

บรรณานุกรม

- คณาจารย์ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. 2543. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 505 หน้า.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิ์กุล. 2544. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่องผลกระทบของคุณภาพความสดและการสูญเสียสภาพธรรมชาติของแอคโตมัยโอซินต่อความสามารถในการเกิดเจลของโปรตีนกล้ามเนื้อจากปลาทรายแดง (*Nemipterus spp.*). สาขาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- จิรวัดน์ ยงสวัสดิ์กุล. 2549. เอกสารประกอบคำสอนรายวิชา 305 623 โปรตีนอาหาร. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. 249 หน้า.
- จักรี ทองเรือง. 2544. ชูริมิ. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 325 หน้า.
- นิธิยา รัตนานพนธ์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พรีนติ้ง เฮาส์. 487 หน้า.
- พันธิพา จันทวัฒน์. 2547. ฟอสเฟต...ถึงทางตันแล้วจริงหรือ?. *Asia Pacific Food Industry Thailand* 2(9): 46-9.
- ลักขณา อินทร์กลับ. 2543. โภชนศาสตร์เชิงชีวเคมี วิตามิน เกลือแร่ น้ำ และใยอาหาร. กรุงเทพฯ: มีเดียการพิมพ์. หน้า 115-7.
- สุวรรณ วิรัชกุล. 2544. โปรตีนปลา: ชูริมิ และอาหารทะเลจากชูริมิ. ขอนแก่น: หจก. ขอนแก่นการพิมพ์. 294 หน้า.
- สุวรรณ วิรัชกุล, อารยา เชาวน์เรืองฤทธิ์, สุวรรณ ถาวรชินสมบัติ. 2543. ผลของการเก็บรักษาโดยการแช่แข็งของเนื้อปลานิลบดไม่ล้างน้ำต่อคุณภาพของชูริมิ. *วารสารวิจัย มข.* 5(1) : 56-65.
- สุทธวัฒน์ เบญจกุล. 2549. ชูริมิ: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเนื้อปลาสด. กรุงเทพฯ: โอ. เอส. พรีนติ้ง เฮาส์. 336 หน้า.
- ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย. 2549. ดิฟเฟอเรนเชียล เทอร์มัลอะนาลิซิส ดิฟเฟอเรนเชียล สแกนนิ่ง แคลลอริเมทรี. ใน: *ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย, ผู้แต่ง. การวิเคราะห์เชิงความร้อนและแคลลอริเมทรี.* ขอนแก่น: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. หน้า 51-101.
- อมรรัตน์ ถนนแก้ว, ถาวร จันทโชติ, ผุสดี ตั้งควัชรินทร์, วราภรณ์ เรืองรัตน์ และ อารีรัตน์ อักษรนิยม. 2550. 33rd Congress on Science and Technology of Thailand. องค์ประกอบทางเคมีของปลาคูกระดุม (*Clarias macrocephalus*) และปลาคูกเลี้ยง (hybrid, *Clarias macrocephalu* x *Clarias gariepinus*). 18-20 ตุลาคม 2550. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. นครศรีธรรมราช.
- อุดม เรืองนพคุณ. 2549. การเพาะพันธุ์และการเลี้ยงปลานิล. กรุงเทพฯ: เกษตรสยามบุ๊คส์. 95 หน้า.
- [Anonymous]. 2008. An Overview of Actin. Carnegie Mellon University. Available from: http://www.andrew.cmu.edu/user/asurie/03240/page1_files/image005.jpg. Accessed Sep 2, 2008.

- [Anonymous]. 2008. Calorimetric methods. Virtual Institute for thermal Metrology. Available from: <http://evitherm.athena.as/default.asp?lan=1&ID=982&Menu1=982>. Accessed Sep 2, 2008.
- [Anonymous]. 2008. Introduction to DTA and DSC. Duncan Price. Available from: <http://www.anasys.co.uk/library/dsc2.htm>. Accessed Sep 2, 2008.
- Au H, Peters MY, Seymour TA. 1996. Roles of endogenous enzymes in surimi gelation. *Trends Food Sci Technol* 7: 321-7.
- Auh JH, Lee HG, Kim JW, Yoon HS, Park KH. 1999. Highly concentrated branched oligosaccharides as cryoprotectant for surimi. *J Food Sci* 64: 418-22.
- Badii F, Howell NK. 2002. Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage. *Food Hydrocolloids* 16: 313-9.
- Bendall JR. 1945. The swelling effect of polyphosphate lean meat. *J Sci Food Agric* 5: 468-75.
- Benjakul S, Bauer F. 2000. Physicochemical and enzymatic changes of cod muscle proteins subjected to different freeze-thaw cycles. *J Sci Food Agri* 80: 1143-50.
- Benjakul S, Visessanguan W, Riebroy S, Ishizaki S, Tanaka M. 2002. Gel-forming properties of surimi produced from bigeye snapper. *Priacanthus tayenus* and *P. macracanthus*, stored in ice. *J Sci Food Agric* 82: 1442.
- Benjakul S, Visessanguan W, Thongkeaw C, Tanaka M. 2003. Comparative study on physiochemical changes of muscle proteins from some tropical fish during forzen storage. *Food Res Int* 36: 787-95.
- Benjakul S, Visessanguan W, Thongkeaw C, Tanaka M. 2005. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properteis of fish commonly used for surimi production in Thailand. *J Food Hydrocolloid* 19: 197-207.
- Bertram HC, Meyer RL, Wu Z, Zhou X, Andersen HJ. 2008. Water distribution and microstructure in enhanced pork. *J Agric Food Chem* 56: 7201-7.
- Bigelow W, Lee CM. 2007. Evaluation of various infused cryoprotective ingredients for their freeze-thaw stabilizing and texture improving properties in frozen red hake muscle. *J Food Sci* 72: 56-64.
- Biscalchin-Gryschek SF, Oetterer M, Gallo CR. 2003. Characterization and frozen storage stability of mince nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and red tilapia (*Oreochromis spp.*). *J Aqua Food Prod Technol* 12(3): 57-69.
- Bledsoe GE, Rasco BA, Pigott GM. 2000. The effect of bicarbonate salt addition on the gel forming properties of alaska pollock (*Theragra chalcogramma*) and Pacific whiting (*Merluccius productus*) surimi. *J Aqua Food Prod Technol* 9: 31-45.
- Bourne MC. 2008. Texture profile analysis. Texture Technologies. Available from: http://www.texturetechnologies.com/texture_profile_analysis.html. Accessed Aug 21, 2008.

- Chomnawang C, Nantachai K, Yongsawatdigul J, Thawornchinasombut S, Tungkawachara S. 2007. Chemical and biochemical changes of hybrid catfish fillet stored at 4°C and its gel properties. *Food Chem* 103: 420-7.
- Connell JJ. 1960. Studies on the proteins of fish skeletal muscle. *Biochem* 75: 530.
- Damodaran S. 1996. Amino acids, peptides, and proteins. In: Fennema OR, editors. *Food chemistry*. 3th ed. New York: Marcel Dekker. p 321-430.
- Da Ponte DJB, Roozen JP, Pilnik W. 1984. Effects of additions on the stability of frozen stored minced fillets of whiting: I. various anionic hydrocolloids. *J Food Quality* 8: 51-68.
- Da Ponte DJB, Roozen JP, Pilnik W. 1985. Effects of additions on stability of frozen stored minced fillets of whiting: II. various anionic and neutral hydrocolloids. *J Food Quality* 8: 183-198.
- Da Ponte DJB, Roozen JP, Pilnik W. 1987. Effects of iota carrageenan, carboxymethyl cellulose and xanthan gum on the stability of formulated minced fish products. *Int J Food Sci Technol* 22: 123-33.
- Davies J, Ledward D, Bardsley R, Poulter G. 1994. Species dependence of fish myosin stability to heat and frozen storage. *Int J Food Sci Technol* 29: 287-301.
- Fukuda Y, Yamaguchi T, Sakukida Y, Kawamura K. 1981. Effect of pH on the freezing denaturation of mackerel myofibrillar proteins. Meeting of All-Japan Fishery Research Stations on Marine Products. (Fisheries Agency). p 81.
- Funatsu Y, Arai K. 1991. Alkali-induced denaturation of carp myofillar protein. *Bull Japan Soc Sci Fish* 57: 1795-1802.
- Gacia-Ochoa F, Santos VE, Casas JA, Gomez E. 2000. Xanthan gum: production, recovery and properties. *Biotechnol Advences* 18: 549-79.
- Giannouli P, Morris ER. 2003. Cryogelation of xanthan. *Food Hyhrocolloids* 17: 495-501.
- Gonzales Jr JM, Brown JM. 2006. Nile tilapia *Oreochromis niloticus* as a food source in advanced life support systems: Initial considerations. *Advances in Space Res* 38: 1132-7.
- Gomall AG, Bardawill CS, David MM. 1949. Determination of serum protein by means of the biuret reaction. *J Bio Chem* 177: 751-66.
- Graham HD. 1978. Colloidal Dispersion: Polysaccharide gums. In: Peterson MS, Johnson AH, editors. *Encyclopedia of food science*. Westport, Connecticut: The AVI publishing company. p 161-73.
- Hachmeister KA, Herald TJ. 1998. Thermal and rheological properties and textural attributes of reduced-fat turkey batters. *Poultry Sci* 77: 632-8.
- Han-Ching L, Leinot A. 1993. Surimi composition and technology: present status and nutritional. *Inter. J Food Sci and Nutrition* 44(Suppl. 1): S55-S33.

- Hamada M, Yanagihara S, Murakawa N, Katayama S, Tsuru T, Suetsuna K, Kai N, Tanoue Y. 2004. Effects of added sodium bicarbonate on the folding property of non-rinsed spearfish meat kamaboko. *J National Fisheries University* 52(4): 149-52.
- Hamada M, Umebayashi K, Okimoto E, Katayama S, Tsuru T, Wada R, Suetsuna K, Kai N, Tanoue Y. 2006. Effects of added sodium bicarbonate on the heat-induced gel property of non-rinsed tuna meat. *J National Fisheries University* 54(2): 71-5.
- Hashimoto A, Kobayashi A, Arai K. 1982. Thermostability of fish myofibrillar Ca^{2+} -ATPase and adaptation to environmental temperature. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 57: 747.
- Hebbar NR, Hiremath GG. 1981. Studies on prevention of drip loss in frozen prawn (*Metapenaeus dobsoni*)-I use of additives. *Mysore J Agric Sci* 15: 97-107.
- Hermansson AM. 1978. Physico-chemical aspects of soy protein structure formation. *J Text Studies* 9: 33.
- Herrera JJ, Pastoriza L, Sampedro G. 2001. A DSC study on the effects of various maltodextrins and sucrose on protein changes in frozen-stored minced blue whiting muscle. *J Sci Food Agric* 81: 377-84.
- Herrera JR, Mackie IM. 2004. Cryoprotection of frozen-stored actomyosin of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) by some sugar and polyols. *Food Chem* 84: 91-7.
- Howell B, Matthews A, Donnelly A. 1991. Thermal stability of fish myofibrils: a differential scanning calorimetric study. *Int J Food Sci Technol* 26:283-95.
- Huang C, Lai H, Weng Y. 1998. Suitability of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus x Oreochromis aureus*) muscle for gel formation. *Int J Food Sci Technol* 33: 339.
- Jimenez-Colmenero F, Careche J, Carballo J, Cofrades S. 1994. Influence of thermal treatment on gelation of actomyosin from different myosystems. *J Food Sci* 53(1): 211-15,20.
- Julavittayanukul O, Benjakul S, Visessanguan W. 2006. Effect of phosphate compounds on gel-forming ability of surimi from bigeye snapper (*Priacanthus tayenus*). *Food Hydrocolloids* 20: 1153-63.
- Kanayama T, Nakashima T, Tomiyasu K, Matsuda T. 1987. Manufacture of frozen fish paste. Japanese Patent. Application: JP 85-270180 19851129.
- Kanayama T, Nakashima T, Tomiyasu K, Matsuda T. 1994. Production of frozen surimi. US Patent. No. 5, 344, 665.
- Kauffman RG, Laack RLJM, Russell RL, Pospiech E, Cornelius CA, Suckow CE, Greaser ML. 1998. Can pale soft, exudative pork be prevented by postmortem sodium bicarbonate injection. *J Anim Sci* 27: 310-5.
- Knipe CL, Olson DG, Rust RE. 1985. Effects of selected inorganic phosphate, phosphate levels and reduced sodium chloride levels on protein solubility, stability and pH of meat emulsions. *J Food Sci* 50:1010-3.
- Kolakowski E, Kolakowska, Lachowicz K, Bortnowska G, Wianecki M. 1994. The use of sodium carbonates to improve textural properties of cod minces. *J Sci Food Agric* 66 : 429-37.

- Ko WC, Yu CC, Hsu KC. 2007. Changes in conformation and sulfhydryl groups of tilapia actomyosin by thermal treatment. *LWT* 40: 1316-20.
- Kumazawa Y, Oozaki Y, Iwami S, Matsumoto I, Arai K. 1990. Combined protective effect of inorganic pyrophosphate and sugar on freeze-denaturation of carp myofibrillar protein. *Nippon Suisan Gakkaishi* 56: 107-13.
- Lee C. 1984. Surimi processing technology. *Food Technol* 38(11): 69.
- Lee CM, Kim JM. 1985. Texture and freeze-thaw stability of surimi gel in relation to ingredients and formulation. In: Proceedings of the International Symposium on Engineered Seafoods Including Surimi. Martin R, Collette R, editors. Washington DC: National Fisheries Institute p 168-87.
- Lian PZ, Lee CM, Hufnagel L. 2000. Physicochemical properties of frozen red hake (*Urophycis chuss*) mince as affected by cryoprotective ingredients. *J Food Sci* 65(7): 1117-23.
- Lin CY, Wang JC. 1998. Comparison of the characteristics of surimi-products of dorsal and belly muscle from milkfish. *Food Sci Taiwan* 25(5): 591-600.
- MacDonald GA, Lian T. 1991 Carbonate as cryoprotectents for meats and surimi. *Food Technol*. 45(3): 150.
- Matsukawa M, Hirata F, Kimura S, Arai K. 1995. Effect of sodium pyrophosphate on gelling property and cross-linking of myosin heavy chain in setting-heating gel from six transglutaminase from ordinary muscles of various fishes and marine invertebrates. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B* 118: 313-7.
- Matsumoto JJ, Noguchi SF. 1992. Cryostabilization of protein in surimi. In: Lanier TC, Lee CM, editors. *Surimi Technology*. New York: Marcel Dekker. p 357-88.
- Miller MS. 1994. Protein as fat substitutes. In : Hettiarachchy NS, Ziegler GR, editors. *Protein Functionality in Food Systems*. New York: Marcel Dekker. p 435-466.
- Mittal BS, Barbut S. 1994. Use of carrageenans and xanthan gum in reduced fat breakfast sausages. *LWT* 25:509-13.
- Montero P, Hurtado JL, Perez MM. 2000. Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting whit hydrocolloids. *Food hydrocolloids* 14: 455-61.
- Moore SL, Theno DM, Anderson CR, Schmidt GR. 1976. Effect of salt, phosphate, and nonmeat protein on binding strength and cook yields of beef rolls. *J Food Sci* 62: 402-403, 405.
- Mulvihill DM, Kinsella JE. 1987. Gelation characteristics of whey proteins and beta-lactoglobulin. *Food Technol* 41: 102.
- Nozaki H, Nakamura T. 2004. Salt treatment of fish pastes and manufacture of fish pastes products using it. Application: JP 2002-165989 20020606.
- Ogawa M, Tamiya T, Tsuchiya T. 1994. Structural changes of carp myosin during heating. *Fisheries Sci* 60: 723-7.

- Offer G, Trinick J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Sci* 8: 245-81.
- Park JW. 1995. Surimi gel colors as affected by moisture content and physical condition. *J Food Sci* 60(1): 15-18.
- Park JW. 2000. *Surimi and surimi seafood*. 1st ed. New York, USA: Marcel Dekker. 500 p.
- Perez-Mateos M, Hurtado JL, Montero P, Fernades-Martin F. 2001. Interactions of K-carrageenan plus other hydrocolloids in fish myosystem. *J Food Sci* 6: 838-43.
- Park JW, Lanier TC. 1989. Scanning calorimetric behavior of tilapia myosin and actin due to processing of muscle and protein purification. *J Food Sci* 54: 49-51.
- Poulter R, Ledward D, Godber S, Hall G, Rowlands B. 1985. Heat stability of muscle proteins. *J Food Technol* 20: 203-17.
- Ramirez JA, Barrera M, Morales OG, Vazquez. 2002. Effect of xanthan and locust bean gums on the gelling properties of myofibrillar protein. *Food Hydrocolloids* 16: 11-6.
- Ramirez JA, Martin-Polo MO, Bandman E. 2000. Fish myosin aggregation as affected by freezing and initial physical state. *J Food Sci* 65: 556-60.
- Rodgers ME, Karr T, Biederman K, Ueno H, Harrington WF. 1987. Thermal stability of myosin rod from various species. *Biochem* 26: 8703-8.
- Saeed S, Fawthrop SA, Howell NK. 1999. Electron spin resonance (ESR) study on free-radical transfer in fish lipid-protein interaction. *J Sci Food Agric* 79: 1809-16.
- Saeki H. 1996. Gel-forming ability and cryostability of frozen surimi processed with CaCl_2 – washing. *Fishery Sci* 62: 252-56.
- Samejima K, Hara S, Yamamoto K, Asgher A, Yasui T. 1985. Physicochemical properties and heat-induced gelling of cardiac myosin in model system. *Agric Biol Chem* 49: 2075-983.
- Schubring R. 1999. DSC studies on deep frozen fishery products. *Thermo chimica Acta* 337: 89-95.
- Somers PG. 1997. Thermally induced unfolding and aggregation of myosin and its proteolytic subfragments from smooth and skeletal muscle. PhD Thesis, University of Surrey.
- Sompongse E, Itoh Y, Obatake A. 1996. Effect of cryoprotectants and reducing reagent on the stability of actomyosin during ice storage. *Fishery Sci* 62: 110-3.
- Stone AP, Stanley DW. 1992. Mechanisms of fish muscle gelation. *Food Res Int* 25:381.
- Sultanbawa Y, Li-Chan ECY. 1998. Cryoprotective effects of sugar and polyol blends in ling cod surimi during frozen storage. *Food Res Int* 31(2): 87-98.
- Sultanbawa Y, Li-Chan ECY. 2001. Structural changes in natural actomyosin and surimi from Ling Cod (*Ophiodon elongatus*) during storages in the absence or presence of cryoprotectants. *J Agric Food Chem* 49: 4716-25.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดค่าความเป็นกรดต่าง คัดแปลงจากวิธีของ จีรวัดณ์ ยงสวัสดิกุล (2544)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1 เครื่องวัดค่าความเป็นกรดต่าง (pH meter)
- 1.1.2 เครื่องไฮโมจิโนเซอร์ ยี่ห้อ Nissei รุ่น AM-8
- 1.1.3 บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 1.1.4 กระจกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- 1.1.5 น้ำแข็ง

1.2 วิธีการ

- 1.2.1 ชั่งตัวอย่าง 8 กรัม (ถ้าตัวอย่างผ่านการแช่แข็ง นำมาละลายน้ำแข็งที่ 5 °ซ. เป็นเวลา 18 ชั่วโมง) ใส่ใน โดไฮโมจิโนเซอร์เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออน 72 มิลลิลิตร
- 1.2.2 นำไปไฮโมจิโนส เป็นเวลา 1 นาทีรักษาความเย็นขณะไฮโมจิโนสโดยเติมน้ำแข็งรอบโดตัวอย่าง เมื่อตัวอย่างละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันเทใส่บีกเกอร์
- 1.2.3 วัดค่าความเป็นกรดต่างด้วยเครื่อง digital pH meter

2. การวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุก โดยวิธี Lian and others (2000)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 2.1.2 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
- 2.1.3 โถดูดความชื้น (desiccator)
- 2.1.4 ภาชนะอะลูมิเนียมมีฝาปิด (moisture can)
- 2.1.5 หลอดทดลองมีฝาปิดขนาด 50 มิลลิลิตร
- 2.1.6 บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 2.1.7 กระดาษทิชชู
- 2.1.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ
- 2.1.9 อ่างน้ำผสมน้ำแข็ง

2.2 วิธีการ

- 2.2.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลานิลสด (ถ้าตัวอย่างผ่านการแช่แข็ง นำมาละลายน้ำแข็งที่ 5 °ซ. เป็นเวลา 18 ชั่วโมง) 20.00 ± 0.06 กรัม ใส่หลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วปิดฝา
- 2.2.2 นำไปต้มในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 90 °ซ. นาน 15 นาที แล้วทำให้เย็นในอ่างน้ำผสมน้ำแข็ง นาน 15 นาที
- 2.2.3 เปิดฝาแล้วคว่ำหลอดทดลองลงในบีกเกอร์ที่รองด้วยกระดาษทิชชูเพื่อซับน้ำนาน 10 นาที
- 2.2.4 นำตัวอย่างเนื้อปลานิลก่อนต้มและหลังต้มไปหาความชื้น โดยชั่งตัวอย่างก่อนต้มหรือหลังต้มประมาณ 3-4 กรัม (บันทึกน้ำหนักไว้) ใส่ในภาชนะอะลูมิเนียม แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 100 °ซ. จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ (ประมาณ 1 วัน) ทั้งให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักหลังจาก



อบตัวอย่าง (บันทึกน้ำหนักไว้) และคำนวณหาร้อยละความชื้น และนำร้อยละความชื้นของตัวอย่างก่อนต้มและหลังต้มไปคำนวณค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังต้ม

2.3 สูตรคำนวณ

$$\text{ร้อยละความชื้นของตัวอย่างก่อนต้มหรือหลังต้ม} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

$$\text{การสูญเสียน้ำหนักหลังต้ม} = \frac{\text{ร้อยละความชื้นก่อนต้ม} - \text{ร้อยละความชื้นหลังต้ม}}{\text{ปริมาณของแข็งของตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่างเนื้อปลาสดก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างเนื้อปลาสดหลังอบ (กรัม)

3. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์โดยใช้เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC)

ดัดแปลงจากวิธี Perez and others (2001)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

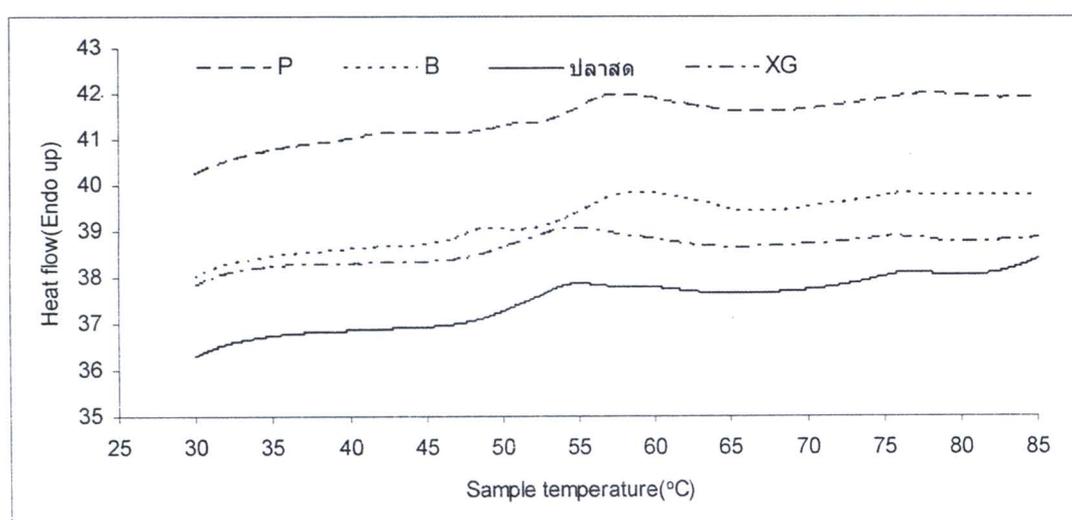
3.1.1 เครื่อง DSC

3.1.2 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

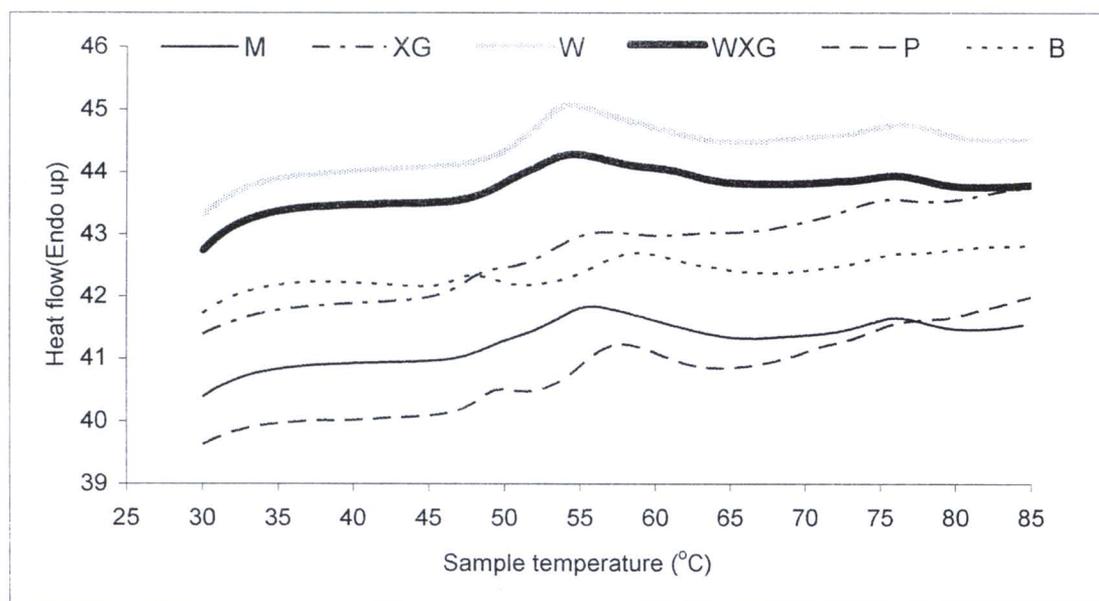
3.1.3 อะลูมิเนียมแพนขนาด 50 ไมโครลิตรและฝาปิด

3.2 วิธีการ

3.2.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลานิลสด (ถ้าตัวอย่างผ่านการแช่แข็ง นำมาละลายน้ำแข็งที่ 5 °ซ. เป็นเวลา 18 ชั่วโมง) 25 ± 0.3 มิลลิกรัมใส่ในอะลูมิเนียมแพน ปิดฝาให้สนิทวิเคราะห์อุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติ (denaturation temperature) ของโปรตีนเนื้อปลานิลสดด้วยความร้อน (ภาพภาคผนวกที่ 1 และ 2) โดยให้ความร้อน 20 – 90 °ซ. ในอัตรา 10 °ซ. ต่อนาที และใช้แพนเปล่าเป็นตัวอ้างอิง (reference)



ภาพภาคผนวกที่ 1 แผนภาพการติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อนของโปรตีนเนื้อปลานิลสดครบรูปแบบต่างๆ ก่อนการแช่แข็ง



ภาพภาคผนวกที่ 2 แผนภาพการติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเสียสภาพธรรมชาติด้วยความร้อนของโพรตีนเนื้อปลานิลรูปแบบต่างๆ ซึ่งเก็บแช่แข็งที่ -20°C . นาน 3 เดือน

4. การวัดเนื้อสัมผัส Texture profile analysis (TPA) คัดแปลงจากวิธี Uresti and others (2006)

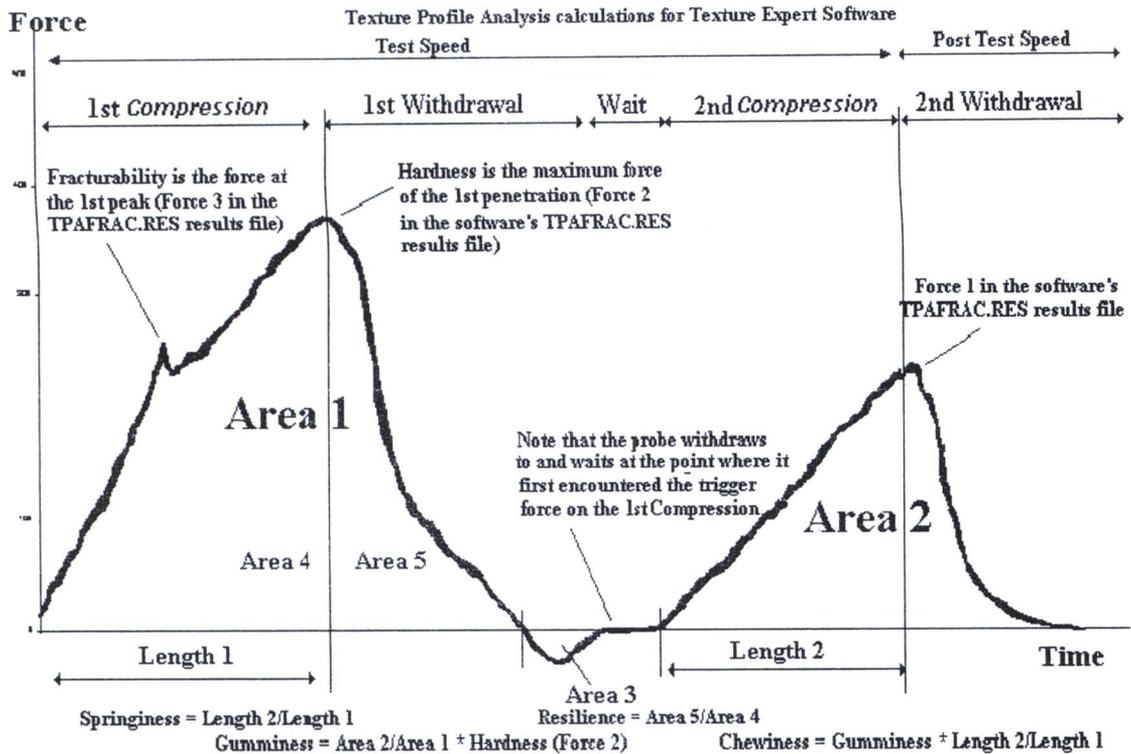
4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

4.1.1 เครื่อง Texture analyzer

4.1.2 หัววัดทรงกระบอก (cylinder probe) เส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร

4.2 วิธีการ

4.2.1 นำตัวอย่างเจด มาวัดค่าเนื้อสัมผัส Texture profile analysis โดยใช้หัววัดทรงกระบอกความเร็ว 1 มิลลิเมตรต่อวินาที และกดลงตามความสูงของชิ้นตัวอย่างร้อยละ 50 ตามโปรแกรมการวัดค่า Texture profile analysis ที่กดตัวอย่าง 2 ครั้ง และรายงานผลเป็นค่าความแข็ง (hardness) ความยืดหยุ่น (springiness) การยึดเกาะ (cohesiveness)



ภาพภาคผนวกที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างแรงและเวลาในการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสโดยใช้ Texture profile analysis (TPA)

ที่มา: Bourne (2008)

5. การวัดค่าความขาว (Whiteness)

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

5.1.1 เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab

5.2 วิธีการ

5.2.1 ตัดตัวอย่างเจลให้เป็นท่อนยาว 2.5 เซนติเมตร ทำการวัดค่าสีโดยวัดบริเวณหน้าตัดทั้งด้านบนและด้านล่างของเจล โดยวางตัวอย่างเจลลงบน Port ซึ่งมีขนาด 1.0 นิ้ว เริ่มวัดค่าสีโดยใช้ระบบสีของ CIE color system ค่าที่วัดได้จะเป็นค่า L*,a* และ b* นำไปคำนวณหาค่าความขาว

5.3 สูตรคำนวณ

$$\text{ค่าความขาว} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$$

6. การวิเคราะห์การสูญเสียน้ำหนักของเจล (Expressible moisture) ดัดแปลงจากวิธี Bigelow and Lee (2007)

6.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

6.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงแบบตั้งโต๊ะ

6.1.2 หัว rotor (เส้นผ่านศูนย์กลาง 9.5 เซนติเมตร) ขนาด 6x50 มิลลิเมตร

6.1.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร และฝาปิด

6.1.4 กระดาษกรองยี่ห้อ Whatman เบอร์ 1 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7.0 เซนติเมตร) และ เบอร์ 3 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5.5 เซนติเมตร)

6.1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

6.2 วิธีการ

6.2.1 หั่นตัวอย่างเจลให้เป็นชิ้นเล็กๆ ประมาณ 0.3 มิลลิเมตรนำตัวอย่างเจลที่หั่นได้มาคละรวมกัน

6.2.2 ชั่งตัวอย่างเจล 5 ± 0.2 กรัม (บันทึกน้ำหนักไว้) ใส่บนกระดาษกรองโดยนำกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 จำนวน 1 ชั้นและกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จำนวน 2 ชั้น มาซ้อนทับกัน โดยให้กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 3 อยู่ด้านในสุดห่อเป็นรูปทรงกระบอก

6.2.3 ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตรปิดฝาแล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 1699.36 xg (4000 rpm) ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง นานเวลา 15 นาที

6.2.4 เอากระดาษกรองที่มีตัวอย่างเจลอยู่ด้านในออกมาจากหลอดหมุนเหวี่ยง แล้วเอาตัวอย่างเจลออกจากกระดาษกรอง นำตัวอย่างเจลไปชั่งน้ำหนักอีกครั้ง แล้วคำนวณหาการสูญเสียน้ำหนักของเจลเป็นร้อยละการสูญเสียน้ำหนักเริ่มต้นของเจล (Expressible moisture)

6.3 สูตรคำนวณ

$$\text{ร้อยละการสูญเสียน้ำหนักของเจล} = \frac{(W_1 - W_2) \times 100}{W_1}$$

โดย W_1 = น้ำหนักตัวอย่างเจลก่อนหมุนเหวี่ยง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างเจลหลังหมุนเหวี่ยง (กรัม)

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือ คัดแปลงจากวิธีของ จีรวัดน์ ยงสวัสดิกุล (2544)

1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 1.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ
- 1.1.2 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Ystral[®] รุ่น X10/25
- 1.1.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 500 มิลลิลิตร และฝาปิด
- 1.1.4 บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 1.1.5 กระจกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร

1.2 สารเคมี

- 1.2.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดค่า 7.0 (แช่เย็น)
- 1.2.2 สารละลายไบยูเรท (ภาคผนวก ข2)

1.3 วิธีกร

1.3.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลานิลสด 16 กรัม (ถ้าตัวอย่างผ่านการแช่แข็ง นำมาละลายน้ำแข็งที่ 5 °ซ. เป็นเวลา 18 ชั่วโมง) ใส่บีกเกอร์ เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดค่า 7.0 (แช่เย็น) 160 มิลลิลิตร

1.3.2 นำไปโฮโมจีไนส์เป็นเวลา 4 นาที ซึ่งในขณะที่ทำการสกัดต้องควบคุมไม่ให้เกิดความร้อนสะสมโดยปั่น 20 วินาที แล้วพักอีก 20 วินาที เทใส่หลอดหมุนเหวี่ยงปิดฝาให้สนิท นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5000 xg ที่ 0 °ซ. นาน 30 นาทีโดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิได้ เทสารละลายส่วนใสใส่บีกเกอร์

1.3.3 นำสารละลายส่วนใสไปตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949) (ภาคผนวก ข2) แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณเป็นร้อยละเทียบกับตัวอย่างเนื้อปลานิลสดไม่เติมสารใดๆ

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949)

2.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 2.1.1 หลอดทดลอง
- 2.1.2 บีเปตอัตโนมัติขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 2.1.3 ทิปขนาด 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 2.1.4 เครื่อง Vortex mixer

2.2 สารเคมี

2.2.1 สารละลายโปรตีนมาตรฐาน โบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin;BSA) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.2 สารละลายไบยูเรท : ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) 1.5 กรัม โซเดียมโปแตสเซียมทาทเรต ($\text{NaKC}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) 6.0 กรัม เติมน้ำ 500 มิลลิลิตร กวนจนเป็นเนื้อเดียวกันแล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) จำนวน 300 มิลลิลิตร ในขณะที่กวนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

2.3 วิธีการ

2.3.1 คูณสารละลายโปรตีน 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง

2.3.2 เติมน้ำเกลือละลายไปยูเรท 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่

อุณหภูมิห้อง 20 นาที

2.2.3 นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 545 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน

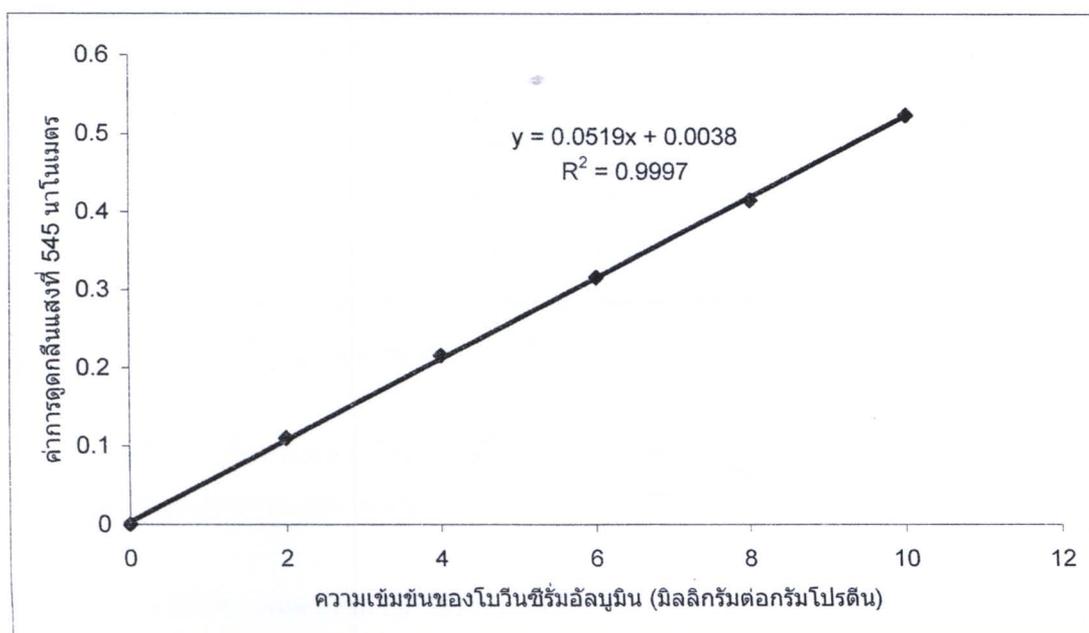
2.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานโบวีนซีรัมอัลบูมิน

2.4.1 คูณสารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin; BSA) เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร จำนวน 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 มิลลิลิตร

2.4.2 เติมน้ำเกลือละลายไปยูเรท จำนวน 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex mixer วางทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง 20 นาที

2.4.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร

2.4.4 เขียนกราฟมาตรฐาน และหาสมการการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ สารละลายโบวีนซีรัมอัลบูมิน กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 545 นาโนเมตร (ภาพภาคผนวกที่ 4) ปริมาณโปรตีน จำนวนนี้ได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 545 นาโนเมตร แทนค่าในสมการของกราฟมาตรฐาน โบวีน ซีรัมอัลบูมิน



ภาพภาคผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐาน โบวีนซีรัมอัลบูมิน โดยวิธีไปยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949)

3. การสกัดเอกโตไมโอซินจากกล้ามเนื้อปลานิล คัดแปลงจากวิธีของ Chomnawang and others (2007)

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิยี่ห้อ BECKMAN Avanti™
- 3.1.2 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ยี่ห้อ Ystral[®] รุ่น X10/25
- 3.1.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 500 มิลลิลิตร และฝาปิด
- 3.1.4 บีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร
- 3.1.5 กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.1.6 อ่างน้ำแข็ง

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แช่เย็น)
- 3.2.2 น้ำกลั่นปราศจากไอออน (แช่เย็น)
- 3.2.3 สารละลายไบยูเรท (ภาคผนวก ข2)

3.3 วิธีการ

3.3.1 ชั่งตัวอย่างเนื้อปลานิลสด 16 กรัม (ถ้าตัวอย่างผ่านการแช่แข็ง นำมาละลายน้ำแข็งที่ 5 °ซ. เป็นเวลา 18 ชั่วโมง) ใส่บีกเกอร์ เติมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แช่เย็น) 160 มิลลิลิตร

3.3.2 นำไปโฮโมจีไนส์นาน 4 นาที ในขณะที่ทำการสกัดต้องควบคุมไม่ให้เกิดความร้อนสะสม โดยปั่น 20 วินาที แล้วพักอีก 20 วินาที

3.3.3 นำตัวอย่างที่ผ่านการโฮโมจีไนส์แล้วไปปั่นเหวี่ยงที่ 5000 x g เป็นเวลา 30 นาที ที่ 0 °ซ. โดยใช้เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ

3.3.4 เทสารละลายส่วนใสใส่บีกเกอร์เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนลงไป 3 เท่าของปริมาตรเริ่มต้น (480 มิลลิลิตร) เพื่อทำการตกตะกอนแอกโตไมโอซิน

3.3.5 นำไปหมุนเหวี่ยงต่อที่ 5000 x g เป็นเวลา 20 นาที ที่ 0 °ซ. เก็บส่วนตะกอนเอาไว้

3.3.6 ละลายตะกอนในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แช่เย็น) ปริมาตร 160 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำแข็ง (ice bath) และคนเป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ Stirrer

3.3.7 นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5000 x g เป็นเวลา 20 นาที ที่ 0 °ซ. เพื่อแยกตะกอนส่วนที่ไม่ละลายออกไป

3.3.8 เก็บสารละลายส่วนสารละลายใสไปตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949) (ภาคผนวก ข2)

4. การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase คัดแปลงจาก Chomnawang and others (2007)

4.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 4.1.1 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิยี่ห้อ BECKMAN Avanti™
- 4.1.2 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตรและฝาปิด
- 4.1.3 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์
- 4.1.4 หลอดทดลอง

- 4.1.5 ปิเปตอัด โนมัตติขนาด 100 ไมโครลิตร 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 4.1.6 ทิปขนาด 100 ไมโครลิตร 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 4.1.7 เครื่อง Vortex mixer
- 4.1.8 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

4.2 สารเคมี

- 4.2.1 สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7 (แซ่เย็น)
- 4.2.2 สารละลาย Tris-maleate เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0
- 4.2.3 สารละลาย CaCl_2 เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์
- 4.2.4 สารละลาย Adenosine 5'-triphosphate disodium salt hydrate (ATP) เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์
- 4.2.5 สารละลาย Trichloroacetic acid (TCA) เข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) (แซ่เย็น)
- 4.2.6 สาร Fiske and SubbaRow (สารประกอบ 1-amino-2naphthol-4-sulfonic acid, sodium sulfite และ bisulfite; ยี่ห้อ Sigma Chemical)
- 4.2.7 สารละลาย ammonium molybdate เข้มข้นร้อยละ 2.5 (w/v)
- 4.2.8 สารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) เข้มข้น 2.5 โมลาร์
- 4.2.9 สารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) เข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อ มิลลิลิตร
- 4.2.10 สารละลายไบยูเรท (ภาคผนวก ข2)

4.3 วิธีการ

- 4.3.1 นำสารละลายแอกโตไมโอซินที่สกัดได้ (ภาคผนวก ข3) มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 2.5-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แซ่เย็น) ตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยวิธี ไบยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949) (ภาคผนวก ข2)
- 4.3.2 คูณสารละลายแอกโตไมโอซินมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลาย Tris-maleate เข้มข้น 0.5 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร เติมสารละลาย CaCl_2 เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ให้ได้ ปริมาตรสุดท้าย 9.5 มิลลิลิตร นำบ่มก่อนที่ อุณหภูมิ 25 °ซ. นาน 5 นาที
- 4.3.3 เติมสารละลาย ATP เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เพื่อเริ่มปฏิกิริยา และ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 °ซ. เป็นเวลา 8 นาที (ใช้อ่างควบคุมอุณหภูมิ)
- 4.3.4 เติมสารละลาย TCA เข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) (แซ่เย็น) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อหยุด ปฏิกิริยา นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 4000 xg ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที เก็บสารละลายส่วนใสมาวัดปริมาณ ฟอสเฟตอิสระ (inorganic phosphate)
- 4.3.5 คูณสารละลายส่วนใสมา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย ammonium molybdate เข้มข้นร้อยละ 2.5 (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากัน

4.3.6 เติมสาร Fiske and SubbaRow ซึ่งเป็น reduced solution (Fiske and SubbaRow 1 กรัมต่อน้ำกลั่นปราศจากไอออน 6.3 มิลลิลิตร) ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากันเติมน้ำกลั่นเพิ่มอีก 6.9 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่ 25 °ซ. นาน 10 นาที

4.3.7 วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ใช้ TCA แซ่เย็นผสมกับ ATP เป็น blank และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เพื่อหาค่าปริมาณฟอสเฟตอิสระ และนำค่าดังกล่าวไปคำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase (ไมโครโมลฟอสเฟตอิสระ ต่อ มิลลิกรัมโปรตีน ต่อ นาที)

4.4 สูตรคำนวณ

$$\text{ค่ากิจกรรมเอนไซม์ } \text{Ca}^{2+}\text{-ATPase} = \frac{[\text{ปริมาณฟอสเฟตอิสระ(ไมโครโมล)}/\text{โปรตีน(มิลลิกรัม)}]}{\text{เวลา(นาที)}}$$

4.5 การเตรียมกราฟมาตรฐาน โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

4.5.1 คูณสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 10 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร (เตรียมจากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 1.361 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มา 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร ซึ่งจะทำให้ความเข้มข้นของสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ลดลงเหลือ 2 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร

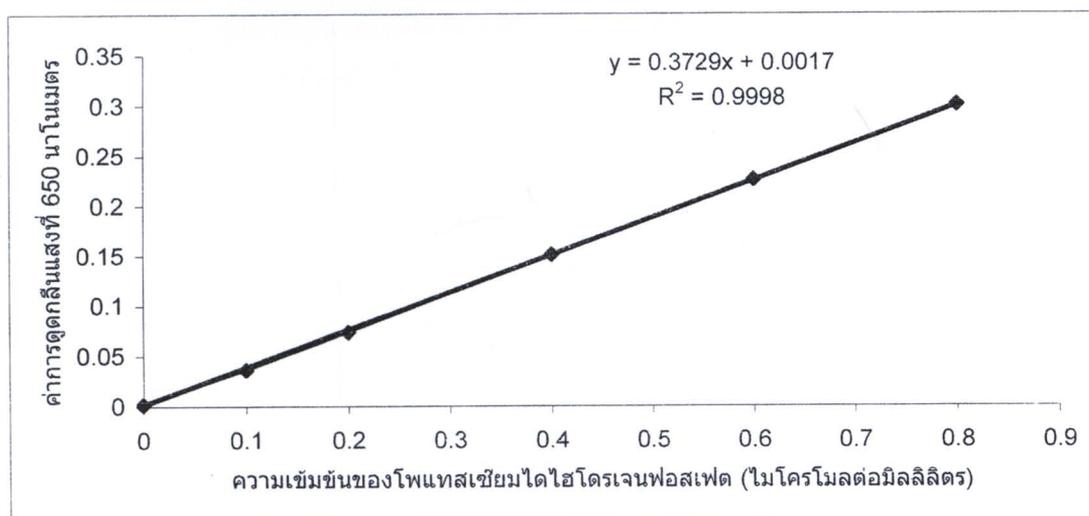
4.5.2 คูณสารละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเข้มข้น 2 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร มา 0.05 0.1 0.2 0.3 และ 0.4 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปราศจากไอออนให้ได้ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

4.5.3 เติมสารละลาย ammonium molybdate เข้มข้นร้อยละ 2.5 (w/v) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 2.5 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากัน

4.5.4 เติมสาร Fiske and SubbaRow ซึ่งเป็น reduced solution (Fiske and SubbaRow 1 กรัมต่อน้ำกลั่นปราศจากไอออน 6.3 มิลลิลิตร) ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากันเติมน้ำกลั่นเพิ่มอีก 6.9 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่ 25 °ซ. นาน 10 นาที

4.5.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

4.5.6 เขียนกราฟมาตรฐาน และหาสมการการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย PO_4 กับค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร (ภาพภาคผนวกที่ 5) ปริมาณฟอสเฟตอิสระคำนวณได้โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร แทนค่าในสมการของกราฟมาตรฐานโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (ภาพภาคผนวกที่ 5)



ภาพภาคผนวกที่ 5 กราฟมาตรฐานโพแทสเซียมไดโซโดรเจนฟอสเฟต สำหรับวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase

5. การวิเคราะห์ปริมาณหมู่ซัลไฟด์ทั้งหมด (Total sulfhydryl group content) ดัดแปลงจากวิธี ของ Zhou and others (2006)

5.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 5.1.1 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
- 5.1.2 หลอดทดลอง
- 5.1.3 ปิเปตอัตโนมัตินขนาด 100 ไมโครลิตร 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 5.1.4 ทิปขนาด 100 ไมโครลิตร 1 มิลลิลิตร และ 5 มิลลิลิตร
- 5.1.5 เครื่อง Vortex mixer
- 5.1.6 อ่างควบคุมอุณหภูมิ

5.2 สารเคมี

5.2.1 สารละลายผสม Reaction buffer: สารละลายบัฟเฟอร์ Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Tris-HCl) ค่าความเป็นกรดต่าง 7 เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ผสมกับสารละลายยูเรียเข้มข้น 8 โมลาร์ sodium dodecyl sulfate (SDS) เข้มข้นร้อยละ 2 (w/v) และ EDTA เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

5.2.2 สารละลาย 5-5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid) (DTNB) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (ใช้สารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ค่าความเป็นกรดต่าง 8.0 เป็นตัวทำละลาย)

5.2.3 สารละลายไบยูเรท (ภาคผนวก ข2)

5.3 วิธีการ

5.3.1 นำสารละลายเอกโตไมโอซินที่สกัดได้ (ภาคผนวก ข3) มาเจือจางให้ได้ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ด้วยสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แช่เย็น) ตรวจสอบปริมาณโปรตีนโดยวิธี ไบยูเรท ตามวิธีของ Gornall and others (1949) (ภาคผนวก ข2)

5.3.2 ดูดสารละลายแอกโตไมโอซินมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลายผสม Reaction buffer ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ใช้ Vortex mixer ผสมสารให้เข้ากัน

5.3.3 ดูดสารละลายตามข้อ 5.3.2 มา 4 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย DTNB เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 40°C . เป็นเวลา 25 นาที

5.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ใช้สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ เข้มข้น 0.6 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0 (แซ่เย็น) เป็น blank

5.3.5 นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ไปคำนวณหาค่าปริมาณซัลฟไฮดริลทั้งหมดโดยใช้ molar extinction coefficient 14,150 โมลาร์⁻¹ เซนติเมตร⁻¹

5.4 สูตรคำนวณ

$$C = A/bE$$

โดย C คือ ความเข้มข้นของ ซัลฟไฮดริล (โมลต่อลิตร)

A คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่ 412 นาโนเมตร

b คือ ระยะที่แสงผ่าน หรือความกว้างของ cuvette (1 เซนติเมตร)

E คือ Molar extinction coefficients (14,150 โมลาร์⁻¹ เซนติเมตร⁻¹)

ตัวอย่าง

$$\text{ถ้า } A = 0.1148$$

$$C = 0.1148 / (14,150) = 8.113 \times 10^{-6} \text{ โมลต่อลิตร}$$

คำนวณปริมาณซัลฟไฮดริลที่อยู่ในสารที่ต้องการวิเคราะห์ทั้งหมด 5.4 มิลลิลิตร (ปริมาตรสารทั้งหมด) ดังนี้ $5.4 \text{ มิลลิลิตร} \times (1 \text{ ลิตร} / 1000 \text{ มิลลิลิตร}) \times (8.113 \times 10^{-6} \text{ โมลต่อลิตร}) = 4.38 \times 10^{-8} \text{ โมล}$

เมื่อสารทั้งหมดรวม 5.4 มิลลิลิตร ประกอบด้วย

Reaction buffer (สารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้น 0.2 M (ค่าความเป็นกรดต่าง 7.0) ที่มีสารละลายยูเรียเข้มข้น 8 โมลาร์, SDS ร้อยละ 2 และ EDTA เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร

ตัวอย่าง unknow ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

DTNB ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร

คำนวณปริมาณซัลฟไฮดริลที่อยู่ในตัวอย่าง unknow 0.5 มิลลิลิตร ดังนี้ $(4.38 \times 10^{-8} \text{ โมล} / 0.5 \text{ มิลลิลิตร}) \times (1000 \text{ มิลลิลิตร} / 1 \text{ ลิตร}) = 8.762 \times 10^{-5} \text{ โมล/ลิตร}$

คำนวณปริมาณซัลฟไฮดริลที่อยู่ในตัวอย่าง unknow 1 มิลลิลิตร ดังนี้ $(8.762 \times 10^{-5} \text{ โมล} / 1000 \text{ มิลลิลิตร}) \times 1 \text{ มิลลิลิตร} = 8.762 \times 10^{-8} \text{ โมล}$

จากนั้นคำนวณปริมาณซัลฟไฮดริลทั้งหมดเป็น โมล ต่อ มิลลิกรัม โปรตีน

เมื่อ มิลลิกรัม โปรตีน ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของตัวอย่าง unknow ด้วยวิธีไปบูเรท สมมุติ 4.61 มิลลิกรัม จะได้ปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดดังนี้ $8.762 \times 10^{-8} \text{ โมล} / 4.61 \text{ มิลลิกรัม} = 2.3 \times 10^{-5} \text{ โมล ต่อ มิลลิกรัม โปรตีน}$

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดต่างจากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.111(a)	14	.079	610.542	.000
Intercept	1254.921	1	1254.921	9653241.256	.000
Storage time	.752	4	.188	1446.256	.000
Treatment	.352	2	.176	1352.026	.000
Storage time * Treatment	.008	8	.001	7.314	.001
Error	.002	15	.000		
Total	1256.035	30			
Corrected Total	1.113	29			

a R Squared = .998 (Adjusted R Squared = .997)

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือจากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9785.409(a)	14	698.958	9.073	.000
Intercept	200361.096	1	200361.096	2600.910	.000
Treatment	3298.059	2	1649.029	21.406	.000
Storage time	5464.259	4	1366.065	17.733	.000
Treatment * Storage time	1023.091	8	127.886	1.660	.189
Error	1155.525	15	77.035		
Total	211302.030	30			
Corrected Total	10940.934	29			

a R Squared = .894 (Adjusted R Squared = .796)



ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังจากการต้มสุกจากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	36.515(a)	14	2.608	145.022	.000
Intercept	112.754	1	112.754	6269.364	.000
Treatment	20.146	2	10.073	560.088	.000
Storage time	13.930	4	3.482	193.634	.000
Treatment * Storage time	2.439	8	.305	16.950	.000
Error	.270	15	.018		
Total	149.539	30			
Corrected Total	36.785	29			

a R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .986)

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า onset T_d1 จากการศึกษาค่าผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	68.334(a)	8	8.542	92.661	.000
Intercept	47103.422	1	47103.422	510984.088	.000
Treatment	57.355	2	28.678	311.097	.000
Storage time	6.413	2	3.207	34.787	.000
Treatment * Storage time	4.565	4	1.141	12.381	.001
Error	.830	9	.092		
Total	47172.585	18			
Corrected Total	69.163	17			

a R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .977)

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า ΔH_1 จากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.012(a)	8	.127	45.575	.000
Intercept	21.725	1	21.725	7825.551	.000
Treatment	.459	2	.229	82.615	.000
Storage time	.382	2	.191	68.728	.000
Treatment * Storage time	.172	4	.043	15.479	.000
Error	.025	9	.003		
Total	22.762	18			
Corrected Total	1.037	17			

a R Squared = .976 (Adjusted R Squared = .954)

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า onset T_{d2} จากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	6.966(a)	8	.871	2.740	.077
Intercept	94425.542	1	94425.542	297187.166	.000
Treatment	.491	2	.245	.772	.490
Storage time	3.980	2	1.990	6.263	.020
Treatment * Storage time	2.495	4	.624	1.963	.184
Error	2.860	9	.318		
Total	94435.368	18			
Corrected Total	9.825	17			

a R Squared = .709 (Adjusted R Squared = .450)

ตารางภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า ΔH_2 จากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.085(a)	8	.011	76.544	.000
Intercept	1.213	1	1.213	8738.267	.000
Treatment	.003	2	.002	11.032	.004
Storage time	.079	2	.039	284.505	.000
Treatment * Storage time	.003	4	.001	5.320	.018
Error	.001	9	.000		
Total	1.299	18			
Corrected Total	.086	17			

a R Squared = .986 (Adjusted R Squared = .973)

ตารางภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase จากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.019(a)	14	.001	82.851	.000
Intercept	.256	1	.256	15413.859	.000
Treatment	.004	2	.002	117.778	.000
Storage time	.013	4	.003	201.427	.000
Treatment * Storage time	.002	8	.000	14.832	.000
Error	.000	15	1.664E-05		
Total	.276	30			
Corrected Total	.020	29			

a R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .975)

ตารางภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณหมู่เซลล์ไฟโตพลาซมทั้งหมดจากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.767E-10(a)	8	7.209E-11	256.196	.000
Intercept	8.363E-09	1	8.363E-09	29722.053	.000
Treatment	1.768E-10	2	8.841E-11	314.215	.000
Storage time	2.548E-10	2	1.274E-10	452.855	.000
Treatment * Storage time	1.450E-10	4	3.626E-11	128.857	.000
Error	2.532E-12	9	2.814E-13		
Total	8.942E-09	18			
Corrected Total	5.792E-10	17			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .992)

ตารางภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการสูญเสียน้ำของเจดจากการศึกษาผลของการเก็บรักษาปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	393.232(a)	8	49.154	407.711	.000
Intercept	25491.054	1	25491.054	211437.295	.000
Treatment	308.779	2	154.389	1280.594	.000
Storage time	8.149	2	4.074	33.796	.000
Treatment * Storage time	76.304	4	19.076	158.227	.000
Error	1.085	9	.121		
Total	25885.371	18			
Corrected Total	394.317	17			

a. R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

ตารางภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความยาวของเจลจากการศึกษาผลของการเก็บรักษา
ปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	159.206(a)	14	11.372	6.479	.000
Intercept	155501.281	1	155501.281	88600.511	.000
Treatment	1.008	2	.504	.287	.754
Storage time	152.230	4	38.058	21.684	.000
Treatment * Storage time	5.968	8	.746	.425	.888
Error	26.326	15	1.755		
Total	155686.813	30			
Corrected Total	185.532	29			

a R Squared = .858 (Adjusted R Squared = .726)

ตารางภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความแข็งของเจลจากการศึกษาผลของการเก็บรักษา
ปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	492017.397(a)	8	61502.175	413.522	.000
Intercept	63958389.300	1	63958389.300	430037.332	.000
Treatment	116341.239	2	58170.620	391.122	.000
Storage time	299567.595	2	149783.798	1007.102	.000
Treatment * Storage time	76108.562	4	19027.141	127.933	.000
Error	1338.548	9	148.728		
Total	64451745.245	18			
Corrected Total	493355.944	17			

a R Squared = .997 (Adjusted R Squared = .995)

ตารางภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความชื้นของเมล็ดจากการศึกษาผลของการเก็บรักษา
ปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.004(a)	8	.001	4.042	.026
Intercept	13.244	1	13.244	99330.667	.000
Treatment	.001	2	.000	2.792	.114
Storage time	.003	2	.002	11.792	.003
Treatment * Storage time	.000	4	.000	.792	.559
Error	.001	9	.000		
Total	13.250	18			
Corrected Total	.006	17			

a R Squared = .782 (Adjusted R Squared = .589)

ตารางภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการยืคเกาะของเมล็ดจากการศึกษาผลของการเก็บรักษา
ปลานิล

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.006(a)	8	.001	2.057	.152
Intercept	7.933	1	7.933	23410.246	.000
Treatment	.003	2	.002	4.639	.041
Storage time	.002	2	.001	2.869	.109
Treatment * Storage time	.000	4	.000	.361	.831
Error	.003	9	.000		
Total	7.942	18			
Corrected Total	.009	17			

a R Squared = .646 (Adjusted R Squared = .332)

ตารางภาคผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความเป็นกรดต่างจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	3.251(a)	11	.296	1182.230	.000
Intercept	1070.403	1	1070.403	4281613.067	.000
Treatment	2.235	5	.447	1787.947	.000
Storage time	1.009	1	1.009	4034.400	.000
Treatment * Storage time	.008	5	.002	6.080	.005
Error	.003	12	.000		
Total	1073.657	24			
Corrected Total	3.254	23			

a R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางภาคผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ในสารละลายเกลือจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	11156.365(a)	11	1014.215	16.916	.000
Intercept	214420.510	1	214420.510	3576.283	.000
Treatment	2474.427	5	494.885	8.254	.001
Storage time	7931.570	1	7931.570	132.289	.000
Treatment * Storage time	750.367	5	150.073	2.503	.090
Error	719.475	12	59.956		
Total	226296.350	24			
Corrected Total	11875.840	23			

a R Squared = .939 (Adjusted R Squared = .884)

ตารางภาคผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า onset T_{d1} จากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	112.729(a)	11	10.248	100.002	.000
Intercept	61992.371	1	61992.371	604928.783	.000
Treatment	95.093	5	19.019	185.587	.000
Storage time	8.742	1	8.742	85.308	.000
Treatment * Storage time	8.894	5	1.779	17.357	.000
Error	1.230	12	.102		
Total	62106.330	24			
Corrected Total	113.959	23			

a R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .979)

ตารางภาคผนวกที่ 19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า ΔH_1 จากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	2.088(a)	11	.190	84.912	.000
Intercept	27.200	1	27.200	12167.347	.000
Treatment	.994	5	.199	88.913	.000
Storage time	.693	1	.693	309.962	.000
Treatment * Storage time	.401	5	.080	35.900	.000
Error	.027	12	.002		
Total	29.315	24			
Corrected Total	2.115	23			

a R Squared = .987 (Adjusted R Squared = .976)

ตารางภาคผนวกที่ 20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า onset T_{d2} จากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	9.921(a)	11	.902	1.665	.197
Intercept	124426.656	1	124426.656	229672.942	.000
Treatment	5.124	5	1.025	1.892	.170
Storage time	.087	1	.087	.160	.696
Treatment * Storage time	4.710	5	.942	1.739	.200
Error	6.501	12	.542		
Total	124443.078	24			
Corrected Total	16.422	23			

a R Squared = .604 (Adjusted R Squared = .241)

ตารางภาคผนวกที่ 21 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่า ΔH_2 จากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.113(a)	11	.010	62.707	.000
Intercept	1.531	1	1.531	9383.326	.000
Treatment	.078	5	.016	95.501	.000
Storage time	.025	1	.025	150.265	.000
Treatment * Storage time	.010	5	.002	12.402	.000
Error	.002	12	.000		
Total	1.645	24			
Corrected Total	.114	23			

a R Squared = .983 (Adjusted R Squared = .967)

ตารางภาคผนวกที่ 22 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่ากิจกรรมเอนไซม์ Ca^{2+} -ATPase จากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.018(a)	11	.002	196.727	.000
Intercept	.224	1	.224	26912.000	.000
Treatment	.005	5	.001	117.200	.000
Storage time	.011	1	.011	1352.000	.000
Treatment * Storage time	.002	5	.000	45.200	.000
Error	1.000E-04	12	8.333E-06		
Total	.242	24			
Corrected Total	.018	23			

a R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .989)

ตารางภาคผนวกที่ 23 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนปริมาณหมู่ซัลฟไฮดริลทั้งหมดจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.937(a)	11	.176	98.265	.000
Intercept	120.243	1	120.243	67112.521	.000
Treatment	.438	5	.088	48.936	.000
Storage time	1.382	1	1.382	771.572	.000
Treatment * Storage time	.116	5	.023	12.932	.000
Error	.021	12	.002		
Total	122.201	24			
Corrected Total	1.958	23			

a R Squared = .989 (Adjusted R Squared = .979)

ตารางภาคผนวกที่ 24 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการสูญเสียน้ำของเจลจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	479.718(a)	11	43.611	10.505	.000
Intercept	17947.070	1	17947.070	4323.024	.000
Treatment	408.675	5	81.735	19.688	.000
Storage time	51.803	1	51.803	12.478	.004
Treatment * Storage time	19.240	5	3.848	.927	.497
Error	49.818	12	4.152		
Total	18476.607	24			
Corrected Total	529.536	23			

a R Squared = .906 (Adjusted R Squared = .820)

ตารางภาคผนวกที่ 25 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความขาวของเจลจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	191.287(a)	11	17.390	15.696	.000
Intercept	125080.726	1	125080.726	112901.054	.000
Treatment	7.336	5	1.467	1.324	.318
Storage time	176.964	1	176.964	159.732	.000
Treatment * Storage time	6.988	5	1.398	1.261	.342
Error	13.295	12	1.108		
Total	125285.307	24			
Corrected Total	204.582	23			

a R Squared = .935 (Adjusted R Squared = .875)

ตารางภาคผนวกที่ 26 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความแข็งของเจลจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	19045450.560(a)	11	1731404.596	3922.849	.000
Intercept	225072557.999	1	225072557.999	509947.597	.000
Treatment	18996119.193	5	3799223.839	8607.913	.000
Storage time	6128.650	1	6128.650	13.886	.003
Treatment * Storage time	43202.717	5	8640.543	19.577	.000
Error	5296.369	12	441.364		
Total	244123304.928	24			
Corrected Total	19050746.929	23			

a R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = .999)

ตารางภาคผนวกที่ 27 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าความยืดหยุ่นของเจลจากการศึกษาผลของการใช้สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.007(a)	11	.001	3.945	.013
Intercept	17.802	1	17.802	104207.049	.000
Treatment	.006	5	.001	6.483	.004
Storage time	.001	1	.001	5.488	.037
Treatment * Storage time	.001	5	.000	1.098	.411
Error	.002	12	.000		
Total	17.811	24			
Corrected Total	.009	23			

a R Squared = .783 (Adjusted R Squared = .585)

ตารางภาคผนวกที่ 28 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนค่าการยืดเกาะตัวของเจลจากการศึกษาผลของการใช้
สารเติมแต่งอาหาร

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.043(a)	11	.004	9.144	.000
Intercept	10.854	1	10.854	25539.176	.000
Treatment	.010	5	.002	4.941	.011
Storage time	.011	1	.011	26.510	.000
Treatment * Storage time	.021	5	.004	9.875	.001
Error	.005	12	.000		
Total	10.902	24			
Corrected Total	.048	23			

a R Squared = .893 (Adjusted R Squared = .796)



