การศึกษาความเป็นได้ในการใช้พัลส์สนามไฟฟ้ายับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt

A Feasibility Study on Pulse Electric Field to Inactivate a Microorganism of *Saccharomyces cerevisiae* in Yeast Malt Medium

นรเศรษฐ์ ขันละ[1] ไตรธานี เยี่ยมอ่อน[2] นันทวรรณ ชาญวิชา[2] โสภณ บุญลือ[2] และ อำนาจ สุขศรี [1]
Noraset Kunla[1], Tritanee Yiam-on[2], Nantawan Chanwicha[2], Sopon Boonlue[2]and Amnart Suksri[1]

Abstract

This paper presents a feasibility study on using pulse electric field to inactivate yeast *Saccharomyces cerevisiae* in yeast malt medium by analyzing the reduction of colonies number and energy usage. The designed pulse electric field testing equipment is fed with high voltage DC charging unit at 18 kV for storage capacitor. The designed electrode chamber were constructed from stainless steel T-316 with a plane - plane type configuration which had a distance between the anode and cathode electrodes of 5 mm and it contained the liquid food up to 5.67 ml. The test equipment generated pulse electric field in either positive or negative polarity which is resulted to electrical field strength of 72 kV/cm at pulse width duration of 30 μs tested at 25 degrees celsius. A positive pulse electric field reduced the number of colony to 0.06-0.2Log and a negative pulse electric field reduced the number of colony to 0.002-0.01Log. It was found that a positive electric field pulses inactivated the number of colonies better than a negative electric field pulses. The energy consumption was found from 0 to 152.8 Joules for both pulse polarities. Furthermore, an increase in the number of pulses of the pulsed electric field inhibited the growth of *S. cerevisiae*, which decreased the number of colonies of *S. cerevisiae*.

Keywords: pulse electric field, electrode chamber, *Saccharomyces cerevisiae*

บทคัดย่อ

บทความนี้นำเสนอการศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้พัลส์สนามไฟฟ้าเพื่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt โดยวิเคราะห์ผลจากจำนวนประชากรของโคโลนีที่ลดลงและพลังงานไฟฟ้าที่ใช้ โดยทำการออกแบบวงจรทดสอบแรงดันสูงในรูปแบบพัลส์สนามไฟฟ้าที่แรงดันอัดประจุขาออก 18 kV DC และออกแบบชุดทดสอบอิเลคโตรดแชมเบอร์ด้วยสแตนเลส T-316 เพื่อสร้างสนามไฟฟ้าสำหรับทดสอบการเจริญของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt แบบระนาบ-ระนาบ มีระยะห่างระหว่างขั้วบวกและขั้วลบที่ 5 มิลลิเมตร ภายในอิเลคโตรดแชมเบอร์บรรจุอาหารเหลวได้ 5.67 มิลลิลิตร โดยทำการป้อนแรงดันสูงที่ 18 kV DC เพื่อทำการอัดประจุจากนั้นจะคายประจุและปล่อยพัลส์สนามไฟฟ้าสู่อิเลคโตรดแชมเบอร์ที่สร้างขึ้น ทำให้เกิดความเครียดสนามไฟฟ้าที่ 72 kV/cm ที่ขั้วบวกหรือขั้วลบ ที่ความกว้างของพัลส์ 30 μs การทดลองทำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า เมื่อปล่อยพัลส์สนามไฟฟ้าที่จำแนกออกเป็นขั้วบวกและขั้วลบ จำนวน 0-20 ลูก สามารถลดจำนวนโคโลนีได้ 0.06-0.2 Log ที่ขั้วบวกและ 0.002-0.01 Log ที่ขั้วลบ แสดงว่าพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกสามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อ *S. cerevisiae* ได้ดีกว่าพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วลบ พลังงานที่ใช้ 0-152.8 จูล ทั้งพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกและขั้วลบ ดังนั้นจำนวนพัลส์สนามไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณโคโลนีเชื้อ *S. cerevisiae* ลดลง โดยสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. cerevisiae*

คำสำคัญ: พัลส์สนามไฟฟ้า อิเลคโตรดแชมเบอร์ *Saccharomyces cerevisiae*

[1] ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
[1] Department of Electrical Engineering, Faculty of Engineering, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002
[2] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
[2] Department of Microbiology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

คำนำ

การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว ปัจจุบันมี 2 วิธี คือ กระบวนการใช้ความร้อนและกระบวนการไม่ใช้ความร้อน (Matsuda, 2000) การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว ให้อยู่ในระดับปลอดภัยสำหรับการบริโภค ตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันการฆ่าเชื้อโดยการใช้ความร้อนจะต้องใช้ความร้อนสูง ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ต้องการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการใช้ความร้อนทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารและรสชาติของอาหารเหลว ซึ่งไม่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค จึงได้มีการพัฒนาเทคโนโลยีใหม่ ๆ อาทิเช่น การใช้พัลส์สนามไฟฟ้า (Pulsed Electric Fields) ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่ต้องใช้ความร้อน พัลส์สนามไฟฟ้าเป็นการผ่านสนามไฟฟ้าความต่างศักย์สูง เป็นจังหวะสั้น ๆ เข้าไปในอาหารเหลวหรือไหลผ่านช่องว่างระหว่างขั้วไฟฟ้า 2 ขั้วภายในชุดอิเลคโตรด โดยจะมีการบุฉนวน และทำการอัดประจุไว้ในตัวเก็บประจุ (capacitor) จากนั้นจะคายประจุและปล่อยพัลส์สนามไฟฟ้าแรงสูงได้ทันทีดัง Figure1(Barbosa, 2001)

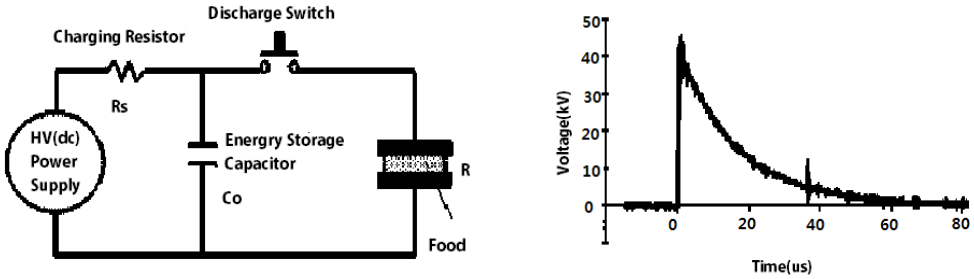

Figure1 Simplified electric circuit for pulse generation and Voltage-time for an exponential decay pulse

ในปัจจุบันนี้ศาสตร์ทางด้านสนามไฟฟ้า (สำรวย, 2549)ได้เริ่มเข้ามามีบทบาทในชีวิตประจำวันของเรามากขึ้น โดยนำไปใช้ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในการถนอมอาหารและยังคงคุณค่าทางอาหารของอาหารเหลวและน้ำผลไม้ (Grahl and Marlk, 1996) ซึ่งโครงสร้างเนื้อเยื่อของอาหารเหลวจะคงเดิมแต่จุลินทรีย์จะถูกทำลายไปดัง Figure 2 (นิติพงศ์, 2554)

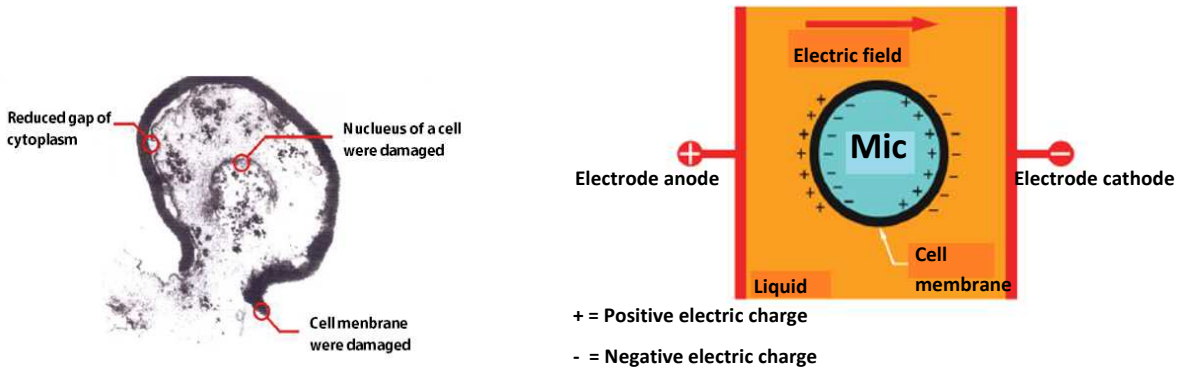

Figure 2 Damage of cell membrane of *Saccharomyces cerevisiae* due to a breakdown after exposure to Pulsed electric fields and electrical charges at the cell membrane

พัลส์สนามไฟฟ้านี้มีแนวโน้มที่จะพัฒนาให้มีการใช้อย่างแพร่หลายมากยิ่งขึ้น โดยในปี 2000 MacGregor *et al.* ได้นำเสนอวิธีการใช้พัลส์สนามไฟฟ้าเพื่อพิจารณาผลของสนามไฟฟ้าที่ประมาณ 30 kV/cm ในรูปแบบพัลส์ Square Wave ที่ขั้วลบและผลของจำนวนพัลส์สนามไฟฟ้าต่อการอยู่รอดของประชากรเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ โดยจำนวนพัลส์สนามไฟฟ้าที่มากขึ้นทำให้เชื้อจุลินทรีย์ลดประชากรลงได้ ในปี 2009 Oka *et al.* ได้นำเสนอวิธีการใช้พัลส์สนามไฟฟ้าแรงสูงโดยมีเชื้อจุลินทรีย์เป็นตัวอย่างการตรวจสอบการใช้พัลส์สนามไฟฟ้าแรงสูงผ่านอิเลคโตรดระนาบ-ระนาบในรูปแบบพัลส์ Exponential Wave ที่จำนวนพัลส์สนามไฟฟ้า 0-50 พัลส์ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้

พัลส์สนามไฟฟ้าเพื่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อประเภท Yeast Malt โดยวิเคราะห์ผลจากจำนวนประชากรของโคโลนีที่ลดลงและพลังงานไฟฟ้าที่ใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

การออกแบบชุดวงจรทดสอบแรงดันสูงสร้างพัลส์สนามไฟฟ้า

การออกแบบชุดทดสอบแรงดันสูงสร้างพัลส์สนามไฟฟ้า หลักการที่ออกแบบใช้วงจรคอนเวอร์เตอร์ โดยใช้ IC555 เป็นตัวสร้างสัญญาณ Astable Multivibrator แล้วใช้ Transistor BU508D เป็นสวิตซ์ จะได้สัญญาณ Astable ที่แรงดัน 67V จ่ายเข้าที่หม้อแปลง Flyback เบอร์ FUJ34H001F(S) แล้วจะยกระดับแรงดันสูงออกมา ซึ่งมีแรงดันประมาณ 18 kV DC จากนั้นนำมาต่อกับตัวเก็บประจุ 47.16 nF ทำการสวิตซ์ผ่านสปาร์กแกปจะได้แรงดันสูงออกมาผ่านอิเลคโตรดแชมเบอร์ ซึ่งวัดหาค่าแรงดันโดยใช้โวลเตจดิไวเดอร์ในอัตราส่วน 1: 1039 V/div ซึ่งวัดได้ประมาณ 72 kV/cm ที่ขั้วบวกและลบ

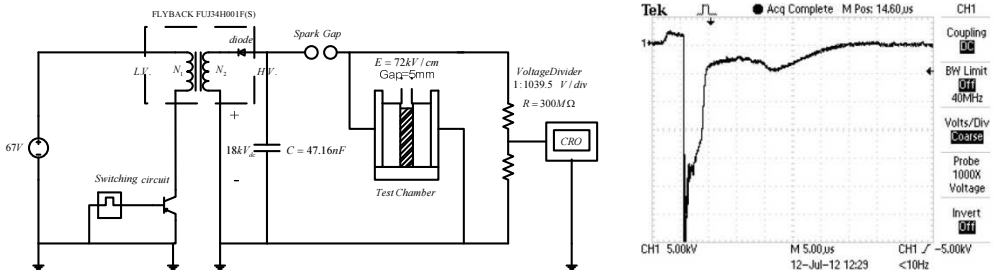

Figure 3 Circuit diagrams of a pulsed electrical field (PEF) and waveform of electrical pulse applied to the test Chamber for pulse electric field treatment

การออกแบบชุดทดสอบอิเลคโตรดแชมเบอร์

ชุดทดสอบอิเลคโตรดแชมเบอร์เป็นอุปกรณ์ที่สามารถสร้างสนามไฟฟ้าเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว โดยทำการออกแบบชุดทดสอบอิเลคโตรดแชมเบอร์แบบระนาบ-ระนาบ ชุดทดสอบอิเลคโตรดแชมเบอร์ประกอบด้วยขั้วไฟฟ้าทั้งขั้วบวกและขั้วลบที่ยึดติดอยู่กับฉนวน โดยมีระยะห่างระหว่างขั้วบวกและขั้วลบเพื่อเป็นพื้นที่ของสนามไฟฟ้าในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว ใช้สแตนเลสเบอร์ T316 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 38 มิลลิเมตรเป็นอิเลคโตรดขั้วบวกและขั้วลบทางไฟฟ้า และใช้เทฟลอนเป็นฉนวนทางไฟฟ้าโดยมีเส้นผ่านศูนย์กลางด้านใน 38 มิลลิเมตรและเส้นผ่านศูนย์กลางด้านนอก 50 มิลลิเมตร โดยทำการเซาะร่องเทฟลอนเพื่อป้องกันการแฟลตโอเวอร์ทางไฟฟ้า โดยมีระยะห่างระหว่างขั้วบวกและขั้วลบที่ 5 มิลลิเมตร ภายในอิเลคโตรดแชมเบอร์บรรจุอาหารเหลวได้ 5.67 มิลลิลิตร

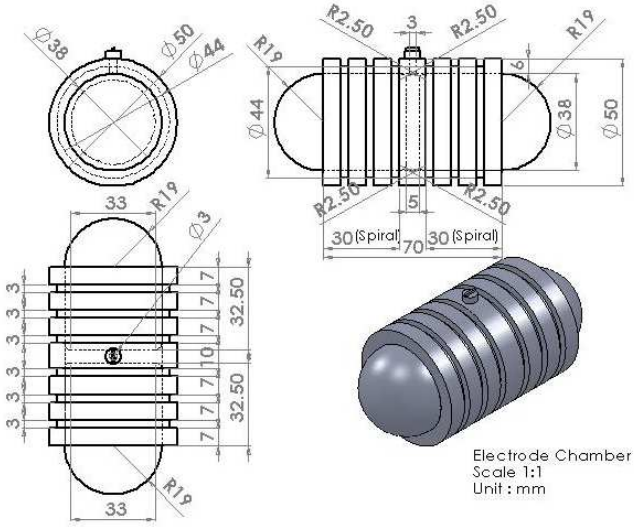

Figure 4 The treatment chamber made by parallel stainless steel plate design

ผล

จากการทดสอบปล่อยแรงดันสูงที่ 18 kV DC เพื่อทำการอัดประจุจากนั้นจะคายประจุและปล่อยพัลส์สนามไฟฟ้าสู่อิเลคโตรดแซมเบอร์ที่สร้างขึ้น ทำให้เกิดความเครียดสนามไฟฟ้าที่ 72 kV/cm ที่ความกว้างของพัลส์ 30 µs การทดลองทำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในรูปแบบพัลส์สนามไฟฟ้าที่จำแนกออกเป็นขั้วบวกและขั้วลบ จำนวน 0-20 ลูก สามารถลดจำนวนโคโลนีได้ 0.06-0.2Log ที่ขั้วบวกและ 0.002-0.01Log ที่ขั้วลบ ดัง Figure 5 จะเห็นว่า พัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกสามารถลดจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ดีกว่าพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วลบ พลังงานที่ใช้ 0-152.8 จูล ทั้งพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกและขั้วลบ จากการทดสอบเบื้องต้น พัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกมีแนวโน้มในการลดจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ได้ดีกว่าพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วลบ จึงทำการทดสอบเฉพาะพัลส์สนามไฟฟ้าที่เป็นขั้วบวกเท่านั้น โดยการป้อนพัลส์สนามไฟฟ้า จำนวน 0-1033 ลูก พลังงานที่ใช้ 0-7.891 กิโลจูล มีความเครียดสนามไฟฟ้า 72 kV/cm สามารถลดจำนวนโคโลนีได้ 0.23-0.5Log ดัง Figure 5 ดังนั้นจำนวนพัลส์สนามไฟฟ้าที่เพิ่มขึ้นทำให้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ลดลง และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* ได้

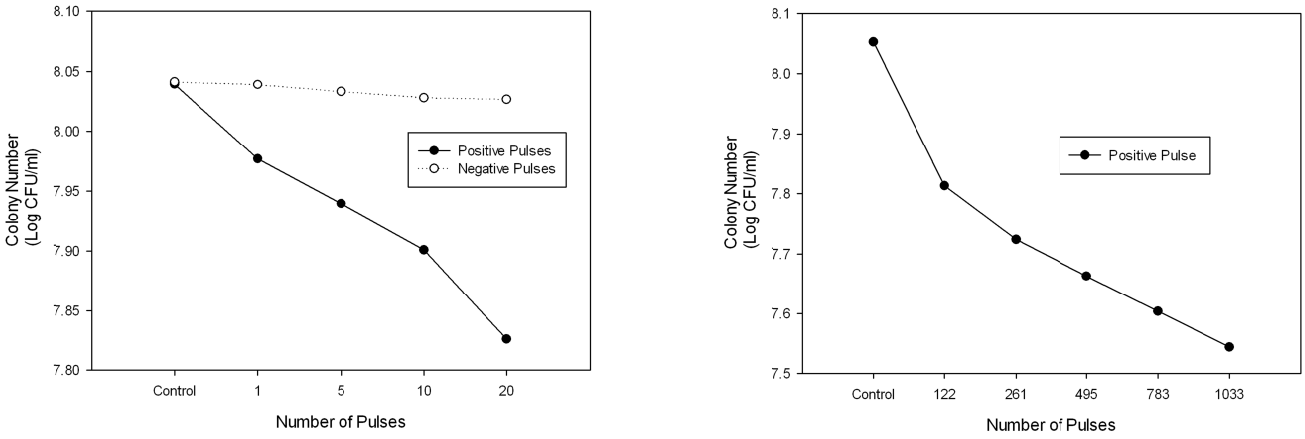

Figure 5 Pulse electric field to inactivate a microorganism of *Saccharomyces cerevisiae* in Yeast Malt medium

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ภาควิชาวิศวกรรมไฟฟ้า คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และภาควิชาวิทยาศาสตร์จุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่สนับสนุนอุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

นิติพงศ์ ปานกลาง. 2554. การออกแบบอิเล็กโตรดแซมเบอร์ขนาดเล็กสำหรับการพาสเจอร์ไรซ์อาหารเหลวด้วยสนามไฟฟ้าแบบพัลส์. วิศวกรรมสาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น 38: 255-263.

สำรวย สังข์สะอาด. 2549. วิศวกรรมไฟฟ้าแรงสูง. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. หน้า 4(4)-4(11).

Grahl, T. and H. Marlk. 1996. Killing of microorganisms by pulsed electric fields. Apply Microbiology Biotechnology 45: 148-157.

Barbosa G. V. 2001. Pulsed Electric Field in Food Processing. Technomic Publishing Company, Inc., Lancaster, Pennsylvania USA. 32-33.

MacGregor S.J., O. Farish, R. Fouracre, N.J. Rowan and J.G. Anderson. 2000. Inactivation of Pathogenic and Spoilage Microorganisms in a Test Liquid Using Pulsed Electric Fields. IEEE Transaction on Plasma Science 28: 144-149.

Matsuda,T. 2000. Sterilization and Preservation of Foods Nonthrmal Processes. Food Hygiene and Safety Science 41: 163-170.

Oka, Y., Y. Muramotol, N. Shimizul and S. Tchihara. 2009. Sterilization of Liquid by High Electric Field Pulse. IEEE Conference on Electrical Insulation and Dielectric Phenomena : 466-469.