

การแปรรูปอาหารโดยใช้ความดันสูง (*High hydrostatic pressure* *food processing*)

บทนำ

กระบวนการใช้ความดันสูงในการแปรรูปหรือถนอมรักษาอาหาร เป็นกระบวนการหนึ่งที่เป็นที่รู้จักและมีศักยภาพ โดยมีการศึกษาและนำมาประยุกต์ใช้กับอาหารเป็นเวลานานกว่าศตวรรษแล้ว และปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารที่ผลิตและแปรรูปโดยใช้กระบวนการนี้และประสบผลสำเร็จทางการค้าโดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งเป็นประเทศเริ่มแรกและทำให้เกิดการกระตุ้นและเกิดการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารโดยการใช้ความดันสูงในการแปรรูปและถนอมรักษาอาหารเพิ่มมากขึ้นและแพร่หลายไปยังประเทศต่างๆ หลายประเทศ เช่นประเทศสหรัฐอเมริกาและประเทศในแถบยุโรป ได้แก่ฝรั่งเศส สหราชอาณาจักร เยอรมันนีและสวีเดน ซึ่งได้มีการรวมกลุ่มเพื่อวิจัยและศึกษากระบวนการใช้ความดันสูงในการแปรรูปและถนอมอาหาร โดยมีการวิจัยพื้นฐานและการประยุกต์ใช้ รวมไปถึงการวิจัยในหน่วยงานวิจัยของบริษัทผลิตอาหารของเอกชนซึ่งมีบุคลากรและห้องปฏิบัติการเป็นของตนเอง

กระบวนการใช้ความดันสูงในการแปรรูปและถนอมอาหารนั้น จะต้องใช้ความรู้ทางด้านวิทยาศาสตร์หลายแขนงมาประกอบกันซึ่งรวมทั้งด้านเคมีและจุลชีววิทยาและทางด้านวิศวกรรม (Ledward et al., 1995) เพื่อให้สามารถนำวิธีการนี้มาใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพและทำให้อาหารมีความปลอดภัย อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนี้มีการนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดและได้ผลดีโดยมีการผลิตและจำหน่ายทางการค้า ได้แก่อาหารประเภทที่เป็นกรด (acid foods) เช่นแยม เครื่องดื่มน้ำผลไม้และโยเกิร์ต เป็นต้น แม้ว่ากระบวนการใช้ความดันสูงนั้นจะต้องใช้งบประมาณตั้งต้นในการลงทุนค่อนข้างสูง แต่พบว่าจะให้ผลตอบแทนดีในระยะยาว เนื่องจาก

เทคโนโลยีนี้เป็นเทคโนโลยีสะอาด ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการนี้มีความสดและใกล้เคียงกับธรรมชาติ (Ledward, 1995)

ประวัติการใช้ความดันสูงในการแปรรูปและถนอมรักษาอาหาร

เทคโนโลยีการใช้ความดันสูงนั้น เริ่มต้นมาจากการใช้ความดันสูงในอุตสาหกรรมการผลิตเซรามิก (ceramics) เหล็กและซูเปอร์อัลลอยด์ (superalloys) (Barbosa-Canovas et al., 1998 ; Devlieghere et al., 2004) และเริ่มนำมาใช้กับอุตสาหกรรมอาหารในภายหลัง โดยมีการศึกษาผลของความดันสูงต่อจุลินทรีย์ตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 20 โดยในปี ค.ศ. 1899 Hite ได้ตีพิมพ์วารสารงานวิจัยในการใช้ความดันเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมและหลังจากนั้น 15 ปีมีการวิจัยศึกษาในประเทศฝรั่งเศสเรื่องผลของความดันสูงต่อแบคทีเรีย และพบว่าการใช้ความดันสูง 600 เมกาปาสคาล (MPa) สามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์ปกติ (vegetative cells) ได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 1914 Percy Bridgeman นักวิจัยชาวอเมริกันศึกษาผลของความดันสูงต่อการตกตะกอนโปรตีน (protein coagulation) จากผลงานดังกล่าวทำให้เขาได้รับรางวัลโนเบลและในปีเดียวกัน Hite และคณะได้ตีพิมพ์งานวิจัยเกี่ยวกับการใช้ความดันในการถนอมรักษาผลไม้โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้เป็นเวลาถึง 5 ปี อย่างไรก็ตามงานวิจัยเกี่ยวกับเทคโนโลยีการใช้ความดันสูงยังไม่เป็นที่น่าสนใจมากนักจนกระทั่งในช่วงปี ค.ศ. 1980 จึงเริ่มมีการวิจัยการใช้เทคโนโลยีนี้อีกครั้งหนึ่ง โดยในประเทศสหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่นและประเทศในยุโรปและได้มีการวางจำหน่ายผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูปโดยกระบวนการใช้ความดันเป็นครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นในปี ค.ศ.1990 (Earnshaw, 1996)

ในการใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปอาหารนั้น มีนักวิจัยหลายท่านที่ให้คำจำกัดความและกำหนดช่วงของความดันที่ใช้แตกต่างกันออกไป เช่นเป็นกระบวนการที่ใช้ความดันสูงแก่อาหารที่อุณหภูมิปกติหรืออุณหภูมิห้องในช่วง 4,000-9,000 atm (Potakamury et al, 1995) หรือ 100 – 1,000 MPa (Ledward, 1995 ; Earnshaw, 1996) หรือ 100 – 600 MPa (Mertens, 1995) หรือ 100 – 800 MPa (Farkas and Hoover, 2000) ซึ่งโดยทั่วไปจะใช้น้ำเป็นตัวกลางในการผ่านความดันให้แก่อาหาร (pressurizing medium) เนื่องจากสะดวกและใช้ได้กับอาหาร และอาจใช้แก๊สเป็นตัวกลางได้ (โดยทำให้เกิดความดันน้อยกว่า 50 MPa) แต่ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากทำให้เกิดพลังงานที่สูงเกินไปและเกิดปัญหาเกี่ยวกับการระเบิดของถังความดัน (Earnshaw, 1996) ซึ่งน้ำที่ใช้เป็นตัวกลางนั้นจะมีปริมาตรลดลงเพียงเล็กน้อยเมื่อให้ความดันสูงในช่วงที่ให้แก่ออาหารและเก็บพลังงานไว้น้อยกว่ามากในขณะที่ให้ความดัน จึงสามารถลดความเสี่ยงจากการระเบิดเนื่องมาจาก

การใช้แก๊สเป็นตัวกลางได้ ในส่วนของอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลวนั้นสามารถนำมาใส่ในถังความดันและให้ความดันได้โดยตรงและในกรณีที่อาหารมีลักษณะเป็นของแข็งหรือของแข็งผสมของเหลวอาจนำมาบรรจุในภาชนะบรรจุที่อ่อนตัว (flexible containers) และจุ่มลงในของเหลวที่เป็นตัวกลางในถังความดันแล้วจึงให้ความดันจนถึงระดับที่กำหนดไว้

กระบวนการใช้ความดันสูงในการแปรรูปอาหารจัดเป็นกระบวนการแปรรูปที่ไม่ทำให้เกิดความร้อน (nonthermal process) หรืออาจทำให้เกิดความร้อนขึ้นน้อยมาก งาน (work) ที่เกิดจากการกดอัดในระหว่างการให้ความดัน (pressurization) หรือที่เรียกว่า adiabatic heat นั้นจะทำให้อุณหภูมิของอาหารเพิ่มขึ้น (ประมาณ 3 องศาเซลเซียสต่อ 100 MPa) และขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร แต่ความร้อนที่เกิดขึ้นนี้จะหายไปทันทีที่ลดความดันจนถึงระดับความดันบรรยากาศปกติ (Farkas and Hoover, 2000) จากข้อดีของกระบวนการนี้ในแง่ของการไม่ทำให้เกิดความร้อนเป็นผลให้คุณภาพอาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยและยังเป็นกระบวนการที่สามารถทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียได้ รวมทั้งยับยั้งเอนไซม์และใช้ผลิตอาหารที่มีคุณภาพสูงได้ กระบวนการนี้จึงได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น (Barbosa-Canovas et al., 1998) ในปัจจุบันได้มีการวิจัยและศึกษาการใช้ความดันสูงในการแปรรูปและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆรวมทั้งการใช้ความดันสูงร่วมกับกระบวนการแปรรูปหรือเทคโนโลยีอื่นๆ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและปรับปรุงคุณภาพอาหารทางด้านต่างๆ ให้ดียิ่งขึ้น

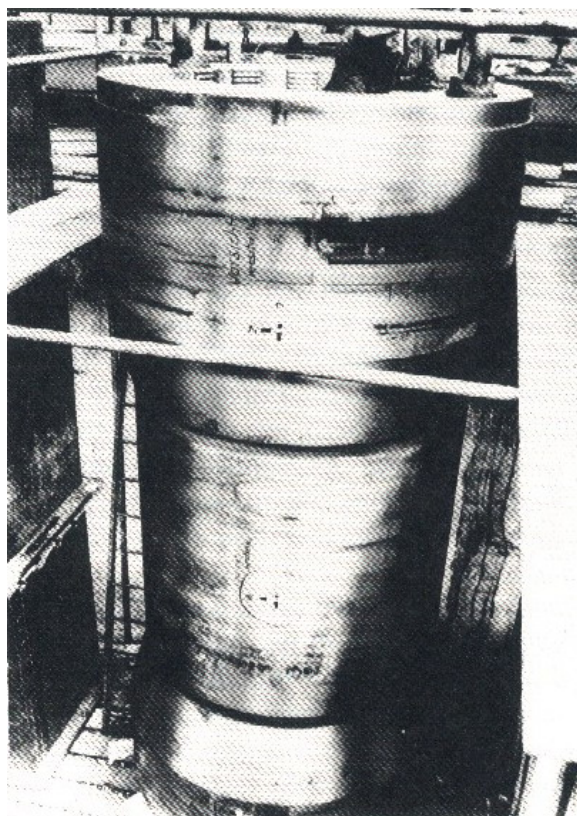
หลักการของกระบวนการใช้ความดันสูง

ความดันเป็นหนึ่งในตัวแปรที่สำคัญของปฏิกิริยาทางเทอร์โมไดนามิกส์และมีผลต่อโครงสร้างและกระบวนการทางชีวเคมีและความดันมีผลต่อปฏิกิริยาเคมีและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยเป็นไปตามกฎของ Le Chatelier ที่กล่าวว่าภายใต้สภาวะที่สมดุลเมื่อให้ความดันแก่ระบบจะทำให้ปริมาตรลดลงและจะเกิดขึ้นในทางกลับกัน นอกจากนั้นการที่ความดันเกิดขึ้นโดยทันทีและสม่ำเสมอโดยจะเกิดทั่วถึงเท่ากันทุกจุด (isostatic) ในทางปฏิบัติจะเห็นว่าการให้ความดันสูงแก่อาหารจะไม่มีส่วนใดของอาหารที่หลีกเลี่ยงความดันสูงได้ และกระบวนการใช้ความดันสูงไม่ขึ้นอยู่กับขนาด รูปร่างและองค์ประกอบของอาหาร (Farkas and Hoover, 2000) เป็นผลให้เวลาที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารลดลง (Zimmermann and Bergman, 1993)

เครื่องมือและระบบที่ใช้ในกระบวนการให้ความดันสูงแก่อาหาร

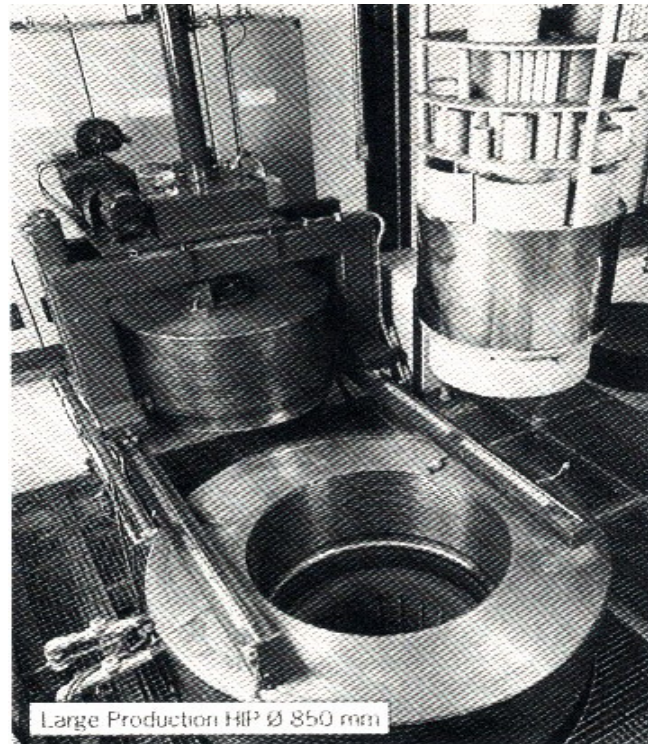
เครื่องมือและระบบที่ใช้ในกระบวนการให้ความดันสูงแก่อาหารสามารถแบ่งตามหน้าที่การทำงาน ได้แก่ ตัวถังและฝาปิด ระบบที่ทำให้เกิดความดันสูง อุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมอุณหภูมิในระบบและระบบการลำเลียง ซึ่งในแต่ละระบบหรืออุปกรณ์อาจทำเป็นอัตโนมัติได้มากน้อยแตกต่างกัน

1) ตัวถัง (pressure vessels) และฝาปิด (closures) เป็นส่วนที่สำคัญที่สุดของกระบวนการให้ความดันสูง โดยทั่วไปตัวถังจะทำด้วยเหล็กหล่อครั้งเดียวและไร้รอยเชื่อมต่อ (monobloc high pressure vessel) เป็นรูปทรงกระบอก (ดังภาพที่ 2.1) ซึ่งสามารถทนความดันสูง โดยความหนาของตัวถังจะขึ้นอยู่กับความดันสูงสุดที่ต้องการทำให้เกิดขึ้น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของตัวถังและจำนวนรอบที่ใช้งาน โดยทั่วไปความดันสูงสุดที่ใช้กับตัวถังชนิดนี้อยู่ในช่วง 4,000 – 6,000 บาร์ขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางด้านในของตัวถัง ในกรณีที่ต้องการใช้ความดันสูงกว่านี้จะต้องออกแบบตัวถังเพื่อลดความเครียดที่เกิดมาจากความดันสูงโดยอาจใช้ตัวถังมาซ้อนกันหลายชั้น (multilayer vessels) หรือนำเส้นลวดมาพันรอบตัวถัง (wired wound)



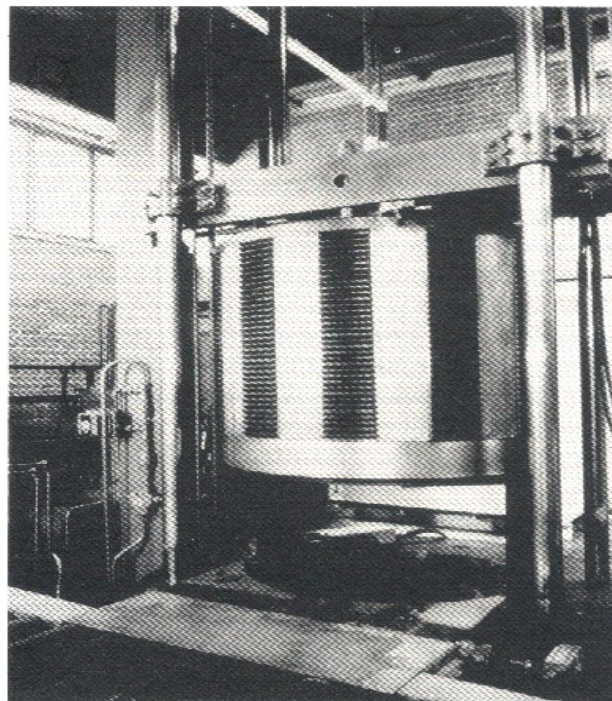
ภาพที่ 2.1 ถังความดันสูงรูปทรงกระบอก

ที่มา : Mertens (1995)



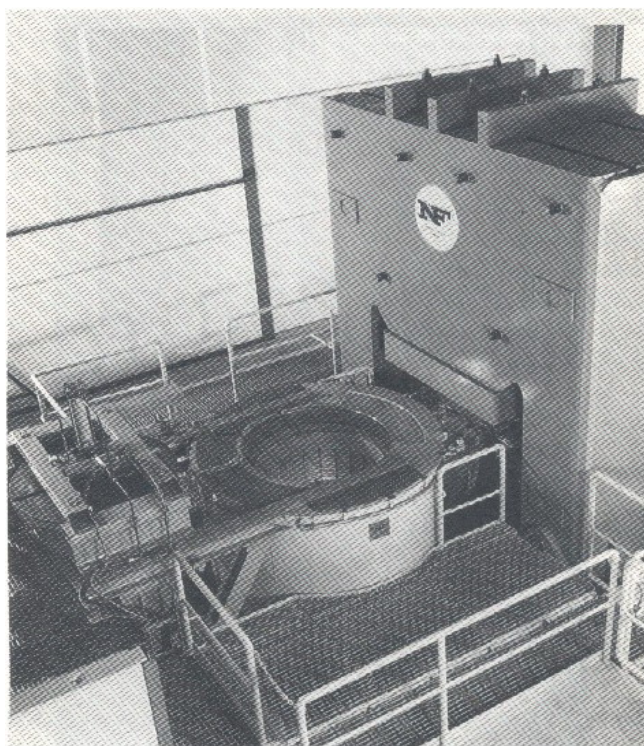
ภาพที่ 2.2 ฝาแบบเกลียวต่อเนื่อง (continuous thread closures)

ที่มา : Mertens (1995)



ภาพที่ 2.3 ฝาแบบเกลียวไม่ต่อเนื่อง (interrupted thread closures)

ที่มา : Mertens (1995)



ภาพที่ 2.4 ฝาแบบโครง (frame closures)

ที่มา : Mertens (1995)

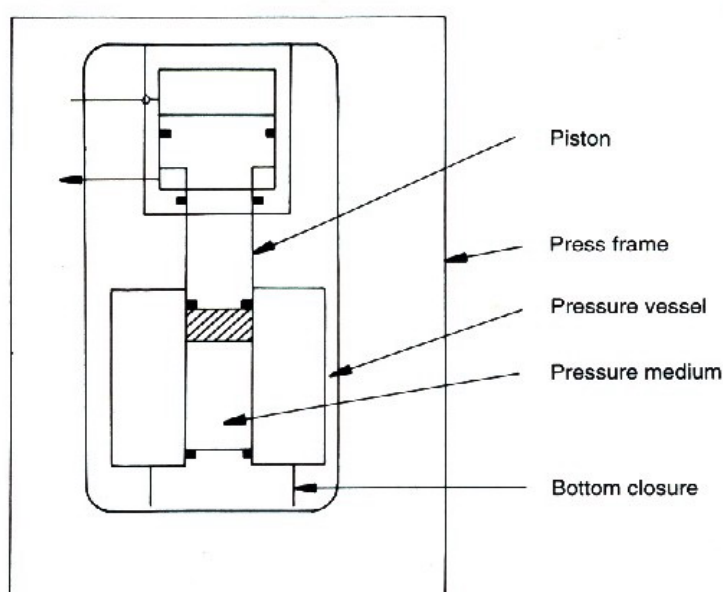
ในส่วนของฝาปิด (closures) สำหรับถังความดันสูงนั้นอาจแบ่งตามลักษณะที่แตกต่างกันได้ 3 ประเภทได้แก่ฝาแบบเกลียวต่อเนื่อง (continuous thread closures) ฝาแบบเกลียวไม่ต่อเนื่อง (interrupted thread closures) และฝาแบบโครง (frame closures) แสดงดังภาพที่ 2.2 2.3 และ 2.4 ตามลำดับ

Mertens (1995) รายงานว่าการออกแบบฝาปิดถังความดันสูงขึ้นอยู่กับลักษณะของการนำไปใช้งาน โดยฝาแบบเกลียวไม่ต่อเนื่องนั้นนิยมใช้กับอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากเปิดได้รวดเร็ว ทำให้เวลาในการให้ความดันสูงในแต่ละครั้งลดลงหรือทำให้จำนวนรอบการใช้งานเพิ่มขึ้นแต่ฝาชนิดนี้มีราคาสูง สำหรับฝาแบบเกลียวต่อเนื่องนั้นมีข้อเสียตรงที่เปิดได้ช้า เหมาะแก่กระบวนการที่ใช้ความดันสูงเป็นเวลานานแต่มีข้อดีตรงที่ราคาต่ำกว่า ส่วนฝาแบบโครงนั้นต้องการพื้นที่มากขึ้นเพื่อให้ตัวโครงสามารถเลื่อนเข้ามาประกบกับถังความดันสูงได้ แต่ฝาแบบนี้มีราคาแพงเนื่องจากต้องมีการป้องกันการรั่วไหลและใช้เวลาในการเปิดปิดนานกว่าฝาแบบเกลียวไม่ต่อเนื่อง

กระบวนการทำให้เกิดความดันสูง

ตัวถัง (pressure vessels) ที่ทนต่อความดันสูงนี้ปกตินำมาใช้ในอุตสาหกรรมเหล็กและเซรามิกส์ แต่สำหรับอุตสาหกรรมอาหารต้องใช้ตัวถังที่มีความทนทานต่อความดันที่สูงมาก ประมาณ 4,000 atm ซึ่งพบว่าจะมีประสิทธิภาพในการใช้ประมาณ 100,000 รอบหรือ cycle ต่อปี (Barbosa-Canovas et al., 1998) การทำให้เกิดความดันสูงสามารถกระทำได้หลายวิธีได้แก่

- 1) การกดอัดโดยตรง (direct compression) วิธีการนี้กระทำโดยการกดอัดสารตัวกลาง (pressurizing medium/pressure medium) โดยตรงโดยใช้กระบอกสูบ (piston) ดังภาพที่ 2.5

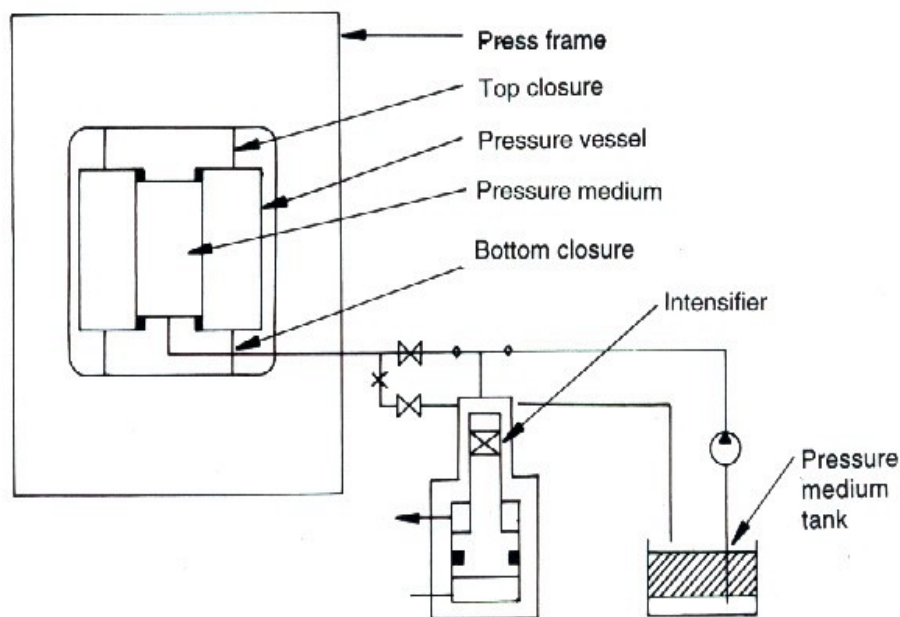


ภาพที่ 2.5 การทำให้เกิดความดันสูงโดยการกดอัดโดยตรง (direct compression)

ที่มา : Mertens (1995)

จากภาพจะเห็นว่ามีการใช้ปั๊มแรงดันต่ำ (low pressure pump) ซึ่งจะทำหน้าที่ดันลูกสูบให้ลงมาอัดสารตัวกลางอีกทีหนึ่ง วิธีการกดอัดโดยตรงนี้สามารถดำเนินการได้อย่างรวดเร็วแต่มีข้อจำกัดตรงรอยต่อระหว่างบริเวณลูกสูบและด้านในของกระบอกสูบ ซึ่งอาจไม่แข็งแรงพอ ดังนั้นทำให้วิธีการนี้ใช้ได้กับเครื่องกำเนิดความดันสูงที่มีขนาดเล็กหรือระดับนำร่อง (pilot plant) เท่านั้น

- 2) การกดอัดโดยทางอ้อม (indirect compression) วิธีการนี้ใช้อินเทนซิฟายเออร์ (intensifier) ในการปั๊มสารตัวกลางจากถังเก็บ (reservoir) เข้าไปยังถังความดันที่ปิดสนิทจนกระทั่งได้ความดันใน



ภาพที่ 2.6 การทำให้เกิดความดันสูงโดยการกดอัดทางอ้อม (indirect compression)

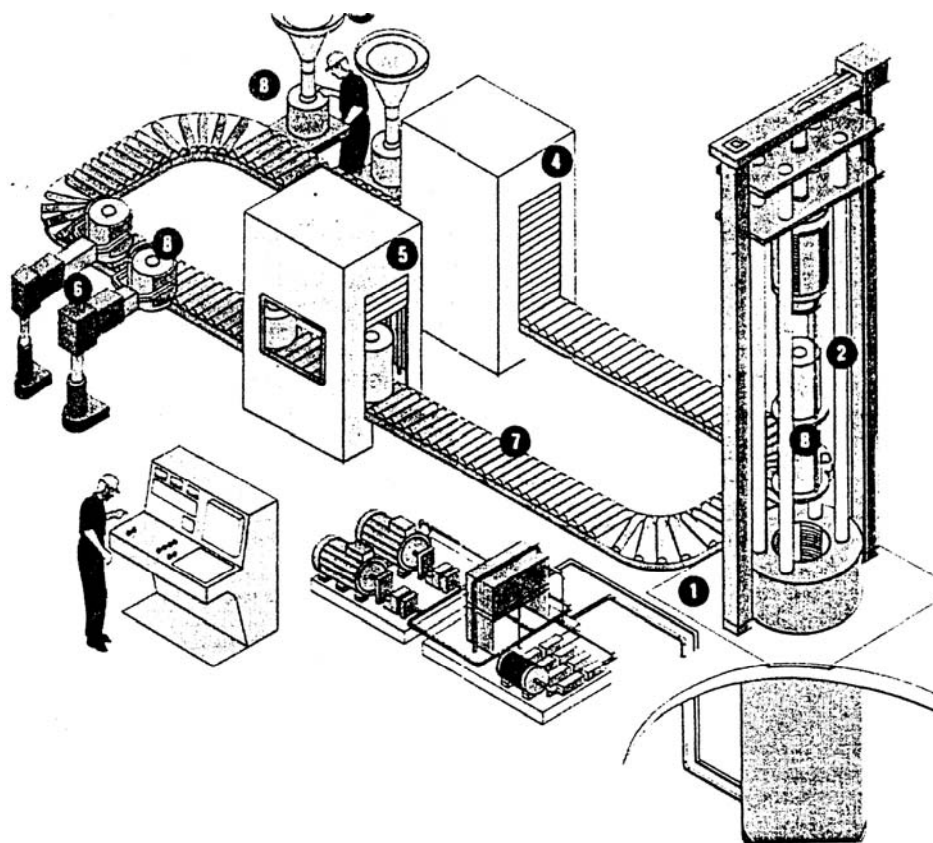
ที่มา : Mertens (1995)

ระดับที่ต้องการ ดังภาพที่ 2.6 ซึ่งในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มักใช้วิธีนี้ในการทำให้เกิดความดันสูง

3) การให้ความร้อนแก่สารตัวกลาง (heating of the pressure medium) ใช้หลักการขยายตัวของตัวกลางเมื่อเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นและทำให้เกิดความดันสูง การให้ความร้อนแก่สารตัวกลางนี้จึงใช้เมื่อต้องการทำให้เกิดความดันสูงร่วมกับการใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งจำเป็นต้องมีระบบควบคุมอุณหภูมิที่มีความเที่ยงตรงภายในตัวถึงความดัน

ระบบที่ทำให้เกิดความดันสูง (isostatic pressing systems) นั้น Mertens and Deplace (1993) รายงานว่าสามารถแบ่งตามลักษณะการปฏิบัติงานได้เป็น 3 ลักษณะ ได้แก่

1) cold isostatic pressing (CIP) ระบบนี้เป็นระบบที่ใช้ในอุตสาหกรรมขึ้นรูปเหล็ก เซรามิกส์ คาร์บอน/กราไฟต์ และพลาสติก โดยการนำผงวัสดุมาใส่ลงในแม่พิมพ์ (elastomer mold) และนำไปให้ความดันสูงในช่วงระหว่าง 500 – 6000 atm กระบวนการ CIP นี้ใช้วิธีการที่แตกต่างกัน 2 แบบ ได้แก่ wet bag และ dry bag โดยวิธี wet bag นั้น จะมีการเติมวัสดุลงในแม่พิมพ์ภายนอกตัวถึงความดัน แสดงดังภาพที่ 2.7 จากภาพหลังจากเติมวัสดุในแม่พิมพ์แล้ว นำแม่พิมพ์ไปใส่ในถังความดัน แล้วจึงเติมสารตัวกลางลงไปและทำการให้ความดัน ส่วนวิธี dry bag นั้น



ภาพที่ 2.7 โรงงานที่ใช้วิธี wet bag

ที่มา : Barbosa-Canovas et al. (1998)

แม่พิมพ์จะอยู่ในตัวถึงความดันและแยกจากสารตัวกลาง ในทางปฏิบัติพบว่าวิธี wet bag จะใช้เวลาในแต่ละรอบ (cycle) ประมาณ 2 – 3 นาที ในขณะที่ dry bag จะใช้เวลาดังแต่ 20 – 60 วินาที โดยระบบ CIP นี้เป็นระบบที่เหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

2) warm isostatic pressing (WIP) ระบบนี้เป็นระบบที่ใช้ในอุตสาหกรรมขึ้นรูปวัสดุต่างๆ เช่นเดียวกันแต่มีการใช้ร่วมกับอุณหภูมิในช่วงระหว่างอุณหภูมิปกติจนถึง 200 องศาเซลเซียส โดยระบบ WIP นี้ใช้เพื่อทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีในระหว่างการให้ความดันสูง

3) hot isostatic pressing (HIP) ระบบนี้เป็นระบบที่ใช้ในอุตสาหกรรมหล่อโลหะและเซรามิกส์ โดยทำให้วัสดุเกิดความร้อนและให้ความดันสูงอย่างสม่ำเสมอ ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้อาจสูงถึง 2,200 องศาเซลเซียสและความดันที่ใช้อยู่ในช่วง 1,000 – 4,000 atm สารตัวกลางให้ความดันที่ใช้ได้แก่ แก๊สอาร์กอน ไนโตรเจน ฮีเลียมหรืออากาศและเวลาที่ใช้ในแต่ละรอบอยู่ระหว่าง 6 – 12 ชั่วโมง

เครื่องมือที่ใช้ระบบ CIP นั้นมีการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมเซรามิกส์ในตอนแรกและต่อมามีการนำมาประยุกต์และดัดแปลงเพื่อใช้สำหรับอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งเดิมสารตัวกลางที่ใช้คือน้ำที่ผสมสารป้องกันสนิม (anti rusting agent) หรือผสมน้ำมันสังเคราะห์เพื่อป้องกันตัวถังความดันจากการกัดกร่อนแต่สารตัวกลางที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารคือน้ำประปาและความดันสูงที่ใช้ในการขึ้นรูปเซรามิกส์อยู่ระหว่าง 1,000 – 3,000 atm โดยใช้เวลา (holding time) ระหว่าง 10 วินาทีจนถึง 1 นาทีในขณะที่ความดันสูงที่ใช้ในการอุตสาหกรรมอาหารมีค่าสูงกว่า 4,000 atm และใช้เวลาอยู่ระหว่าง 5 - 20 นาที

ผลของความดันสูงต่อจุลินทรีย์

ความดันสูงสามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ โดยทั่วไปแบคทีเรียที่อยู่ในระยะ log phase จะทนต่อความดันสูงได้น้อยกว่า (มีความไวหรือ sensitive มากกว่า) เซลล์ที่อยู่ในระยะ stationary สปอร์ และจุลินทรีย์ที่อยู่ในระยะ death phase อย่างไรก็ตามความดันสูงขนาดปานกลาง (ระหว่าง 300 – 600 MPa) จะสามารถยับยั้งการเจริญหรือทำลายเซลล์ปกติ (vegetative cells) ได้ Hoover et al. (1989) รายงานว่าการใช้ความดัน 350 MPa เป็นเวลา 30 นาทีหรือ 400 MPa เป็นเวลา 5 นาที จะสามารถลดปริมาณเซลล์ปกติของแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราได้ถึง 10 เท่า การใช้ความดันที่ระดับสูงมากจะทำให้สปอร์ของแบคทีเรียงอกและทำลายเซลล์ที่งอกแล้วนี้ เป็นที่รู้กันว่าความดันสูงทำให้แวคิวโอล (vacuoles) ภายในเซลล์แตกและทำลายผนังเซลล์และเซลล์เมมเบรน โดย Knorr (1995b) สันนิษฐานว่าอาจเกิดจากการที่ความดันสูงมีผลต่อเอนไซม์ภายในเซลล์เป็นผลให้เมตาโบลิซึมต่างๆ ถูกทำลาย อย่างไรก็ตามผลของความดันสูงต่อจุลินทรีย์สามารถสรุปเป็นหัวข้อได้ดังนี้

1) ผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของจุลินทรีย์

โดยทั่วไปแบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถเจริญได้ที่ความดันระหว่าง 200 - 300 atm ส่วนจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่ความดันที่สูงกว่า 400 – 500 atm เรียกว่า barophiles ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะเจริญได้น้อยมากหรือไม่เจริญเลยที่ความดันในช่วง 300 – 400 atm ส่วนจุลินทรีย์ที่เจริญในช่วงความดัน 1 – 500 atm นั้นเรียกว่า eurybaric และจุลินทรีย์ชนิด baroduric จะรอดชีวิตแต่จะไม่สามารถเจริญได้ที่ความดันที่สูงตั้งแต่ 500 - 2000 atm ผลของความดันสูงต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของจุลินทรีย์ได้แก่

1.1 ผลต่อการสร้างฟิลาเมนต์ (filament)

การสร้างฟิลาเมนต์เป็นการเปลี่ยนแปลงที่เด่นชัดของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่เมื่อจุลินทรีย์เหล่านั้นได้รับความดันสูง เช่น *Escherichia coli* จะสร้างฟิลาเมนต์จำนวนมากที่ความดันในช่วง 240 – 400 atm และที่ความดัน 400 atm พบว่าเชื้อนี้จะเจริญและมีขนาดยาว 10 – 100 ไมโครเมตรเมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ขนาดปกติ (1 - 2 ไมโครเมตร) ซึ่งเจริญที่ 1 atm โดยพบว่าฟิลาเมนต์ที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของความดันมีลักษณะเป็นเซลล์เดี่ยวที่ไม่มีปล้อง (single unsegmented cells) มีความกว้างประมาณ 0.6 ไมโครเมตร เชื้อ *Vibrio* spp. จะสร้างฟิลาเมนต์ที่มีขนาดยาว 5 – 8 เท่า ของเซลล์ปกติที่เจริญที่ 1 atm ส่วน *Bacillus mycoides* จะมีขนาดยาวขึ้น 2 – 3 เท่า เมื่อให้ความดันที่ 270 atm และ *Serratia marnorubra* จะสร้างฟิลาเมนต์ที่ยาวถึง 200 ไมโครเมตร ที่ความดัน 600 atm เปรียบเทียบกับเซลล์ปกติที่มีความยาว 0.6 – 1.5 ไมโครเมตร ที่เจริญที่ความดัน 1 atm การสร้างฟิลาเมนต์ของจุลินทรีย์เมื่อให้ความดันสูงจะมีความแตกต่างกัน ขึ้นกับสปีชีส์และสายพันธุ์ ในส่วนของปริมาณโปรตีนที่สร้างขึ้นของ *E. coli* ต่อหน่วยความยาวของเซลล์เมื่อให้ความดันสูงแตกต่างกันพบว่ามีความใกล้เคียงกัน โดยปริมาณของ RNA ในเซลล์เพิ่มขึ้นมากอย่างเห็นได้ชัดในขณะที่ DNA ของเซลล์มีปริมาณน้อยกว่าอย่างเห็นได้ชัดเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่เจริญที่ความดันปกติ

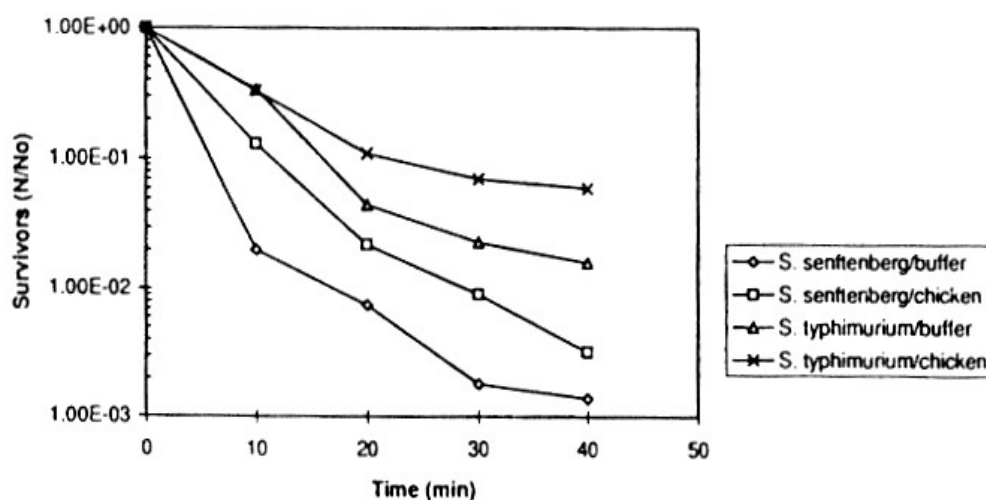
1.2 การหยุดการเคลื่อนที่ (cessation of motility)

แบคทีเรียที่เคลื่อนที่ได้โดยส่วนใหญ่จะหยุดการเคลื่อนที่เมื่อให้ความดันต่อเนื่องที่ 200 – 400 atm และที่ความดัน 100 atm พบว่า *E. coli* *Vibrio* และ *Pseudomonas* จะยังคงมีแฟลกเจลลา (flagella) แต่เมื่อเพิ่มความดันเป็น 400 atm พบว่าเชื้อเหล่านี้จะสูญเสียอวัยวะนี้และในแบคทีเรียบางชนิดพบว่าจะสามารถกลับมาเคลื่อนที่ได้อีกครั้ง

2) การทำลายจุลินทรีย์

ความดันสูงปานกลางมีผลทำให้อัตราการเจริญและการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ลดลง ส่วนความดันที่สูงมากจะทำลายจุลินทรีย์ได้ ขนาดของความดันสูงที่สามารถยับยั้งการขยายพันธุ์และการเจริญจะมีค่าที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดและสปีชีส์ (species) ของจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่นการเจริญและการขยายพันธุ์ของ *E. coli* (ATTC 11303) จะถูกยับยั้งที่ความดันระหว่าง 100 – 500

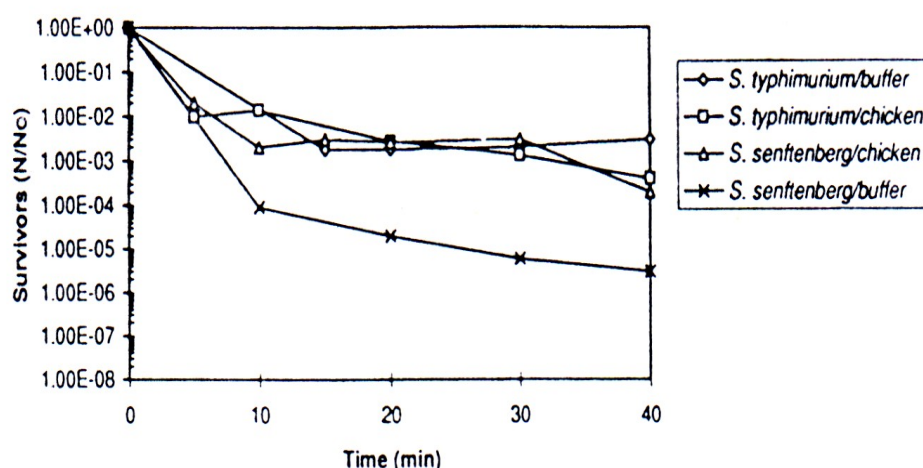
atm และการขยายพันธุ์ (การเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่มีชีวิต) จะถูกยับยั้งมากกว่าการเจริญ (การเจริญเป็นการเพิ่มปริมาณชีวมวล (biomass) ซึ่งหาได้จากการวัดค่า optical density) Metrick et al. (1989) ศึกษาเปรียบเทียบการทนต่อความร้อนและความดันของ *Salmonella typhimurium* 7136 *S. senftenberg* 775W โดยเชื้อ *S. senftenberg* เป็นสายพันธุ์ที่ทนต่อความร้อนและมีค่า D เท่ากับ 15 นาที ที่ 57.5 องศาเซลเซียส และ *S. typhimurium* มีค่า D เท่ากับ 3 นาที ที่ 57.5 องศาเซลเซียส การศึกษาผลของความดันต่อเชื้อทั้งสองชนิดกระทำในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์และอาหารทารกที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนผสมหลักพบว่าความดันสูงจะมีผลในการยับยั้งเชื้อทั้งสองชนิดในบัฟเฟอร์มากกว่าในอาหารทารก ดังกราฟการรอดชีวิตของเชื้อในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 การรอดชีวิตของ *Salmonella* ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 63 mM และอาหารทารกที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนผสมจากการให้ความดันที่ 2,720 atm ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส

ที่มา : Metrick et al. (1989)

และเมื่อให้ความดันสูงถึง 3,400 atm แก่อาหารทั้งสองชนิดพบว่าการรอดชีวิตของเชื้อจะลดลงเล็กน้อยในช่วงแรกซึ่งเรียกว่า stabilization effect หรือ tailing effect แสดงดังภาพที่ 2.9

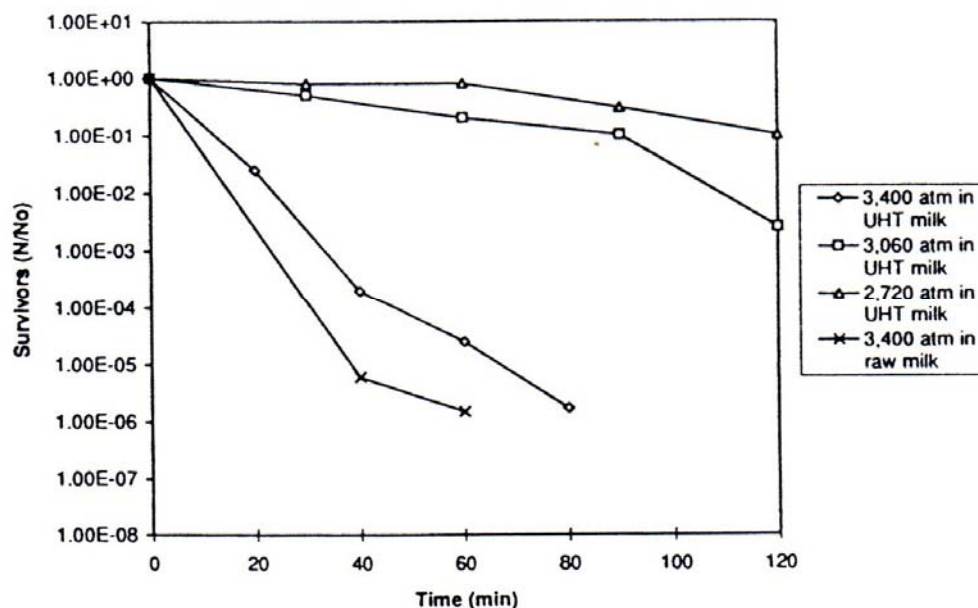


ภาพที่ 2.9 การรอดชีวิตของ *Salmonella* ในฟอสเฟสบัฟเฟอร์ 63 mM และอาหารทารกที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนผสมจากการให้ความดันที่ 3,400 atm ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส

ที่มา : Metrick et al. (1989)

ลักษณะการรอดชีวิตหรือ stabilization effect ที่เกิดขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากการที่มีปริมาณของเชื้อที่ทนต่อความดันสูงมากกว่า มีปริมาณน้อยกว่าปริมาณของเชื้อส่วนใหญ่หรืออัตราการยับยั้งหรือทำลายเชื้อเนื่องจากความดันสูงเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อย เมื่อแยกเชื้อที่ทนความดันสูงจากอาหารและนำมาเพาะเลี้ยงให้เจริญ และนำไปให้ความดันอีกครั้งพบว่าการให้ความดันสูงให้ผลไม่แตกต่างกันระหว่างเชื่อดั้งเดิมและเชื้อที่ผ่านการให้ความดันมาแล้ว เมื่อลดการให้ความดันพบว่าเชื้อเจริญเฉพาะในอาหารทารกที่มีเนื้อไก่เป็นส่วนผสมหลักและไม่พบการเจริญของเชื้อในบัฟเฟอร์ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในอาหารทารกมีสารอาหารต่างๆ สำหรับเชื้อจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการซ่อมแซมตนเองมากกว่าและพบว่าความดันสูงไปทำลายเซลล์เมมเบรนซึ่งเป็นส่วนที่สำคัญของเซลล์เป็นผลทำให้สามารถยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ได้

ในส่วนบริเวณอื่นๆ ได้แก่ที่พันธะระหว่าง amino acyl- tRNA ที่จับกับไรโบโซม (ribosome) และ mRNA รวมทั้งการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สำคัญต่างๆ ภายในเซลล์ ซึ่งกลไกการทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์เนื่องจากความดันสูงนี้ คล้ายกับการทำลายจุลินทรีย์โดยใช้ความร้อนที่มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องหลายประการที่มีผลในการทำลายเชื้อ นอกจากนี้ Styles และคณะ (1991) ทำการศึกษาผลของความดันสูงต่อเชื้อ *Listeria monocytogenes* โดยทำการทดลองในฟอสเฟตบัฟเฟอร์และในน้ำนมยูเอชที (UHT) และน้ำนมดิบและเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ในน้ำสกัดจากหอยกาบที่ผ่านการสเตอริไลส์ ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2.10 พบว่าที่ความดัน 2,380 atm สามารถลดปริมาณเชื้อ *L. monocytogenes* ได้เล็กน้อยแต่ที่ 2,720 atm พบว่าเชื้อในสารละลาย

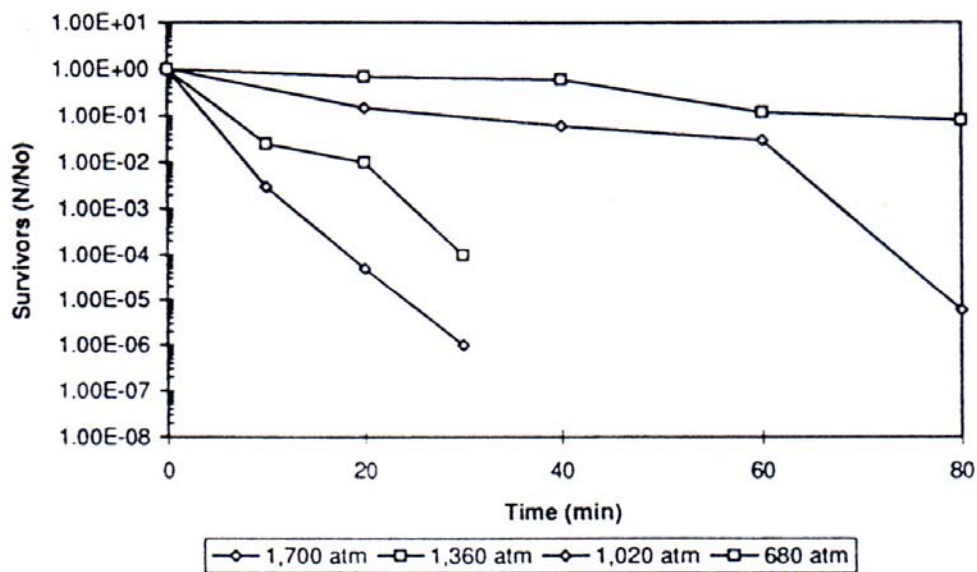


ภาพที่ 2.10 การรอดชีวิตของ *L. monocytogenes* ในน้ำนมยูเอชทีและน้ำนมดิบจากการให้ความดันสูงที่ระดับต่าง ๆ

ที่มา : Styles et al. (1991)

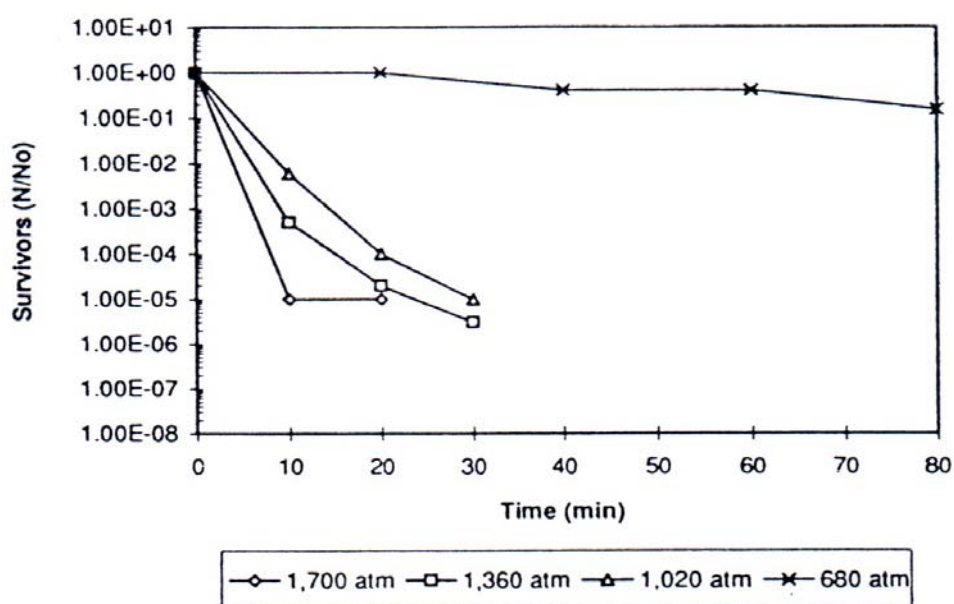
บัพเฟอรด์ลดลงประมาณ 3 log cycle ส่วนการใช้ความดันสูง 3,060 atm จะทำให้เชื้อนี้ลดจำนวนลง 3 log cycle ภายในเวลา 20 นาที และที่ 3,400 atm พบเชื้อรอดชีวิตอยู่น้อยกว่า 10 CFU/mL ถึงแม้ว่าน้ำนมจะมีส่วนในการปกป้องจากการทำลายเซลล์เนื่องจากความดันสูง แต่การใช้ความดันที่ 3,400 atm จะทำลายเชื้อนี้ในน้ำนม ยูเอชทีให้ลดลงได้ถึง 6 log cycle ภายในเวลา 80 นาที และในน้ำนมดิบภายในเวลา 60 นาที

ในส่วนของเชื้อ *V. parahaemolyticus* ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2.11 และ 2.12 พบว่าเชื้อนี้จะถูกทำลายและลดปริมาณลงอย่างรวดเร็วเมื่อให้ความดันสูงที่มากกว่า 1,700 atm โดยปริมาณเชื้อที่มีในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ 10^6 CFU/mL จะลดลงประมาณ 6 log cycle ภายในเวลา 30 นาทีเมื่อให้ความดันสูงที่ 1,700 atm ส่วนในน้ำสกัดจากหอยกาบพบว่าเชื้อนี้จะลดปริมาณลง 6 log cycle เมื่อใช้ความดันสูง 1,700 atm ภายในเวลา 10 นาทีและถ้าใช้ความดันสูง 1,360 atm และ 1,020 atm จะลดปริมาณลง 6 log cycle ภายในเวลา 30 และ 40 นาทีตามลำดับ



ภาพที่ 2.11 การรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 mM ผสมโซเดียมคลอไรด์จากการให้ความดันสูงที่ระดับต่างๆ

ที่มา : Styles et al. (1991)



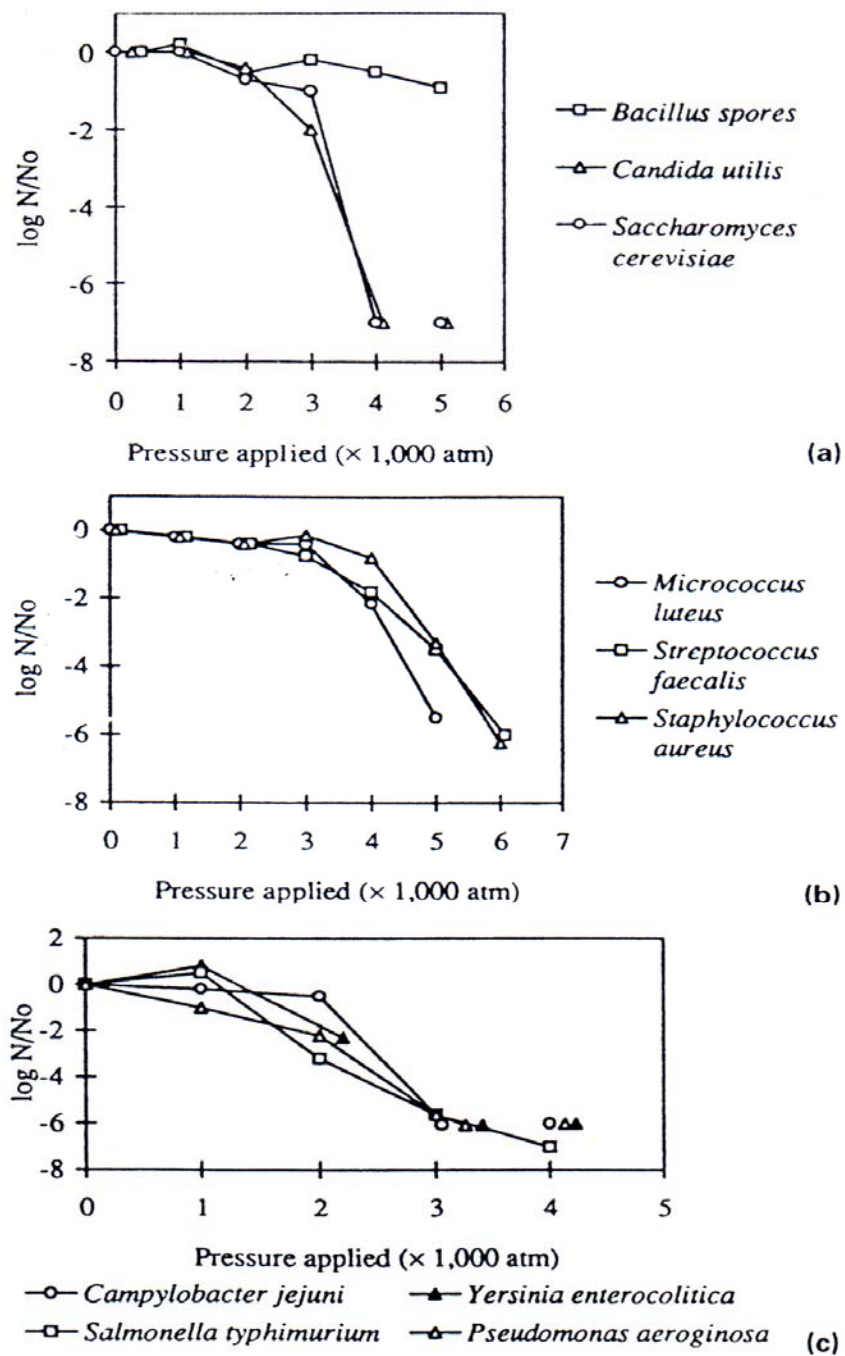
ภาพที่ 2.12 การรอดชีวิตของ *V. parahaemolyticus* ในน้ำสกัดจากหอยกานจากการให้ความดันสูงที่ระดับต่างๆ

ที่มา : Styles et al. (1991)

โดยทั่วไปการทนต่อความดันสูงของจุลินทรีย์สามารถเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้แบคทีเรียแกรมบวก ยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบตามลำดับ Shigehisa et al. (1991) ศึกษาการทนต่อความดันสูงของจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ โดยเฉพาะเชื้อ *Bacillus cereus* *Campylobacter jejuni* *Candida utilis* *E. coli* *Micrococcus luteus* *Pseudomonas aeruginosa* *Saccharomyces cerevisiae* *Salmonella typhimurium* *Staphylococcus aureus* *Streptococcus faecalis* และ *Yersinia enterocolitica* ลงไปในเนื้อหมูปดเหลว (pork slurries) และนำไปให้ความดันที่ 3,000 – 6,000 atm ผลการศึกษาแสดงดังภาพที่ 2.13 พบว่า จุลินทรีย์ทั้งหมดถูกทำลายยกเว้น *B. cereus* ซึ่งเป็นชนิดที่สร้างสปอร์โดยลดปริมาณลงเหลือน้อยกว่า 10 CFU/mL จากการสังเกตลักษณะของเนื้อหมูปดเหลวที่ผ่านการให้ความดันสูงพบว่าไม่มีสีซีดจางลงและเกิดตะกอน ซึ่งลักษณะตะกอนที่ได้จะมีสีขาวกว่าและมีความแข็งเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความดันที่สูงกว่า 3,000 atm ในส่วนของเชื้อ *E. coli* จะถูกทำลายที่ความดันสูงกว่า 4,000 atm โดยจะลดปริมาณลงมากกว่า 6 log cycle ภายในเวลา 10 นาทีที่ความดันสูง 4,000 atm และสปอร์ของเชื้อ *B. cereus* จะถูกทำลายลดลงน้อยกว่า 1 log cycle เมื่อใช้ความดันสูง 6,000 atm การใช้ความดันสูงจะทำให้เกิดการแตกตัวของสารต่างๆ ออกมาและวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงอัลตราไวโอเล็ตสูงสุดที่ประมาณ 260 นาโนเมตร ซึ่งปริมาณการดูดกลืนแสงจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความดันสูงที่ใช้เพิ่มขึ้น

3) การทำลายสปอร์

การทำลายสปอร์ที่ปนเปื้อนอยู่ในอาหารสามารถทำได้โดยการใช้ความร้อนแต่จะมีผลเสียคือทำให้คุณภาพทางด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ลดลง การศึกษาการใช้ความดันสูงในการทำลายสปอร์ของ *B. subtilis* ปริมาณเริ่มต้น 8×10^4 สปอร์/mL ที่อุณหภูมิ 93.6 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 1 atm พบว่าสามารถทำลายสปอร์ได้หมดภายในเวลา 1 ชั่วโมง แต่ถ้าเพิ่มความดันเป็น 600 atm ที่อุณหภูมิ 93.6 องศาเซลเซียส พบว่าต้องใช้เวลาราว 4 ชั่วโมงเพื่อที่จะทำลายสปอร์ได้หมด ในทางกลับกันพบว่าที่อุณหภูมิต่ำ อัตราการทำลายสปอร์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความดันสูงที่ใช้เพิ่มขึ้น โดยที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและความดัน 600 atm จะเร่งอัตราการทำลายสปอร์และพบสปอร์ที่รอดชีวิตปริมาณน้อยกว่า 10% ของจำนวนสปอร์เริ่มต้นหลังจากเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง (Johnson and Zobell, 1949) นอกจากนั้น Sale et al. (1969) ศึกษาการทำลายสปอร์ของ *Bacillus* spp. โดยใช้ความดันสูงในช่วง 1,000 และ 8,000 atm พบว่าอัตราการทำลายสปอร์จะสูงกว่าเมื่อใช้ความดันสูงในระดับต่ำกว่า (ประมาณ 1,000 – 3,000 atm) และเมื่อใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสร่วมด้วยพบว่าอัตราการทำลายสปอร์จะยิ่งเพิ่มมากขึ้นในช่วงความดันสูงระหว่าง 1,000 – 3,000 atm



ภาพที่ 2.13 ผลของความดันสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

ที่มา : Shigehisa et al. (1991)

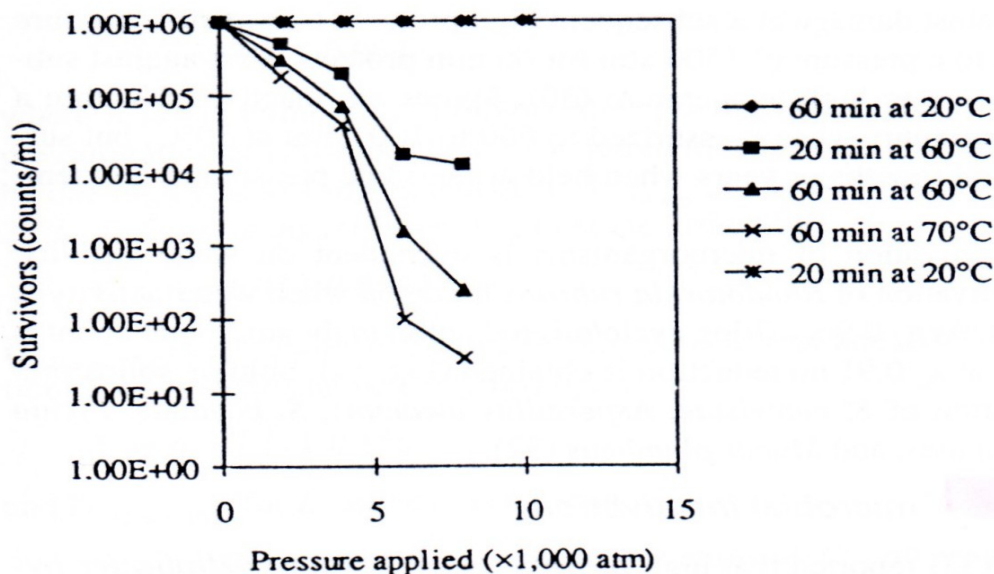
ภายใต้สภาวะความดันสูงประมาณ 200-300 atm พบว่าทำให้สปอร์งอกกลายเป็นเซลล์แต่ความดันสูงระดับนี้ยังไม่สามารถทำลายเซลล์ได้และสปอร์ที่กระตุ้นให้งอกด้วยความร้อนและผ่านการให้ความดันจะงอกได้สมบูรณ์กว่าสปอร์ที่ไม่ได้ถูกกระตุ้นด้วยความร้อน อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ความร้อนกระตุ้นการงอกของสปอร์และให้ความดันสูงกว่า 1,000 atm จะมีผลน้อยกว่าการงอกของสปอร์เมื่อให้ความดันสูงในระดับต่ำกว่า (Gould and Sale, 1970) ในสภาวะที่อุณหภูมิที่ต่ำนั้นพบว่าความดันสูงในระดับต่ำจะทำให้สปอร์งอกและต่อมาเซลล์ที่งอกจะถูกทำลาย โดยความดันสูงจะมีผลทำให้เกิดการงอกและทำให้การทนต่อความร้อนของสปอร์ลดลง แต่ยังไม่สามารถทำลายสปอร์ที่งอกแล้วได้ ที่ความดันสูงระดับปานกลางจะทำให้การงอกของสปอร์เพิ่มขึ้นและสปอร์ที่งอกส่วนใหญ่จะถูกทำลายเนื่องจากความดันสูงและการใช้ความดันสูงในระดับสูงจะทำให้การงอกของสปอร์ลดลงและมีสปอร์ที่งอกบางส่วนจำนวนเล็กน้อยที่ถูกทำลาย การใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 65 องศาเซลเซียสพบว่าผลการทำลายสปอร์จะเกิดเนื่องมาจากความร้อนเพียงอย่างเดียว (Sale et al., 1969) โดยระดับของอุณหภูมิและความดันสูงที่มีผลต่อการงอกและทำลายสปอร์จะแตกต่างกันตามสปีชีส์ของจุลินทรีย์ และการทนต่อความร้อนของสปอร์จะลดลงในช่วงที่สปอร์เริ่มงอกโดยจะเกิดร่วมกับการเกิดไฮเดรชัน (hydration) ของเซลล์และการเปลี่ยนแปลงรูปของสารจากเจล (gel) ไปเป็นซอล (sol)

การใช้ความดันสูงในการทำลายสปอร์นั้นพบว่าอุณหภูมิมีบทบาทที่สำคัญมาก ส่วนปัจจัยอื่นๆที่มีผลรองลงมาได้แก่ค่า pH วอเตอร์แอคทิวิตี (water activity) และความแรงของไอออน (ionic strength) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเริ่มงอกของสปอร์จะมีความแตกต่างกันไปตามระดับของความดันสูงและการยับยั้งการงอกของสปอร์จะมีประสิทธิภาพดีที่สุดเมื่อ pH มีค่าปานกลางและมีประสิทธิภาพต่ำสุดเมื่อค่า pH สูงหรือต่ำเกินไป ความดันระดับที่ทำให้สปอร์เริ่มงอกได้ดีจะมีความเหมาะสมที่ระดับ pH ปานกลาง สำหรับตัวถูกละลายที่ไม่แตกตัวเป็นไอออนที่มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตีต่ำมีผลเล็กน้อยในการยับยั้งสปอร์ด้วยความดันสูง ในขณะที่สารละลายที่แตกตัวเช่นโซเดียมคลอไรด์และแคลเซียมคลอไรด์ จะมีผลในการลดประสิทธิภาพในการยับยั้งสปอร์ซึ่งโดยทั่วไปสปอร์ส่วนใหญ่ไม่สามารถงอกได้ในสภาวะที่มีความดันสูง และปราศจากไอออนของสารอนินทรีย์เนื่องจากไอออนมีผลต่อการสลายตัวของสารเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) จากปฏิกิริยาของเอนไซม์ระหว่างการงอก และยังมีผลทำให้การทนต่อความร้อนของสปอร์ในสารละลายบัฟเฟอร์ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายสปอร์ในน้ำกลั่นที่ความดันสูงและอุณหภูมิเดียวกัน

ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำนมสเตอริไลส์บรรจุกระป๋องนั้นต้องใช้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที แต่วิธีนี้จะมีผลทำให้น้ำนมเกิดสีที่ผิดปกติรวมทั้งเคซีน (casein) เกิดการตกตะกอน

Hayakawa et al. (1994) ศึกษาผลของการใช้ความดันสูงต่อสปอร์ของ *Clostridium thermoaceticum* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของกาแฟบรรจุกระป๋องโดยทำให้เกิดรสเปรี้ยวแต่ไม่ทำให้กระป๋องเกิดการบวม (flat sour) พบว่าการใช้ความดันสูง 400-1,000 atm เป็นเวลา 20 และ 60 นาทีที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสไม่สามารถทำลายสปอร์ของเชื้อนี้ได้ แต่ถ้าใช้ความดันสูงร่วมกับความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที จะสามารถลดปริมาณสปอร์ให้เหลือน้อยกว่า 100 สปอร์/mL นอกจากนี้ นักวิจัยกลุ่มนี้ได้ศึกษาผลของการใช้ความดันสูงและการใช้ความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อสปอร์ของ *B. stearothermophilus* แสดงดังภาพที่ 2.14 พบว่าการใช้ความดันสูงเป็นจังหวะ (pulse) และแบบแกว่ง (oscillatory) มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ความดันสูงแบบต่อเนื่อง (continuous) โดยการใช้ความดันแบบแกว่งที่ 600 atm ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสจำนวน 6 รอบ (5 นาที/รอบ) สามารถลดสปอร์ของเชื้อได้จาก 10^6 เหลือ 10^2 สปอร์/mL และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิเป็น 70 องศาเซลเซียสพบว่าสามารถลดปริมาณสปอร์ได้ดียิ่งขึ้น รวมทั้งการเพิ่มจำนวนรอบของการใช้ความดันแบบแกว่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายสปอร์ให้ดียิ่งขึ้น การใช้ความดันสูงเป็นจังหวะนั้นจะช่วยลดเวลาในการทำลายสปอร์และกลไกการทำลายสปอร์นั้นยังไม่ทราบแน่ชัด แต่อาจเกิดขึ้นเนื่องจากความดันสูงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของน้ำ เช่น ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสน้ำมีความหนืดและแรงตึงผิวลดลงเมื่อให้ความดันสูงแบบแกว่งซึ่งอาจมีผลทำลายสปอร์ได้โดยหลังจากให้ความดันแก๊สสปอร์พบว่าที่บริเวณพื้นผิวสปอร์ถูกทำลายโดยสิ้นเชิงและการที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 70 องศาเซลเซียสนั้นจะทำให้โครงสร้างของผนังสปอร์เกิดการเปลี่ยนแปลงและทำลายสปอร์ได้

ประสิทธิภาพของการใช้ความดันสูงในการยับยั้งจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการได้แก่ ค่า pH องค์ประกอบ แรงดันออสโมติกและอุณหภูมิของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการศึกษาผลของการใช้ความดันสูงระดับต่างๆ ต่อ *E. coli* พบว่าที่ความดัน 1 atm เชื้อนี้จะหยุดการเจริญที่ค่า pH ระหว่าง 4.9 ถึง 10.0 เมื่อให้ความดันสูง 272 และ 340 atm พบว่าจะสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้เมื่อมีค่า pH ระหว่าง 5.8 – 9.0 และ 6.0 – 8.7 ตามลำดับ โดยพบว่าการทนต่อความดันสูงของเชื้อจะลดลงมากกว่าในสารละลายเกลือที่ไม่มีสารอาหารเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acids) และวิตามิน (vitamins)



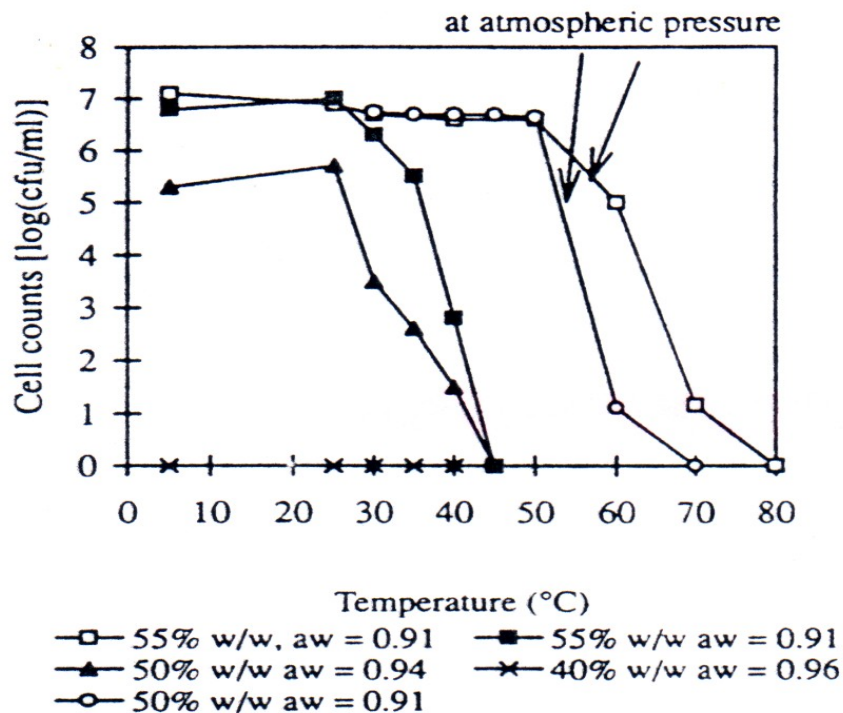
ภาพที่ 2.14 ผลของความดันสูงและความดันสูงร่วมกับความร้อนต่อสปอร์

B. stearothermophilus

ที่มา : Hayakawa et al. (1994)

ความดันสูงนั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งทำให้มีผลต่ออัตราการเจริญและอัตราการทำลายหรือยับยั้งเชื้อ การใช้ความดันสูงร่วมกับการใช้ความร้อนในระดับปานกลางจะมีผลเสริมฤทธิ์กัน (synergistic effect) ในการทำลายเชื้อแต่ประสิทธิภาพการทำลายเชื้อโดยใช้ความร้อนที่ระดับสูงจะลดลงเมื่อให้ความดันสูงร่วมด้วย โดยพบว่าการใช้ความดันสูง 400 atm ที่อุณหภูมิ 46.9 องศาเซลเซียสจะทำลาย *E. coli* ให้ลดลงในอัตราเร็วที่ต่ำกว่าที่ความดัน 1 atm Iwahashi et al. (1991) รายงานว่าการให้ความร้อนแก่ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 51 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาทีก่อนนำไปให้ความดันสูงจะสามารถป้องกันเซลล์จากการถูกทำลายได้และการให้ความดันสูงแก่เซลล์ยีสต์ที่ 1,500 atm เป็นเวลา 60 นาทีจะป้องกันอันตรายจากการให้ความร้อนสูงที่ตามมาได้

การทำลายเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้ความดันสูง จะขึ้นกับค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย Ogawa et al. (1990) ศึกษาผลของความดันสูงต่อ *Rhodotorula rubra* แสดงดังภาพที่ 2.15 พบว่าความดันสูงไม่มีผลต่อเชื้อถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ต่ำกว่า 0.94 และที่ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ 0.96 พบว่าความดันสูงจะสามารถทำลายเชื้อให้ลดลงได้ถึง 7 log cycle/mL ในขณะที่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ 0.91 พบว่าความดันสูงจะไม่สามารถทำลายเชื้อนี้ได้ นอกจากนั้นยังรายงานว่าการแช่แข็งที่ละลายน้ำได้จะช่วยปกป้องจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่



ภาพที่ 2.15 ผลของค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ต่อ *Rhodotorula rubra* เมื่อให้ความดันสูง 4,000 atm เป็นเวลา 15 นาที

ที่มา : Ogawa et al. (1990)

S. cerevisiae *Aspergillus awamori* *S. Bayanus* *Pichia membranaefaciens* และ *Mucor plumbers* จากความดันสูงได้

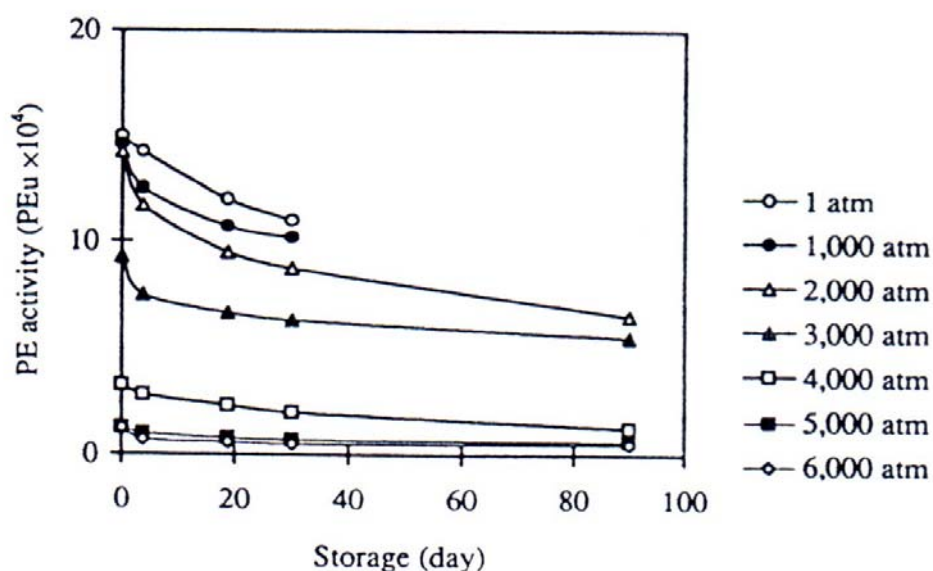
Patterson et al. (1995) รายงานว่าการที่ความดันสูงสามารถทำลายเซลล์ปกติ (vegetative cells) ของจุลินทรีย์ได้นั้นเกิดจากกระบวนการต่างๆ หลายกระบวนการซึ่งเกิดขึ้นในเวลาเดียวกัน โดยเฉพาะการทำลายเซลล์เมมเบรนและการยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญต่างๆ รวมทั้งกระบวนการจำลอง DNA (DNA replication) และการคัดลอกรหัส (transcription) ขนาดของการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความดันสูงในแต่ละระดับนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ขนาดของความดันสูงและเวลาที่ให้ความดันสูง สปีชีส์ของเชื้อ อุณหภูมิและสารตั้งต้นในกระบวนการ

ผลของความดันสูงต่อปฏิกิริยาของเอนไซม์

ความดันสูงสามารถทำลายหรือยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ได้ มีรายงานผลของการเพิ่มความดันสูงต่อ succinate formate และ malate dehydrogenase ซึ่งมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ลดลง และเมื่อให้ความดันสูงถึง 1,000 atm เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องจะสามารถทำลาย

เอนไซม์นี้ได้อย่างสมบูรณ์ Hoover et al. (1989) รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่อการทำลาย จุลินทรีย์ ด้วยความดันสูงได้แก่ค่า pH ความเข้มข้นของสารตั้งต้น หน่วยย่อยของโครงสร้างเอนไซม์และ อุณหภูมิขณะให้ความดันสูง อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าเอนไซม์บางชนิดสามารถคืนกิจกรรม หลังจากที่ถูกให้ความดันสูงเช่น lactate dehydrogenase ใน *Bacillus stearothermophilus* ซึ่งเกิดการแยกของไดเมอร์ (dimer) ขณะได้รับความดันสูงและรวมตัวกันใหม่เมื่อหยุดให้ความดัน สูงและพบว่าคุณสมบัติต่างๆ ของเอนไซม์ที่คืนกิจกรรมนี้ไม่แตกต่างจากเอนไซม์ที่ไม่ผ่านการให้ ความดันสูง

Ogawa et al. (1990) รายงานว่าการให้ความดันสูงระหว่าง 1,000 และ 2,000 atm สามารถ ทำลายเอนไซม์ pectinesterase ได้เพียงเล็กน้อย การศึกษาผลของความดันสูงต่อเอนไซม์ pectinesterase ในน้ำส้ม (Satsuma mandarin juice) แสดงดังภาพที่ 2.16 พบว่าจะสามารถ ทำลายกิจกรรมของเอนไซม์นี้ได้เมื่อให้ความดันสูงระหว่าง 3,000 – 4,000 atm และความดันสูง 3,000 atm หรือสูงกว่าสามารถทำลายกิจกรรมของ pectinesterase บริสุทธิ์ได้เช่นเดียวกัน โดย ทำลายกิจกรรมของเอนไซม์ได้อย่างถาวร (irreversible) และเอนไซม์นี้จะไม่คืนกิจกรรมระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสหรือในขณะลำเลียงขนส่ง นอกจากนี้ยังพบว่าของแข็ง ที่ละลายได้ชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาล โปรตีนและไขมัน มีส่วนช่วยปกป้องการสูญเสียกิจกรรมของ เอนไซม์นี้จากการได้รับความดันสูงหรือความร้อน

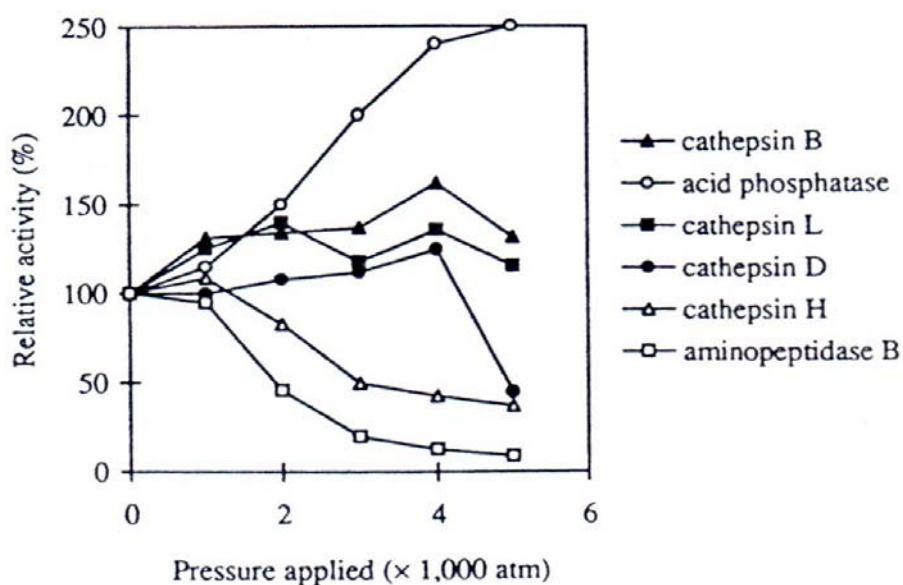


ภาพที่ 2.16 ผลของความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเอสเทอเรสในน้ำส้ม (Satsuma mandarin juice) ระหว่างการเก็บรักษาที่ 0 องศาเซลเซียส

ที่มา : Ogawa et al. (1990)

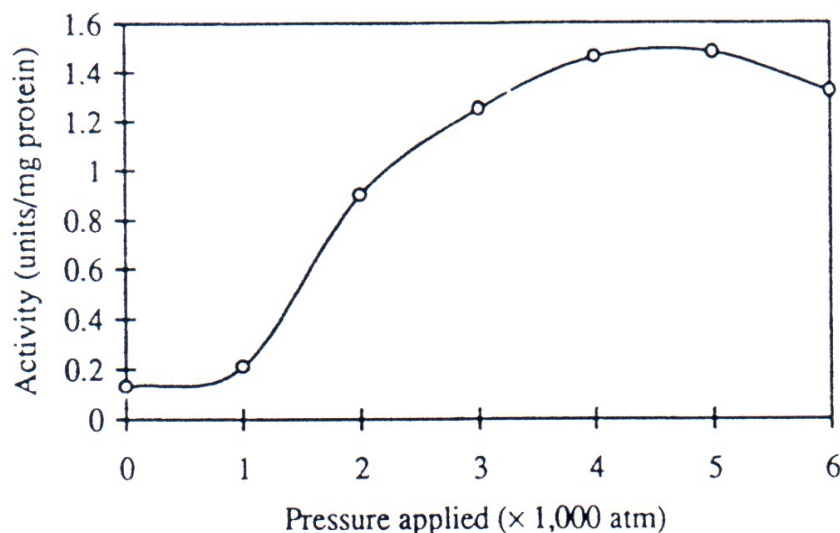
มีรายงานว่า การสูญเสียกิจกรรมเอนไซม์เนื่องจากความดันสูงนั้นมีสาเหตุมาจากความดันสูงทำให้โครงสร้างภายในโมเลกุล (intramolecular structures) หรือทำให้บริเวณ active site เกิดการเปลี่ยนแปลง การใช้ความดันสูงระหว่าง 1,000 – 3,000 atm ในการยับยั้งพบว่าเอนไซม์บางชนิดอาจคืนกิจกรรม (reversible) ได้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับระดับของการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลเอนไซม์และการคืนกิจกรรมจะมีโอกาสเกิดน้อยลงถ้าใช้ความดันสูงเกินกว่า 3,000 atm

การศึกษาผลของความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนโดย Homma et al. (1994) รายงานว่าความดันสูงมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้เพิ่มขึ้น แสดงดังภาพที่ 2.17 โดยพบว่ากิจกรรมของ cathepsin B D และ L และ acid phosphatase ในกล้ามเนื้อจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อให้ความดันสูงระหว่าง 1,000 – 5,000 atm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส ยกเว้น cathepsin H และ aminopeptidase ที่มีกิจกรรมลดลง ผลของการใช้ความดันสูงที่เร่งกิจกรรม cathepsin B1 นี้เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เนื้อนุ่มซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ tenderization ซึ่งใช้วิธีการร่วมกันระหว่างการใช้ความร้อนและความดันสูง



ภาพที่ 2.17 ผลของความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ที่ย่อยสลายโปรตีน
ที่มา : Ogawa et al. (1990)

Asaka และ Hayashi (1991) ศึกษาผลของความดันสูงต่อกิจกรรมเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ในแพร์ Bartlett หันขึ้นแสดงดังภาพที่ 2.18 พบว่ากิจกรรมของโพลีฟีนอลออกซิเดสเพิ่มสูงขึ้นประมาณ 5 เท่า เมื่อให้ความดันสูง 4,000 atm ที่ 25 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2.18 ผลของความดันสูงต่อกิจกรรมของเอนไซม์เพคตินเอสเทอเรสในน้ำส้ม (Satsuma mandarin juice) ระหว่างการเก็บรักษาที่ 0 องศาเซลเซียส

ที่มา : Asaka and Hayashi (1991)

เป็นเวลา 10 นาที และเมื่อเพิ่มความดันสูงมากขึ้นจะไม่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวเพิ่มขึ้น ในขณะที่การให้ความดันสูงแก่แอปเปิ้ลบด กลัวยบดและมันเทศบดพบว่าไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์นี้

ผลของความดันสูงต่อปฏิกิริยาชีวเคมี

Heremans (1995) รายงานว่าผลของการใช้ความดันสูงต่อระบบทางชีวภาพ ได้แก่การทำให้โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ การทำให้ไขมันแข็งตัวและทำให้เมมเบรนแตกสลายซึ่งเป็นผลทำให้สามารถทำลายจุลินทรีย์ได้ ในส่วนของโปรตีนนั้นโดยทั่วไปมีโครงสร้างอยู่ 4 ระดับได้แก่ โครงสร้างระดับแรกซึ่งได้แก่เส้นสายของกรดอะมิโนที่ต่อกันเป็นสายโซ่ ซึ่งยังไม่มีรายงานว่าความดันสูงมีผลต่อพันธะโคเวเลนต์ (covalent bonds) โครงสร้างระดับที่สองได้แก่การที่สายโซ่ของโพลีเปปไทด์ (polypeptide chain) มาจับกันด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) ทั้งภายในเส้นสายเดียวกันและระหว่างเส้นสาย โครงสร้างระดับที่สามได้แก่เส้นสายต่างๆ ในโครงสร้างที่สองมารวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน (globular shape) ด้วยพันธะนอนโคเวเลนต์ (noncovalent) ซึ่งคาดว่าความดันสูงมีผลในการทำลายพันธะนี้ ส่วนโครงสร้างระดับที่สี่ได้แก่การที่โปรตีนกลุ่มก้อนในโครงสร้างระดับที่สามด้วยพันธะนอนโคเวเลนต์ซึ่งไม่ทนต่อความดันสูงเช่นเดียวกันกับโครงสร้างในระดับที่สาม (Silva and Weber, 1993)

ความดันสูงจะมีผลต่อปฏิกิริยาชีวเคมีโดยเฉพาะปฏิกิริยาที่สารตั้งต้นเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อระบบมีปริมาตรเพิ่มขึ้นหรือลดลง Hoover et al. (1989) รายงานว่าความดันสูงจะทำให้ระยะห่างระหว่างโมเลกุลลดลงหรือทำให้เกิดปฏิกิริยาถูกไขได้ดีขึ้น ซึ่งปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการสร้างพันธะไฮโดรเจนจะเกิดได้ดีขึ้นเมื่อความดันสูงขึ้น เนื่องจากพันธะดังกล่าวเกิดขึ้นเมื่อปริมาตรลดลง อย่างไรก็ตามมีบางรายงานกล่าวว่าความดันไม่มีผลต่อการเกิดพันธะไฮโดรเจน

การใช้ความดันสูงทำให้โมเลกุลของโปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) ได้ การสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเนื่องจากความดันสูง ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ โครงสร้างของโปรตีน ขนาดของความดันสูงที่ใช้ อุณหภูมิ ค่า pH และองค์ประกอบของตัวทำละลาย โปรตีนชนิด oligomeric ซึ่งมีเส้นสายกรดอะมิโนหลายเส้นจับตัวกันจะสูญเสียสภาพธรรมชาติเมื่อให้ความดันสูงในระดับต่ำ (ประมาณ 2,000 atm) ในขณะที่โปรตีนที่เป็นเส้นสายกรดอะมิโนต่อกันเพียงเส้นเดียว (single chain) สูญเสียสภาพธรรมชาติเมื่อให้ความดันสูงในระดับที่สูงกว่า 3,000 atm ปฏิกิริยาการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนเนื่องจากความดันสูงนั้นบางครั้งอาจผันกลับได้ (reversible) แต่การกลับคืนสภาวะเดิม (renaturation) หลังจากหยุดให้ความดันสูงอาจกินเวลานาน

ผลของความดันสูงต่อความคงตัว (stability) ของโปรตีนนั้นเกิดขึ้นและเป็นไปตามกฎของ Le Chatelier ที่กล่าวว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาตรของระบบเมื่อความดันเพิ่มขึ้นทำให้เกิดการสร้างหรือทำลายพันธะเคมีเพื่อให้เกิดสภาวะสมดุล ความดันสูงมีผลต่อโครงสร้างของโปรตีนอย่างมากโดยเฉพาะพันธะ electrostatic และ hydrophobic โดยทำให้โปรตอน ของกลุ่มโมเลกุลที่มีประจุหลุดออก (deprotonation) และทำลายพันธะเกลือ (salt bridges) และพันธะ hydrophobic ภายในโครงสร้าง นอกจากนั้นการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนยังเกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยา hydration ที่มีน้ำเข้ามาเกี่ยวข้องซึ่งเกิดจากการที่มีปริมาตรลดลงและสายโซ่ของโปรตีนแยกและคลายตัวออกจากกัน

การสูญเสียสภาพของโปรตีนเนื่องมาจากความดันสูงนั้นมีความแตกต่างจากการสูญเสียสภาพเนื่องมาจากการใช้ความร้อน โดยความดันสูงจะทำลายพันธะ hydrophobic และ ionic ของโมเลกุลโปรตีนและการคลายตัวของโมเลกุลโปรตีนจะทำให้ปริมาตรของโปรตีนลดลงประมาณ 2% Johnson et al. (1992) ศึกษาผลของความดันสูงต่อโปรตีนในนํ้านม พบว่าความดันสูงทำให้โปรตีนในนํ้านมคลายตัวออกจากกันอย่างน้อย 8 วัน เมื่อเก็บรักษานํ้านมที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ซึ่งทำให้มีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของนํ้านม ในส่วนของ

การสูญเสียสภาพของโปรตีนเนื่องมาจากความร้อนนั้น Farr (1990) รายงานว่าเกิดขึ้นเนื่องจากการเกิดหรือการสลายตัวของพันธะโคเวเลนต์ (covalent bonds)

ความดันสูงมีผลในการยับยั้งปฏิกิริยาในกระบวนการหมัก (fermentation) โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักที่สภาวะความดันสูงแตกต่างจากผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักที่ความดันปกติ (1 atm) มีรายงานว่า การเก็บรักษาน้ำนมดิบที่ความดัน 700 atm จะสามารถเก็บไว้ได้ถึง 12 วัน โดยน้ำนมไม่เกิดการเปรี้ยว และการให้ความดันสูง 13,710 atm เป็นเวลา 1 ชั่วโมงแก่น้ำนมดิบจะสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ 4 วันโดยน้ำนมไม่เกิดการเปรี้ยว Hoover (1993) รายงานว่า การใช้ความดันสูงระหว่าง 2,000 – 3,000 atm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แก๊สไฮโดรเจนสามารถป้องกันไม่ให้เกิดกรดในปริมาณสูงที่เกินไปในระหว่างการหมักโดยกรดแบบต่อเนื่อง โดยที่ความดันสูงสามารถยับยั้งการเจริญและคงปริมาณของแบคทีเรียแลคติกไว้ที่ระดับเริ่มต้นได้

Ohmiya et al. (1987) รายงานว่า การใช้ความดันสูงที่ระดับต่ำกว่า 400 atm จะช่วยเร่งการเกิดเคิร์ด (curd) ในน้ำนมจากการใช้เอนไซม์เรนเน็ต (rennet) ในการตกตะกอนโปรตีน แต่ความดันสูงไม่มีผลต่อระยะแรกของการเกิดเคิร์ด (primary phase) เช่นการสลายของเคซีน (casein) ในขณะที่ระยะที่สอง (secondary phase) ความดันสูงจะยับยั้งการเริ่มต้นการเกิดเคิร์ดและในระยะที่สาม (tertiary phase) ซึ่งเป็นระยะระหว่างการเกิดเคิร์ดพบว่าความดันสูงจะเร่งให้เกิดได้เร็วขึ้น โดยการเกิดเคิร์ดดังกล่าวจะถูกยับยั้งเมื่อความดันสูงเพิ่มขึ้นในช่วงระหว่าง 600-1,300 atm และเมื่อให้ความดันสูง 1,300 atm เป็นเวลา 70 นาที ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสพบว่าการย่อยสลายโปรตีนจะเกิดเพิ่มขึ้น 2% และกิจกรรมของเรนเน็ตมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย การที่ความดันสูงสามารถยับยั้งการเกิดเคิร์ดในระยะที่สองได้นั้นอาจเนื่องมาจากความดันสูงทำให้เกิดการปะทะ (collisions) ของเคซีนไมเซลล์ (casein micelles) ที่ถูกทำลายจากการย่อยสลายบางส่วนของแคปปาเคซีน (K-casein) เนื่องจากเอนไซม์เรนเน็ต และการใช้ความดันสูงกว่า 600 atm พบว่ามีผลทำให้ระยะที่สองเกิดขึ้นช้าเป็นผลให้ชะลอเวลาในการเกิดระยะที่สามและทำให้การเกิดเคิร์ดช้าลงที่สุดในที่สุด

ผลของความดันสูงต่อเซลล์จุลินทรีย์

มีรายงานว่าโมเลกุลของโปรตีนนั้นทนต่อความดันสูงได้ต่ำกว่ากรดนิวคลีอิก (nucleic acids) ทั้งนี้เนื่องจากโครงสร้างของ DNA นั้นส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonds)

ซึ่งความดันสูงไม่มีผลต่อพันธะดังกล่าว ในขณะที่ความร้อนสูงมีผลทำให้โครงสร้างโมเลกุลของ DNA สูญเสียสภาพธรรมชาติ การที่ความดันสูงสามารถทำลายกระบวนการ DNA transcription และ replication ได้นั้นส่วนหนึ่งเกี่ยวข้องกับเอนไซม์โดยพบว่าปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์จะสามารถผันกลับได้ถ้าใช้ความดันสูงในระดับต่ำ โดยทั่วไปเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์มีหน้าที่หลายประการ ได้แก่ ป้องกันการแพร่ (diffusion) โดยเฉพาะตัวถูกละลายที่มีประจุ (charged solutes) เป็นที่อยู่ของ receptors เอนไซม์และช่องทางผ่านเข้าออกของไอออน (ions) สร้าง lipid precursor สำหรับระบบการส่งสัญญาณภายในเซลล์ และคงรูปร่างของเซลล์ไว้ การศึกษาผลของความดันสูงต่อเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์พบว่าเมื่อโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์เมมเบรนสูญเสียสภาพธรรมชาติและลดขนาดของฟอสโฟไลปิด (phospholipids) ในเซลล์เมมเบรน เป็นผลให้หยุดการนำเข้ากรดอะมิโนจำเป็นไปยังภายในเซลล์และมีผลต่อการเจริญ นอกจากนี้ความดันสูงยังเพิ่มความสามารถในการเลือกผ่าน (permeability) ของเซลล์เมมเบรน ทำให้สารภายในเซลล์รั่วไหลออกและทำลายโครงสร้าง กรณีที่ใช้ความดันไม่สูงเกินไปพบว่าความสามารถในการเลือกผ่านเซลล์จะสามารถคืนกลับมาได้ แต่ถ้าใช้ความดันสูงมากจะมีผลทำลายเซลล์ได้

การประยุกต์ใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปอาหาร

ความดันสูงสามารถยืดอายุการเก็บรักษาอาหารรวมทั้งเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการเช่น เนื้อสัมผัสและคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ การศึกษาและการประยุกต์ใช้ความดันสูงในการแปรรูปและถนอมอาหารในปัจจุบันมีเพิ่มขึ้นและมีการผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการดังกล่าวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การใช้ความดันสูงยังสามารถใช้ในการละลายน้ำแข็งของอาหารแช่เยือกแข็ง และการเก็บรักษาอาหารโดยไม่เกิดการแช่เยือกแข็ง การใช้ความดันสูงในระดับที่เหมาะสมมีผลในการยืดอายุการเก็บรักษาอาหารโดยการทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ สปอร์และเอนไซม์ที่ไม่ต้องการในอาหาร และสามารถเพิ่มความดันสูงในการละลายน้ำแข็งอาหารแช่เยือกแข็งโดยทำให้เกิดขึ้นในอัตราเร็วที่สม่ำเสมอและจะเกิดได้รวดเร็วยิ่งขึ้นเมื่ออาหารนั้นมีของแข็งที่ละลายได้เช่น น้ำตาลหรือเกลือในปริมาณที่สูง ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากการใช้ความดันสูงแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากการใช้ความดันสูง

ผลิตภัณฑ์	ผู้ผลิต	ภาชนะและขนาดบรรจุ
แยม ท็อปปีงผลไม้ โยเกิร์ตและเจลลี่	Meiji-ya	ถ้วยพลาสติก (100 – 125 กรัม)
น้ำองุ่น	Pokka Corp	ขวดแก้ว (200 – 800 กรัม)
Mikan Juice	Wakayama Nokyo Food Industry Takanashi Milk	ขวดแก้ว (500 กรัม) กล่องกระดาษ (1,000 กรัม)
ไอศกรีม (ผสมผลไม้สด)	Nisshin Oil Mills	ถ้วยกระดาษ (130 กรัม)
เนื้อสัตว์ที่มีความนุ่ม	Fuji Chika & Mutterham	-

ที่มา : Knorr (1995b)

การประยุกต์ใช้ความดันสูงในกระบวนการแปรรูปและถนอมอาหารและผลิตภัณฑ์ต่างๆ แบ่งเป็นหัวข้อได้ดังนี้

การปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหาร

ผลของความดันสูงต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหารมีความแตกต่างกันไปตามชนิดของอาหาร Hoover et al. (1989) รายงานว่าความดันสูงทำให้โครงสร้างภายในของมะเขือเทศมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น ในส่วนของเนื้อไก่และปลาพบว่าทำให้ความสว่างลดลงและเพิ่มความนุ่มแก่เนื้อวัวระยะ prerigor การใช้ความดันสูงช่วยลดเวลาทำให้เนื้อนุ่มในกระบวนการ tenderization จากวิธีปกติที่ใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิแช่เย็นเหลือเพียง 10 นาที โดยที่ความดันสูงนอกจากจะมีผลต่อโครงสร้างกายภาพภายในชิ้นเนื้อแล้วยังเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนในชิ้นเนื้อเป็นผลให้เนื้อเกิดความนุ่มเพิ่มขึ้น (Homma et al. 1994) นอกจากนั้นการใช้ความดันสูงแก่ข้าวมีผลทำให้โครงสร้างของสตาร์ช (starch) และโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้สามารถนำไปหุงสุกได้ภายในระยะเวลาสั้นและการให้ความดันสูงแก่น้ำเกรฟฟรุต (grapefruit juice) จะไม่ทำให้เกิดรสขมเนื่องจากสารลิโมนีน (limonene) ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อฆ่าเชื้อโดยกระบวนการใช้ความร้อน Farr (1990) รายงานว่าการให้ความดันสูงแก่น้ำผลไม้จำพวกส้มจะทำให้ให้น้ำผลไม้ดังกล่าวมีรสชาติที่ใกล้เคียงกับของสดและไม่เกิดการสูญเสียวิตามินซีรวมทั้งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ถึงประมาณ 17 เดือน

ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการใช้ความดันสูงในปัจจุบันที่มีจำหน่ายในประเทศญี่ปุ่นได้แก่แยม (jams) และซอสผลไม้เช่นซอสสตอเบอรี่และมามาเลด (mamalade) โดยผลิตภัณฑ์ดังกล่าวเมื่อผ่านกระบวนการเรียบร้อยแล้วนำไปบรรจุในภาชนะพลาสติก ปิดผนึกและนำไปให้ความดันสูงในช่วง 4,000 – 6,000 atm เป็นเวลา 1 – 30 นาที ผลิตภัณฑ์แยมสตอเบอรี่จะให้ความดันสูง 4,000 atm เป็นเวลา 15 นาที ส่วนสตอเบอรี่บด (strawberry puree) ให้ความดันสูง 4,000 atm เป็นเวลา 10 นาที ผลิตภัณฑ์แยมที่ผ่านการให้ความดันสูงพบว่ายังคงรสชาติและสีของผลไม้สดซึ่งแตกต่างจากแยมที่ผลิตโดยผ่านกระบวนการให้ความร้อนแบบดั้งเดิม

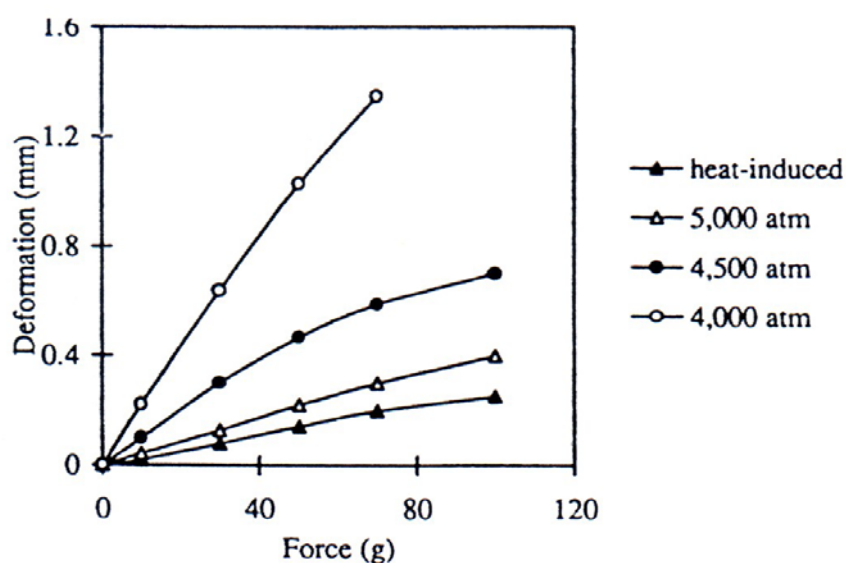
Asaka และ Hayashi (1991) ศึกษาผลของการให้ความดันสูงต่อผักและผลไม้ชนิดต่างๆ พบว่า แอปเปิ้ล (pears) และพลับ (persimmons) จะมีความนุ่ม ความใสและความหวานเพิ่มขึ้น ในขณะที่สีของผักผลไม้เช่น แอปเปิ้ล มันฝรั่ง (potatoes) และมันเทศ (sweet potatoes) จะคล้ำลงอย่างรวดเร็วหลังจากการให้ความดันสูง การศึกษาผลของการให้ความดันสูงแก่แพร์หั่นชิ้น (pear slices) ที่ 4,000 atm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าแพร์หั่นชิ้นจะเกิดสีน้ำตาลภายใน 30 นาทีหลังจากหยุดให้ความดัน โดยพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสในผักผลไม้ที่ผ่านการให้ความดันสูงจะเพิ่มขึ้นประมาณ 5 เท่าจากผักผลไม้ที่ไม่ผ่านการให้ความดันสูงและ กิจกรรมของเอนไซม์ดังกล่าวจะไม่เพิ่มขึ้นเมื่อนำผลไม้ไปผ่านการให้ความดันสูงซ้ำ

ปัจจัยที่มีผลต่อการยับยั้งกิจกรรมโพลีฟีนอลออกซิเดสโดยการให้ความดันสูง ได้แก่ตัวกลาง (medium) และชนิดของผักหรือผลไม้ เช่นการให้ความดันสูง 4,000 atm ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แก่เอนไซม์ดังกล่าวโดยใช้ตัวกลางชนิดต่างๆ เช่นน้ำปราศจากไอออน (deionized water) น้ำที่มีเกลือแคลเซียม (Ca^{2+}) หรือน้ำที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าไม่มีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ แต่ถ้าให้ความดันสูง 4,000 atm ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสแก่เอนไซม์โดยใช้ตัวกลาง สารละลายกรดซิตริกความเข้มข้นร้อยละ 5 พบว่าจะสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์นี้ได้อย่างสมบูรณ์ (Iwahashi et al., 1991) Sumitani et al. (1994) รายงานว่าความดันสูงอาจเพิ่มปริมาณของสารเบนซัลดีไฮด์ (benzaldehyde) ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของกลิ่นรสของผลไม้ได้

การเกิดเจลของโปรตีน

Okamoto et al. (1990) ศึกษาการให้ความดันสูง 4,000 atm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสแก่ไข่แดง (egg yolk) พบว่าทำให้เกิดเจลได้ การให้ความดันสูง 5,000 atm แก่ไข่ขาว (egg white) ทำให้เกิดตะกอน (coagulate) บางส่วนและเกิดความขุ่นในขณะให้ความดัน

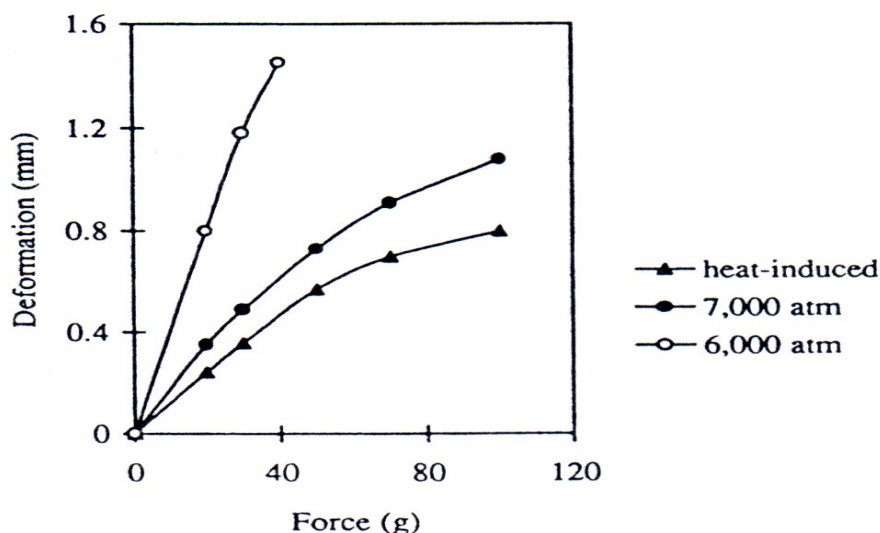
สูง 6,000 atm จะทำให้เกิดเจลอย่างสมบูรณ์ เจลของไข่ขาวที่เกิดจากการให้ความดันสูงพบว่ามีกลีนิรสรธรรมชาติ ไม่เกิดการสูญเสียวิตามินและกรดอะมิโนและย่อยได้ง่ายกว่าเจลของไข่ขาวที่เกิดจากความร้อน นอกจากนั้นเจลไข่ขาวและไข่แดงจะยังคงสีดั้งเดิมและมีความนุ่ม เป็นประกาย (lustrous) และมีความเหนียว (adhesive) ดีกว่าเจลที่เกิดจากความร้อน โดยในขณะที่ความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นพบว่าความเหนียวของเจลจะลดลงเมื่อเพิ่มระดับของความดันสูง การศึกษาเปรียบเทียบความแข็งแรงของเจลจากไข่แดงที่เกิดจากการใช้ความร้อนและการใช้ความดันสูงระดับต่างๆ แสดงดังภาพที่ 2.19 และ 2.20 ตามลำดับ



ภาพที่ 2.19 แรง (force) ที่ใช้ทดสอบความแข็งแรงของเจลจากไข่แดงที่เกิดจากความร้อนและความดันสูง (4,000 – 5,000 atm)

ที่มา : Okamoto et al. (1990)

โดยทั่วไปไข่ต้มจะมีกลิ่นของกำมะถันและเกิดสารประกอบ lysinoalanine ขึ้นในระหว่างการทำให้สุกแต่ไข่ที่ทำได้ด้วยความดันสูงจะไม่เกิดกลิ่นกำมะถันและสารประกอบดังกล่าว ซึ่งสารที่เกิดขึ้นนี้จะไปรวมตัวกันเป็นเครือข่ายสามมิติภายในลำไส้และยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยสลายโปรตีนทำให้ร่างกายไม่สามารถนำกรดอะมิโนไปใช้ได้เต็มที่ นอกจากนั้นการใช้ความดันสูงไม่มีผลต่อปริมาณสารอาหารต่างๆ ในไข่เช่นไรโบเฟลวิน (riboflavin) กรดโฟลิก (folic acid) และไทอามีน (thiamine) ในขณะที่การใช้ความร้อนทำให้สารต่างๆ เหล่านี้สูญเสียไป



ภาพที่ 2.20 แรง (force) ที่ใช้ทดสอบความแข็งแรงของเจลจากไข่แดงที่เกิดจากความร้อนและความดันสูง (6,000 – 7,000 atm)

ที่มา : Okamoto et al. (1990)

มีรายงานว่าเจลของคาราจีแนน (carrageenan) โอวัลบูมิน (ovalbumin) และโปรตีนถั่วเหลือง (soy protein) จะมีจุดหลอมเหลวลดลงเมื่อให้ระดับของความดันสูงเพิ่มขึ้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความดันสูงมีผลให้เจลที่ได้มีความเสถียรต่ำลง ส่วนเจลของอการ์โรส (agarose) และเจลาติน (gelatin) พบว่าจะมีจุดหลอมเหลวเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของความดันสูงเพิ่มขึ้น Farr (1990) รายงานว่าในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้ความดันสูงในกระบวนการผลิตซูริมิ (surimi) จากวัตถุดิบชนิดต่างๆ พบว่าการใช้ความดันสูง 6,000 atm ทำให้เกิดเจลของซูริมิที่มีส่วนผสมหลักจากปลาหมึก (squid) และเจลที่ได้มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสดีกว่าเจลที่เกิดจากการให้ความร้อน Okamoto et al. (1990) รายงานว่ากลไกการเกิดเจลของโปรตีนเนื่องจากความดันสูงมีความแตกต่างจากการเกิดเจลจากการใช้ความร้อน เนื่องจากความดันสูงทำให้ปริมาตรของสารละลายโปรตีนลดลง ในขณะที่ความร้อนจะทำลายพันธะอนโคเวเลนต์ (non covalent) โปรตีนเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติและเกิดเครือข่ายแบบสุ่ม (random network) นอกจากนั้นความดันสูงทำให้การจัดเรียงตัวของโมเลกุลของน้ำที่อยู่โดยรอบของส่วนที่เป็นกรดอะมิโนในโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้เจลที่ได้เป็นประกายและมีความโปร่งใสในขณะที่เจลที่เกิดจากความร้อนสูงจะมีลักษณะขุ่นและทึบแสง

การปรับปรุงคุณภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ขององค์ประกอบในอาหาร

จากการที่ความดันสูงมีผลในการทำลายพันธะนอนโคเวเลนต์ (non covalent) ในขณะที่ไม่ได้มีผลต่อพันธะโคเวเลนต์ ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลาย (digestibility) โปรตีนจากเนื้อสัตว์ได้นอกจากนั้นความดันสูงยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ในผักได้ โดยมีข้อดีเหนือกว่าการใช้ความร้อนในการลวก (blanching) คือไม่สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการและช่วยรักษาสภาพแวดล้อมโดยไม่ทำให้เกิดน้ำเสียจากน้ำที่ใช้ในการลวกซึ่งมีค่า biochemical oxygen demand ที่สูง Eshtiaghi และ Knorr (1993) รายงานว่าการใช้น้ำร้อนในการลวกมันฝรั่งจะสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์ได้ 3 log cycle ในขณะที่การใช้ความดันสูงจะสามารถลดได้ถึง 4 log cycle และระหว่างการลวกมันฝรั่งโดยใช้น้ำร้อนพบว่าเกิดการสูญเสียโปรตีนจากการชะ (leaching) ในขณะที่การใช้ความดันสูงไม่ทำให้เกิดการสูญเสียธาตุอาหารดังกล่าว

Carlez et al. (1994) รายงานว่าการใช้ความดันสูงช่วยลดเวลาในการละลายน้ำแข็งของอาหารแช่เยือกแข็งได้ทำให้รวดเร็วกว่า โดยเนื้อสัตว์ที่นำมาละลายน้ำแข็งโดยใช้ความดันสูงมีรสชาติและความชุ่มฉ่ำ (juiciness) ไม่แตกต่างจากเนื้อสัตว์ที่ละลายน้ำแข็งโดยการตั้งทิ้งไว้ที่ความเย็นต่ำและอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสแต่สีของเนื้อสัตว์จะซีดลงเล็กน้อย

กระบวนการเกิดเจล (gelatinization) เกิดขึ้นเมื่อแกรนูลสตาร์ช (starch granules) เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก birefringent crystalline state ไปเป็น non- birefringent และเกิดการพอง โดยกระบวนการนี้เกิดได้ทั้งจากการให้ความร้อนหรือความดันสูงและความดันสูงที่ทำให้สตาร์ชเกิดเจล ขึ้นอยู่กับชนิดของสตาร์ช ผลของความดันสูงต่อการเกิดเจลนั้นเนื่องมาจากการทำให้พันธะไฮโดรเจนเสถียรซึ่งทำให้สามารถรักษาสภาพเดิมของแกรนูลสตาร์ชไว้ได้ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของสตาร์ชในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำนั้นพบว่าการเกิดขึ้นช้ากว่าสตาร์ชที่เกิดจากการให้ความร้อน โดยความร้อนทำให้โครงสร้างของสตาร์ชถูกทำลายในระหว่างการเกิดเจลและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะโครงสร้างของสตาร์ชเปลี่ยนแปลงกลับคืนได้บางส่วนในขณะที่ความดันสูงจะทำให้แกรนูลสตาร์ชเกิดการพองตัวแต่ยังคงโครงสร้างของแกรนูลไว้

Johnston et al. (1992) รายงานว่าความดันสูงทำให้โมเลกุลโปรตีนเกิดการคลายตัว สาเหตุดังกล่าวทำให้คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ความสามารถในการเกิดโฟม (foaming capacity) ความสามารถในการเกิดทำให้เกิดอิมัลชัน (emulsifying capacity) ความสามารถในการเกิดเจล (gelling capacity) และความสามารถในการจับกับน้ำ (water

binding capacity) เป็นต้น ความสามารถในการเกิดทำให้เกิดอิมัลชันของโปรตีนที่ผ่านการให้ความดันสูงจะขึ้นอยู่กับค่า pH โดยพบว่าความสามารถในการเกิดทำให้เกิดอิมัลชันของสารละลายโอวัลบูมินจะมีความเสถียรของอิมัลชัน (emulsion stability) และค่า emulsifying activity สูงเมื่อสารละลายมีค่า pH เท่ากับ 12.5 ที่ความดันสูง 6,000 atm อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และค่า emulsifying activity จะลดลงเมื่อค่า pH ลดลงถึง 5.5 ซึ่งใกล้กับจุด isoelectric ของโอวัลบูมิน ส่วนการให้ความดันสูงแก่เคซีน (casein) และอัลบูมิน (albumin) พบว่าไม่มีผลในการปรับปรุงคุณสมบัติอิมัลชัน การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากความแตกต่างกันของโครงสร้างของโปรตีนเช่น พันธะไดซัลไฟด์ (S-S bridges)

การประยุกต์ใช้ความดันสูงด้านอื่นๆ

ความดันสูงสามารถนำมาใช้เพิ่มปริมาณผลผลิต (yield) ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสกัดเมตาโบไลต์ที่มีความสำคัญได้ที่อุณหภูมิห้อง (ambient) เช่น สารให้กลิ่นรส (flavors) หรือเม็ดสี (pigments) ตัวอย่างเช่นเม็ดสี amaranthin ที่สกัดได้จากเซลล์ของ *Chenododium rubrum* การให้ความดันสูงที่ 2,500 atm เวลา 10 นาทีแก่เซลล์จะทำให้สามารถสกัดเม็ดสีออกมาได้ปริมาณมากถึง 99% จากตัวเซลล์ออกมายังอาหารเลี้ยงเชื้อ (Knorr, 1993) นอกจากนั้นความดันสูงนำมาใช้ในการยับยั้งการสร้างเม็ดสีของแบคทีเรียที่ 2,900 atm และอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เช่นในเชื้อ *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus aureus* โดยกระบวนการดังกล่าวสามารถย้อนกลับได้ โดยปกติแล้วที่ความดันบรรยากาศ เชื้อสีแดง *Serratia marcorubra* จะผลิตเม็ดสีหลายชนิดเช่นสีส้ม เหลือง ครีမ် และขาวในปริมาณที่ลดลงตามลำดับ แต่ที่ความดัน 300 atm ลำดับการสร้างเม็ดสีจะผันกลับ กล่าวคือจะสร้างเม็ดสีขาว หรือปราศจากสี และสร้างสีแดงเพียงเล็กน้อย

ความดันสูงยังสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงประสิทธิภาพในการเลือกการย่อยโปรตีนเฉพาะชนิด (selective proteolysis) เช่น เบต้าแลกโตโกลบูลิน (β -lactoglobulin) หลังจากผ่านการให้ความดันที่ 2,000 atm จะถูกเลือกย่อยได้มากกว่า โดยการใช้เอนไซม์เทอร์โมไลซิน (thermolysin) ในขณะที่แอลฟาแลกโตโกลบูลิน (α -lactoglobulin) จะยังไม่ถูกย่อย การกำจัดเบตาแลกโตโกลบูลินจากเวย์ที่ได้จากน้ำนม (bovine milk whey) ในขณะที่ยังคงปริมาณของแอลฟาแลกโตโกลบูลินไว้ มีความสำคัญในการนำเวย์เข้มข้น (whey concentrates) มาใช้เป็นวัตถุดิบในนมปรุงแต่งสำหรับทารก

ในการนำผลผลิตไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะมีโอกาสเกิดการบาดเจ็บเนื่องจากการแช่เย็น (frost injury) ได้มากขึ้นถ้ามีแบคทีเรียชนิด ice nucleation-active อยู่ด้วย ซึ่งเซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้จะถูกยับยั้งโดยการเพิ่มความดันที่สูงกว่า 3,000 atm

การเพิ่มระดับของความดันสูงจะช่วยให้จุดหลอมเหลวของไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) มีค่าสูงขึ้น โดยปกติไขมันที่ปรากฏในรูปของเหลวที่อุณหภูมิห้องและเกิดผลึกภายใต้ความดันสูง โดยที่ความดันสูงจะกระตุ้นให้เกิดผลึกไขมันที่มีความหนาแน่นและคงตัวมากขึ้น

ความดันสูงจะกระตุ้นการเกิดการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้กรด (acid hydrolysis) แต่ไม่มีผลต่อการย่อยสลายของสตาร์ชข้าวโพด (corn starch) และกัมโลคัสบีน (locust bean gum)

การเพิ่มความดันสูงจะสามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดจาก xylose lysine, xylose β -alanine หรือ glutaraldehyde β -alanine และการเพิ่มความดันสูง 1,000 – 4,000 atm ที่อุณหภูมิ 4-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีสามารถยับยั้งเอนไซม์ไลเปส (lipase) ในเนื้อปลาซาร์ดีนได้ ซึ่งจะทำให้ไม่เกิดการสะสมของกรดไขมันอิสระที่มีผลทำให้เกิดรสชาติผิดปกติและความดันสูงไม่มีผลต่อรงควัตถุเช่นแคโรทีนอยด์ (carotenoids) คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และแอนโทไซยานิน (anthocyanins) แต่สำหรับไมโอโกลบิน (myoglobin) พบว่าจะไม่ทนต่อความดันสูงและจะสูญเสียสีแดงสด

สรุป

การใช้เทคโนโลยีความดันสูงเป็นวิธีการหนึ่งที่ไม่ใช้ความร้อนในการถนอมอาหาร นอกจากนั้นยังช่วยในการปรับปรุงคุณสมบัติเกี่ยวกับการไหล (rheological) และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional properties) ของอาหาร สิ่งที่มีความสำคัญในการเพิ่มความดันสูงคือสามารถนำมาใช้ในการยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในขณะที่ยังคงรักษาคุณค่าทางโภชนาการและรสชาติของอาหารไว้ได้ ทำให้อาหารมีรสชาติที่ยังคงสดใหม่รวมทั้งคงคุณภาพทางเนื้อสัมผัส อย่างไรก็ตามการใช้ความดันสูงในปัจจุบันมีข้อจำกัดการใช้ในระดับอุตสาหกรรมอยู่ที่เครื่องมือหรืออุปกรณ์ ซึ่งจะต้องออกแบบให้ทนต่อแรงดันที่สูงมากและยังต้องมีการพัฒนาและปรับปรุงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Asaka, M., and R. Hayashi. 1991. Activation of polyphenol oxidase in pear fruits by high pressure treatment. *Agric. Biol. Chem.* 55 (9) : 2439 – 2440.
- Ashie, I. N. and T. C. Lanier. 1999. High pressure effects on gelation of surimi and turkey breast muscle enhances by microbial transglutaminase. *J. Food Sci.* 64(4) : 704 – 708.
- Barbosa-Canovas, G. V., U. R. Pothakamury, E. Palou and B. G. Swanson. 1998. *Nonthermal Preservation of Foods.* Marcel Dekker, Inc., New York, USA.
- Carlez, A., J. P. Rosec, N. Richard and J. C. Cheftel. 1994. Bacterial growth during chilled storage of pressure treated mince meat. *Lebensm. Wiss. U. Technol.* 27 : 48 – 54.
- Devlieghere, F., L. Vermeiren, and J. Debevere. 2004. New preservation technologies : possibilities and limitations : a review. *Int. Dairy J.* 14 : 273-285.
- Earnshaw, R. 1996. High pressure food processing. *Nutrition & Food Science* 2 : 8-11.
- Eshtiaghi, M. N. and D. Knorr. 1993. Potato cubes response to water blanching and high hydrostatic pressure. *J. Food Sci.* 58(6) : 1371-1374.
- Farr, D. 1990. High pressure technology in the food industry. *Trends in Food Sci& Tech.* 1 : 14 – 16.
- Farkas, D.F. and D. G. Hoover. 2000. High pressure processing. *J. Food Sci.* Supplement. 47-64.
- Goodner, J. K., R. J. Braddock, M. E. Parish and C. A. Sims. 1999. Cloud stabilization of orange juice by high pressure processing. *J. Food Sci.* 64(4) : 699 – 700.
- Gould, G. W. and A. J. H. Sale. 1970. Initiation of germination of bacterial spores by hydrostatic pressure. *J. Gen. Microbiol.* 60 : 335-346.
- Hayakawa, I., T. Kanno, M. Tomita and Y. Fujio. 1994. Application of high pressure for spore inactivation and protein denaturation. *J. Food Sci.* 59(1) : 159-163.
- Hendrickx, M., L. Ludikhuyze, I. Van den Broeck and C. Weemaes. 1998. Effects of high pressure on enzymes related to food quality. *Trends in Food Sci.& Tech.* 9 : 197 –203.

- Heremans, K. 1995. High pressure effects on biomolecules. pp. 81- 97. *In* "High Pressure Processing of Foods". D.A. Ledward, D.E. Johnson, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting (eds.). Blackie Academic & Professional , Glasgow.
- Homma, N., Y. Ikeuchi and A. Suzuki. 1994. Effect of high pressure treatment on the proteolytic enzymes in meat. *Meat Sci.* 38 : 219 – 228.
- Hoover, D. G. 1993. Pressure effects on biological systems. *Food Tech.* 47(6) : 150 – 155.
- Hoover, D. G., C. Metrick, A. M. Papineau, D.F. Farkas, and D. Knorr. 1989. Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Tech.* 43(3) : 99-107.
- Iwahasi, H., S. C. Kaul, K. Obuchi and Y. Komatsu. 1991. Induction of barotolerance by heat shock treatment in yeast. *FEMS Microbiol. Lett.* 80 : 325 – 328.
- Johnson, F. H. and C. E. Zobell. 1949. The retardation of thermal disinfection of *Bacillus subtilis* spores by hydrostatic pressure. *J. Bacteriol.* 57 : 353-358.
- Johnston, D. E., B. A. Austin and R. J. Murphy. 1992. Effects of high hydrostatic pressure on milk. *Milchwissenschaft* 47(12) : 760-763.
- Knorr, D. 1993. Effect of high hydrostatic pressure processes on food safety and quality. *Food Tech.* 47 (6) : 156 – 161.
- _____. 1995a. Hydrostatic Pressure Treatment of Food : Microbiology. pp. 158-175. *In* " New Methods of Food Preservation". G. W. Gould (ed.). Blackie Academic & Professional , Glasgow.
- _____. 1995b. Hydrostatic Pressure Effects on Plant Derived Foods. pp. 123-136. *In* "High Pressure Processing of Foods". D.A. Ledward, D.E. Johnson, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting (eds.). Blackie Academic & Professional , Glasgow.
- Kurth, L. B. 1986. Effect of pressure-heat treatments on cathepsin B1 activity. *J. Food Sci.* 51(3) : 663-667.
- Lechowich, R. V. 1993. Food safety implications of high pressure as a food processing method. *Food Tech.* 47(6) : 170 – 171.

- Ledward, D.A. 1995. High pressure processing – the potential. pp. 1-5. In “High pressure processing of foods”. Ledward, D.A., D. E. Johnston, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting. (eds.). Nottingham University Press, Leicestershire.
- Ledward, D.A., D. E. Johnston, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting. 1995. High pressure processing of foods. Nottingham University Press, Leicestershire.
- Master, A. M., E. R. Knott, P. G. M. Teunissen and P. V. Bartels. 2000. Effects of high isostatic pressure on mushrooms. J. Food Eng. 45 : 11 – 16.
- Mertens, B. 1995. Hydrostatic Pressure Treatment of Food : Equipment and Processing. pp. 135-158. In “ New Methods of Food Preservation”. G. W. Gould (ed.). Blackie Academic & Professional , Glasgow.
- Mertens, B. and G. Deplace. 1993. Engineering aspects of high pressure technology in the food industry. Food Tech. 47(6) : 164 – 169.
- Metrick, C., D. G. Hoover, and D. F. Farkas. 1989. Effects of high hydrostatic pressure on heat resistant and heat sensitive strains of Salmonella. J. Food Sci. 54(6) : 1547-1564.
- Ogawa, H., K. Fukuhisa, Y. Kubo, H. Fukumoto. 1990. Inactivation effect of pressure does not depend on the pH of the juice. Agric. Biol. Chem. 54 (5) : 1219-1225.
- Ohmiya, K., K. Fukami, S. Shimizu and K. Gekko. 1987. Milk curding by rennet under high pressure. J. Food Sci. 52(1) : 84-87.
- Okamoto, M., Y. Kawamura, and R. Hayashi. 1990. Application of high pressure to food processing : teatural comparison of pressure and heat induced gels of food proteins. Agric. Biol. Chem. 54(1) : 183 – 189.
- Palou, E. , A. Lopez-Malo, G. V. Barbosa-Canovas, J. Welti-Chanes and B. G. Swanson. 1999. Polyphenoloxidase activity and high hydrostatic pressure and high hydrostatic pressure treated banana puree. J. Food Sci. 64(1) : 42 – 45.
- Patterson, M. F., M. Quinn, R. Simpson and A. Gilmour. 1995. Effects of high pressure on vegetative pathogens. pp. 47 – 63. In “High pressure processing of foods”. Ledward, D.A., D. E. Johnston, R. G. Earnshaw and A. P. M. Hasting. (eds.). Nottingham University Press, Leicestershire.
- Pothakamury, U. R., G. V. Barbosa-Canovas, B.G. Swanson and R.S. Meyer. 1995. The pressure builds for better food processing. Chem. Eng. Prog., March pp. 45-55.

- Rastogi, N. K. , A. Angersbach and D. Knorr. 2000. Synergistic effect of high hydrostatic pressure pretreatment and osmotic stress on mass transfer during osmotic dehydration. J. Food Eng. 45 : 25 – 31.
- Sale, A. J. H., G. W. Gould, and W. A. Hamilton. 1969. Inactivation of bacterial spores by hydrostatic pressure. J. Gen. Microbiol. 60(3) : 323-346.
- Shigehisa, T., T. Ohmori, A. Saito, S. Taji and R. Hayashi. 1991. Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. Int. J. Food. Microbiol. 12 : 207-216.
- Silva, J. L. and Weber, G. 1993. Pressure Stability of proteins. Ann. Rev. Physical Chem. 44 : 89 – 113.
- Smelt, J. P. P. M. 1998. Recent advances in the high pressure processing. Trends in Food Sci& Tech. 9 : 152 – 158.
- Styles, M. F., D. G. Hoover and D. F. Farkas. 1991. Response of *Listeria monocytogenes* genes and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. J. Food Sci. 56(7) : 1404-1407.
- Sumitani, H., S. Suekane, A. Nakatani, and K. Tatsuka . 1994. Changes in composition of volatile compounds in high pressure treated peach. J. Agric. Food Chem. 42 : 785-790.
- Zimmermann, F. and C. Bergman. 1993. Isostatic high pressure equipment for food preservation. Food Tech. 47(6) : 162 – 163.