

การใช้ความดันสูงเป็นการทำลายจุลินทรีย์และเอนไซม์ รวมทั้งทำให้โปรตีนและพอลิแซคคาไรด์เสียสภาพ ข้อดีของเทคนิคดังกล่าวคือ อาหารยังคงกลิ่นรส และคุณค่าทางอาหารได้ใกล้เคียงกับธรรมชาติ จึงมีศักยภาพสูงในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับวัตถุดิบ แต่มีอายุการเก็บรักษานาน ในบางประเทศมีการใช้ความดันสูง 400 – 600 เมกะปาสกาล เป็นเวลาไม่กี่นาที ในการเก็บรักษาแฮมซึ่งพบว่าเก็บแฮมได้นาน 60 วันที่อุณหภูมิแช่เย็น สามารถใช้กับภาชนะบรรจุแบบอ่อนตัวหรือกึ่งแข็งที่มีอยู่ในปัจจุบันได้ (วิไล, 2545)

2.4.4 การศึกษาผลของความดันสูงต่อคุณภาพอาหาร

ในปี 1996 Yen and Lin ทำการศึกษาผลของเทคนิคความดันสูงต่อคุณภาพและอายุการเก็บน้ำฝรั่งเข้มข้น (guava puree) พบว่า เมื่อใช้ความดัน 600 MPa อุณหภูมิ 25 °C เวลา 15 นาที ทำให้จุลินทรีย์ทั้งหมดลดลงเหลืออยู่น้อยกว่า 10 cfu/ml ค่าสี, ปริมาณเพคตินและปริมาณกรดแอสคอบิก ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างสด นอกจากนี้ยังสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ได้นานถึง 40 วัน โดยมีคุณภาพเหมือนตัวอย่างสด ต่อมา Castellari *et al.* (1997) ศึกษาผลของกระบวนการความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์ polyphenol oxidase ในองุ่น โดยใช้ระดับความดัน 3 ระดับ คือ 300, 600 และ 900 MPa และเวลา 3 ระดับ คือ 2, 6 และ 10 นาที โดยพบว่า ที่ระดับความดัน 300 และ 600 MPa สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้บางส่วน โดยเอนไซม์มีกิจกรรมลดลง 10-15 % ส่วนที่ระดับความดัน 900 MPa ทำให้กิจกรรมเอนไซม์ลดลงเหลือเพียง 20.7, 3.8 และ 0.9 % เมื่อคงความดันเป็นเวลา 2, 6 และ 10 นาที ตามลำดับ ต่อมา Sancho *et al.* (1999)

ศึกษาผลของความดันสูงที่มีต่อ hydrosoluble vitamin (B1, B6 และ C) เปรียบเทียบกับสิ่งทดลองอื่นๆ เช่น pasteurization และ sterilization พบว่า วิตามิน B1 และ B6 มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากไม่มีนัยสำคัญเมื่อผ่านความดันสูง ส่วนวิตามินซี แม้ว่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญแต่ไม่ขึ้นกับระดับความดันที่ใช้ และมีการศึกษาการลดลงของวิตามินซี ในตัวอย่างอาหารอีก 2 ชนิดคือ ไข่แดงและสตอเบอร์รี่ หลังผ่านความดันสูงและเก็บไว้เป็นเวลา 30 วัน ซึ่งผลที่ได้พบว่าความดันสูงไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการสลายตัวของวิตามินซี ในปี 2002 Krebbers *et al.* ศึกษาผลของความดันสูงต่อคุณภาพทางจุลินทรีย์ เนื้อสัมผัส สี ปริมาณวิตามินซี และกิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase ในถั่วเขียว เปรียบเทียบกับวิธีการดั้งเดิม คือการใช้ความร้อน (118 °C นาน 30 นาที) พบว่าเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน 1 เดือน ไม่มีจุลินทรีย์เจริญทั้งแบบใช้ความดันสูงและวิธีดั้งเดิม โดยถั่วเขียวที่ผ่านความดันสูง ยังคงมีเนื้อสัมผัสและวิตามินซีในปริมาณสูง เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม ส่วนสีเขียวมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างเก็บรักษาทั้งการใช้ความดันสูงและวิธีดั้งเดิม ส่วนกิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase พบว่าเหลืออยู่ 0.1 % เมื่อใช้วิธีดั้งเดิม และเหลืออยู่ 76 % เมื่อผ่านความดันสูง และในปีเดียวกันนี้ Sun *et al.* (2002) ศึกษาผลของความดันสูงต่อโครงสร้างของเอนไซม์ Polyphenol oxidase จากเห็ด โดยใช้ระดับความดัน 600 และ 800 MPa ในการทดสอบ พบว่า โครงสร้างทางโมเลกุล เช่น โครงสร้างระดับ secondary และ tertiary ของเอนไซม์เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยกิจกรรมของเอนไซม์จะถูกระงับยิ่งเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระดับความดันสูงขึ้น และเวลาในการคงความดันนานขึ้น โดยความดันสูงจะลดค่า negative ellipticity ในช่วง 210 – 225 nm ซึ่งแสดงถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับ secondary ของเอนไซม์ และการทดสอบ Fluorescence emission พบว่าความเข้มมีค่าลดลง เมื่อใช้ความดันสูงขึ้น และเวลานานขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างระดับ tertiary ของเอนไซม์ จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าความดันสูงมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์เนื่องจากเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเอนไซม์ ต่อมา Butz *et al.* (2003) ศึกษาการใช้ความดันสูงในการถนอมผัก ผลไม้หลายชนิด ได้แก่ ส้ม แอปเปิ้ล ลูกพีช น้ำส้ม แครอท มะเขือเทศ สตอเบอร์รี่ และราสเบอร์รี่ พบว่าคุณภาพในด้านปริมาณน้ำตาล, วิตามินซี, แคโรทีนอยด์ Anti-mutagenic และ Anti-oxidative ของผักผลไม้ส่วนใหญ่ เมื่อผ่านความดันสูงไม่แตกต่างกับของสด แต่ในการศึกษาผลของความดันสูงต่อการยับยั้งเอนไซม์อินเวอร์เทสในราสเบอร์รี่ พบว่าความดันสูงไม่สามารถยับยั้งเอนไซม์อินเวอร์เทสในราสเบอร์รี่ได้อย่างสมบูรณ์ โดยพบว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสมีการลดลง ในขณะที่น้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสมีการเพิ่มขึ้น ในระหว่างการเก็บรักษา และ Lakshmanan *et al.* (2005) ศึกษาผลของกระบวนการความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีน (Proteolytic enzyme) ในปลาแซลมอลรมควัน เก็บรักษาในตู้เย็น พบว่า เอนไซม์ 3 ชนิด คือ Cathepsin B-like, Cathepsin B+

L-like และ Calpains มีกิจกรรมลดลง เมื่อผ่านความดันสูง 300 MPa 9 °C 20 นาที โดย Calpains ถูกยับยั้งโดยสมบรูณ์ที่ 300 MPa แต่ความดันไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยโปรตีนโดยรวม และกิจกรรมเอนไซม์ Cathepsin B+ L-like และ Calpains เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วัน และไม่โอซินมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากที่ระดับความดัน 300 MPa และในปี 2006 Bayindirli *et al.* ทำการศึกษาผลของการใช้เทคนิคความดันสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในน้ำส้ม น้ำแอปเปิ้ล น้ำแอพพิคอต และน้ำเชอร์รี่ จากผลการทดลอง พบว่าจุลินทรีย์ก่อโรครถูกยับยั้งอย่างสมบรูณ์ที่ความดัน 350 MPa อุณหภูมิ 40 °C เป็นเวลา 5 นาที และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ พบว่าแอกติวิตีของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในน้ำแอปเปิ้ลเหลือเพียง $9 \pm 2.2\%$ เมื่อใช้ความดัน 450 MPa อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 60 นาที และแอกติวิตีของเอนไซม์เพคตินเมทิลเอสเทอร์เรสในน้ำส้ม เหลือเพียง $7 \pm 1.6\%$ เมื่อใช้ความดัน 450 MPa อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งการยับยั้งนี้เป็นแบบผันกลับไม่ได้ ทำให้เอนไซม์ไม่มีกิจกรรมเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา และในปีเดียวกันนี้ Ramirez-Suarez and Morrissey (2006) ศึกษาผลของความดันสูงต่ออายุการเก็บรักษาเนื้อปลาทูน่า (*Thunnus alalunga*) สับ โดยในการศึกษาได้แปรรูปทูน่าสับ โดยใช้ระดับความดัน 275 และ 310 MPa เป็นเวลา 2, 4 และ 6 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ -20 °C พบว่าเมื่อผ่านความดันมีผลทำให้ pH เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ปริมาณจุลินทรีย์ลดต่ำลงอย่างมาก สีของเนื้อปลาเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย และเกิดการปรับปรุงเนื้อสัมผัส เนื่องจากเกิด disulfide bond เพิ่มขึ้น โดยอายุการเก็บรักษาของเนื้อปลาทูน่าเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านความดันสูง โดยเก็บได้มากกว่า 22 วันที่ 4 °C และสามารถเก็บเนื้อทูน่าได้มากกว่า 93 วันที่ -20 °C และ Rodrigo *et al.* (2006) ศึกษาผลของอุณหภูมิและความดันต่อความเสถียรของเอนไซม์ Polygalacturonase และ Pectinmethylesterase ในมะเขือเทศ 4 สายพันธุ์ซึ่งใช้กันมากในอุตสาหกรรม จากผลการศึกษาพบว่า Polygalacturonase มี 2 ฟอรั่ม คือ Polygalacturonase 1 ซึ่งถูกยับยั้งที่ 90 °C 5 นาที และ Polygalacturonase 2 ซึ่งถูกยับยั้งที่ 65 °C 5 นาที ซึ่งตรงกันข้ามกับความดันเพราะทั้ง 2 ฟอรั่มมีความเสถียรใกล้เคียงกัน โดยถูกยับยั้งเมื่อใช้ความดัน 300 – 500 MPa ที่อุณหภูมิห้อง ส่วน Pectinmethylesterase พบว่าถูกยับยั้งที่อุณหภูมิ 70 °C 5 นาที แต่ยังคงมีกิจกรรมเอนไซม์เหลืออยู่ 50 % หลังผ่านความดัน 850 MPa 25 °C 15 นาที ดังนั้นกระบวนการความดันสูงสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ Polygalacturonase ได้ และสามารถยับยั้ง Pectinmethylesterase ได้บางส่วน