บทที่ 8
การตรวจสอบประสิทธิภาพของขั้นตอนการทำ blanching

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบหลักการและขั้นตอนหนึ่งที่ใช้ในการถนอมรักษาอาหาร
2. เพื่อให้ทราบวิธีการตรวจวัดประสิทธิภาพของขั้นตอนดังกล่าว
3. เพื่อให้สามารถเปรียบเทียบและหาสภาวะที่เหมาะสมของขั้นตอนดังกล่าวได้

บทนำ

ขบวนการที่มักใช้ในการถนอมรักษาอาหาร(food preservation) คือ การแช่แข็ง (freezing) เพื่อลดอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยอาศัยกลไก 2 ประการ คือ

1. การที่น้ำเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็ง จะเป็นการลดกิจกรรม(activity)ของน้ำ เช่น ความสามารถในการละลายของน้ำ

2. การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ เป็นการลดอัตราในการเกิดปฏิกิริยาต่าง ๆ

ดังนั้นการแช่แข็งจึงเป็นที่นิยมในการถนอมรักษาอาหาร แต่ก่อนที่จะนำไปแช่แข็งโดยเฉพาะอาหารประเภทพืชผักนั้น จะต้องผ่านขั้นตอนในการให้ความร้อนช่วงสั้น ๆ เรียกว่า"Blanching" เพื่อจุดประสงค์ 4 ประการคือ

1. ช่วยลดกิจกรรมของ enzyme (enzyme activity)ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเสื่อมสลาย(deterioration action)

2. ช่วยกำจัดก๊าซที่ปนอยู่ในอาหาร

3. ช่วยกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน

4. เป็นการประกอบอาหาร(cooking)ได้บางส่วน

กรรมวิธีที่ใช้ในการทำ blanching มีด้วยกัน 3 วิธีคือ

1. การจุ่มในน้ำร้อนอย่างรวดเร็ว

2. การอบด้วยไอน้ำอย่างรวดเร็ว

3. การอบด้วย microwave

การที่จะทราบว่าวิธีการและสภาวะใด ที่เหมาะสมต่อการทำblanching สามารถตรวจวัดได้โดยใช้การวัด catalase หรือ peroxidase activity ที่เหลืออยู่ในอาหาร ซึ่งenzyme ทั้งสองเป็นenzyme ที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาการเสื่อมสลายของอาหาร เพื่อให้สะดวกต่อการตรวจวัด จึงเลือกใช้การวัดactivity ของperoxidase ที่เหลืออยู่ในอาหาร (ซึ่งนักศึกษาได้

เคยศึกษาและทำการสกัดenzyme ดังนี้มาแล้ว) โดยอาศัยสารพวก 3,3-diamino benzidine และ H_2O_2 เป็นสารตั้งต้นร่วมในการเกิดปฏิกิริยา ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถดูดกลืนคลื่นแสง ณ ความยาวคลื่น 465 nm.ใช้ในการคำนวนหา % ของ peroxidase activity ที่เหลืออยู่ (% residual peroxidase activity,RPA) ได้ดังสมการ

$$\% \text{ Residual peroxidase activity (\%RPA)} = \frac{A\ 465(\text{sample})}{A\ 465(\text{control, zero time})} \times 100$$

อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ต่อ 1 กลุ่มการทดลอง

1. Knife และ plastic plate 1 ชุด
2. Test tube ขนาด 13 x100 mm. 16 หลอดพร้อม rack
3. Serological pipette ขนาด 1 ml. จำนวน 6 อัน
4. Rubber bulb และ tip 1 ชุด
5. Beaker ขนาด 250 ml. และ 500 ml. อย่างละ 1 ใบ
6. ด้ายยาว 10 นิ้ว ประมาณ 10 เส้น
7. Cylinder ขนาด 10 ml. 2 ใบ
8. ถุงพลาสติก 10 ใบ
9. Ice container 1 ใบ
10. Dropper 1 อัน
11. Wash bottle 1 ขวด
12. Brush 1 อัน
13. ผัก 2 ชนิด

สารเคมีที่ใช้ร่วมกัน

1. Water bath
2. Hot plate และ ceramic plate
3. Centrifuge และ Two-pan balance
4. Toploading balance (rough)
5. Spectrophotometer พร้อม cuvette

การทดลอง

1. นำผักที่ได้มาล้างให้สะอาด แบ่งเป็น 5ชุดๆละ 10g. แต่ละชุดนำมาผูกด้วยด้าย ติดฉลากชุดที่ 1,2,3,4 และ 5 ตามลำดับ
2. จากนั้นนำแต่ละชุดไปจุ่มในน้ำที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆกันดังนี้

ชุดที่ 1 นำไปแช่น้ำเย็น

ชุดที่ 2 นำไปแช่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำเย็น

ชุดที่ 3 นำไปแช่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำเย็น

ชุดที่ 4 นำไปแช่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำเย็น

ชุดที่ 5 นำไปแช่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำเย็น

3. นำแต่ละชุดใส่ถุงพลาสติก ชุดละ 1ใบ เติม 0.01 M phosphate buffer pH 7.0 (เย็น)ลงไปถุงละ 3ml.ทำการบดให้ละเอียด ระหว่างบดควรแช่น้ำแข็งเป็นครั้งคราว
4. บีบเอาเฉพาะส่วนใสใส่หลอดทดลอง นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 3,000rpmเป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสใส่หลอดทดลองชุดใหม่ วัดปริมาตรของของเหลวที่ได้ แช่หลอดทดลองในน้ำแข็ง
5. Pipette น้ำกลั่น,ส่วนใสชุดที่ 1-5 0.1 ml.ลงในหลอดทดลองที่ 1,2,3,4,5และ 6 ตามลำดับ
6. เติม DAB solution ลงไป หลอดละ 3 ml.ผสมให้เข้ากัน นำไปอ่านการดูดกลืนแสงที่ 465 nm.โดยใช้หลอดที่ 1 เป็น blank

~~การเตรียมสารละลายบางชนิดที่ใช้ในการทดลอง~~

~~DAB solution~~

- ละลาย trizma base (Tris) 6g.ในน้ำกลั่น 500ml.เติม HCl conc.ปรับให้ได้ pH 5.0 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาณ 1000 ml. -> "สารละลาย Tris"
- ละลาย diamino benzidine hydrochloride 0.02 g.ในสารละลาย Tris 250 ml.ก่อนใช้งานจึงเติม 0.4 ml.ของhydrogen peroxide ลงไป ผสมให้เข้ากัน ใช้ทันที

รายงานผลการทดลอง

เรื่องการตรวจสอบประสิทธิภาพในการทำ blanching

ชื่อผู้ทดลองและเขียนรายงาน_____รหัส_____เลขที่_____

ชื่อผู้ร่วมทดลอง 1._____รหัส_____เลขที่_____

2._____รหัส_____เลขที่_____

กลุ่ม_____ Section/วันที่ทำการทดลอง_____เวลา_____

ห้องที่ทำทดลอง_____

อาจารย์ผู้ควบคุมการทดลอง 1._____

2._____

ผลการเตรียมสารตัวอย่าง

ชื่อสารตัวอย่าง	.....	.....
นำมาทำ blanching ชุดที่ 1	....g.ได้ของเหลว....ml.	.g.ได้ของเหลว....ml.
นำมาทำ blanching ชุดที่ 2	....g.ได้ของเหลว....ml.	.g.ได้ของเหลว....ml.
นำมาทำ blanching ชุดที่ 3	....g.ได้ของเหลว....ml.	.g.ได้ของเหลว....ml.
นำมาทำ blanching ชุดที่ 4	....g.ได้ของเหลว....ml.	.g.ได้ของเหลว....ml.
นำมาทำ blanching ชุดที่ 5	....g.ได้ของเหลว....ml.	.g.ได้ของเหลว....ml.

ผลจากการทำ blanching

	OD465	%RPA
ชื่อสารตัวอย่าง....ชุดที่ 1 น้ำเย็น		
ชุดที่ 2 80 องศาเซลเซียส,1นาที		
ชุดที่ 3 80 องศาเซลเซียส,4นาที		
ชุดที่ 4 100องศาเซลเซียส,1นาที		
ชุดที่ 5 100องศาเซลเซียส,4นาที		
ชื่อสารตัวอย่าง....ชุดที่ 1 น้ำเย็น		
ชุดที่ 2 80 องศาเซลเซียส,1นาที		
ชุดที่ 3 80 องศาเซลเซียส,4นาที		
ชุดที่ 4 100องศาเซลเซียส,1นาที		
ชุดที่ 5 100องศาเซลเซียส,4นาที		

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Xresidual peroxidase activity(%RPA)และ เวลาที่ใช้(นาที) ของสารตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด ณ อุณหภูมิ 80องศาเซลเซียส และ 100องศาเซลเซียส

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

คำถาม

1. นอกจากการใช้ enzyme activity หรือ peroxidase activity เป็นเครื่องชี้ในการถนอมประสิทธิภาพของอาหารแล้ว มีวิธีการอื่นหรือไม่ให้อธิบาย

2. ให้นักศึกษาค้นวิธี preservation แบบอื่นมา 2 แบบ(ต้องเป็นวิธีที่นิยมใช้)

3. Preservative ช่วยในการถนอมรักษาอาหารอย่างไร อธิบายมาพอสังเขป

หนังสืออ้างอิง

1. Plummer,D.T., An Introduction to Practical Biochemistry, 3rd Edition, McGraw Hill Book Company, London, 1987
2. Clark, J.M.,Jr., and Switzer R.L., Experimental Biochemistry, 2nd edition, W.H Freeman and Company, San Francisco, 1977
3. Wood,E.J., Practical Biochemistry for Colledges, BPCC Wheatons Ltd, Exeter, Great Britain, 1989
4. Baum, S.T.,et al., Laboratory Exercises in Organic & Biological Chemistry, 2nd Edition, Macmillan Publishing Co., Inc., New York , 1981
5. Wilson, K.,and Goulding, K.H., A Biologist·s Guide to Principles and Techniques of Practical Biochemistry, 3rd Edition, English Language Book Society, London,1986
6. Robyt, J.F., and White,B.J., Biochemical Techniques Theory and Practice, Brooks/Cole Publishing Company, Monterey, California, 1987
7. Krogmann, D.W., Molecules, Measurements, Meanings. A Laboratory Manual in Biochemistry , W.H Freeman and Company, San Francisco,1971
8. Dawson, R.M.C, Data for Biochemical Research, Oxford University Press,1969
9. Boonsiri,P.,Peroxidase in Thai Vegetables, M.Sc.Thesis in the Faculty of Graduate Studies of Mahidol University, 1985
10. คู่มือปฏิบัติการชีวเคมี, ฉบับปี 2531, โดยคณาจารย์ภาควิชาชีวเคมี, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, 2531
11. คู่มือปฏิบัติการชีวเคมี, โดยคณาจารย์ภาควิชาชีวเคมี, คณะทันตแพทยศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,2531
12. คู่มือปฏิบัติการชีวเคมี, โดยคณาจารย์ภาควิชาสรีรวิทยาและชีวเคมี, คณะทันตแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล, 2533
13. ตั้งประดับกุล, สุมาลี, คู่มือปฏิบัติการพันธุวิศวกรรม 1 เรื่องการขยายยีนและการตัดต่อยีนจากรีคอมบิแนม, จัดพิมพ์โดย Text and Journal Corporation Co.,Ltd., กรุงเทพ,2533
14. การประชุมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง เทคนิคการขยายยีนและตัดต่อยีน, จัดทำโดย ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, ภาควิชาชีวเคมีและศูนย์อณูพันธุศาสตร์-พันธุวิศวกรมศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยมหิดล,2528
15. กิตติวัธน์, สุนันทา, ชีวเคมี 1, พิมพ์ครั้งที่ 5 จัดพิมพ์โดยสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง,2535
16. จามิกรณ์,เรืองลักษณา,ชีวเคมีเบื้องต้น,จัดพิมพ์โดยสำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยรามคำแหง,2532