ภาคผนวก

ก. การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ความชื้น โดยวิธีอบในตู้อบไฟฟ้า (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
2. ตู้อบไฟฟ้า
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าอย่างละเอียด

วิธีการ

1. ภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก

2. กระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างน้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

4. นำไปอบในตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

5. นำออกจากตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง

6. อบซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ x 10}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. เตาเผา
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปิดสวิทช์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อน แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วชั่งน้ำหนัก

2. เผาซ้ำอีกครั้งประมาณ 30 นาที และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้ผลต่างน้ำหนักทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

3. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักแล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 600 องศาเซลเซียส และทำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

4. คำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้าคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{100 \times \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ใช้วิธีเจลดาล (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ย่อยโปรตีน ประกอบด้วยเตาย่อย และเครื่องดักจับไอกรด
2. อุปกรณ์กลั่นโปรตีน
3. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร และขวดปรับปริมาณขนาด 100 มิลลิลิตร
4. ปิเปตขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
5. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
6. ลูกแก้ว
7. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
8. กระดาษกรอง

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง (ของแข็ง) ให้ได้น้ำหนักประมาณ 0.5-1.0 กรัม (ตัวอย่างของเหลวใช้ปริมาตร 10-15 มิลลิลิตร) ใส่ในหลอดย่อยโปรตีนและทำแบลงค์ด้วย

2. ใส่สารผสม $CuSO_4$ และ K_2SO_4 ปริมาณ 5 กรัม

3. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 20 มิลลิลิตร

4.วางหลอดย่อยในเตาย่อยแล้วประกอบสายยางระหว่างฝาครอบขวดด่างและเครื่องดักจับไอกรดให้เรียบร้อย

5.เปิดสวิทช์เครื่องดักจับไอกรดและเตาย่อย แล้วตั้งอุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที จากนั้นปรับอุณหภูมิเป็น 350 องศาเซลเซียส ย่อยต่ออีก 60 นาทีจนได้สารละลายใส

6. ปล่อยทิ้งให้เย็น

7.นำมาถ่ายลงในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร แล้วใช้น้ำกลั่นล้างหลอดย่อยให้หมดสารละลายตัวอย่าง ปริมาณให้ได้ 100 มิลลิลิตรเก็บไว้กลั่นต่อไป

ขั้นตอนการกลั่นและไตเตรต

1. จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทซ์ให้ความร้อน และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่นด้วย

2. นำขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตรซึ่งบรรจุกรดบอริก (เข้มข้นร้อยละ 4) ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ซึ่งเติมอินดิเคเตอร์เรียบร้อยแล้วไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มในสารละลายกรดบอริก

3. ดูดสารละลายตัวอย่างโดยปิเปตแบบกระเปาะขนาดความจุ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงไป 20 มิลลิลิตร

4. กลั่นประมาณ 10 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ

5. ไตเตรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วยกรดเกลือที่มีความเข้มข้น 0.02 นอร์มาลจนสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง

6. คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{ปริมาณโปรตีนคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{(A - B) \times N \times 12.007 \times F}{W}$$

A = ปริมาณกรดที่ใช้ในการไตเตรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B = ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของกรด (นอร์มาล)

F = แฟกเตอร์ (6.5)

W = น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)

4.การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (A.O.A.C., 1995)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน ประกอบด้วยขวดกลม ซอคเลต อุปกรณ์ควบแน่น และเตาให้ความร้อน

2. หลอดใส่ตัวอย่าง

3. สำลี

4. ตู้อบไฟฟ้า

5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6. โถดูดความชื้น

7. ปิโตรเลียมอีเทอร์ หรือ เฮกเซน

วิธีการ

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมัน ซึ่งมีขนาดความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองที่ทราบน้ำหนัก ถ้าตัวอย่างเป็นอาหารที่มีไขมันมาก (ให้ชั่ง 1-2 กรัม) ถ้าเป็นชนิดที่มีไขมันน้อยให้ชั่ง 3-5 กรัม ห่อให้มิดชิดแล้วใส่ในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารตัวอย่างทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต

4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดหาไขมันประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัดไขมันนาน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที

5.เมื่อครบ 14 ชั่วโมงแล้วนำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลตทิ้งให้ตัวทำละลายไหลจากซอคเลตลงในขวดกลมจนหมด

6. ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ

7.นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียสจนแห้งใช้เวลาประมาณ 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น

8. ชั่งน้ำหนัก แล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

9. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมันคิดเป็นร้อยละ} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5.การตรวจสอบค่าด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. จาน conway unit
2. Volumetric pipette
3. Pipette ขนาด 1 มิลลิลิตร
4. โฮโมจีไนส์
5. กระดาษกรอง
6. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารละลาย Mixed indicator
2. สารละลาย Innerring
3. สารละลาย HCl 0.02 นอร์มาล
4. สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว
5. กรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 4
6. วาสลีน

การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม บดผสมกับ กรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ4 8 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41 ปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตร หากไม่ได้วิเคราะห์เลยในวันนั้นควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

วิธีการ

1. ทาวาสลีนที่ขอบฝาจาน conway
2. ดูดสารละลาย Innerring 1 มิลลิลิตรลงในจานชั้นในของจาน conway
3. เอียงจาน conway ในขณะที่มีฝาปิด
4. ดูดสารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว 1 มิลลิลิตร ใส่ชั้นนอก
5. ดูดสารตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในชั้นนอกของจานโดยให้อยู่คนละด้านกับสารละลายในข้อที่ 4
6. ปิดฝาจาน conway ให้สนิท
7. ค่อยๆ เอียงจานให้สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัวผสมกับสารละลายตัวอย่างระวังอย่าให้เกิดการผสมกันของสารละลายที่อยู่ในวงกลมกับสารชั้นนอกเป็นอันขาด
8. บ่มที่อุณหภูมิ 37องศาเซลเซียสเป็นเวลา 60 นาที
9. เปิดฝาจาน conway แล้วไตเตรทสารในวงกลมชั้นในด้วยสารละลาย 0.02 นอร์มาล HCl ที่ใช้เพื่อใช้ในการคำนวณ
10. ทำ Blank โดยใช้ กรดไตรคลอโรอะซีอีกเข้มข้นร้อยละ 4 จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนที่ตัวอย่างแล้วดำเนินการตั้งแต่ข้อ 2-9

คำนวณ TVB-N

$$\text{TVB-N (มิลลิกรัมไนโตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)\,(14)\,(A-B)\,(V)\,100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

A คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

V คือ ปริมาตรของตัวอย่างและ TCA ที่ใช้ในการเตรียมตัวอย่าง

6. การตรวจสอบค่าไตรเมทธิลเอมีน (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. จาน conway unit
2. Volumetric pipedtte
3. Micro burette
4. โฮโมจีไนส์
5. กระดาษกรอง
6. กรวยกรอง

สารเคมี

1. สารละลาย Mixed indicator
2. สารละลาย Innerring
3. สารละลาย HCl 0.02 นอร์มอล
4. สารละลายโพแทสเซียมคาร์บอเนตอิ่มตัว
5. กรดไตรคลอโรอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 4
6. ฟอร์มัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 10

7. วาสรีน

การเตรียมตัวอย่าง

ทำเช่นเดียวกับ TVB-N

วิธีการ

1. ทำเช่นเดียวกับการหา TVB-N ตั้งแต่ข้อ 1-4

2. เติม 10% ฟอร์มัสดีไฮด์ 1 มิลลิลิตรผสมกับตัวอย่าง

3. ปิดฝาจนจาน conway ให้สนิทและค่อยๆ เอียงจนให้สารละลายชั้นนอกผสมกัน ระวังอย่างให้เกิดการผสมกันของสารละลายที่อยู่ในวงกลมกับสารชั้นนอกเป็นอันขาด

4. บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

5. เปิดฝาจาน conway แล้วไตเตรทสารในวงกลมชั้นในด้วยสารละลาย 0.02 นอร์-มาล HCl จนกระทั่งสีเขียวจางหายไป บันทึกปริมาณ HCl ที่ใช้เพื่อใช้ในการคำนวณ

6. ทำ Blank โดยใช้ 4% ไตรคลอโรอะซีติก จำนวน 1 มิลลิลิตร แทนที่ตัวอย่างแล้ว ดำเนินการตั้งแต่ข้อ 2-5 ต่อไป

การคำนวณ TMA-N

$$\text{TMA-N (มิลลิกรัมไนไตรเจน/100 กรัมตัวอย่าง)} = \frac{(N)\,(14)\,(C-B)\,(V)\,100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เมื่อ

N คือ ความเข้มข้นของ HCl ที่ใช้ไตเตรท

C คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง

B คือ มิลลิลิตรของ HCl ที่ใช้ไตเตรทแบลงค์

V คือ ปริมาตรของตัวอย่างและไตรคลอโรแอซีติก

7. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลายมาตรฐาน BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
2. สารละลายไบยูเรท : ชั่ง $CuSo_4$ $5H_2O$ 1.5 กรัม โซเดียมโพแตสเซียมทาร์เตรท 6.0 กรัม เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 500 มิลลิลิตร คนจนเป็นเนื้อเดียวกัน เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 10 จำนวน 300 มิลลิลิตร ในขณะคนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ดูดสารละลายโปรตีน 500 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง
2. เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันหลังจากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
3. วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA (รูปภาคผนวก 1)

การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน Bovine Serum Albumin (BSA)

ดูดสารละลาย BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 100, 200, 300, 400 และ 500 ไมโครลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เท่ากับ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายไบยูเรท 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

รูปภาคผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐาน Bovine Serum Albumin

8. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (Lowry *et al.*, 1951)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. Vertex mixer
4. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
5. นาฬิกาจับเวลา

สารเคมี

1. สารละลาย A : โซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 2 ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

2. สารละลาย B : $CuSO_4$. $5H_2O$ ร้อยละ 0.5 ในสารละลายโซเดียมซิเตรทที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1

3. สารละลาย C : นำสารละลายโฟลีนฟีนอล 2 นอร์มอล มาทำการเจือจางร้อยละ 50 ก่อนใช้

4. สารละลาย D : นำสารละลาย B จำนวน 1 มิลลิลิตร + สารละลาย A จำนวน 50 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. นำสารละลายตัวอย่าง 200 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย D 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vertex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

2. เติมสารละลาย C 200 ไมโครลิตร ลงไปในสารละลายในข้อที่ 1 และผสมให้เข้ากันโดยใช้ vertex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

3. นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานโปรตีนโดยใช้ BSA

9.การวิเคราะห์หาปริมาณฟอสเฟต

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. กระดาษกรอง
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. สารละลายไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 10
2. สารละลาย NaOH 1 นอร์มาล
3. สารละลายแอมโมเนียโมลิเบทเข้มข้นร้อยละ 1.5
4. สารละลาย stanous chloride เข้มข้นร้อยละ 1

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนัก 10 กรัม และผสมกับกรดไตรคลอโรอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. ทำการกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 41

3 . ปรับพีเอชของสารละลายตัวอย่างให้เท่ากับ 5 ด้วย NaOH 1 นอร์มาล

4. ดูดสารละลายจากข้อ 3 มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นก็ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

5. ดูดสารละลายจากข้อ 4 มา 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองเติมน้ำกลั่นจำนวน 9 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายแอมโมเนียมโมลิเบท เข้มข้นร้อยละ 1.5 จำนวน 1 มิลลิลิตร

แล้วผสมให้เข้ากัน

6. นำหลอดทดลองที่มีสารละลายไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที และหลังจากนั้นเติม stanous chloride เข้มข้นร้อยละ 1 จำนวน 1 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากันจากนั้นต้มต่อในน้ำเดือดอีก 10 นาที

7. ทำให้เย็นโดยนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็น 20 นาที

8. นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 830 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาเปรียบเทียบกราฟมาตรฐานของฟอสเฟต

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณฟอสเฟต (ppm)} = \frac{C \times 25 \times 30}{W \times 1 \times 1}$$

เมื่อ

C = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างเปรียบเทียบกราฟมาตรฐาน

W = น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)

25 และ 30 = จำนวนเท่าของการเจือจาง

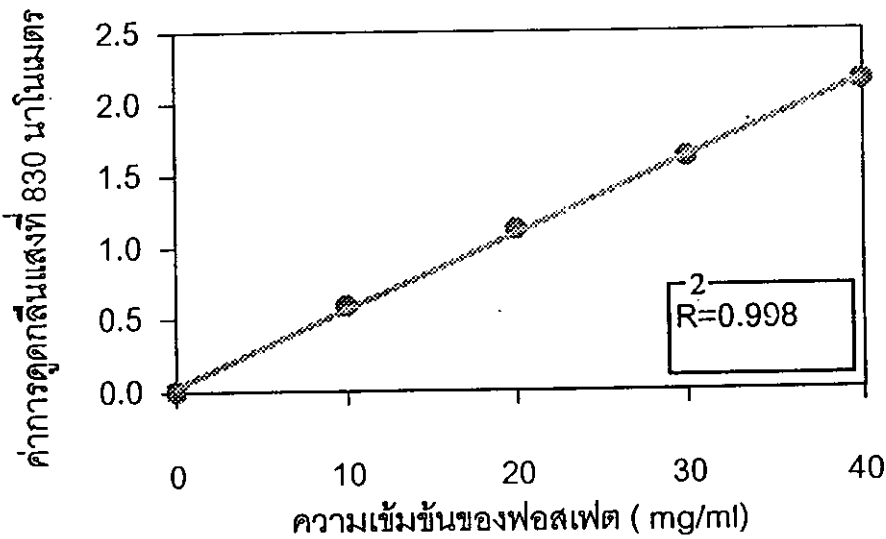
การเตรียมกราฟมาตรฐานฟอสเฟต

1.เตรียมสารละลายมาตรฐานฟอสเฟต (โดยใช้โพแทสเซียมไดโฮโดรเจนฟอสเฟต) เข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

2. ดูดสารละลายฟอสฟอรัส 0 , 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, และ 2.5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายฟอสฟอรัสจากข้อ 2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ มาหาฟอสเฟตเช่นเดียวกับตัวอย่าง

4. เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารฟอสฟอรัสกับค่าดูดกลืนแสง (รูปภาคผนวกที่ 2)



รูปภาคผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานฟอสเฟต

10 . ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ (Sych *et al.*, 1990)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. เครื่องเหวี่ยงแยกที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. NaCl เข้มข้น 0.6 โมลาร์
2. สารละลายมาตรฐาน BSA 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. สารละลายไบยูเรท

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม และเติมสารละลาย 0.6 M NaCl 200 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2.นำสารผสมที่ได้มาเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องแยกเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 7,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

3. นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Biuret method เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ BSA

คำนวณปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ

$$\text{ประมาณโปรตีนที่ละลายเกลือ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือ}}{100}$$

11. ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน (Hasegawa, 1987)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. ไมโครปิเปต
3. โฮโมจีไนส์
4. Vertex mixer
5. เครื่องเหวี่ยงแยกที่ควบคุมอุณหภูมิได้
6. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. NaOH เข้มข้น 1 นอร์มอล

วิธีการ

หาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในส่วนใส

1. ชั่งตัวอย่าง 1.7 กรัม และเติมน้ำ 34 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาเก็บในน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาที

3. นำสารผสมที่ได้มาเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องแยกเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 20,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที

4. นำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อหาความชื้น

5. นำส่วนใสที่ได้จากข้อที่ 3 ไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (1957) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ BSA

หาปริมาณโปรตีนทั้งหมดในตัวอย่าง

1.ชั่งตัวอย่าง 1.7 กรัม และเติมน้ำ 34 มิลลิลิตรแล้วนำไปบดให้ละเอียดโดยเครื่องโฮโมจีไนส์

2. ปรับพีเอช ของสารละลายตัวอย่างให้เท่ากับ 12 ด้วย NaOH เข้มข้น 1 นอร์มาล

3. นำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry method (1957) เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

การคำนวณความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน

ความสามารถในการอุ้มน้ำของโปรตีน = $\frac{\text{มิลลิกรัมของน้ำที่อยู่ในตะกอน}}{\text{มิลลิกรัมของโปรตีนที่อยู่ในตะกอน}}$

(มิลลิกรัมของน้ำ/มิลลิกรัมของโปรตีน)

12 . การทำเจลอิเล็กโตรโฟรีซีสตามวิธีการของ Laemmli (1970)

อุปกรณ์

1. ชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสแบบมินิเจล

สารเคมี

1. Acrylamide/bisacrylamide เตรียมโดยละลาย Acrylamide 29.2 กรัม และ bisacrylamide 0.8 กรัม ในน้ำกลั่นและปรับปริมาณให้ได้ 100 มิลลิลิตร เก็บใส่ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ใช้ได้ประมาณ 1 เดือนหลังจากเตรียมไว้)

2. สารละลายทริส-ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 1.5 โมลาร์ พีเอช 8.8

3. สารละลายทริส – ไฮโดรคลอไรด์บัฟเฟอร์เข้มข้น 0.5 โมลาร์ พีเอช 6.8

4. โซเดียมโดดิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 1 เก็บที่อุณหภูมิห้อง

5. Sample buffer (SDS reducing buffer)

น้ำกลั่น	3.8	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl, pH 6.8	1.0	มิลลิลิตร
กลีเซอรอล	0.8	มิลลิลิตร
10% SDS	1.6	มิลลิลิตร
เบต้าเมอแคปโตเอทานอล	0.4	มิลลิลิตร
1 % โบรโมฟีนอลบลู	0.4	มิลลิลิตร

6. Electrode (running) buffer. พีเอช 8.3

Tris base	6	กรัม
ไกลซีน	28.8	กรัม
SDS	2	กรัม
ละลายในน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร	2,000	มิลลิลิตร

7. Catalyst ประกอบด้วย

- แอมโมเนียมเปอร์ซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 1 เตรียมใหม่ก่อนที่จะใช้ทุกครั้ง

- N, N, N′, N′- Tetramethylethylendiamin (TEMED)

8. โปรตีนมาตรฐานที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular weight) (Sigma) ประกอบด้วย myosin, galactosidase, phsphorylase b, fructose-6-phosphate kinase, albumin, glutamic dehydrogenase, ovalbumin, glyceraldehyde-3 phosphate dehydrogenase มีน้ำหนักโมเลกุล 205,000 116,000 97,000 84,000 66,000 55,000 45,000 และ 36,000 ดาลตัลตามลำดับ

9. สีย้อมโปรตีน Coomassie Biliant Blue R-250

Staining Solution : ละลาย Coomassie Biliant Blue R-250 0.04 กรัม ในเมธานอล 100 มิลลิลิตร คนจนละลายจนหมดแล้วเติม Glascial Acetic acid 15 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 85 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่าง 1.5 กรัม ผสมกับ SDS เข้มข้นร้อยละ 5 13.5 มิลลิลิตร โฮโมจิไนส์ 1 นาที บ่มที่ 85 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง นำสารละลายมาเหวี่ยงแยก 5,000 รอบต่อนาที 5 นาที นำส่วนใสที่ได้มาผสมกับ Sample buffer (อัตราส่วน 1:1) ให้มีโปรตีนเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อ 10 ไมโครลิตร ต้มสารละลายผสมเป็นเวลา 4 นาที ในน้ำเดือด

2. การเตรียม running gel (10%)

สารเคมี		
30% Acrylamide/bis	1.167	มิลลิลิตร
1.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8	0.875	มิลลิลิตร
1 % SDS	0.35	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	0.758	มิลลิลิตร
2% Ammomium persufate	0.35	มิลลิลิตร
TEMED	6	ไมโครลิตร

3. การเตรียม stacking gel (4%)

สารเคมี		
30% Acrylamide/bis	0.4	มิลลิลิตร
0.5 M Tris-HCl buffer, pH 8.8	1	มิลลิลิตร
1 % SDS	0.3	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1.1	มิลลิลิตร
0.1 M EDTA	0.8	มิลลิลิตร
1% Ammomium persufate	0.4	มิลลิลิตร
TEMED	5	ไมโครลิตร

4. การแยกโปรตีนโดยเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส

ประกอบชุดเจลอิเล็กโตรโฟริซีสที่บรรจุ running gel และ stacking gel จากนั้นเติม electrode buffer ให้เต็ม chamber จากนั้น load ตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 1 จำนวน 10 ไมโครลิตร จากนั้นต่อชุดอิเล็กโตรโฟรีซีสเข้ากับ power supply เปิดกระแสไฟฟ้า 50 โวลต์จนสีของโบรโมฟีนอลบูลเคลื่อนถึง running gel จากนั้นเพิ่มกระแสไฟฟ้าเป็น 150 โวลต์จนสีของโบรโมฟีนอลบลูเคลื่อนจนเกือบสุดปลายกระจก จึงหยุดการให้กระแสไฟฟ้า

5. การย้อมสีโปรตีนในเจล โดยย้อมใน Staining solution ข้ามคืนจากนั้นนำมาแช่ด้วย Destaining solution 1 เป็นเวลา 30 นาที แล้วแช่ใน Destaining solution 2

13.การเตรียมตัวอย่างในการศึกษาเครื่อง Scanning electron microscopy (SEM)

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองพร้อมฝาเกลียว
2. ใบมีด

สารเคมี

1. Glutaraldehyde เข้มข้นร้อยละ 2.5
2. Phosphate buffer เข้มข้น 0.2 M pH 7.2 (ประกอบด้วย KH_2PO_4/Hna_2PO_4)
3. Phosphate buffer เข้มข้น 0.1 M pH 7.2 (ประกอบด้วย KH_2PO_4/Hna_2PO_4)
4. Ethanol เข้มข้นร้อยละ 50, 70, 80, 90 และ 100
5. น้ำกลั่น

วิธีการ

1. นำตัวอย่างซูริมิ มาตัดโดยใช้ใบมีดตัดให้มีขนาดชิ้น 0.5 x 0.5 x 0.5 cm^3

2. Primary fixation ด้วย 2.5% Glutaraldehyde ใน Phosphate buffer 0.2 M พีเอช 7.2 เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง

3. ล้างออกด้วย Phosphate buffer 2-3 ครั้ง ๆ ละ 15 นาที

4. ล้างออกด้วยน้ำกลั่น 2-3 ครั้งๆ ละ 15 นาที

5. ดึงน้ำออกจากเซลล์ด้วย Ethanol จากความเข้มข้นต่ำไปสูง

50% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

70% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

80% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

90% 2 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที

และ 100% 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที

6. ทำตัวอย่างให้แห้งด้วย CPD (หรือ Air Dry)

7. ฉาบทอง

8. Observe ด้วย SEM

14. การวัดความแข็งแรงของเจลซูริมิ

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer รุ่น TA-XT2

2. เครื่องคอมพิวเตอร์

วิธีการ

1. ติดตั้งเครื่องวัดเนื้อสัมผัสเข้ากับเครื่องคอมพิวเตอร์ทำการเปิดเครื่องวัดเนื้อสัมผัสและคอมพิวเตอร์

2. ทำการ Calibrate เครื่องวัดเนื้อสัมผัสโดยใช้ลูกตุ้มหนัก 5 กิโลกรัม

3. ติดหัวเข็มขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร แล้วทำการ Calibrate หัวเข็ม

4. ตั้งสภาวะของเครื่องวัดเนื้อสัมผัสสำหรับวัดเจลซูริมิ

5. เตรียมตัวอย่างโดยการตัดให้มีความยาว 2.5 เซนติเมตร วางลงบนฐานวางตัวอย่างและวัดค่าความแข็งแรงโดยใช้หัวเข็มเจาะทะลุตรงจุดกึ่งกลาง

6. ประมวลผลการวัดที่ได้โดยอ่านค่าแรงเจาะทะลุ (Force) และระยะทางก่อนการเจาะทะลุ (Deformation)

15. ปริมาณของเหลวจากบีบอัด

อุปกรณ์

1. ลูกตุ้มน้ำหนัก 5 กิโลกรัม
2. กระดาษกรอง (Whatman No.1)
3. นาฬิกาจับเวลา
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการ

1. นำตัวอย่างซูริมิมาตัดให้มีความหนา 0.5 เซนติเมตร
2. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก (A)
3. นำตัวอย่างมาวางบนกระดาษกรองที่ซ้อนทับกัน 3 แผ่นและปิดทับด้วยกระดาษกรองอีก 2 แผ่น
4. วางลูกตุ้มน้ำหนักวางทับเป็นเวลา 30 วินาที
5. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก (B)

การคำนวณ

ของเหลวจากการบีบอัด (ร้อยละ) = (A-B) / A x 100

ข. การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางผนวกที่1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมดของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	1866.05548	143.54273	637.97**
Freez-thaw (F)	6	1865.93134	310.98855	1382.17**
Sock (S)	1	0.00503	0.00503	<1
F x S	6	0.11911	0.01985	<1
Error	70	15.75001	0.22500	
Total	83	1881.80549		

CV= 9.7%

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณไตรเมทธิลเอมีนของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	26.34899	2.02684	546.67**
Freez-thaw (F)	6	26.34668	4.39111	1184.35**
Sock (S)	1	0.00007	0.00008	<1
F x S	6	0.00225	0.00037	<1
Error	70	0.25953	0.00370	
Total	83	26.60852		

CV= 12.0%

** = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	2.33187	0.17937	43.32**
Freez-thaw (F)	6	2.02829	0.33805	81.65**
Sock (S)	1	0.23625	0.23625	57.06**
F x S	6	0.06733	0.01122	2.71*
Error	28	0.11593		
Total	41	2.44781		

CV= 0.9%

* =มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	24176.97692	1859.75746	296.40**
Freez-thaw (F)	6	23086.63401	3847.77233	613.24**
Sock (S)	1	715.86724	1715.86724	114.09**
F x S	6	374.47567	62.41261	9.95**
Error	70	493.21150	6.27445	
Total	83	24616.18842		

CV= 4.5%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่1 (ไมโอซิน)ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	114.09683	8.77667	20.17**
Freez-thaw (F)	6	102.45222	17.07537	39.25**
Sock (S)	1	4.02381	4.02380	9.25**
F x S	6	7.62079	1.27013	2.92*
Error	28	12.18113	0.43504	
Total	41	126.27796		

CV= 1.3%

* = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน)ของปลาแล่ที่ผ่านการแช่แข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	12.81164	0.98551	3.02**
Freez-thaw (F)	6	3.20152	0.53358	1.64^{ns}
Sock (S)	1	4.98526	4.98525	15.29**
F x S	6	4.62485	0.77080	2.36^{ns}
Error	28	9.12800	0.32600	
Total	41	21.93964		

CV= 0.8%

ns =ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P>0.05)

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง(P <0.01)

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าพีเอชของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	1.05450	0.08111	28.92**
Freez-thaw (F)	6	0.78762	0.13127	46.80**
Sock (S)	1	0.20162	0.20162	71.89**
F x S	6	0.06526	0.01087	3.88**
Error	28	0.07853	0.00280	
Total	41	1.13304		

CV= 0.8%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ในสารละลายเกลือของซูริมิที่ผลิตได้จากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	32367.61076	2489.81621	848.54**
Freez-thaw (F)	6	30248.33487	5041.38915	1718.13**
Soke (S)	1	1319.31440	1319.31440	449.63**
F x S	6	799.96148	133.32691	45.44**
Error	70	205.39617	2.93423	
Total	83	32573.00692		

CV= 2.2%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแรงเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	2406541.892	185118.607	924.89**
Freez-thaw (F)	6	2352901.494	392150.249	1959.26**
Sock (S)	1	24746.094	24746.094	123.64**
F x S	6	28894.304	4815.717	24.06**
Error	70	14010.661	200.152	
Total	83	2420552.553		

CV= 2.2%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายใน รอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	396.94382	30.53414	591.91**
Freez-thaw (F)	6	390.76060	65.12676	1262.49**
Sock (S)	1	1.92920	1.92920	37.40**
F x S	6	4.25402	0.70900	13.74**
Error	70	3.61101		
Total	83	400.55484		

CV= 2.2%

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 1 (ไมโอซิน)ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	60.24459	4.63419	11.48**
Freez-thaw (F)	6	59.29555	9.88259	24.48**
Sock (S)	1	0.08595	0.08595	<1
F x S	6	0.86308	0.14384	<1
Error	28	11.30420	0.40372	
Total	41	71.54879		

CV= 1.2%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่า Tmax ของโปรตีนในพีคที่ 2 (แอคติน)ของซูริมิที่ผลิตจากปลาแล่ที่แช่ในสารละลายและผ่านการแช่เยือกแข็ง-ทำละลายในรอบต่างๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	13	40.29923	3.09994	1.51 ns
Freez-thaw (F)	6	35.78158	5.96359	2.90*
Sock (S)	1	0.03962	0.03962	<1
F x S	6	4.47802	0.74633	<1
Error	28	57.54693	2.05524	
Total	41	97.84616		

CV= 2.1%

ns= ไม่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P >0.05)

* = มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าพีเอชของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	0.30940	0.10313	63.68**
Surimi gel(G)	1	0.19220	0.19220	118.67**
Addition (A)	1	0.04500	0.04500	27.78**
G x A	1	0.07220	0.07220	44.58**
Error	28	0.45350	0.00161	
Total	31	0.35475		

CV= 0.6%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณของเหลวจากการบีบ-อัดของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	3.93317	1.31105	204.88**
Surimi gel(G)	1	2.23661	2.23661	349.52**
Addition (A)	1	1.53125	1.53125	239.29**
G x A	1	0.16531	0.16531	25.83**
Error	28	0.17917	0.00639	
Total	31	4.11235		

CV= 5.1%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนแรงเจาะทะลุของซูริมิที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	4742969.609	1580989.870	2887.14**
Surimi gel(G)	1	4645712.299	4645712.299	8483.82**
Addition (A)	1	54709.430	54709.430	99.91**
G x A	1	42547.880	42547.880	77.70**
Error	44	24094.267	547.597	
Total	47	4767063.876		

CV= 4.3%)

**=มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของระยะทางก่อนเจาะทะลุของซูริมิ ที่เติมสารต่าง ๆ

SV	DF	SS	MS	F
Treatment	3	102.06604	34.02201	286.02**
Surimi gel(G)	1	70.32520	70.32520	591.22**
Addition (A)	1	21.54720	21.54720	181.15**
G x A	1	10.19363	10.19363	85.70**
Error	44	5.23375	0.11894	
Total	47	107.29979		

CV= 3.0%

**= มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (P <0.01)