

กลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า: การผลิต คุณลักษณะ ความคงตัว และการประยุกต์ใช้ใน
ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง

GLUCOSAMINE FROM BLUE SWIMMING CRAB SHELL: PRODUCTION,
CHARACTERISTICS, STABILITY AND APPLICATION IN CANNED GRUEL



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

KMITL-2020-FI-M-503-363

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

GLUCOSAMINE FROM BLUE SWIMMING CRAB SHELL: PRODUCTION,
CHARACTERISTICS, STABILITY AND APPLICATION IN CANNED GRUEL



A THESIS SUBMITTED IN PATTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
FACULTY OF FOOD-INDUSTRY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2020
KMITL-2020-FI-M-503-363

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2020

FOOD-INDUSTRY

KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์ กลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า: การผลิต คุณลักษณะ ความคงตัว และการประยุกต์ใช้ในข้าวต้มบรรจุกระป๋อง

นักศึกษา จิตรากานต์ ไกรแสงศรี

รหัสประจำตัว 58608001

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์การอาหาร

พ.ศ. 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร. สิทธิพงศ์ นลินานนท์

บทคัดย่อ

กลูโคซามีนได้รับความสนใจจากนักวิจัยจำนวนมาก เนื่องจากสามารถเตรียมได้จากเปลือกครัสเตเชียนซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง โดยกลูโคซามีนเป็นที่ทราบกันดีว่าสามารถใช้ในการบรรเทาโรคไขข้อเสื่อมในผู้สูงอายุได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้าโดยการย่อยสลายด้วยกรด รวมทั้งตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และความคงตัวของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า และนำมาประยุกต์ในข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง เพื่อเป็นอาหารสำหรับผู้สูงอายุ หรือผู้บริโภคเฉพาะกลุ่มที่มีปัญหาด้านสุขภาพเกี่ยวกับไขข้อเสื่อม กลูโคซามีนสามารถเตรียมได้จากการนำเปลือกปูม้า (*Portunus pelagicus*) มาผ่านกระบวนการย่อยจนได้ไคตินและนำไปย่อยด้วยกรด HCl ที่ความเข้มข้นร้อยละ 30 นาน 30 นาที อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการเตรียมกลูโคซามีน จากนั้นตกผลึกด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 แล้วอบแห้ง จะได้กลูโคซามีนที่มีผลผลิตร้อยละ 36.47 เมื่อตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้น และความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค TLC, FT-IR และ HPLC พบว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้มีองค์ประกอบหลักคือ D-glucosamine กลูโคซามีนที่เตรียมได้มีความคงตัว และมีความบริสุทธิ์สูง โดยมีอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะ (Maximal transition temperature: T_{max}) สูงถึง 194 องศาเซลเซียส และมีค่าเอนทัลปี (Enthalpy) เท่ากับ 754.42 J/mol ตามลำดับ จากการศึกษาการนำกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าผสมลงในข้าวต้มจากข้าวกล้องหอมมะลิแดงบรรจุกระป๋อง ที่มีความเข้มข้นของกลูโคซามีน 0.36% w/v ร่วมกับเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้น 0.5% เพื่อเพิ่มคุณสมบัติด้านความหนืด ช่วยในเรื่องการกลืนง่าย ทำให้ลดอาการสำคัญในผู้สูงอายุ นำข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋องไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ คุณค่าทางโภชนาการ คุณลักษณะของอาหารในภาชนะบรรจุปิดสนิท ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงกว่า 4.6 ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับ 355 อีกทั้งยังศึกษาการเปลี่ยนแปลงใน

ระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือนอีกด้วย ผลจากการศึกษาพบว่าปริมาณกลูโคซามีนมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องมาจากสภาวะที่ใช้ในการฆ่าเชื้อมีสภาวะที่ต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของกลูโคซามีน อย่างไรก็ตามพบการเปลี่ยนแปลงของสี โดยค่า L , a^* และ b^* ลดลง ค่าความขุ่นลดลง ส่วนความหนืดของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนมีค่าเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน การตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการพบว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องให้พลังงาน 39.46 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม คาร์โบไฮเดรต (7.63 กรัมต่อ 100 กรัม) โปรตีน (1.38 กรัมต่อ 100 กรัม) ไฟเบอร์ (0.02 กรัมต่อ 100 กรัม) ไขมัน (0.38 กรัมต่อ 100 กรัม)

จากการสำรวจการยอมรับผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องกับกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นผู้สูงอายุ ช่วง 60-70 ปี จำนวน 100 คน ผลการสำรวจพบว่ามีคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ที่ 4.43 คะแนน ผู้บริโภคส่วนใหญ่มีความเห็นว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์อัตราความถี่ในช่วง 1-3 ครั้งต่อเดือน ดังนั้นกลูโคซามีนที่ผลิตได้จากเปลือกปูม้าจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางอาหาร อีกทั้งผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋อง สามารถนำไปต่อยอดและผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อตอบสนองความต้องการของกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นกลุ่มผู้สูงอายุ และกลุ่มผู้รักสุขภาพได้

Thesis Title Glucosamine from blue swimming crab shell: production, characteristics, stability and application in canned gruel.

Student Jittrakan Kraisansri

Student ID 58608001

Degree Master of science

Program Food science and technology

Year 2020

Thesis Advisor Asst.Prof.Dr.Sitthipong Nalinanon

ABSTRACT

Glucosamine has been more attention from researchers due to it can be prepared from crustacean skeleton, a by product from processing. Glucosamine is widely used to treatment in Osteoarthritis elderly. The objective of this research was to prepare the glucosamine from crab shell by acid hydrolysis. Physicochemical characteristics and stability of prepared glucosamine from crab shell as well as its application in canned gruel fortified with glucosamine were also studied. This product served for elderly or specific group of consumers who are sufficiency and concern about health and joint problem. Glucosamine could be prepared from the shell of Blue swimming crab (*Portunus pelagicus*). The crab shell was hydrolyzed to be chitin prior to acid hydrolysis using 30%(w/v) HCl for 30 min at 100°C, which was the optimum condition for glucosamine preparation. Glucosamine was then crystalized in 95%(v/v) ethanol and dried in oven. The yield of resultant glucosamine was 36.47%. Glucosamine powder was subjected to physicochemical and purity analysis using TLC, FT-IR and HPLC techniques. The results showed that D-glucosamine was the major constituent and had high stability and purity. Maximal transition temperature (T_{max}) and the total enthalpy (DH) of the prepared glucosamine were 194°C and 754.42 J/g respectively. Glucosamine prepared from crab shell was added in canned gruel produced from red jasmine brown rice at a concentration of 0.36%(w/v) in composition with denatured collagen (0.5% w/v) to adjust viscosity and swallow ability of the product for elderly. Canned gruel produced from red jasmine brown rice fortified with

glucosamine and denatured collagen was sterilized at 120°C for 20 min. Physicochemical and microbiological properties, nutrition value of the hermetic packaging, product with pH >4.6 as per Ministry of Health announcement 355 as well as the changes during storage for 12 months were studied. The result showed that the changes in glucosamine content was minimally noticeable during storage. This might be due to the sterilization temperature was lower than the transition temperature of glucosamine. The changes in canned gruel properties were found in color and turbidity. These properties were lower during storage where the viscosity somehow increased. However, no microorganism was detectable in canned gruel during 12 months of storage. Based on nutritional value analysis, canned gruel fortified with glucosamine had 39.46 kcal/100g and contained carbohydrate (7.63 g/100g), protein (1.38 g/100g), fiber (0.02 g/100g), fat (0.38 g/100g).

The consumer acceptability of canned gruel fortified with glucosamine was tested with the group of elderly (60-70 years old) for 100 people. The result found that the overall likely score was 4.43. The majority of consumer tested will buy the product 1-3 times/month. Therefore, glucosamine prepared from blue swimming crab shell can be applied in food. Additionally, canned gruel fortified with glucosamine and denatured collagen can be produced in the industrial scale which is served to elderly and healthy consumers.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาโทของสาขาวิทยาศาสตร์
การอาหาร คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สิทธิพงศ์ นลินานนท์ ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาที่กรุณาให้คำปรึกษา
และคำแนะนำในการแก้ไขปัญหาต่างๆ รวมถึงให้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ทำให้การทำงานวิจัย
สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้ต้องขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ยุพร พิษกมฺุร ผศ.ดร.โสธยา เกิดพิบูลย์ และ
ผศ.ดร.ศิริพร เรียบร้อย คิม กรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยให้คำแนะนำ ตรวจสอบ แก้ไข
วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่เทคนิค และเจ้าหน้าที่ของคณะอุตสาหกรรม
อาหารทุกท่านที่อำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณครอบครัว เพื่อน พี่ และน้องนักศึกษาระดับชั้นปริญญาตรี ปริญญาโท และ
ปริญญาเอกทุกท่าน ที่ให้คำแนะนำ และเป็นกำลังใจให้ข้าพเจ้ามาตลอด

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่ได้จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ข้าพเจ้าขอบแต่ผู้มีพระคุณทุก
ท่าน หากปราศจากความช่วยเหลืออันดีจากผู้มีพระคุณทั้งหลาย งานวิจัยฉบับนี้จักไม่สำเร็จลุล่วงได้

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะป็นประโยชน์แก่นิสิต นักศึกษา
และผู้สนใจทั่วไป และหากมีข้อความหรือเนื้อหาตอนหนึ่งตอนใดผิดพลาด เนื่องจากการพิมพ์ หรือ
ด้วยสาเหตุอันใดก็ตาม ผู้จัดทำยินดีน้อมรับคำติชมจากท่านผู้อ่านด้วยใจจริง และกราบขออภัยมา ณ
ที่นี้ด้วย

จิตราภานต์ ไกรแสงศรี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	XI
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความสำคัญ และที่มา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎี และวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ปูม้า.....	3
2.2 ไคติน (Chitin).....	4
2.2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคติน.....	4
2.2.2 การผลิตไคติน.....	5
2.3 กลูโคซามีน (Glucosamine).....	6
2.3.1 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกลูโคซามีน.....	6
2.3.2 โครงสร้างทางเคมี และสมบัติของกลูโคซามีน.....	6
2.3.3 การเตรียมกลูโคซามีน.....	8
2.3.4 ชนิดของกลูโคซามีน (Glucosamine).....	10
2.3.5 ประโยชน์ของกลูโคซามีน.....	13
2.4 คอลลาเจน.....	14
2.4.1 โครงสร้างของคอลลาเจน.....	14
2.4.2 ชนิดของคอลลาเจน.....	16
2.4.3 ความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจน.....	18
2.4.4 คอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ (Denatured collagen).....	19
2.5 ข้าวกล้องหอมมะลิแดง.....	20
2.5.1 คุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์ของข้าวหอมมะลิแดง.....	21
2.6 แอนโทไซยานิน.....	23
2.6.1 โครงสร้างและสมบัติของแอนโทไซยานิน.....	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.2 ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน.....	24
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงาน.....	26
3.1 วัตถุประสงค์.....	26
3.1.1 เปลือกปูม้า (Crab shell).....	26
3.1.2 ข้าวกล้องหอมมะลิแดง.....	26
3.2 อุปกรณ์.....	26
3.3 สารเคมี.....	27
3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	28
3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกปูม้า.....	28
3.4.2 การเตรียมโคติน.....	28
3.4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลา ต่อการย่อยสลายโคติน.....	29
3.4.4 การผลิตกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า.....	29
3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน.....	30
3.4.6 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีน.....	30
3.4.7 การตรวจสอบคุณสมบัติของกลูโคซามีน.....	30
3.4.8 การตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนระหว่างการให้ความร้อน.....	31
3.4.9 การศึกษาผลของปริมาณกลูโคซามีนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีน บรรจุกระป๋อง.....	32
3.4.10 การศึกษาผลของปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติต่อ สมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของ ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	35
3.4.11 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องใน ระหว่างการเก็บรักษา.....	35
3.4.12 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค.....	37
3.4.13 การวางแผนการตลาด และวิเคราะห์ทางสถิติ.....	37
บทที่ 4 ผลการทดลอง และวิจารณ์.....	38
4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้า.....	38

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2	ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลาต่อการย่อยสลายไคติน.....	39
4.3	ปริมาณผลผลิตของกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า.....	40
4.4	การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีน.....	41
4.4.1	วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC.....	41
4.4.2	วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค TLC.....	42
4.4.3	วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR).....	43
4.5	การตรวจสอบคุณสมบัติของกลูโคซามีน.....	45
4.5.1	การวัดค่าสี.....	45
4.5.2	การตรวจสอบการละลายในสภาวะความเป็นกรด-ต่าง (pH) ต่างๆ.....	47
4.5.3	การวิเคราะห์หาจุดหลอมเหลว.....	47
4.6	การตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนระหว่างการให้ความร้อน.....	48
4.6.1	ความคงตัวของกลูโคซามีนในสภาวะ pH ต่างๆ.....	48
4.6.2	ความคงตัวระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ.....	50
4.7	การศึกษาผลของปริมาณกลูโคซามีนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	51
4.7.1	การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	51
4.7.2	การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	54
4.7.3	การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	56
4.8	การศึกษาผลของปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	57
4.8.1	การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	57
4.8.2	คุณสมบัติทางเคมี.....	60

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.8.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีน บรรจุกระป๋อง.....	60
4.9 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องใน ระหว่างการเก็บรักษา.....	61
4.9.1 คุณสมบัติทางกายภาพ.....	61
4.9.2 คุณสมบัติทางเคมี.....	68
4.9.3 คุณสมบัติทางจุลินทรีย์.....	71
4.9.4 ตรวจวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ข้อ 3 (1) อาหาร ที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4.6.....	72
4.10 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริม กลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	73
4.10.1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์.....	73
4.10.2 ความชอบของผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้ม เสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	74
4.10.3 ความถี่ที่ผู้ทดสอบจะซื้อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	74
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ.....	76
บรรณานุกรม.....	77
ภาคผนวก.....	94
ก การวิเคราะห์ทางกายภาพ.....	95
ข การวิเคราะห์ทางเคมี.....	98
ค การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์.....	105
ง ใบบรายงานผล.....	107
จ เอกสารแนะนำแบบสอบถาม.....	113
ประวัติผู้เขียน.....	119

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ชนิดของคอลลาเจน หน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบ.....	17
ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องข้าวแดงหอมและข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105 (ต่อ 100 กรัม).....	23
ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปทุมมา.....	30
ตารางที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลาต่อการย่อยสลายไคติน.....	40
ตารางที่ 5 สภาวะ และปริมาณผลผลิตของกลูโคซามีนที่เตรียมได้.....	41
ตารางที่ 6 สีของกลูโคซามีนที่ผลิตจากเปลือกปทุมมา.....	46
ตารางที่ 7 ผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ต่อการละลายของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปทุมมา.....	47
ตารางที่ 8 ปริมาณกลูโคซามีนในสภาวะ pH ต่างๆ.....	49
ตารางที่ 9 ปริมาณกลูโคซามีนระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ.....	50
ตารางที่ 10 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	55
ตารางที่ 11 การทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆกับชุดควบคุม.....	56
ตารางที่ 12 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่างๆ.....	59
ตารางที่ 13 การทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆกับชุดควบคุม.....	61
ตารางที่ 14 ปริมาณกลูโคซามีนของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องก่อนการฆ่าเชื้อเทียบกับหลังการฆ่าเชื้อ.....	70
ตารางที่ 15 ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	71
ตารางที่ 16 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count; TPC).....	72
ตารางที่ 17 ผลการตรวจวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข.....	73
ตารางที่ 18 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน100 คน ด้วยวิธี 5-point Hedonic Scale ต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม.....	74

X

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 19	ความถี่ที่ผู้บริโภคนในกลุ่มผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน 100 คน ที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนบรรจุกระป๋อง.....	75
ตารางที่ จ1	ข้อมูลประชากรศาสตร์ของกลุ่มผู้สูงอายุในช่วง 60-70 ปี.....	115
ตารางที่ จ2	ข้อมูลหน่วยงานผู้ให้บริการด้านสุขภาพต่อการยอมรับข้าวต้มเสริมกลูโคซามีน บรรจุกระป๋อง.....	116



สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ปูม้า (Blue swimming crab: <i>Portunus pelagicus</i>).....	3
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน.....	4
ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของกลูโคซามีน (glucosamine).....	7
ภาพที่ 4 ผลึกของกลูโคซามีน.....	7
ภาพที่ 5 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชีย.....	9
ภาพที่ 6 โครงสร้างของ N-acetyl-D-glucosamine	11
ภาพที่ 7 โครงสร้างของกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์.....	12
ภาพที่ 8 โครงสร้างของกลูโคซามีนซัลเฟต.....	12
ภาพที่ 9 เปรียบเทียบข้อต่อที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อม และข้อต่อที่ปกติ.....	14
ภาพที่ 10 โครงสร้างของโทรโปคอลลาเจน.....	15
ภาพที่ 11 การเรียงตัวของกรดอะมิโนภายใต้โครงสร้างของคอลลาเจน.....	15
ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ของปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน) และความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจนจากสัตว์ชนิดต่างๆ.....	19
ภาพที่ 13 การสูญเสียสภาพทางธรรมชาติของคอลลาเจน.....	20
ภาพที่ 14 ขั้วกลิ้งหอมมะลิแดง.....	21
ภาพที่ 15 โครงสร้างหลักของแอนโทไซยานิน.....	24
ภาพที่ 16 ขั้นตอนการผลิตข้าวต้มสำเร็จรูปเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	33
ภาพที่ 17 HPLC โครมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine D-glucosamine (A) และกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า (B).....	42
ภาพที่ 18 TLC โครมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine (A), กลูโคซามีนที่เตรียม ได้จากเปลือกปู (B) และ D-glucosamine (C).....	43
ภาพที่ 19 TLC โครมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine (A) กลูโคซามีนที่เตรียมได้ จากเปลือกปูม้า (B) และ D-glucosamine (C).....	45
ภาพที่ 20 ผลึกกลูโคซามีน.....	46
ภาพที่ 21 DSC เทอร์โมแกรมของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า.....	48
ภาพที่ 22 TLC โครมาโตแกรมของกลูโคซามีนที่ pH เท่ากับ 1 (A), 3 (B), 5 (C), 7 (D), 9 (E), 11 (F), 13 (G).....	49
ภาพที่ 23 TLC โครมาโตแกรมของกลูโคซามีนที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 0 (A), 10 (B), 20 (C), 30 (D), 40 (E), 60 (F), 90 (G) และ 120 (H) นาที.....	51

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 24 ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (0% (A), 0.18% (B), 0.36% (C), 0.54% (D)).....	56
ภาพที่ 25 ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นต่างๆ (0% (A), 0.5% (B), 1% (C), 2% (D)).....	59
ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L^* [A], a^* [B] และ b^* [C] ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	63
ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	65
ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (hardness) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	66
ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงค่าความเหนียว (stickiness) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	67
ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	68
ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา.....	69
ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (OD 570) กับปริมาณ D-glucosamine(mg/mL).....	102
ข-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (OD 570) กับปริมาณ D-glucosamine(mg/mL).....	103
ง1 ผลการทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง.....	105
ง2 ผลการทดสอบอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 355.....	109

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มา

ปูม้า (blue swimming crab: *Portunus pelagicus*) เป็นปูที่มีขนาดใหญ่ และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ปูม้าเป็นสัตว์น้ำที่นิยมบริโภคโดยทั่วไปทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ ในปี 2562 ประเทศไทยส่งออกปูม้าในรูปของปูบรรจุกระป๋อง ปูแปรรูปแช่เย็น แช่แข็ง นึ่ง และต้ม รวมทั้งปูแปรรูปในลักษณะอื่น มูลค่ารวมเท่ากับ 800 ล้านบาท (กรมการค้าไทย, 2562) ในขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าวทำให้เกิดผลพลอยได้ (by-products) เช่นเปลือกปูเป็นจำนวนมาก คิดเป็นประมาณ 40-50 % ของน้ำหนักตัว (Xu และคณะ, 2008) ซึ่งย่อยสลายได้ยาก ส่งผลให้เกิดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อม (Kandra และคณะ, 2012) โดยทั่วไปโรงงานอุตสาหกรรมแปรรูปอาหารทะเล มักนำวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปไปเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ หรือผลิตปุ๋ยซึ่งมีมูลค่าต่ำ (Lertsutthiwong และคณะ, 2002) แต่ปัจจุบันมีการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเศษเหลือจากการแปรรูปอาหารทะเล เพื่อการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และทางเภสัชกรรม (Santos และคณะ, 2012) เช่นการผลิตโคติน ไคโตซาน และกลูโคซามีนจากเปลือกกุ้ง และปู เป็นต้น กลูโคซามีน (2-Amino-2-Deoxy-D-glucose) เป็นสารประกอบประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) กลูโคซามีนจะสามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในการสร้างสารโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น proteoglycan, glycoprotein, glycosaminoglycan และ กรดไฮยาลูโรนิก (Fattahi และคณะ, 2008) กลูโคซามีนสามารถผลิตได้โดยใช้วัสดุเศษเหลือจากสัตว์น้ำเปลือกแข็ง (shell fish) เช่นเปลือกกุ้ง เปลือกปู และแกนหมึก เป็นต้น (Begum และคณะ, 2006) กลูโคซามีนเป็นสารที่เกิดขึ้นจากธรรมชาติ สามารถละลายน้ำได้ ไม่มีสารประกอบที่เป็นพิษ และใช้กันอย่างกว้างขวางในทางยา เนื่องจากสามารถลดอาการเจ็บปวดและยังช่วยรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมได้ (Fenton และคณะ, 2000) กลูโคซามีนเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารราคาแพงในต่างประเทศ และเป็นยารักษาโรคข้อเสื่อม โดยทั้งสหรัฐอเมริกา และยุโรปได้มีการใช้กลูโคซามีนกันอย่างแพร่หลาย (ธนรัตน์, 2554) สำหรับประเทศไทยการใช้ยารักษาโรคข้อเข่าเสื่อมนั้นจะต้องนำเข้าจากต่างประเทศ แต่ในปัจจุบันเริ่มมีการผลิตกลูโคซามีนจากผลพลอยได้จากการแปรรูปในประเทศมากขึ้น จึงทำให้สามารถลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของกลูโคซามีนจากต่างประเทศ (ศูนย์สารสนเทศกรมประมง, 2552)

ปัจจุบันมีการศึกษาคุณลักษณะของกลูโคซามีนจากแหล่งต่างๆ ได้แก่ กลูโคซามีนจากเปลือกกุ้งน้ำจืดแถบบังคลาเทศ (Islam และคณะ, 2011) กลูโคซามีนจากเปลือกสัตว์ในกลุ่มครัสเตเซียนคือกุ้งอินเดีย (*Penaeus monodon*) ปูม้า (*Portunus pelagicus*) และปูดาว (*Portunus sanguinolentus*) (Sibi และคณะ, 2013) ที่มีคุณสมบัติเคมีกายภาพที่เหมาะสมสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรม อาหารเสริม ทางอาหาร โดยเฉพาะกลุ่มอาหารสำหรับผู้บริโภคเฉพาะกลุ่ม เช่นอาหารผู้สูงอายุ เป็นต้น ซึ่งผู้สูงอายุเป็นกลุ่มที่มีโอกาสพบโรคภาวะข้อเข่าเสื่อม และโรคข้อกระดูกได้บ่อยที่สุด ซึ่งสาเหตุ

ส่วนใหญ่มาจากน้ำหนักตัวที่เพิ่มมากขึ้น ใช้เข้าผิดท่า หรือยืนทำงานนานกว่าปกติ ซึ่งผู้สูงอายุที่มีภาวะข้อเข่าเสื่อม จะมีอาการเจ็บปวด และส่งผลให้การทำกิจวัตรประจำวันไม่สะดวก และเกิดปัญหาด้านสุขภาพ (สมเกียรติ, 2548) จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้นจึงเกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับผู้สูงอายุที่มีปัญหาข้อเข่าเสื่อม โดยนำกลูโคซามีนมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง เนื่องจากเป็นอาหารที่รับประทานง่าย สะดวกต่อการบริโภค นอกจากนี้ยังมีการเสริมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ ที่แสดงคุณสมบัติในการเป็นสารให้ความชุ่มชื้น เพื่อช่วยให้ผู้สูงอายุที่มีปัญหาในเรื่องการกลืน สามารถบริโภคข้าวต้มได้อย่างปลอดภัย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกปุม้า ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของกลูโคซามีน รวมถึงตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนในผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน และนำไปทดสอบการยอมรับของกลุ่มผู้บริโภค เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ที่เหมาะสมกับผู้สูงอายุ และเหมาะสมกับผู้บริโภคเฉพาะกลุ่ม

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกปุม้าโดยการย่อยสลายด้วยกรด
2. ตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปุม้า
3. ตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนในผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ขอบเขตการศึกษาจะครอบคลุมถึงกระบวนการผลิตกลูโคซามีนจากเปลือกปุม้าด้วยวิธีการย่อยสลายด้วยกรด และมีการตรวจสอบคุณลักษณะของกลูโคซามีนจากเปลือกปุม้าที่สกัดได้ ตลอดจนการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง ซึ่งเป็นการเสริมคุณประโยชน์เหมาะสมกับผู้บริโภคกลุ่มผู้สูงอายุที่มีปัญหาโรคข้อเข่าเสื่อม รวมทั้งมีการศึกษาความคงตัว และการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน

บทที่ 2

ทฤษฎี หรือวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปูม้า

ปูม้าเป็นปูที่อยู่ในวงศ์ปูว่ายน้ำ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Portunus pelagicus* หรือชื่อสามัญภาษาอังกฤษว่า blue Swimming crab ปูม้าเป็นสัตว์สายพันธุ์หนึ่งที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจ มักอาศัยอยู่บริเวณชายฝั่ง และพื้นที่ใกล้ทวีป รวมทั้งอาศัยอยู่บริเวณทราย โคลน และหญ้าทะเล ที่ระดับน้ำลึกประมาณ 30-50 เมตร ของอ่าวไทย และทางฝั่งทะเลอันดามัน (Sudtongkong, 2006) ปูม้าพบมากบริเวณชายฝั่งทะเล ในระดับความลึกไม่เกิน 50 เมตร พบมากที่ความลึกประมาณ 7-30 เมตร อาหารของสัตว์จำพวกนี้คือ กุ้ง หอย ปู ปลา เปรียงหิน ตลอดจนหญ้าทะเล และสาหร่ายต่างๆ ปูม้าจะออกหากินในเวลากลางคืน ส่วนกลางวันจะฝังตัวตามพื้นทราย ลักษณะทั่วไปของปูม้า แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนตัว ออ และท้อง ส่วนหัวและอกจะอยู่ติดกัน มีเปลือกหุ้มอยู่ตอนบน (ภาพที่ 1) ทางด้านข้างทั้งสองของ เปลือกจะเป็นรอยหยักคล้ายฟันเลื่อยเป็นหนามแหลมข้างละ 9 อัน ขามีทั้งหมด 5 คู่ด้วยกัน คู่แรกเป็นก้ามใหญ่เพื่อใช้ป้องกันตัวและจับอาหาร ขาคู่ที่ 2, 3 และ 4 จะมีขนาดเล็กปลายแหลมใช้เป็นขาเดิน ขาคู่สุดท้ายตอนปลายมีลักษณะเป็นใบพาย ใช้ในการว่ายน้ำ ขนาดความยาวประมาณ 15-20 เซนติเมตร ตัวผู้มีก้ามยาวกว่าตัวเมีย ลำตัวสีฟ้าอ่อน มีจุดสีขาวทั่วไปบนเปลือก พื้นท้องเป็นสีขาว ตัวเมียมีเปลือกสีน้ำตาลอ่อน ไม่มีจุดสีขาวเหมือนตัวผู้ ปลายขามีสีม่วงแดง (บรรจง, 2008)



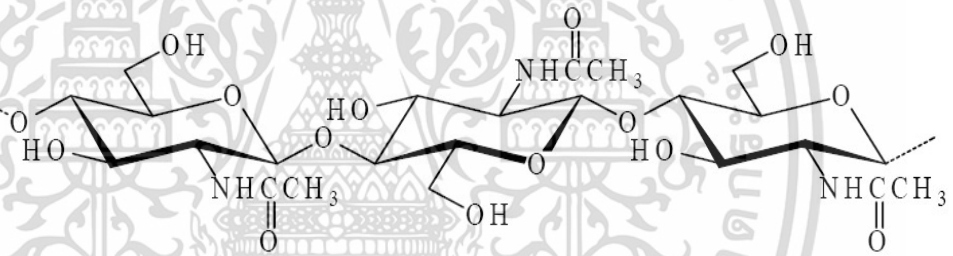
ภาพที่ 1 ปูม้า (Blue swimming crab: *Portunus pelagicus*)

ที่มา : กรมประมง (2552)

2.2 ไคติน (Chitin)

2.2.1 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

ไคติน (chitin) เป็นเฮเทอโพลีเมอร์ (heteropolymer) ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อยเอ็นอะเซทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) เชื่อมต่อกับกลูโคซามีน (glucosamine) ด้วยพันธะเบต้า 1-4 (β -(1-4)) โดยไคตินมีสัดส่วนของหน่วยย่อยเอ็นอะเซทิลกลูโคซามีนมากกว่า 50% ทำให้มีคุณสมบัติไม่ละลายในน้ำ และสารละลายอินทรีย์ (Chang และคณะ, 2000; Wang และคณะ, 2002) โดยทั่วไปมักพบไคตินในผนังเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เช่น เห็ด รา รวมทั้งเปลือกของแมลง และสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังประเภทมีข้อ และปล้อง เช่น กุ้ง ปู และแกนปลาหมึก และหน่วยย่อยที่ประกอบขึ้นเป็นไคตินคือ น้ำตาลเอ็นอะเซทิลดีกลูโคซามีน (N-acetyl-D-glucosamine) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์พอลิเมอร์ ในกลุ่มของโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ประกอบด้วย อนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสเป็นแกนหลัก (backbone) มีธาตุไนโตรเจน และหมู่อะเซทิลเกาะอยู่ภายในโมเลกุล (ภาพที่ 2) โดยมีสัดส่วนของหน่วยย่อยเอ็นอะเซทิลดีกลูโคซามีนมากกว่าหน่วยย่อยกลูโคซามีน (อังคณา, 2540)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

ที่มา : Rinaudo (2006)

การที่เปลือกสัตว์ทะเลแต่ละชนิดมีการสะสมไคตินในปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากมีกิจกรรมในการดำรงชีวิตที่แตกต่างกัน (พันธุ์ทิพย์, 2556) ปูที่มีการเคลื่อนที่ หรือมีกิจกรรมในรอบวันสูงจะมีปริมาณไคตินต่อน้ำหนักเปลือกแห้งสูงกว่าปูที่มีการเคลื่อนที่ หรือมีกิจกรรมต่างๆ เนื่องจากต้องลดปริมาณแคลเซียมในเปลือกลง เพื่อให้ปูมีน้ำหนักเบา และสามารถเคลื่อนไหวได้ง่ายขึ้น จึงเกิดการสะสมไคตินในเปลือกชั้นสูงแทน เพราะไคตินเป็นสารที่มีความแข็งแรง และมีความยืดหยุ่นมากกว่า ดังนั้นปูม้าที่มีเปลือกเหนียวบาง และมีกิจกรรมในรอบวันสูงจะมีปริมาณไคตินในเปลือกสูงกว่าปูทะเลที่มีเปลือกแข็งหนา และมีพฤติกรรมฝังตัวอยู่กับที่ (พัฒน์นธ์, 2545) ไคตินสามารถนำมาเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีได้โดยการกำจัดหมู่อะเซทิล (acetyl group) ออกจากน้ำตาลเอ็นอะเซทิลกลูโคซามีนที่เป็นหน่วยย่อยของไคตินได้โดยใช้ต่างเข้มข้น หรือเอมีไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

(Rinaudo, 2006) การตัดหมู่อะเซทิลออกจากน้ำตาลเอ็นอะเซทิลกลูโคซามีนจะทำให้คุณสมบัติของไคตินเปลี่ยนแปลงไป เมื่อกำจัดหมู่อะเซทิลของไคตินออกไปมากกว่าครึ่ง หรือคิดเป็น 50% ขึ้นไป จะทำให้ได้สารที่มีสมบัติละลายได้ดีในกรดอินทรีย์อ่อน ได้สารใหม่ หรืออนุพันธ์ของไคตินที่ได้จากการกำจัดหมู่อะเซทิลออกจากไคติน เรียกว่าไคโตซาน (Chitosan) (รัฐ, 2544)

2.2.2 การผลิตไคติน

การผลิตไคตินสามารถทำได้ 2 วิธีคือ การผลิตด้วยกระบวนการทางชีวภาพ และการผลิตด้วยกระบวนการทางเคมี ซึ่งกระบวนการทางชีวภาพเป็นการสกัดไคตินจากจุลินทรีย์ที่ทำการเพาะเลี้ยง เช่น เชื้อรา หรือยีสต์ โดยการใช้เอ็นไซม์ในการเข้าทำปฏิกิริยาเป็นวิธีที่มีความยุ่งยาก จึงใช้ในกรณีที่เปลือกของสัตว์น้ำมีไม่เพียงพอต่อความต้องการ (จิราภรณ์, 2544) ส่วนกระบวนการผลิตไคตินจากเปลือกของสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียนที่ไม่มีกระดูกสันหลัง (Crustacean shell waste) โดยใช้กระบวนการทางเคมีตามวิธีของ No และ Mayer (1997) มีขั้นตอนพื้นฐานอยู่ 3 ขั้นตอนดังนี้ ขั้นตอนที่ 1 การแยกโปรตีน (deproteinization) มักใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 1-10% โดยมีอัตราส่วนของเปลือกต่อสารละลายต่าง ตั้งแต่ 1 ต่อ 10 ขึ้นไป และอุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 65-100 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยา (reaction time) ขึ้นอยู่กับวิธี และสภาวะที่ใช้ในการสกัดโปรตีน และการเกิดปฏิกิริยาได้อย่างทั่วถึง (uniformity) ต้องอาศัยการกวนอย่างสม่ำเสมอ ขั้นตอนที่ 2 การแยกแร่ธาตุ (demineralization) ใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกเจือจางที่อุณหภูมิห้อง และขั้นตอนที่ 3 การกำจัดเม็ดสี (decoloration) โดยกระบวนการแยกสีจะใช้สารฟอกขาว ได้แก่เอทานอล โซเดียมไฮโปคลอไรท์ อะซิโตน และ 3% ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น ซึ่งขั้นตอนที่ 1 และ 2 สามารถสลับลำดับก่อนหลังได้ โดยขั้นตอนการผลิตไคตินโดยทั่วไปแสดงดังภาพที่ 3 อย่างไรก็ตามกระบวนการผลิต ไคตินที่ยังต้องการนำโปรตีนที่สกัดได้กลับมาใช้ประโยชน์ จำเป็นจะต้องเริ่มจากขั้นตอนการแยกโปรตีนออกจากเปลือกของสัตว์เหล่านี้ก่อน ขั้นตอนการกำจัดแร่ธาตุ เนื่องจากโปรตีนที่ได้จะมีปริมาณ และคุณภาพที่ดีกว่า (รัตนา, 2544) แม้ว่าไคติน และไคโตซานนิยมนำไปใช้อย่างกว้างขวาง แต่การผลิตมีขั้นตอนมาก และต้องอาศัยความร้อนสูงในสภาพที่รุนแรงส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมโดยตรง ดังนั้นปัจจุบันนักวิจัยเริ่มให้ความสนใจการใช้ประโยชน์จากไคติน โดยการเตรียมไคตินเป็นโมเลกุลสั้นๆ เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ นอกจากนี้พบว่าหน่วยย่อย (monomer) ของไคตินคือ N-acetyl glucosamine มีคุณสมบัติให้ความหวาน (Sashiwa และคณะ, 2002) พบว่า N-acetyl glucosamine สามารถใช้บำบัดโรคไขข้ออักเสบ (osteoarthritis) และใช้เป็นยารับประทาน (oral administration) ได้ดีกว่า กลูโคซามีนสำหรับ oligomer ในกลุ่ม chitohexaose สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และยังมีขี้ผึ้งมะเร็งได้อีกด้วย (Suzuki และคณะ, 1991)

2.3 กลูโคซามีน (Glucosamine)

กลูโคซามีนมักพบในเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิดในร่างกาย โดยกลูโคซามีนจะถูกสังเคราะห์จากน้ำตาลกลูโคส หลังจากนั้นเซลล์ของกระดูกอ่อนที่ข้อกระดูก จะนำกลูโคซามีนไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีโอไกลแคน (proteoglycans) ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) และกรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารสำคัญในส่วนประกอบของเนื้อเยื่อเกือบทุกชนิดในร่างกายโดยเฉพาะกระดูกอ่อน (cartilage) ซึ่งจะอยู่บริเวณส่วนปลายของกระดูกโดยเฉพาะที่ข้อต่อ (Thakral และคณะ, 2007) ดังนั้นกลูโคซามีนจึงมีประโยชน์ในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม (Setnika และคณะ, 1991) อีกทั้งยังสามารถป้องกันมะเร็ง (Jung และคณะ, 2012) มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านการอักเสบ (Nagaoka และคณะ, 2011) และยังมีผลในการต้านการออกฤทธิ์ของจุลินทรีย์ (Kim และคณะ, 2011)

2.3.1 แหล่งวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกลูโคซามีน

วัตถุดิบที่สามารถนำมาทำการผลิตกลูโคซามีนนั้นมีด้วยกันหลากหลายซึ่งส่วนใหญ่มักเป็นผลพลอยได้ (by-product) จากโรงงานแปรรูปอาหารทะเล โดยเฉพาะโรงงานแปรรูปกุ้ง ปู และหมีก เป็นต้น โดยผลพลอยได้จากการกระบวนการแปรรูป เช่น เปลือกของกุ้ง เปลือกปู และแกนหมีก (Kelly, 1998) โดยผลพลอยได้เหล่านี้มีองค์ประกอบที่สำคัญคือ ไคติน และไคโตซาน ซึ่งสารประกอบทั้งสองนี้เมื่อผ่านการย่อยสลายแล้วจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกลูโคซามีนได้ (Santhosh และ คณะ, 2007) นอกจากนี้ยังพบกลูโคซามีนในสัตว์น้ำ 11 ชนิดเรียงลำดับตามปริมาณ glucosamine-hydrochloride (Glu-HCl) ที่ตรวจพบจากสูงไปต่ำได้ดังนี้ (Boonprab and Noojuy, 2010)

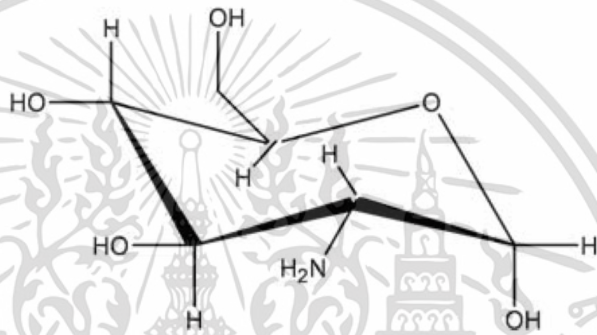
- | | |
|--|--|
| 1) กุ้งขาว (<i>Litopenaeus vannamei</i>) | 7) ปูกางร่ม (<i>Neodorippe callida</i>) |
| 2) ปูแป้น (<i>Varuna littorata</i>) | 8) ปูแมงมุม (<i>Dorippe dorsipes</i>) |
| 3) ปูกระทอย (<i>Charybdis sp.</i>) | 9) ปูทะเล (<i>Scylla serrata</i>) |
| 4) กุ้งก้ามกราม (<i>Macrobrachium rosenbergii</i>) | 10) แมงดาทะเล (<i>Carcinoscorpius sp.</i>) |
| 5) กุ้งตักแตน (<i>Oratosquilla nepa</i>) | 11) ปูแสม (<i>Neopisesarma mederi</i>) |
| 6) ปูม้า (<i>Portunus pelagicus</i>) | |

2.3.2 โครงสร้างทางเคมี และสมบัติของกลูโคซามีน

กลูโคซามีน ($C_6H_{13}NO_5$) เป็นสารประกอบประเภทน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ที่มีหมู่อะมิโน (NH_2) เป็นองค์ประกอบ โดยมีชื่อเฉพาะทางเคมีว่า 2-amino-2-deoxyalpha-D-glucose (Kelly, 1998) (ภาพที่ 3) มีมวลโมเลกุล 179.19 (Clegg และ Jackson, 2005) เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติในร่างกายสามารถสร้างขึ้นได้ มีความสามารถในการละลายน้ำสูง อีกทั้งยังเป็นสารประกอบที่ไม่มีพิษอีกด้วย (Fenton และคณะ, 2000) กลูโคซามีนสามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้น

ในการสร้างสารประกอบน้ำตาลโมเลกุลคู่ (disaccharide) ของไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) (Fattahi และคณะ, 2008) Islam และคณะ (2011) ทำการเตรียมกลูโคซามินด้วยกรดจากเปลือกกุ้ง เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพของกลูโคซามินที่เตรียมได้พบว่ารูปร่างของกลูโคซามินที่ได้จากไคตินนั้นมีลักษณะเป็นผลึก (Crystals) (ภาพที่ 4)

กลูโคซามินที่มีจำหน่ายแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ตามการขึ้นทะเบียนคือ (1) ยาอันตราย และ (2) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร กลูโคซามินที่ขึ้นทะเบียนเป็นยาอันตรายมีวัตถุประสงค์ เพื่อใช้ในการรักษาโรคข้อเสื่อม ส่วนกลูโคซามินที่ขึ้นทะเบียนเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ผู้ที่มีสุขภาพแข็งแรงใช้รับประทาน นอกเหนือจากการรับประทานอาหารหลักตามปกติ (ธนรัตน์, 2554)



ภาพที่ 3 โครงสร้างทางเคมีของกลูโคซามิน (glucosamine)

ที่มา : Islam และคณะ (2011)



ภาพที่ 4 ผลึกของกลูโคซามิน

ที่มา: Islam (2011)

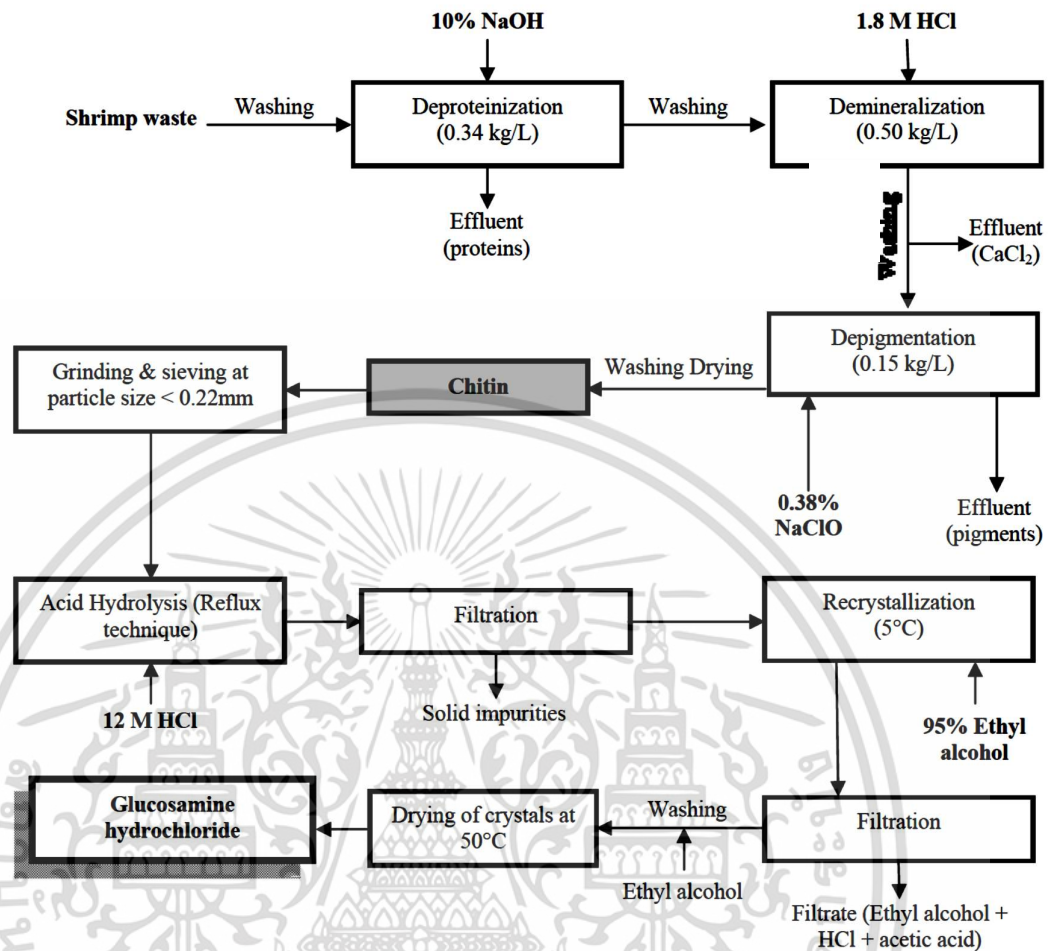
2.3.3 การเตรียมกลูโคซามีน

ปัจจุบันการผลิตกลูโคซามีนเตรียมได้หลายวิธี ทั้งการย่อยกลูโคซามีนด้วยกรด (Novikov, 2004), การใช้เอนไซม์จากแบคทีเรียในการย่อย (Pichyangkura และคณะ, 2002) การเตรียมกลูโคซามีนโดยใช้เอนไซม์มีข้อดีคือมีความจำเพาะสูง ให้ปริมาณผลผลิตกลูโคซามีนสูง โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงวงแหวนของกลูโคส (Pan และคณะ, 2011) แต่ทั้งนี้การเตรียมกลูโคซามีนโดยใช้กรดเป็นวิธีที่นิยมกันมาก เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยากซับซ้อน (Benavente และคณะ, 2015)

2.3.3.1 เตรียมกลูโคซามีนจากไคติน

จากการรายงานของ Benavente และคณะ (2015) ศึกษาการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกครัสเตเชียน (ภาพที่ 5) ให้อยู่ในรูปของไคตินเพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกลูโคซามีนโดยกระบวนการย่อยสลายด้วยกรดซึ่งมีขั้นตอนหลักๆดังนี้

- 1) กระบวนการกำจัดโปรตีน (deproteination) โดยการนำเปลือกครัสเตเชียนทำปฏิกิริยากับด่าง ซึ่งส่วนใหญ่ใช้โซดาไฟ (10% NaOH) ในกระบวนการนี้โปรตีนส่วนใหญ่จะถูกขจัดออกไปจากวัตถุดิบพร้อมทั้งไขมันบางส่วน และรงควัตถุบางชนิดก็มีโอกาสที่จะถูกขจัดออกไปด้วย
- 2) กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (demineralization) โดยการนำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาแล้ว มาทำปฏิกิริยากับกรด ซึ่งส่วนมากใช้กรดเกลือไฮโดรคลอไรด์ (1.8M HCl) ทำให้เกลือแร่ส่วนใหญ่ ได้แก่ หินปูน (CaCO_3) ซึ่งจะถูกกำจัดออกไปจากกระบวนการโดยเปลี่ยนไปเป็นก๊าซ
- 3) กระบวนการกำจัดสีหรือรงควัตถุ (depigmentation) โดยใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรด์ (sodium hypochlorite) (0.38% NaOCl) ในขั้นตอนนี้จะเป็นการกำจัดรงควัตถุในเปลือกครัสเตเชียน
- 4) การบดเพื่อลดขนาดไคตินที่เตรียมได้ (grinding) และคัดขนาดของไคตินให้มีขนาดเล็กกว่า 0.22 มิลลิเมตร ผ่านตะแกรง
- 5) กระบวนการย่อยสลายด้วยกรด (acid hydrolysis) เป็นการย่อยสลายไคโตซานด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น ที่สภาวะการย่อย 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 6) การกรอง (filtration)
- 7) การทำให้เกิดผลึก (recrystallization) โดยใช้ 95% ethanol และกรอง ethanol ออก
- 8) ทำแห้ง (drying) ผลึกกลูโคซามีนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 5 แผนภาพแสดงขั้นตอนการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกสัตว์น้ำกลุ่มครัสเตเชียน
ที่มา : Benavente และคณะ (2015)

จากการรายงานของ Islam และคณะ (2011) ทำการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกกุ้ง (Indigenous shrimp) โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้ (1) การเตรียมวัตถุดิบ (2) การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralizations) โดยใช้ 4% HCl (3) การกำจัดโปรตีน (Deproteinization) โดยใช้ 5% NaOH ที่ 90 องศาเซลเซียส (4) การย่อยสลาย (Hydrolysis) ด้วย 37% HCl ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (5) การกำจัดสี (decolorizing) ด้วย activated charcoal และการกรอง (filtering) (6) การระเหย (Evaporation) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (7) การล้างผลึกด้วย 95% ethanol (8) การอบแห้งผลึก (Drying) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

จากการรายงานของ Setthakaset และคณะ (2008) ทำการเตรียมกลูโคซามีนจากไคติน โดยใช้เอ็นไซม์ไคตินเนส (chitinase) จากเชื้อรา *Aspergillus sp.* สามารถทำได้โดยการนำไคตินจากแกนหมึกผสมกับ crude enzyme (110 U) ปริมาณทั้งหมดเป็น 200 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น และปรับพีเอช (pH) เท่ากับ 4.0 ด้วยกรดอะซิติก ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน

หลังจากบ่มเสร็จนำไปให้ความร้อนด้วย water bath นาน 15 นาที เพื่อให้เอ็นไซม์เสียสภาพ ส่วนผสมถูกรองเอาส่วนผสมที่เป็นของแข็งออกและกำจัดสีจากด้วยถ่านกัมมันต์ ส่วนสีที่ได้จากการกรองโดยการย่อยสลายและกำจัดสีออกถูกทำให้เข้มข้นได้เป็นผลิตภัณฑ์หยาบที่มีสีเหลืองอ่อน และตกตะกอนด้วยสารละลายเอทานอล ความเข้มข้นที่แน่นอน ภายใน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้องพร้อมกับการคนหรือกวน และกรองเอาผลึกของแข็งสีขาวมาทำแห้งภายใต้สุญญากาศ จะได้เป็นผลึกของ N-acetyl D-glucosamine

2.3.3.2 การเตรียมกลูโคซามีนจากโคโตซาน

กลูโคซามีนสามารถเตรียมได้จากอนุพันธ์ของโคติน คือ โคโตซาน จากการรายงานของ Sibi และคณะ (2013) ได้ทำการเตรียมกลูโคซามีนจากเปลือกครัสเตเซียน (กุ้งและปู) โดยมีขั้นตอนการผลิตดังนี้ (1) การกำจัดแร่ธาตุ (Demineralizations) โดยใช้ 0.5M HCl (2) การกำจัดโปรตีน (Deproteinization) โดยใช้ 1N NaOH ที่ 90 องศาเซลเซียส ในขั้นตอนนี้จะได้โคติน (3) การกำจัดหมู่อะซิติล (Deacetylation) นำโคตินมากำจัดหมู่อะซิติลโดยใช้ 2N NaOH ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโคโตซาน (4) การย่อยสลาย (Hydrolysis) ด้วย HCl เข้มข้นที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส (5) การกำจัดสี (decolorizing) ด้วย activated charcoal และการกรอง (filtering) (6) การระเหย (Evaporation) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (7) การล้างผลึกด้วย ethanol (8) การอบแห้งผลึก (Drying) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

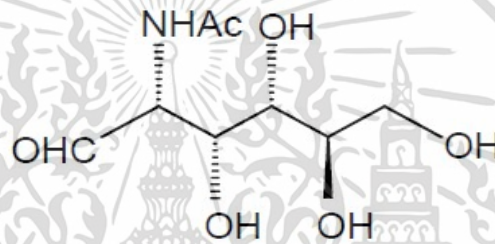
จากการรายงานของ Pan และคณะ (2011) ทำการเตรียมกลูโคซามีนจากโคโตซาน โดยใช้เอ็นไซม์ α -amylase และ glucoamylase โดยละลายโคโตซานในกรดอะซิติกให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1% (v/v) ปรับ pH ให้เท่ากับ 5.0 โดยใช้ NaOH จากนั้นเติมเอ็นไซม์ α -amylase บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง นำเอ็นไซม์ glucoamylase เติมลงในไฮโดรไลเซส แล้วปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 โดยใช้กรดอะซิติก บ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นกรอง และให้ความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อหยุดปฏิกิริยา

2.3.4 ชนิดของกลูโคซามีน (Glucosamine)

กลูโคซามีน (glucosamine) สามารถจำแนกประเภทได้ตามวิธีการเตรียม โดยจากการเตรียมจากโคตินจะอยู่ในรูปแบบของ N-acetyl-D-glucosamine และจากการเตรียมจากโคโตซานจะอยู่ในรูปแบบของ D-glucosamine ที่มีการ Deacetylation จากโคติน ซึ่ง D-glucosamine สามารถแบ่งได้เป็น D-glucosaminesulfate และ D-glucosamine hydrochloride (Hathcock และ Shao, 2007) ส่วนใหญ่นิยมใช้ในรูปแบบของ D-glucosaminesulfate ผสมกับ chondroitin sulfate เพื่อใช้กับผู้ป่วยโรคไขข้อเสื่อม (Abdel และคณะ, 2001)

2.3.4.1 N-acetyl-D-glucosamine

N-Acetyl-D-glucosamine (GlcNAc) มีหลายชื่อคือ 2-acetamino-2-deoxy- β -D-glucose หรือ 2-(acetilamino)-2-deoxy-D-glucose (ภาพที่ 6) คือสารประกอบที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส มีสูตรโมเลกุลคือ $C_8H_{15}NO_6$ มีมวลโมเลกุล 221.21 และมีจุดหลอมเหลวคือ 221 องศาเซลเซียส (Chen และคณะ, 2010) นอกจากนี้ยังมีลักษณะเป็นผงสีขาวรสชาติหวานเล็กน้อย สามารถรับประทานเป็นอาหารเสริมได้ (Sashiwa และคณะ, 2003) GlcNAc พบในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไกลโคโปรตีน (glycoproteins), โปรตีโอไกลแคน (proteoglycans) และกลูโคซาอะมิโนไกลแคน (glucosaminoglycans; GAGs) (DeAngelis และคณะ, 1999) โดย GlcNAc สามารถเตรียมจากไคตินได้ทั้งวิธีการใช้เอนไซม์ และวิธีการใช้กรด (Setthakaset และคณะ, 2008)

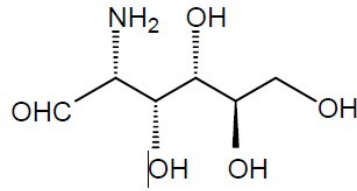


ภาพที่ 6 โครงสร้างของ N-acetyl-D-glucosamine

ที่มา: Islam (2011)

2.3.4.2 กลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ (Glucosamine hydrochloride)

D-glucosamine hydrochloride ($C_6H_{13}NO_5 \cdot HCl$) หรือ 2-amino-2-deoxy-D-glucose เป็นน้ำตาลอะมิโน (hexomine) (ภาพที่ 7) มีน้ำหนักโมเลกุล 215.63 ซึ่งสามารถพบได้ในร่างกายมนุษย์และในเปลือกของสัตว์จำพวกครัสเตเชียน เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ GAGs (glycosaminoglycans) ซึ่งพบในกระดูกอ่อน (Clegg และ Jackson, 2005) กระบวนการในการผลิต D-glucosamine hydrochloride ประกอบด้วย 2 ขั้นตอนหลัก คือขั้นตอนการกำจัดหมู่อะซิติลของไคติน (deacetylation) และขั้นตอนการย่อยไคโตซานด้วยกรด ซึ่งจะเป็นการทำลายพันธะไกลโคซิดิก (depolymerisation) Edward (1955) ซึ่งกระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่สะดวก รวดเร็ว ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์สูง อีกทั้งยังประหยัดเวลาและค่าใช้จ่าย (Gandhi และ Laidler, 2002)

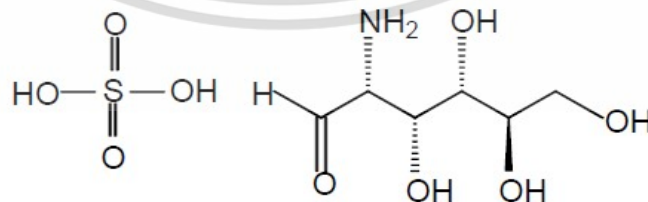


• HCl

ภาพที่ 7 โครงสร้างของกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์
ที่มา: Islam (2011)

2.3.4.3 กลูโคซามีนซัลเฟต (Glucosaminesulfate)

D-glucosamine sulfate ($C_6H_{13}NO_5 \cdot H_2SO_4$) (ภาพที่ 8) มีน้ำหนักโมเลกุลคือ 277.24 เป็นอนุพันธ์ของ aminomonosaccharide glucosamine ซึ่งอยู่ในรูปที่พบได้ทั่วไปในร่างกายมนุษย์ โดยมีบทบาทสำคัญต่อกระดูกอ่อนในการสังเคราะห์สารที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ เช่น โปรตีโอไกลแคน ไกลโคโปรตีน (glycoprotein) ไกลโคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycan) กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid) (Piperno และคณะ, 2000) ซึ่งเป็นส่วนประกอบสำคัญในกระดูกอ่อนที่ทำหน้าที่ลดการกระแทกระหว่างกระดูก และข้อ (ธนรัตน์, 2554) กลูโคซามีนซัลเฟตจัดว่าเป็นอาหารเสริม ซึ่งมีการรายงานทางเภสัชวิทยาว่ากลูโคซามีนซัลเฟตมีค่า bioavailable ที่สามารถบริโภคได้ต่อวันสูงถึง 1500 mg (Altman, 2009) นอกจากนี้กลูโคซามีนยังแสดงฤทธิ์ด้านการอักเสบอย่างอ่อนๆด้วย โดยการศึกษาทางคลินิก (ในมนุษย์) พบว่า ผลการรักษาคล้ายคลึงกับการใช้ยาต้านการอักเสบกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) แต่ผลเริ่มต้นจะช้ากว่า และการบรรเทาอาการจะค่อยเป็นค่อยไป ผลการบรรเทาอาการมีตั้งแต่ปานกลางไปจนถึงมาก ข้อดีของกลูโคซามีนซัลเฟต ที่ดีกว่ายาต้านการอักเสบกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) คือชะลอการเคลื่อนตัวเข้าหากันของข้อกระดูกที่ข้อเข่า โดยเห็นผลชัดเจนเมื่อใช้ในระยะเวลา (ตั้งแต่ 1 ปีขึ้นไปและมีผลชัดเจนมากขึ้นเมื่อใช้ต่อเนื่องนาน 3 ปี) (ธนรัตน์, 2554) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Reginster และคณะ (2007) เมื่อให้ผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมรับประทานกลูโคซามีนซัลเฟตปริมาณ 1500 mg ต่อวัน ต่อเนื่องเป็นเวลา 3 ปี พบว่าสามารถบรรเทาอาการอักเสบของข้อข้อที่กระดูกหัวเข่าได้



ภาพที่ 8 โครงสร้างของกลูโคซามีนซัลเฟต
ที่มา: Islam (2011)

2.3.5 ประโยชน์ของกลูโคซามีน

กลูโคซามีนถูกใช้กันอย่างแพร่หลายในการรักษาผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อม ซึ่งโรคข้อเข่าเสื่อมเป็นโรคข้ออักเสบที่พบมากที่สุดในโลก ซึ่งเป็นลักษณะการเสื่อมของกระดูกอ่อน พบบ่อยบริเวณข้อต่อสะโพกและข้อเข่า ผู้ป่วยโรคนี้มักมีอาการปวดเนื่องมาจากปริมาณของโปรติโอไกลแคน (proteoglycans) ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในกระดูกอ่อน หรือข้อต่อลดลง ทำให้สูญเสียความสามารถในการเคลื่อนไหวร่างกายเนื่องจากความสามารถในการรองรับการเคลื่อนไหวของกระดูกข้อต่อลดลง (ภาพที่ 9) (Fox และ Stephens, 2007) โดยโปรติโอไกลแคนเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีความสามารถในการดึงน้ำเข้ามาหาตัวเองได้ดี จึงทำให้กระดูกอ่อนมีความยืดหยุ่น และสามารถรองรับการเคลื่อนไหวของกระดูกข้อต่อได้ (Barclay และคณะ, 1998) จากการรายงานของ Woolf และ Pflieger (2003) ในปี 2000 พบผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มีอายุมากกว่า 60 ปี ในผู้ชายประมาณ 9.6% และในผู้หญิงประมาณ 18% อย่างไรก็ตามเมื่ออายุมากขึ้นในช่วงหลัง 60 ปี การทำงานของเซลล์กระดูกอ่อนและข้อต่อต่างๆจะช้าลงมีผลให้ความสามารถในการสังเคราะห์กลูโคซามีน และโปรติโอไกลแคนลดลงตามไปด้วย ทำให้โครงสร้างของกระดูกอ่อนผิวข้ออ่อนแอลง และเสี่ยงต่อการแตกสลายจากการใช้งานของข้อ รวมถึงศักยภาพในการซ่อมแซมการสึกหรอที่เกิดจากการใช้งานของข้อในชีวิตประจำวันจะลดลงด้วย (คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล, 2553) พบการรายงานว่ากลูโคซามีนสำหรับประทุกันที่อยู่ในรูปของกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ และกลูโคซามีนซัลเฟต มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี สามารถถูกดูดซึมทางลำไส้เล็กได้อย่างรวดเร็วเข้าสู่กระแสเลือด (Fenton และคณะ, 2005) จากข้อมูลการศึกษาทางการแพทย์ของกลูโคซามีนพบว่าประสิทธิภาพของกลูโคซามีนในโรคข้อเสื่อมนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น รูปแบบเกลือของกลูโคซามีน ตำแหน่งข้อที่เกิดการเสื่อม ขนาดยาที่ใช้ ระยะเวลาในการใช้ ซึ่งผู้บริโภครักษา/ผู้ป่วยที่มีความประสงค์จะรับประทานกลูโคซามีน โดยเฉพาะในรูปแบบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่สามารถหาซื้อได้เองจากร้านขายยาทั่วไป ควรศึกษาข้อมูลของผลิตภัณฑ์ดังกล่าวให้เข้าใจ หรือปรึกษาแพทย์/เภสัชกรเพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงประโยชน์ที่จะได้รับให้มากยิ่งขึ้น (ธนรัตน์, 2554)



ภาพที่ 9 เปรียบเทียบข้อต่อที่เป็นโรคข้อเข่าเสื่อม และข้อต่อที่ปกติ
ที่มา: ธนรัตน์ (2554)

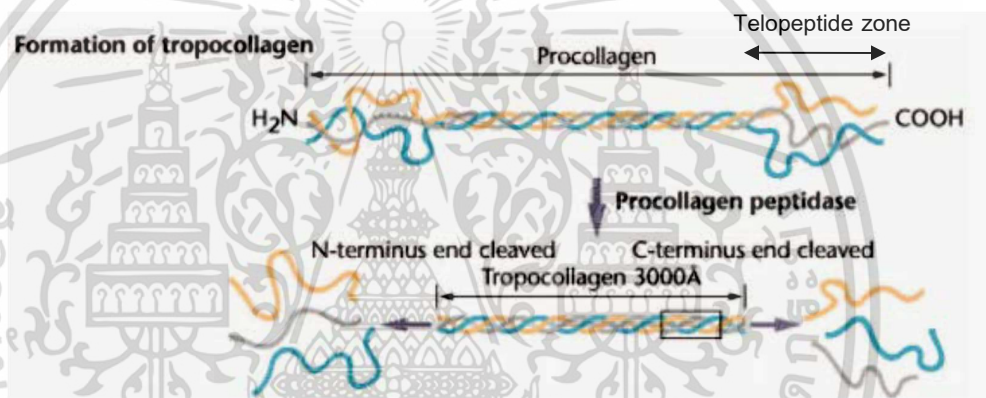
2.4 คอลลาเจน

คอลลาเจนเป็นโปรตีนหลักที่พบในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน พบมากในร่างกายของสัตว์ที่มีและไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งมีประมาณ 30% ของโปรตีนทั้งหมด โดยจะพบมากในผิวหนัง เอ็น กระดูก และกระดูกอ่อน โดยที่ปริมาณคอลลาเจนจะแตกต่างกันไปขึ้นกับชนิดของเนื้อเยื่อและอายุของสัตว์ (Balian และ Bowes, 1977) ส่วนลักษณะของคอลลาเจนโดยทั่วไปคล้ายคลึงกันแต่จะต่างกันเพียงเล็กน้อยในองค์ประกอบของกรดอะมิโน ซึ่งทำให้คุณสมบัติโดยทั่วไปของคอลลาเจนต่างกันไป ปัจจัยสำคัญที่พบว่ามีอิทธิพล คือ สายพันธุและชนิดของเนื้อเยื่อ (มาลัยวรรณ และ วรรณวิบูลย์, 2549)

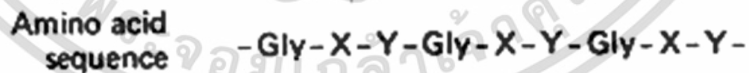
2.4.1 โครงสร้างของคอลลาเจน

โครงสร้างพื้นฐานของคอลลาเจนที่รู้จักกันดีคือ โทรโปคอลลาเจน (tropocollagen) ประกอบด้วยสายโพลีเปปไทด์ 3 สาย ซึ่งแต่ละสายเรียกว่า สายแอลฟา (แอลฟา-chain) แต่ละสายของโพลีเปปไทด์จะวนเป็นเกลียวไปทางซ้าย (left-hand helix) โดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมระหว่างสายโพลีเปปไทด์แต่ละสาย จากนั้นสายโพลีเปปไทด์ทั้ง 3 สายจะพันรอบกันเองเป็นเกลียวขวา (right-hand helix) (ภาพที่ 10) (Singh และคณะ, 2011) และแต่ละสายจะมีกรดอะมิโนมากกว่า 1000 ตัวต่อกัน โดยทั่วไปจะประกอบด้วย กรดอะมิโนไกลซีน (Glycine: Gly) ประมาณ 1 ใน 3 ของกรดอะมิโนทั้งหมดในโมเลกุลคอลลาเจน และมีกรดอิมิโน (imino acid) ประมาณ 1 ใน 4 โดยแยกเป็นโพรลีนประมาณ 12% และ ไฮดรอกซีโพรลีนประมาณ 11% (Ward และ Courts, 1977) ซึ่งลักษณะการเรียงตัวของกรดอะมิโนจะมีลักษณะซ้ำๆกันของ -Gly-X-Y- โดย X และ Y มักเป็นโพรลีนและไฮดรอกซีโพรลีนตามลำดับ (Singh และคณะ, 2011) (ภาพที่ 11) การที่โครงสร้างของคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเกลียว โดยมีพันธะไฮโดรเจนเชื่อมทำให้คอลลาเจนมีความแข็งแรง คงตัวมากขึ้น และ

เกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้ยาก ทำให้คอลลาเจนไม่สามารถละลายน้ำได้ ซึ่งโทรโปคอลลาเจนจะเรียงตัวขนานกันโดยมีแรงแวนเดอร์วาลส์ (Vander Waals force) และไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) เชื่อมระหว่างโทรโปคอลลาเจนทำให้เกิดลักษณะเป็นเส้นใยของคอลลาเจน ซึ่งความแข็งแรงของคอลลาเจนโมเลกุลยังเกิดจากการสร้างพันธะเชื่อมต่อกันทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล (intra และ inter molecular cross linkage) (Foegeding และคณะ, 1996) นอกจากนี้ยังมีบริเวณที่ไม่บิดรวมตัวกันเป็นเกลียว เรียกว่าทีโลเปปไทด์โซน (telopeptide zone) (Creighton, 1993) จากการที่คอลลาเจนเป็นโปรตีนชนิดเดียวที่อุดมไปด้วยไฮดรอกซีโพรลีนซึ่งมีมากถึงประมาณ 10% ของคอลลาเจนในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และไฮดรอกซีโพรลีนเองจะพบในโปรตีนชนิดอื่นๆปริมาณน้อย ดังนั้นไฮดรอกซีโพรลีนจึงมักเป็นตัวบ่งชี้ปริมาณคอลลาเจนในตัวอย่างอาหาร (Foegeding และคณะ, 1996)



ภาพที่ 10 โครงสร้างของโทรโปคอลลาเจน
ที่มา: Bhattacharjee และ Bansal (2005)



ภาพที่ 11 การเรียงตัวของกรดอะมิโนภายใต้โครงสร้างของคอลลาเจน
ที่มา: Shoulders และ Rains (2009)

2.4.2 ชนิดของคอลลาเจน

ปัจจุบันสามารถแบ่งคอลลาเจนออกเป็น 25 ชนิด โดยแบ่งตามลำดับของกรดอะมิโน โมล โมเลกุล ส่วนประกอบของหน่วยย่อย (subunit) ความยาวของสายฮีลิกซ์ คุณสมบัติ และขนาดของ ส่วนที่ไม่เป็นฮีลิกซ์ (non-helix portion) (Friess, 1998) อีกทั้งแบ่งตามข้อมูลลำดับดีเอ็นเอ หรือ โปรตีน (Olsen และคณะ, 2003)

คอลลาเจน type I พบได้เป็นส่วนใหญ่ในสัตว์ชั้นสูง ในส่วนของหนัง เอ็น และกระดูก ซึ่งประกอบด้วย 3 สาย ได้แก่ สาย แอลฟา1 จำนวน 2 สาย และ แอลฟา2 จำนวน 1 สาย ซึ่งสาย แอล ฟา1 และ แอลฟา2 จะมีส่วนประกอบของกรดอะมิโนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้อาจพบสาย แอลฟา1 จำนวน 3 สายซึ่งพบน้อยมาก

คอลลาเจน type II พบได้ส่วนใหญ่ในกระดูกอ่อน ประกอบด้วยสาย แอลฟา1 จำนวน 3 สาย ซึ่งเชื่อกันว่ามีลักษณะคล้ายสาย แอลฟา1

คอลลาเจน type III พบได้ปริมาณน้อย (ประมาณ 10%) ส่วนใหญ่พบในเส้นเลือด ซึ่งพบว่า คอลลาเจน type III จะจับกับคอลลาเจน type I ดังนั้น ในการสกัดคอลลาเจนส่วนใหญ่จะพบ type III ปนร่วมกับคอลลาเจน type I เล็กน้อย (Piez, 1985)

คอลลาเจน type IV มีความจำเพาะเจาะจงมาก ซึ่งพบได้เฉพาะใน loose fibrillar network (ร่างแหของเส้นใยฝอยที่เกาะกันหลวมๆ) ใน basement membrane (เยื่อแผ่นบางๆที่อยู่นอกเซลล์)

สำหรับคอลลาเจนชนิดอื่นๆจะพบในปริมาณที่น้อยมากและมีการเชื่อมโยงกับโครงสร้างทางชีววิทยาที่จำเพาะ ในการศึกษาส่วนใหญ่นิยมศึกษาคอลลาเจน type I เนื่องจากมีปริมาณมาก และมีการนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะทางการแพทย์ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของคอลลาเจน หน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบ

Collagen type	Chain composition	Tissue distribution
I	$(\alpha 1(I))_2 \alpha 1(I)$, trimer $(\alpha 1(I))_3$	Skin, tendon, bone, cornea dentin, fibrocartilage, large vessels, intestine, uterus, dermis
II	$(\alpha 1(II))_3$	Hyaline cartilage, vitreous, nucleus pulposus, Notochord
III	$(\alpha 1(III))_3$	Large vessels, uterine wall, dermis, intestine, heart valve, gingival (usually coexist with type I except in bone, tendon, comea)
IV	$(\alpha 1(IV))_2 \alpha 2(IV)$	Basement membranes in all organs
V	$\alpha 1(V) \alpha 2(V) \alpha 3(V)$ or $(\alpha 1(V))_2$ or $(\alpha 1(V))_3$	Camea, placental membranes, bone, large vessels Hyaline cartilage, gingival, tendons interstitial Tissues
VI	$\alpha 1(VI) \alpha 2(VI) \alpha 3(VI)$	Descemet's membrane, skin, nucleus pulposus, heart muscle, liver, kidney, perichondrium
VII	$(\alpha 1(VII))_3$	Skin, placenta, lung, cartilage, comea, epidermal/dermal junction
VIII	$\alpha 1(VII) \alpha 2(VII)$ chain organization of helix unknown	Produced by endothelial cells Descemet's Membrane
IX	$\alpha 1(IX) \alpha 2(IX) \alpha 3(IX)$	Cartilage

ที่มา: Friess (1998)

ตารางที่ 1 ชนิดของคอลลาเจน หน่วยย่อย และตำแหน่งที่พบ (ต่อ)

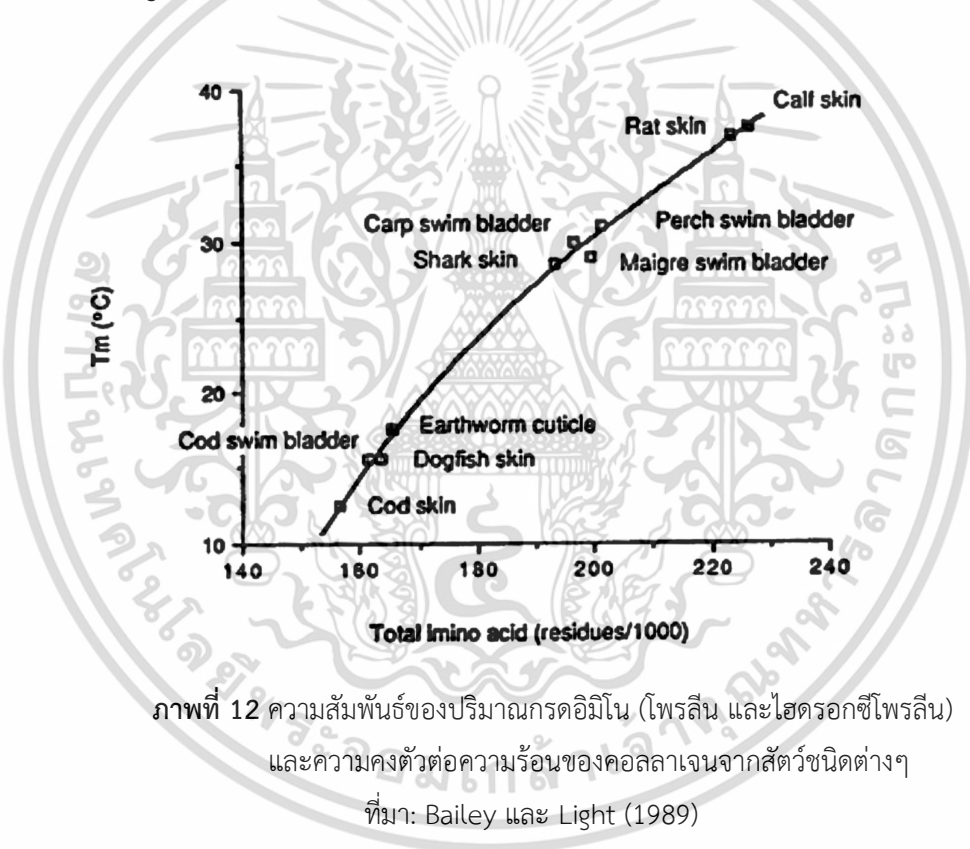
Collagen type	Chain composition	Tissue distribution
X	$(\alpha 1(X))_3$	Hypertrophic and mineralizing cartilage
XI	$1\alpha 2\alpha 3\alpha_1$ or $\alpha 1(XI)$ $\alpha 2(XI) \alpha 3(XI)$	Cartilage, intervertebral disc, vitreous humour
XII	$(\alpha 1(XII))_3$	Chicken embryo tendon, bovine periodontal ligament, tendon and fibril associated collagen
XIII	Unknown	Cetal skin, bone, intestinal mucosa, epidermis, hair follicles, and nail root cells
XIV	Unknown	Same as type I
XV	Unknown	Many tissues homology to Type XVII
XVI	Unknown	Under study
XVII	Unknown	Hemidesmosomes and skin
XVIII	Unknown	Liver and kidney
XIX	Unknown	Eyes brain testes and embryonic tissues
XX – XXV	Unknown	Unknown

ที่มา: Friess (1998)

2.4.3 ความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจน

ปริมาณของกรดอะมิโน (โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน) มีความสัมพันธ์โดยตรงกับความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจน (ภาพที่ 12) ซึ่งการเสถียรภาพของคอลลาเจนโดยความร้อนในสารละลายวัดโดยการเปลี่ยนแปลงความหนืดหรือค่า optical rotation พบว่าอุณหภูมิในการหลอมละลาย (melting temperature, T_m) ของคอลลาเจนจากสัตว์จะมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิร่างกาย เช่น คอลลาเจนจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมจะมี T_m ประมาณ 39 องศาเซลเซียส (Bailey และ Light ,1989) ค่า T_m จะมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมที่สัตว์นั้นอาศัยอยู่ ซึ่งพบว่าคอลลาเจนจากสัตว์ซึ่งอาศัยที่อุณหภูมิต่ำจะมีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีนที่ต่ำ อาทิเช่น T_{max} ของคอลลาเจนจากหนังปลาปักเป้า (balloon fish) คือ 29.64° เมื่อเปรียบเทียบกับค่า T_{max} ของคอลลาเจนจากสัตว์บกพบว่า T_{max} ของคอลลาเจนจากหนังปลาปักเป้า มีค่าต่ำกว่า T_{max} ของคอลลาเจนจากสัตว์

บก เช่นหนังลูกวัว 37 องศาเซลเซียส (Ogawa และคณะ, 2003) และหนังหมู 37 องศาเซลเซียส (Nagai และคณะ, 2002) ซึ่งค่า T_{max} ที่ต่างกันสัมพันธ์กับอุณหภูมิของแหล่งที่อยู่อาศัยและอุณหภูมิร่างกายที่ต่างกัน (Piez และ Gross, 1960) แต่ความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจนที่สกัดจากหนังปลาปักเป้าใกล้เคียงกับ brown backed toadfish 28 องศาเซลเซียส (Nagai และคณะ, 2002) dusky spinefoot และ sea chub 29 องศาเซลเซียส (Bae และคณะ, 2008) Japanese sea bass 29.1 องศาเซลเซียส (Kimura และ Ohno, 1987) อย่างไรก็ตามคอลลาเจนจากหนังปลาปักเป้ามียุณหภูมิในการเสียดสภาพต่ำกว่าสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เนื่องจากมีกรดอะมิโนในปริมาณต่ำกว่า จากการรายงานของ Sikorski และคณะ (1984) ปริมาณกรดอะมิโนมีความสัมพันธ์กับความคงตัวต่อความร้อนของโปรตีน เนื่องด้วยคอลลาเจนจากหนังลูกวัวมีปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน 94 residues ต่อ 1000 residues (Ogawa และคณะ, 2003) แต่ในปลาปักเป้ามียุณหภูมิ 71 residues ต่อ 1000 residues

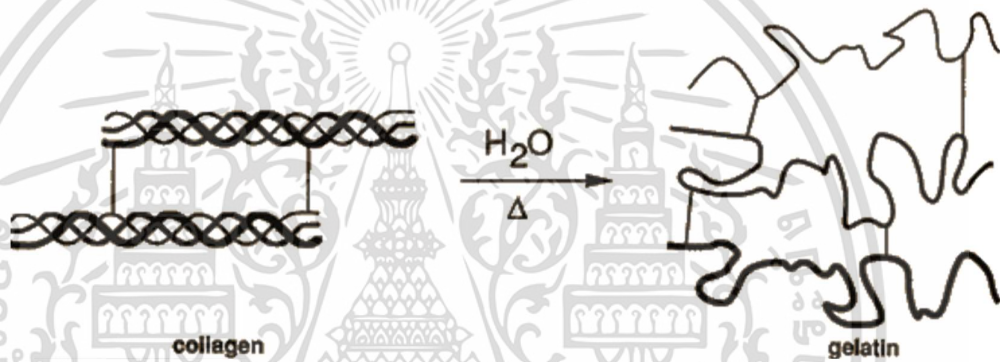


ภาพที่ 12 ความสัมพันธ์ของปริมาณกรดอะมิโน (โพรลีน และไฮดรอกซีโพรลีน) และความคงตัวต่อความร้อนของคอลลาเจนจากสัตว์ชนิดต่างๆ
ที่มา: Bailey และ Light (1989)

2.4.4 คอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ (Denatured collagen)

คอลลาเจนเมื่อผ่านการให้ความร้อนหรือการไฮโดรไลซิสบางส่วนของโมเลกุลจะทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติและกลายเป็นเจลาติน (gelatin) (ภาพที่ 13) (Papon และคณะ 2007) โดยระหว่างกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากคอลลาเจนไปเป็นเจลาตินจะเกิดการทำลายพันธะโควาเลนต์ส่วนใหญ่ทั้งที่อยู่ภายใน และระหว่างโมเลกุลรวมถึงพันธะเปปไทด์อีกเล็กน้อย ผลจากการทำลายพันธะดังกล่าวทำให้โครงสร้างเกลียวของคอลลาเจนเปลี่ยนไปเป็นรูปแบบที่เป็นอสัณฐานมากขึ้น (Bigi

และคณะ, 1998) กรดอะมิโนในเจลาตินจะมีลักษณะไม่แตกต่างจากกรดอะมิโนที่พบในคอลลาเจนต้นแบบ โดยจะมีลักษณะการจัดเรียงตัวแบบ Gly-X-Y แบบนี้ไปอย่างต่อเนื่อง โดยที่ตำแหน่ง X ส่วนใหญ่จะเป็น โพรลีน และที่ตำแหน่ง Y จะเป็น Hydroxyproline (Eastoe และ Leach, 1977) สมบัติสำคัญของเจลาตินคือความสามารถในการเกิดเจล ความแข็งแรงของเจล ความหนืด และสมบัติในการหลอมเหลวเนื่องจากความร้อน ซึ่งพบว่าสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับความยาวของสายโซ่ ปริมาณ และชนิดของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบหลัก (Cho และ Rhee 2004) นอกจากนี้เจลาตินยังสามารถแสดงสมบัติการเกิดฟอง การเกิดอิมัลชัน และเป็นสาร wetting agent เนื่องจากมีสมบัติในการเป็นสารลดแรงตึงผิว (Lobo 2002) เนื่องจากที่ผิวหน้าของโมเลกุลเจลาตินมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำเป็นองค์ประกอบ ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมยา และทางการแพทย์ได้ (Cole, 2000)



ภาพที่ 13 การสูญเสียสภาพทางธรรมชาติของคอลลาเจน

ที่มา: Hansen และ Lee (1991)

2.5 ข้าวกล้องหอมมะลิแดง

ข้าวเป็นธัญพืชที่สำคัญในกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนา ประชากรประมาณครึ่งหนึ่งของโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารเพื่อเป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตในร่างกาย (Chaudhary, 2003) แต่ยังมีองค์ประกอบทางเคมีหรือ สารอาหารหลักประเภทอื่นอีก ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ (Fiber) และเถ้า (Kukam-oo และคณะ, 2009) เกือบ 95% ของการผลิตข้าวถูกผลิตมาจากประเทศแถบเอเชีย (Bhattacharjee และคณะ, 2002) นอกจากนี้พันธุ์ข้าวขาวทั่วไป ยังมีข้าวพันธุ์ที่มีสีอื่นคือ สีดำ หรือที่รู้จักกันว่าสีม่วง น้ำตาล แดงซึ่งสีในข้าวเกิดจากรังควัตถุกลุ่มแอนโทไซยานิน (Chaudhary, 2003)

ข้าวกล้องหอมมะลิแดง หรือข้าวกล้องหอมแดง (ภาพที่ 14) ถูกพัฒนามาจากพันธุ์ข้าวหอมมะลิไทยสายพันธุ์ 105 (*Oryza sativa* L. cv. KDML105) ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง เนื่องจากมีขั้นตอนการกะเทาะเปลือกออกเพียงครั้งเดียว และมีกระบวนการขัดสีน้อยทำให้ยังคงจมูกข้าว และรำข้าวไว้

ทำให้ข้าวหอมมะลิแดงมีคุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์มากกว่าข้าวขาว (Zhang และคณะ, 2015) โดยกรมการข้าวได้เสนอขอขึ้นทะเบียนกับกรมวิชาการเกษตรเป็นพันธุ์ข้าวทั่วไปโดยใช้ชื่อว่า ข้าวหอมแดง (Red Hawm Rice) มีสายพันธุ์ KDML105R-PSL-E-14 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ข้าวที่ปลูกกัน อย่างแพร่หลายในปัจจุบัน (บริบูรณ์, 2542)



ภาพที่ 14 ข้าวกล้องหอมมะลิแดง

ที่มา: สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ

2.5.1 คุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์ของข้าวหอมมะลิแดง

จากการรายงานของอรอนงค์ (2547) กล่าวว่าปริมาณสารอาหารและวิตามินส่วนใหญ่มีมาก บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าวกล้อง และคัพภะ (Embryo) มากกว่าในส่วนเนื้อในเมล็ดเข้าสู่กลางเมล็ด ข้าว ยกเว้นแป้ง (Starch) ซึ่งมีในส่วนกลางเมล็ดมากกว่าส่วนนอกของเมล็ด จึงอาจกล่าวได้ว่า ในข้าวกล้องที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเหลืออยู่มีปริมาณสารอาหารที่สำคัญมากกว่าในข้าวขาวนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีต่างๆ หรือข้าวต่างสี (Colored rice) มีแนวโน้มว่ามีปริมาณสารอาหารที่สำคัญสูง เช่น ธาตุเหล็ก (Gregorio, 2002) ธาตุสังกะสีและเบต้า-แคโรทีน (β -carotene) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (Frei and Becker, 2005) ซึ่งพบว่าเป็นสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการโภชนาการเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในวัยเด็กที่มีผลต่อการพัฒนาสมองและร่างกาย (Hotz และ Brown, 2004; Rosado, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยของสถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2541) ได้ทำการวิเคราะห์ส่วนประกอบของแร่ธาตุและวิตามินต่างๆ ในตัวอย่างข้าวกล้องหอมมะลิแดง และข้าวหอมมะลีสายพันธุ์ 105 จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก (ตารางที่ 2) พบว่า ข้าวกล้องหอมมะลิแดงมีเยื่อใย (Dietary Fiber) และวิตามินบี 6 สูงกว่าข้าวหอมมะลีสายพันธุ์ 105 แต่มีธาตุเหล็กและวิตามินต่างๆ ต่ำกว่าดังแสดงในตารางที่ 1 และมีการรายงานว่าเมล็ดข้าวกล้องสีดำและแดงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมาก ในขณะที่เมล็ดข้าวกล้องสีขาวหรือข้าวสารมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำ โดยที่ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารโพลีฟีนอลในเมล็ดข้าว (Suttajit และคณะ, 2006)

จากการรายงานของ Kukam-oo และคณะ (2009) ทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการในเมล็ดข้าวที่มีสีต่างกัน พบว่าพันธุ์ข้าวที่มีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดที่มีสีเข้ม (แดงถึงแดงเข้มเกือบดำ) จะมีค่า GAE (Gallic Acid Equivalent) และ TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) สูงกว่าพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวที่มีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดสีอ่อน (ขาว -เหลืองถึงแดงอ่อน) พันธุ์/สายพันธุ์ข้าวที่มีค่า GAE สูงทำให้มีค่า TEAC สูงตามไปด้วยคือ พันธุ์ข้าวที่มีสารโพลีฟีนอลในปริมาณสูง จะมีประสิทธิภาพในการทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระได้ดีด้วย ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับการทดลองของ Oki และคณะ (2005) ที่พบว่า ข้าวที่มีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด รองลงมาคือข้าวที่มีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ ส่วนข้าวที่มีเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด นอกจากนี้ในในจมูกข้าวและรำข้าวยังมีวิตามินบี และอียังมีส่วนช่วยป้องกันอาการเหน็บชา และโรคปากนกกระจอก (Ohtsubo และคณะ, 2005) นอกจากนี้แป้ง (starch) ในข้าวหอมมะลิแดงถือเป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนที่มีการย่อยช้า เป็นผลให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้จึงป้องกันและรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานได้ นอกจากนี้ยังให้พลังงานต่ำ แต่มีใยอาหารสูง ซึ่งการเพิ่มใยอาหารในระบบการย่อยจะช่วยป้องกันอาการท้องผูกและมะเร็งลำไส้ นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุและวิตามิน โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่อยู่ในเยื่อหุ้มเมล็ด (Chumniwikri และ Peuchkamut, 2015) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของสำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ (2557) พบว่าข้าวกล้องหอมมะลิแดงมีคุณสมบัติเด่นทางด้านโภชนาการ โดยจะมีปริมาณน้ำตาลต่ำจึงช่วยในการป้องกันและบรรเทาโรคเบาหวานได้ดี ซึ่งจากการทดสอบพบว่าข้าวหอมมะลิแดงที่หุงสุกแล้วมีการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลกลูโคสในช่วง 20 นาทีแรกค่อนข้างช้า คือ 10.60 กรัมต่อ 100 กรัม และปริมาณน้ำตาลกลูโคสหลังจากย่อย 120 นาที มีค่าลดลง (8.59 กรัมต่อ 100 กรัม) แสดงให้เห็นว่าข้าวหอมมะลิแดงเป็นข้าวที่มีระดับน้ำตาลต่ำเหมาะกับการส่งเสริมให้คนปกติ หรือผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 รับประทาน เพราะเมื่อรับประทานข้าวชนิดนี้เข้าไปแล้ว ร่างกายจะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มสูงขึ้นช้ากว่าข้าวเจ้าทั่วไป

ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องข้าวแดงหอมและข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105 (ต่อ 100 กรัม)

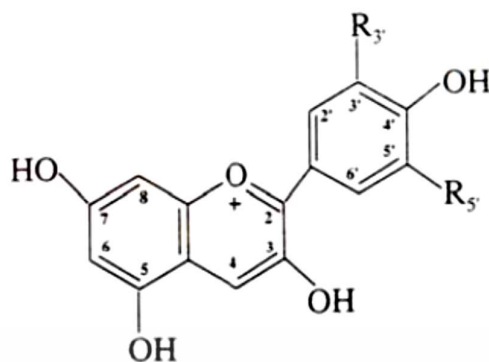
	ข้าวกล้องข้าวแดงหอม	ข้าวกล้องขาวดอกมะลิ105
เยื่อใย (กรัม)	4.63	3.73
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.91	0.94
สังกะสี (มิลลิกรัม)	0.02	1.48
วิตามินอี (ไมโครกรัม)	83.10	159.48
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	0.29	0.37
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.01	0.01
วิตามินบี 6 (มิลลิกรัม)	0.26	0.22

ที่มา : สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล (2541)

2.6 แอนโทไซยานิน

2.6.1 โครงสร้างและสมบัติของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นรงควัตถุธรรมชาติที่เป็นฟลิกษเคมี (phytochemical) ในกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ พบมากในชา น้ำผึ้ง ไวน์ ผัก ถั่ว โกโก้ และธัญพืชหลายชนิด (Lila,2004)เป็นรงควัตถุที่ให้สี ชมพู แดง ม่วง และน้ำเงิน สามารถละลายน้ำได้ แต่ไม่ละลายในตัวทำละลายชนิดไม่มีหมู่ไฮดรอกซิล (non-hydroxyl solvent) เช่น อะซิโตน (acetone) เบนซีน (benzene) คลอโรฟอร์ม (chloroform) และอีเทอร์ (ether) เป็นต้น (Wu และคณะ, 2006) โดยแอนโทไซยานินเป็นอนุพันธ์ polyhydroxyl และ polymethoxyl ของสารฟลาเวียม (flavylium) หรือ 2-phenylbenzopyrylium แอนโทไซยานินมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก ต่อกันกับวงแหวนเฮเทอโรไซคลิก และมีวงแหวนอะโรมาติกหรืออาจเป็นหมู่ของเมทอกซิล (methoxyl, -OCH₃) และไฮดรอกซิล (hydroxyl, -OH) มาต่ออีก 1 วง (ภาพที่ 15) (Castaneda-Ovando และคณะ, 2009) ซึ่งโมเลกุลของแอนโทไซยานินประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) หรืออะไกลโคโคนกับน้ำตาล เมื่อมีหมู่ของน้ำตาลมาสร้างพันธะกับแอนโทไซยานิดินที่ตำแหน่ง 3 และ 5 เรียกโครงสร้างนี้ว่า แอนโทไซยานิน (Jadwiga, 2002) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน ได้แก่ แสง อุณหภูมิ pH และออกซิเจน (Cruz และคณะ, 2011)



ภาพที่ 15 โครงสร้างหลักของแอนโทไซยานิน

ที่มา: Jadwiga (2002)

2.6.2 ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารให้สีธรรมชาติในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีขนาดใหญ่ จึงทำให้มีความแตกต่างกันทั้งทางเภสัชวิทยาและชีววิทยาเช่นเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) โดยเพิ่มความแข็งแรงของเส้นใยโปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และกระดูกอ่อน (cartilage) (Changlian, 2006) นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องหลอดเลือด (vasoprotective) โดยการขยายหลอดเลือดและกระตุ้นการไหลเวียนของเลือด ลดคอเลสเตอรอลในเลือดโดยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (lipid peroxidation) (Francis, 2002) ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและต้านไวรัส (Zhao, 2009) ช่วยกระตุ้นให้เส้นผมตก ชะลอผมร่วง ช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและมีฤทธิ์ต้านรังสียูวี (พิมพ์อร, 2552) แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือ ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant effectiveness) โดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่า (ศูนย์สารสนเทศวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2553) จากคุณสมบัติของแอนโทไซยานินที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระทำให้แอนโทไซยานินมีบทบาทต่อการป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่นโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจ (Cardiovascular disease) โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีการรายงานการว่าในข้าวสีดำเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานินสูงกว่าข้าวขาว สามารถยับยั้งสารก่อมะเร็ง สารก่อการกลายพันธุ์ เพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดการอักเสบของเนื้อเยื่อ ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและโรคหัวใจ บรรเทาโรคเบาหวาน ลดไขมัน อุดตันในเส้นเลือดที่หัวใจ และสมอง (Finocchiaro และคณะ, 2010) และจากการรายงานของวาริช (2549) รายงานว่าผลของข้าวที่มีสีสีแดงและสีดำต่อการอุดตันของไขมันในเส้นเลือดกระต่ายโดยเปรียบเทียบกับการเลี้ยงด้วยข้าวขัดขาว พบว่าภาวะการอุดตันของเส้นเลือดในกระต่ายที่กินข้าวแดงมีค่าน้อยกว่ากระต่ายที่กินข้าวขัดขาวถึง 50% นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของ reactive oxygen species และ malondialdehyde

(ผลผลิตของการเกิด lipid peroxidation) ที่อยู่ในระดับของกระต่ายที่กินข้าวแดงมีการสะสมในปริมาณน้อย ในขณะที่เดียวกันมีกิจกรรมการต่อต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมของเอนไซม์ superoxide dismutase เพิ่มสูงขึ้น และยังพบว่าข้าวแดงยังช่วยให้มีการสะสมของ High Density Lipoprotein (HDL) ซึ่งเป็นคลอเลสเตอรอลชนิดที่เป็นประโยชน์ในเลือดกระต่ายอีกด้วย



บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงาน

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 เปลือกปูม้า (Crab shell)

เปลือกปูม้าจากปูม้าที่มีขนาด 6-7 ตัว/กิโลกรัม ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท วิริยะ อินเตอร์แคป 2003 จำกัด อำเภอไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี

3.1.2 ข้าวกล็องหอมมะลิแดง

ข้าวกล็องหอมมะลิแดง สายพันธุ์โกเมนแดงสุรินทร์ ที่เก็บเกี่ยวใหม่เดือนพฤศจิกายน (2558)

3.1.3 คอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ

คอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติจากเกล็ดปลา และหนังปลา จากบริษัท Thai Flavor and Fragrance Co., LTD.

3.2 อุปกรณ์

3.2.1. ปีกเกอร์

3.2.2. ขวดชมพู

3.2.3. บิวเรต

3.2.4. หลอดย่อยโปรตีน

3.2.5. ถ้วยอลูมิเนียม

3.2.6. ถ้วยกระเบื้อง (crucible)

3.2.7. โถดูดความชื้น (desiccator)

3.2.8. ลูกแก้ว (boiling chip)

3.2.9. ที่คีบ (Tong)

3.2.10. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง New Classic MS Mettler Toledo Switzerland

3.2.11. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ WNB7 Memmert Germany

3.2.12. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) Heraeus™ Primo™ Thermo Scientific Germany

3.2.13. Magnetic stirrer C-MAG IKA Germany

3.2.14. ชุดกลั่นโปรตีน Vapodest 30 Gerhardt Germany

3.2.15. เครื่องย่อยโปรตีน KBL8S Gerhardt Germany

3.2.16. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven) UM400 Memmert Thailand

3.2.17. เตาเผาไฟฟ้า CWF11/13/201 Carbolite England

3.2.18. เตาไฟฟ้า (hot plate) HS7 IKA Germany

3.2.19. Overhead stirrer	RW 20 digital	IKA	Germany
3.2.20. เครื่องวัดความขุ่น	TurbiCheck	Lovibond	Germany
3.2.21. เครื่องวัดเนื้อสัมผัส	TA-XT Plus	Stable Micro Systems	UK
3.2.22. Spectrophotometer	V 1200	Mapada Instruments	China
3.2.23. เครื่องวัดสี	CM 3600D	Minolta	Japan
3.2.24. เครื่องวัดความหนืด	DV- III	Brookfield	Germany
3.2.25. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)	F 20	Mettler Toledo	Switzerland
3.2.26. หม้อนิ่งฆ่าเชื้อความดันพ่นน้ำ	KM-P95SS	KM grandpack	Thailand
3.2.27. เครื่องปิดผนึกฝากระป๋อง			
3.2.28. รางไล่อากาศ (Exhauster)			
3.2.29. เครื่องซีลสุญญากาศ			
3.2.30. หม้อสแตนเลสเบอร์ 30			
3.2.31. เต้าแก๊ส			
3.2.31. กระจงเคลือบแลคเกอร์ชนิดกระจง 2 ชั้น ขนาดบรรจุ 307 x 113 ขนาดบรรจุ 6% อนุพันธ์ (191 กรัม)			
3.2.32. ถุงสุญญากาศ (Vacuum Bag) ขนาดกว้าง 7 x 11 นิ้ว			
3.2.33. กระจงสแตนเลสขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 18 เซนติเมตร			

3.3 สารเคมี

- 3.3.1.ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)
- 3.3.2.กรดซัลฟิวริกเข้มข้น 34 % (Sulfuric acid)
- 3.3.3.สารเร่งปฏิกิริยา (Catalyst; Copper sulfate: Potassium sulfate (1: 9))
- 3.3.4.สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide solution)
- 3.3.5.กรดไฮโดรคลอริก (กรดเกลือ) (Hydrochloric acid)
- 3.3.6.เอทานอล(Ethanol)
- 3.3.7.คลอรีน (Sodium hypochlorite solution)
- 3.3.8. ผงถ่านกัมมันต์ (Activated charcoal)
- 3.3.9.กรดอะซิติก (Acetic acid)
- 3.3.10. 3,5-dinitrosalicylic acid
- 3.3.11. บิวทานอล (Butanol)
- 3.3.12. นินไฮดริน (Ninhydrin)
- 3.3.13. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์อื่นๆ

3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกปุม้า

นำเปลือกปุม้ามาเก็บรักษาโดยการแช่เย็นในกล่องโฟมที่มีอัตราส่วนน้ำแข็ง 2:1 ขณะขนส่ง แล้วนำมาที่คณะอุตสาหกรรมอาหาร สจล. จากนั้นล้างเปลือกปุม้าด้วยน้ำประปา ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงลดขนาดเปลือกปุม้าโดยการบดด้วยเครื่องบดแฮมเมอร์มีวที่มีขนาดตะแกรง 0.75 mesh จากนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีนที่มีซิลิกาเจลใส่ไว้ในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีนอีกชั้นเพื่อควบคุมความชื้นแล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำมาเตรียมโคตินเพื่อใช้ผลิตกลูโคซามีนในขั้นตอนต่อไป จากนั้นนำเปลือกปุม้าที่เตรียมได้มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปุม้า โดยวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (Protein) คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ไขมัน (Fat) เถ้า (Ash) และความชื้น (Moisture) ตามวิธีการของ AOAC (AOAC, 2000) (แสดงดังภาคผนวก ข1)

3.4.2 การเตรียมโคติน

ทำการเตรียมโคตินจากเปลือกปุม้า ตามวิธีของ Sibi และคณะ (2013) โดยนำเปลือกปุม้าที่เตรียมไว้ในข้อ 3.4.1 มากำจัดโปรตีน (Deproteinization) ด้วยการแช่สารละลาย NaOH เข้มข้น 3.5% ในอัตราส่วนระหว่างเปลือกปุม้ากับ NaOH เท่ากับ 1:9 (น้ำหนัก/ปริมาตร) กวนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้อง ก่อนจะกรองเอาส่วนที่เป็นสารละลายต่างออก แล้วนำเปลือกปุม้าล้างด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:50 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อล้างสารละลายต่างออก จากนั้นทำการปรับพีเอช (pH) ให้เป็นกลางด้วยสารละลายกรด HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ก่อนนำไปทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เพื่อทำการแยกตะกอนออก กำจัดแร่ธาตุ (Demineralsizations) โดยนำตะกอนที่ได้มา ย่อยด้วยสารละลาย HCl เข้มข้น 1 โมลาร์ ในอัตราส่วนระหว่างเปลือกปุม้ากับสารละลายกรดเท่ากับ 1:15 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เพื่อแยกแคลเซียมคาร์บอเนตออกจากตัวอย่าง ทำการกวนตลอดด้วยเครื่อง Overhead stirrer ที่อุณหภูมิห้องเป็นวัเป็นเวลา 18 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงล้างด้วยน้ำกลั่นด้วยอัตราส่วน 1:50 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อล้างกรดและแคลเซียมคลอไรด์ออก จากนั้นปรับ pH ให้เป็นกลางด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 1 โมลาร์ แล้วจึงนำมาทำการปั่นเหวี่ยง (centrifuge) นำตะกอนตัวอย่างที่ได้มาทำการกำจัดสี (Decolorization) ออกจากโคติน โดยการแช่ในสารละลาย Sodium hypochlorite ที่ความเข้มข้น 0.35% โดยใช้อัตราส่วนระหว่างโคตินกับสารละลาย Sodium hypochlorite เท่ากับ 1:9 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการกวนตลอดเวลาด้วยเครื่อง Overhead stirrer ที่อุณหภูมิห้องเป็นวัเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นอัตราส่วน 1: 50 ทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อล้างสารละลาย Sodium hypochlorite ออกให้หมดไม่ให้เหลือกลิ่น แล้วจึงนำไปทำการปั่น

เหวี่ยง (centrifuge) นำตะกอนโคตินที่ได้ไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

3.4.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลาต่อการย่อยสลายโคติน

ทำการศึกษากการย่อยสลายโคตินด้วยกรดเกลือโดยนำโคตินที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 จำนวน 1 กรัม ผสมในกรดเกลือความเข้มข้น 20%, 30% และ 37% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาณ 20 มิลลิลิตร ทำการย่อยสลายเป็นระยะเวลา 60 นาที โดยควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนดเวลาตามที่กำหนด ทำการกำจัดสีด้วยถ่านกัมมันต์ แล้วเติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรโดยรวมไม่เกิน 40 มิลลิลิตร พร้อมกับทำการเขย่า ปักไว้ 30 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 เก็บส่วนที่เป็นสารละลายนำไปปรับพีเอช (pH) ให้อยู่ในช่วง 4-6 ส่วนการศึกษาผลของระยะเวลาต่อการย่อยสลายโคตินให้ดำเนินการในลักษณะเดียวกัน โดยทำการย่อยสลายโคตินด้วยกรดเกลือความเข้มข้นที่เหมาะสมที่คัดเลือกได้ เป็นระยะเวลา 30, 60, 120, 180 และ 240 นาที จากนั้นนำสารละลายกลูโคซามีนไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน และวิเคราะห์หาปริมาณ reducing sugar ด้วยวิธี DNS method (Miller, 1959) (ข้อ 3.4.3.1) เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของกรด HCl และระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยสลายโคติน

3.4.3.1 การตรวจสอบปริมาณกลูโคซามีน

การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนด้วยวิธี Spectrophotometric method ตามวิธีของ Wu และคณะ (2005) (ข้อ 3.4.5)

3.4.3.2 การตรวจสอบปริมาณ reducing sugar

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยวิธี DNS method (Miller, 1959) แสดงดังภาคผนวก ข2 ซึ่งวิธีนี้จะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับสารละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid โดยที่น้ำตาลจากตัวอย่างจะไปรีดิวซ์ 3,5-dinitrosalicylic acid ได้เป็นสาร mononine ซึ่งจะมีสีน้ำตาลแดง สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงได้ที่ 540 นาโนเมตร

3.4.4 การผลิตกลูโคซามีนจากเปลือกปุม้า

นำโคตินเตรียมได้จากข้อ 3.4.2 มาทำการย่อยสลายด้วยกรดเกลือที่ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาที่คัดเลือกจากข้อ 3.4.3 ในอัตราส่วนของโคตินต่อกรดเกลือ 1:19 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องก่อนนำไปผสมถ่านกัมมันต์ เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำส่วนใสที่กรองได้มาทำให้เข้มข้นโดยใช้ vacuum rotary evaporator ที่ 45 องศาเซลเซียส จนมีปริมาตรลดลง 2 เท่า ก่อนนำมาทำให้ตกผลึกด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้น 95% ในอัตราส่วนสารละลายกลูโคซามีนต่อเอทานอล เท่ากับ 1:9 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำ

การเก็บส่วนผลึกกลูโคซามีนที่เตรียมได้มาล้างด้วยเอทานอลเข้มข้น 99% จากนั้นนำผลึกกลูโคซามีนที่เตรียมได้ไปทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และศึกษาหาปริมาณผลผลิตของกลูโคซามีนตามสมการข้างล่าง ดังนี้

$$\text{ปริมาณผลผลิต (\% ฐานแห้ง)} = \frac{\text{น้ำหนักของกลูโคซามีน (g)}}{\text{น้ำหนักของเปลือกปูที่ผ่านการทำให้แห้ง (g)}} \times 100$$

3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีน

วิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน (Glucosamine content) ตามวิธีของ Wu และคณะ (2005) (แสดงดังภาคผนวก ข3) โดยนำตัวอย่างกลูโคซามีนมาทำปฏิกิริยากับสารผสมของสารละลายนินไฮดริน (ninhydrin) ที่ความเข้มข้น 0.8% กับไตรโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่ความเข้มข้น 0.2 โมลลาร์ อย่างละ 0.5 มิลลิลิตรแล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยใช้ D-glucosamine เป็นสารมาตรฐาน

3.4.6 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีน

ทำการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนโดยใช้เทคนิคต่างๆดังนี้

- วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC (high performance liquid chromatography) ตามวิธีการของ Sibi และคณะ (2013) โดยใช้คอลัมน์ Zorbax Eclipse XDB-C8 (4.6×150 mm², 5 μm; Agilent Technologies) เป็นเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) และใช้ orthophosphoric acid (pH 2.5): acetonitrile (70:30) ที่อัตราการไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที โดยใช้ D-glucosamine และ N-acetyl-D-glucosamine เป็นสารมาตรฐาน

- วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค TLC (Thin-layer chromatography) วิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ตามวิธีการของ Sinha และคณะ (2011) แผ่น TLC ขนาด 20 cm × 10 cm ใช้สารผสมของ 1 - butanol – acetic acid – water (2:1:1) เป็นเฟสเคลื่อนที่ โดยเปรียบเทียบกับตำแหน่งของกลูโคซามีนมาตรฐานคือ D-glucosamine และ N-acetyl-D-glucosamine และมีเฟสอยู่กับที่คือซิลิกาเจลทำการย้อมสีโดยใช้สารละลาย ninhydrin ในการระบุตำแหน่งของกลูโคซามีน

- วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) โดยใช้ตามวิธีการของ Ahmad และคณะ (2010) โดยการตรวจสอบใช้ปริมาณตัวอย่าง 0.1 กรัม ใช้เครื่อง EQUINOX55 และใช้ความถี่ในช่วง 4,000-400 cm⁻¹ โดยใช้ D-glucosamine และ N-acetyl-D-glucosamine เป็นสารมาตรฐาน

3.4.7 การตรวจสอบคุณสมบัติของกลูโคซามีน

3.4.7.1 การวัดค่าสี และค่าความสว่าง (Whiteness)

วัดค่าสีของกลูโคซามีนตามวิธีของ Park (1994) โดยใช้เครื่องวัดค่าสี (CM 3600D, Minolta, Tokyo, Japan) และรายงานผลค่าสีในระบบ CIE แสดงค่าเป็น L^* , a^* และ b^* ซึ่งบ่งบอกค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสีแดง (Redness) และค่าสีเหลือง (Yellowness) ตามลำดับ ส่วนค่าความขาว (Whiteness) สามารถคำนวณได้จากสมการด้านล่าง

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

3.4.7.2 การตรวจสอบการละลาย

การวิเคราะห์ความสามารถในการละลายของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าที่ในสถานะ (pH) ที่ต่างกัน โดยชั่งตัวอย่างกลูโคซามีน 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เกิดสารละลายสมบูรณ์แล้วทำการปรับ pH เท่ากับ 1, 3, 5, 7 และ 9 จากนั้นทำการเติมน้ำที่ pH 1, 3, 5, 7 และ 9 ที่ตรงตามสารละลายกลูโคซามีนที่ปรับ pH แล้วให้ได้สารละลายกลูโคซามีนที่มีปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 5,000g เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำส่วนใส (supernatant) ไปหาปริมาณกลูโคซามีนตามวิธีในข้อ 3.4.5

3.4.7.3 การวิเคราะห์หาอุณหภูมิจุดหลอมเหลว

วิเคราะห์หาอุณหภูมิจุดหลอมเหลวของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค Differential Scanningcalorimetry (DSC) ตามวิธีการของ Al-Hamidi และคณะ (2010) โดยให้ตัวอย่างกลูโคซามีนประมาณ 3-6 มิลลิกรัม วางบนถาดอลูมิเนียมให้ความร้อน 50-300 องศาเซลเซียส ให้ความร้อนในอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ภายใต้ก๊าซไนโตรเจน เอนทาลปีของอุณหภูมิที่เริ่มมีการเปลี่ยนแปลง (ΔH) และอุณหภูมิจุดหลอมเหลวของตัวอย่างสามารถคำนวณโดยใช้ซอฟต์แวร์ Windows, version 2.1 (MicroMath Scientific Software, Salt Lake City, UT, USA)

3.4.8 การตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนระหว่างการให้ความร้อน

3.4.8.1 ความคงตัวของกลูโคซามีนในสถานะ pH ต่างๆ

ตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนจากเปลือกปู โดยชั่งตัวอย่างกลูโคซามีน 0.1 กรัมเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เกิดสารละลายสมบูรณ์แล้วทำการปรับ pH เท่ากับ 1, 3, 5, 7, 9 และ 11 จากนั้นทำการเติมน้ำที่ pH 1, 3, 5, 7, 9 และ 11 ที่ตรงตามสารละลายกลูโคซามีนที่ปรับ pH แล้วให้ได้สารละลายกลูโคซามีนที่มีปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนตามวิธีในข้อ 3.4.5 และตรวจสอบการคงอยู่ของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค TLC ตามข้อ 3.4.6

3.4.8.2 ความคงตัวของระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตรวจความคงตัวของความร้อนของกลูโคซามีนจากเปลือกปูโดยชั่งตัวอย่างกลูโคซามีน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 มิลลิลิตรแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาต่างๆ (0, 10, 20, 30, 40, 60, 90 และ 120 นาที) จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคซามีนตามวิธีตามวิธีในข้อ 3.4.5 และตรวจสอบการคงอยู่ของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค TLC ตามข้อ 3.4.6

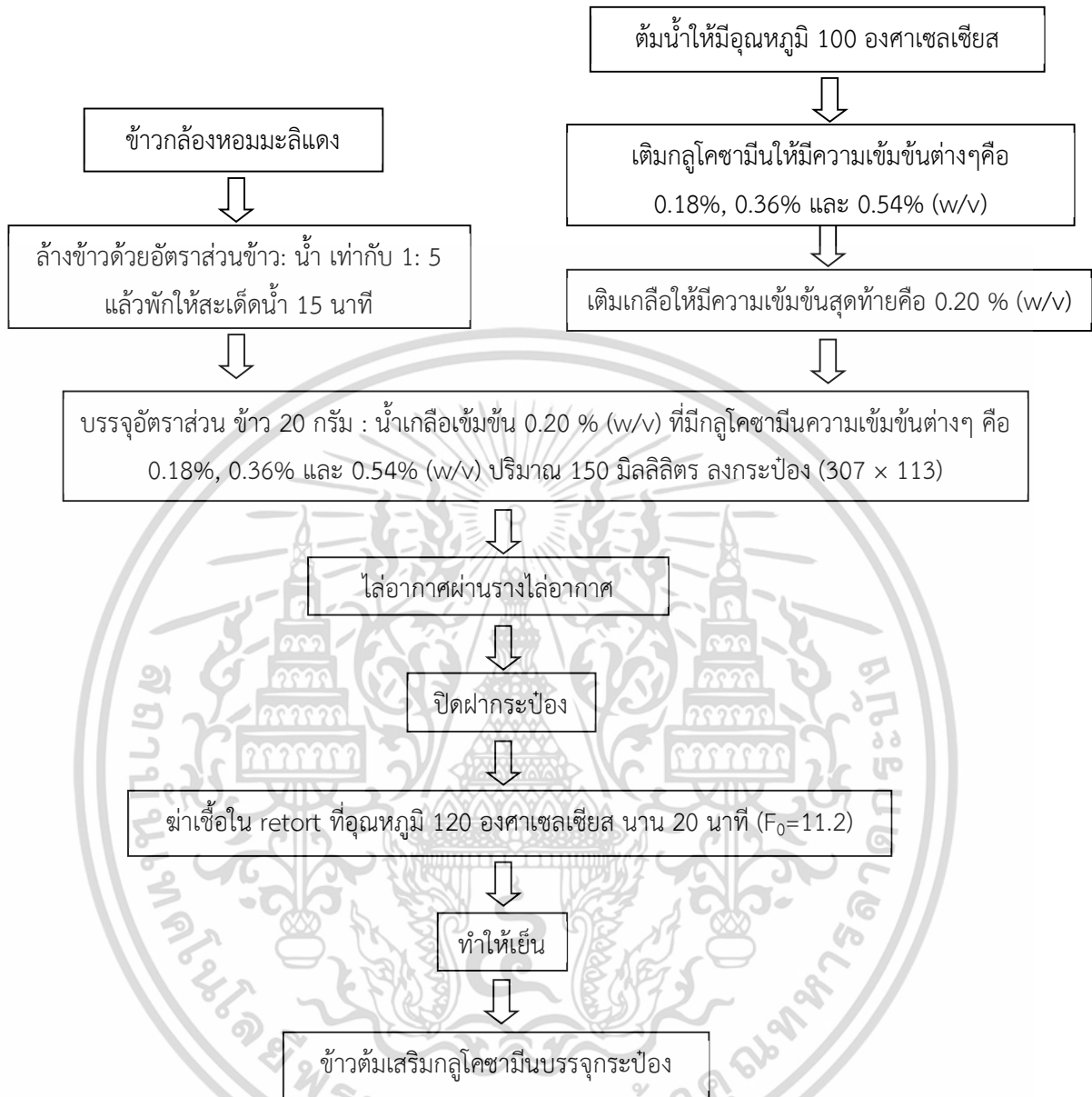
3.4.9 การศึกษาผลของปริมาณกลูโคซามีนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

3.4.9.1 การเตรียมข้าวกล้องหอมมะลิแดง

นำข้าวกล้องหอมมะลิแดงที่ผ่านการกระเทาะเปลือกออกแล้วมาทำการเก็บรักษาโดยบรรจุใส่ถุงสุญญากาศ (Vacuum Bag) ที่ทำจากพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีนเคลือบไนลอน (PA) ขนาด 7 x 11 นิ้วถูละ 1 กิโลกรัม แล้วซีลด้วยเครื่องซีลสุญญากาศ (Vacuum Sealer) ใส่กล่องทึบแสงเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อเตรียมสำหรับนำมาใช้ในการทดลองต่อไป (เก็บรักษาไม่เกิน 6 เดือน)

3.4.9.2 การผลิตข้าวต้มบรรจุกระป๋องเสริมกลูโคซามีน

ทำการผลิตข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Chumniwikri และ Peuchkamut (2015) โดยนำข้าวกล้องหอมมะลิแดงจากข้อ 3.4.9.1 มาล้างด้วยอัตราส่วนข้าว:น้ำ เท่ากับ 1:5 ทำการเปลี่ยนน้ำทั้งหมด 2 ครั้ง ทั้งไว้ให้สะเด็ดน้ำ 15 นาที จากนั้นบรรจุข้าวกล้องหอมมะลิแดง 20 กรัม ในกระป๋องชนิดกระป๋อง 2 ชั้นเคลือบแลคเกอร์ ขนาดบรรจุ 307 x 113 จากนั้นเติมน้ำเกลือเข้มข้น 0.20% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆกันคือ 0.18% (250 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง), 0.36% (500 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง) และ 0.54% (750 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง) (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 150 มิลลิลิตร นำเข้ารางไล่อากาศ (exhaust) แล้วปิดฝาด้วยเครื่องปิดผนึก (seamer) แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปฆ่าเชื้อในรีทอร์ทชนิด water spray over pressure retort ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ($F_0=11.2$) แล้วทำให้เย็นทันที ซึ่งกระบวนการผลิตข้าวต้มบรรจุกระป๋องเสริมกลูโคซามีนแสดงดังภาพที่ 16



ภาพที่ 16 ขั้นตอนการผลิตข้าวต้มสำเร็จรูปเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

3.4.9.3 การตรวจสอบคุณลักษณะทางกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

3.4.9.3.1 การวัดสี

การวัดสีด้วยระบบ Hunter color system โดยใช้เครื่อง hunterlab เตรียมตัวอย่างโดยแยกข้าวและน้ำ โดยเทข้าวออกจากกระป๋องใส่ในกระชอนขนาด 16 mesh ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 60 วินาที จากนั้นเทน้ำข้าวต้มใส่คิวเวตควอตซ์ ปริมาณ 40 มิลลิลิตร ทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บันทึกค่าความสว่าง (L*) ค่าสีแดง (a*) และค่าสีเหลือง (b*) (แสดงดังภาคผนวก ก1)

3.4.9.3.2 วิเคราะห์ค่าความขุ่น

วิเคราะห์ความขุ่นโดยใช้เครื่องวัดความขุ่น Lovibond โดยการนำข้าวต้มมาแยกข้าวและน้ำ โดยเทข้าวออกจากกระป๋องใส่ในกระชอนขนาด 16 mesh ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 30 วินาที ดูดน้ำข้าวใสในหลอดตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร จากนั้นวัดความขุ่นของน้ำข้าวต้ม โดยได้ค่าความขุ่นในหน่วย Nephelometric Turbidity Units (NTU) โดยใช้น้ำยามาตรฐาน (Turbi standard) ที่มีค่าความขุ่นเท่ากับ 0.1, 20, 200 และ 800 NTU เป็นตัวเทียบ (แสดงดังภาคผนวก ก2)

3.4.9.3.3 วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส

วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวต้ม (Texture analyzer) ใช้วิธีการวัดค่าการต้านแรงกด (Back extrusion test) ตามวิธีการของ Leelayuthsoontorn และคณะ (2006) (แสดงดังภาคผนวก ก3)

3.4.9.3.4 วิเคราะห์ความหนืด

การวิเคราะห์ค่าความหนืดของน้ำข้าวต้มดัดแปลงจากวิธีของ สุนทรี (2553) โดยเทข้าวออกจากกระป๋องใส่ในกระชอนขนาด 16 mesh ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 60 วินาที เพื่อแยกน้ำข้าวต้มมาวิเคราะห์ค่าความหนืดโดยใช้เครื่องวัดความหนืดแบบแกนหมุน (Brookfield Viscometer) และใช้ small sample adapter ที่มีหัวเข็มเบอร์ 18 ทำการควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างตลอดการวัดค่าที่ 40 ± 1 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิในการเสิร์ฟ) รายงานค่าความหนืดของตัวอย่างในหน่วย centipoises (cP) (แสดงดังภาคผนวก ก4)

3.4.9.4 การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจุกระป๋อง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัด pH ดัดแปลงจากวิธีการของ Wakil และ Kazeem (2012) โดยการชั่งข้าวต้มจำนวน 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ก่อนนำมาปั่นด้วยเครื่องปั่น ความเร็วเบอร์ 3 นาน 5 นาที และปั่นเหวี่ยงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนที่กรองได้ไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่อุณหภูมิห้อง (แสดงดังภาคผนวก ข4)

3.4.9.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจุกระป๋อง

ทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.18%, 0.36% และ 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (กลูโคซามีนความเข้มข้น 0%) โดยใช้เทคนิค Difference from control test เพื่อเลือกสูตรที่เหมาะสม โดยเลือกกลุ่มเป้าหมายเป็นกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 60-70 ปีขึ้นไป จำนวน 30 คน ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิในการเสิร์ฟให้อยู่ที่ 40 องศาเซลเซียส (Obiakor-Okeke และคณะ, 2014)

3.4.10 การศึกษาผลของปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติต่อสมบัติทางเคมีกายภาพและการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกัน

ทำการเตรียมข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกันตามวิธีการในข้อ 3.4.9.2 โดยเลือกสูตรที่เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสกับกลุ่มเป้าหมายแล้วมีความแตกต่างจากชุดควบคุมน้อยที่สุด โดยมีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้น 0% 1% 2% และ 3% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการบรรจุลงกระป๋อง แล้วนำเข้ารางไล่อากาศ (exhaust) ก่อนจะปิดฝาด้วยเครื่องปิดผนึก (seamer) แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปฆ่าเชื้อในรีโตร์ทชนิด water spray over pressure retort ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ($F_0=11.2$) แล้วทำให้เย็นทันที แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกันที่มีการผสมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

3.4.10.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

3.4.10.1.1 วัดค่าสี (L^* a^* และ b^*) ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.1

3.4.10.1.2 ตรวจสอบค่าความขุ่นโดยเครื่อง Lovibond ตามวิธีการในหัวข้อ

3.4.9.3.2

3.4.10.1.3 วิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวต้ม ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.3

3.4.10.1.4 ตรวจสอบค่าความหนืดโดยเครื่อง Brookfield ตามวิธีการในหัวข้อ

3.4.9.3.4

3.4.10.2 คุณสมบัติทางเคมี

3.4.10.2.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัด pH ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.4

3.4.10.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกัน

นำข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกันที่ผสมคอลลาเจนสูญเสียสภาพทางธรรมชาติที่ระดับความเข้มข้นต่างๆคือ 0%, 0.5%, 1% และ 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) มาทดสอบความยอมรับของกลุ่มเป้าหมาย เพื่อเลือกสูตรที่เหมาะสมโดยเลือกกลุ่มเป้าหมายเป็นกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 60-70 ปีขึ้นไป จำนวน 30 คน ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิในการเสิร์ฟให้อยู่ที่ 40 องศาเซลเซียส (Obiakor-Okeke และคณะ, 2014) ด้วยวิธี 5-Point Hedonic Scale โดยปัจจัยที่ทำการทดสอบประกอบด้วยกลิ่นได้ง่าย และความชอบโดยรวม

3.4.11 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มบรจเจอร์ป้องกันที่มีสารอาหารเสริมในระหว่างการเก็บรักษา

ทำการเตรียมข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจเจอร์ป้องกันตามวิธีการในข้อ 3.4.9.2 โดยใช้ปริมาณกลูโคซามีนที่มีความแตกต่างต่อชุดควบคุมน้อยที่สุด และคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ได้คะแนนความชอบโดยรวมของผู้บริโภคสูงสุดจากข้อ 3.4.10.3 บรรจุลงกระป๋อง แล้วนำเข้ารางไล่

อากาศ (exhaust) ก่อนจะปิดฝาด้วยเครื่องปิดผนึก (seamer) แล้วนำผลิตภัณฑ์ไปฆ่าเชื้อในรีทอร์ทชนิด water spray over pressure retort ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ($F_0=11.2$) แล้วทำให้เย็นทันที แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) ก่อนนำมาตรวจสอบคุณสมบัติดังข้อ 3.4.11.1-3.4.11.3 เดือนละครั้ง รวมเป็นเวลาทั้ง 3 เดือน

3.4.11.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

3.4.11.1.1 การวัดค่าสี (L^* , a^* และ b^*) ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.1

3.4.11.1.2 การตรวจสอบค่าความขุ่นโดยเครื่อง Lovibond ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.2

3.4.11.1.3 การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวต้ม ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.3

3.4.11.1.4 การตรวจสอบค่าความหนืดโดยเครื่อง Brookfield ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.3.4

3.4.11.2 คุณสมบัติทางเคมี

3.4.11.2.1 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยเครื่องวัดค่า pH ตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.9.4

3.4.11.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนด้วยเทคนิค HPLC ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุ กระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเทียบกับข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่ยังไม่ผ่านการฆ่าเชื้อตามวิธีการในหัวข้อ 3.4.6

3.4.11.2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ (ภาคผนวก ค) ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์บริการประกันคุณภาพ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

3.4.11.3 คุณสมบัติทางจุลินทรีย์

3.4.11.3.1 การตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count; TPC) โดยวิธี Pour plate (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ง)

3.4.11.4 ตรวจวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ข้อ 3 (1) อาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4.6 ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์บริการประกันคุณภาพ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (ภาคผนวก จ)

3.4.11.4.1 น้ำหนักสุทธิ เฉลี่ย, กรัม

3.4.11.4.2 น้ำหนักเนื้ออาหาร, กรัม

3.4.11.4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง

3.4.11.4.4 Water activity at 25°C ตามวิธี In house method based on AOAC (2016)

3.4.11.4.5 sensory test

3.4.11.4.6 ปริมาณตะกั่ว, มิลลิลิตรกรัม ต่อกิโลกรัม ตามวิธี In house method based on AOAC (2016)

3.4.11.4.7 เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 35°C, โคโลนี ต่อกรัม ตามวิธี APHA (2001) chapter 62

3.4.11.4.8 เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 53°C, โคโลนี ต่อกรัม ตามวิธี APHA (2001) chapter 62

3.4.11.4.9 จำนวน *Clostridium botulinum* ต่อกรัม ตามวิธี APHA (2001) chapter 33

3.4.12 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค

นำข้าวต้มเสริมกลูโคซามีเนบรจุรณะป้องกันที่ผสมคอลลาเจนสูญเสียสภาพทางธรรมชาติมาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคโดยเลือกกลุ่มเป้าหมายเป็นกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 60-70 ปีขึ้นไป จำนวน 100 คน ซึ่งมีการควบคุมอุณหภูมิในการเสิร์ฟให้อยู่ที่ 40 องศาเซลเซียส (Obiakor-Okeke และคณะ, 2014) ด้วยวิธี 5-Point Hedonic Scale โดยปัจจัยที่ทำการทดสอบประกอบด้วย ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ความหนืด สี การกลืนได้ง่าย และความชอบโดยรวม (Lawless และ Heyman, 1999) อีกทั้งยังสอบถามความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์โดยทำการแจกแบบสอบถามตามหน่วยงานผู้ให้บริการด้านสุขภาพเช่น โรงพยาบาล และศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ จำนวน 10 แห่ง (ภาคผนวก ฉ)

3.4.13 การวางแผนการทดลอง และวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ CRD แต่ละสิ่งทดลองทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of variance (ANOVA) ทำการทดลอง 3 ซ้ำสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและจุลชีววิทยา และทำการทดลอง 5 ซ้ำสำหรับการวิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (Steel และ Torrie, 1980) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) สำหรับการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4

ผลการทดลอง และวิจารณ์

4.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้า

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้าที่ผ่านการอบแห้งซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกลูโคซามีน แสดงในตารางที่ 3 พบว่าองค์ประกอบที่พบมากที่สุดในการเปลือกปูคือ คาร์โบไฮเดรตคิดเป็น 43.15% รองลงมาคือ เถ้า (29.78%) โปรตีน (18.14%) ความชื้น (8.68%) และไขมัน (0.25%) ตามลำดับ (ฐานแห้ง) ทั้งนี้คาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบที่สามารถบ่งชี้ถึงปริมาณของไคตินซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญในการผลิตกลูโคซามีน โดยไคตินนั้นจัดเป็นสารอินทรีย์ที่อยู่ในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นพอลิเมอร์ในกลุ่มของโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ประกอบด้วย อนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสเป็นแกนหลัก (backbone) มีธาตุไนโตรเจน และหมู่อะเซทิลเกาะอยู่ภายในโมเลกุล (Jolanta และคณะ, 2010) เมื่อตัดหมู่อะเซทิลออกจะได้เป็นไคโตซาน (chitosan) ที่มีหน่วยย่อยคือกลูโคซามีน (glucosamine) เป็นองค์ประกอบ (นันทนา, 2542) โดยปกติองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูแต่ละชนิดจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ ฤดูกาล ช่วงอายุ หรือแหล่งที่อยู่อาศัย Jung และคณะ (2013) รายงานว่าเปลือกปูเมดิเตอร์เรเนียน (*Carcinus mediterraneus*) ประกอบด้วยโปรตีน 12.1%±0.5 เถ้า 59.8%±0.2 และไขมัน 0.7%±0.2 ซึ่งสอดคล้องกับค่าองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้า นอกจากนี้ค่าองค์ประกอบของโปรตีน และเถ้าของเปลือกปูมักอยู่ในช่วง 13-15% และ 18-23% ตามลำดับ (Hajji และคณะ, 2015)

ตารางที่ 3 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้า

องค์ประกอบ	ค่าองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกปูม้า (%ฐานแห้ง)*
โปรตีน	18.14 ± 0.79 ^{ct}
ไขมัน	0.25 ± 0.08 ^a
เถ้า	29.78 ± 0.43 ^d
ความชื้น	8.68 ± 0.42 ^b
คาร์โบไฮเดรต	43.15 ± 12.53 ^e

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

+ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P<0.05)

4.2 ศึกษาผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลาต่อการย่อยสลายไคติน

การศึกษาค่าผลของความเข้มข้นของกรดเกลือ (20%, 30% และ 37%) และระยะเวลา (30, 60, 120, 180 และ 240 นาที) ต่อการย่อยสลายไคตินแสดงดังตารางที่ 4 การติดตามการย่อยสลายของไคตินทำได้โดยการติดตามปริมาณกลูโคซามีน และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เปลี่ยนแปลงไปในแต่ละชุดการทดลอง ตามวิธีของ Wu และคณะ (2005) และ Miller (1959) ตามลำดับ จากผลการย่อยสลายไคตินที่ระดับความเข้มข้นของกรดเกลือ 20% พบว่า ปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายไคตินเพิ่มขึ้น และที่ระยะเวลา 180 นาที ถึง 240 นาที พบว่าการย่อยสลายไคตินเพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) อีกทั้งยังพบการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไปในทิศทางเดียวกัน ที่ระดับความเข้มข้นของกรดเกลือ 30% พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาการย่อยสลายไคติน 30 นาที และ 120 นาที ทำให้ได้ปริมาณกลูโคซามีนไม่แตกต่างกัน ($P > 0.05$) อาจเป็นเพราะว่าที่ 30 นาทีเกิดการย่อยสลายไคตินได้ดี จากนั้นกลูโคซามีนอาจเกิดการสลายตัวบางส่วน ในขณะที่เดียวกันเมื่อเพิ่มระยะเวลาการย่อยสลายทำให้เกิดการสลายตัวของไคตินไปเป็นกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทำให้ที่ระยะเวลา 120 นาทีกลับพบปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้น และที่ระดับความเข้มข้นของกรดเกลือ 37% พบปริมาณกลูโคซามีนจากการย่อยสลายไคตินเป็นไปในลักษณะเดียวกันกับที่พบในสภาวะการใช้กรดเกลือ 30% แต่ให้ผลทำให้เกิดการย่อยสลายที่รุนแรงกว่าโดยการใช้ความเข้มข้นของกรดเกลือที่สูง จะทำให้กลูโคซามีนเกิดการสลายตัวในขณะที่เดียวกัน การย่อยสลายไคตินก็จะเกิดได้ดีด้วยเช่นกัน จากผลการทดลองขั้นต้นพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดสำหรับการย่อยสลายไคตินเพื่อผลิตกลูโคซามีนคือ ที่ระดับความเข้มข้นของกรด 30% ระยะเวลา 30 นาที จะทำให้ได้ผลผลิตกลูโคซามีนที่ดีที่สุด เนื่องจากสอดคล้องกับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สภาวะเดียวกัน จากผลการศึกษาข้างต้นแตกต่างจากการศึกษาของ Islam และคณะ (2011) ที่มีการรายงานว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการย่อยสลายไคตินจากเปลือกกุ้งบังกลาเทศด้วยกรดเกลือคือ ความเข้มข้นของกรดเกลือ 30% ย่อยสลายที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที ซึ่งใช้ความเข้มข้นและระยะเวลานานกว่าการย่อยไคตินจากเปลือกปูม้า แต่ได้ปริมาณผลผลิตมากกว่าคือ 63.45%

ตารางที่ 4 ผลของความเข้มข้นของสารละลายกรดเกลือและระยะเวลาต่อการย่อยสลายไคติน

สภาวะ		ปริมาณ glucosamine* (มิลลิกรัม)	ปริมาณ reducing sugar*(มิลลิกรัม)
ความเข้มข้นของ HCl (%)	เวลา (นาที)		
20	30	169.20 ± 1.00 ^{at}	175.96 ± 8.43 ^{at}
	60	289.53 ± 0.59 ^b	297.68 ± 5.52 ^b
	120	377.63 ± 0.75 ^c	383.97 ± 2.92 ^c
	180	468.93 ± 0.68 ^d	508.70 ± 7.31 ^d
	240	418.53 ± 0.95 ^{cd}	494.48 ± 6.75 ^d
30	30	889.33 ± 6.26 ^h	767.35 ± 32.21 ^s
	60	815.00 ± 2.11 ^g	789.18 ± 39.49 ^s
	120	880.00 ± 2.13 ^h	699.87 ± 8.89 ^f
	180	538.33 ± 0.94 ^e	484.22 ± 24.78 ^d
	240	636.33 ± 5.51 ^f	555.39 ± 42.02 ^e
37	30	554.33 ± 7.90 ^e	767.35 ± 32.21 ^s
	60	222.67 ± 0.28 ^{ab}	789.18 ± 39.49 ^s
	120	560.00 ± 6.84 ^e	699.87 ± 8.89 ^f
	180	242.10 ± 4.82 ^b	484.22 ± 24.78 ^d
	240	469.80 ± 3.24 ^d	555.39 ± 42.02 ^e

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

†ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.3 ปริมาณผลผลิตของกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า

การผลิตกลูโคซามีนเริ่มต้นจากการนำเปลือกปูม้าที่อบจนมีความชื้นต่ำผ่านการบดให้มีอนุภาคเล็กลงแล้วนำมากำจัดโปรตีนออกด้วยสารละลายต่าง และกำจัดแร่ธาตุด้วยกรดเจือจาง จากนั้นปรับให้มีสภาพ pH เป็นกลาง จะทำให้ได้ไคตินที่สามารถนำไปใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกลูโคซามีน ผลการทดลองพบว่าเปลือกปูม้าสามารถนำมาผลิตเป็นไคตินได้ และมีปริมาณผลผลิตไคตินคิดเป็น 15% ของน้ำหนักเปลือกปูเริ่มต้น จากนั้นนำไคตินที่ได้มาทำการย่อยสลายด้วยกรดเกลือเข้มข้น 30% ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการย่อยสลาย 30 นาที ในอัตราส่วน

ของโคตินต่อน้ำหนักปู 1:19 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก่อนนำไปทำให้ตกผลึกด้วยเอทานอล จากนั้นทำการเก็บผลึกกลูโคซามีนที่ได้โดยการปั่นเหวี่ยงแล้วล้างผลึกกลูโคซามีนด้วยเอทานอล 99% ก่อนนำไปทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนการผลิตกลูโคซามีนจากโคตินที่ได้จากเปลือกปูม้าสามารถนำไปผลิตกลูโคซามีนได้ผลผลิตคิดเป็น 36.47% ของน้ำหนักเปลือกปูอบแห้ง (ตารางที่ 5) ซึ่งมีปริมาณผลผลิตน้อยกว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูดาว (*Portunus sanguinolentus*) คือ 68.91% เนื่องจากสภาวะในการย่อยโคตินคือ ใช้กรดเกลือเข้มข้นย่อยที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 75 นาที แต่กลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้ามีปริมาณผลผลิตสูงกว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) คือ 30% (Sibi และคณะ, 2013) ดังนั้นเปลือกปูม้าสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกลูโคซามีนได้

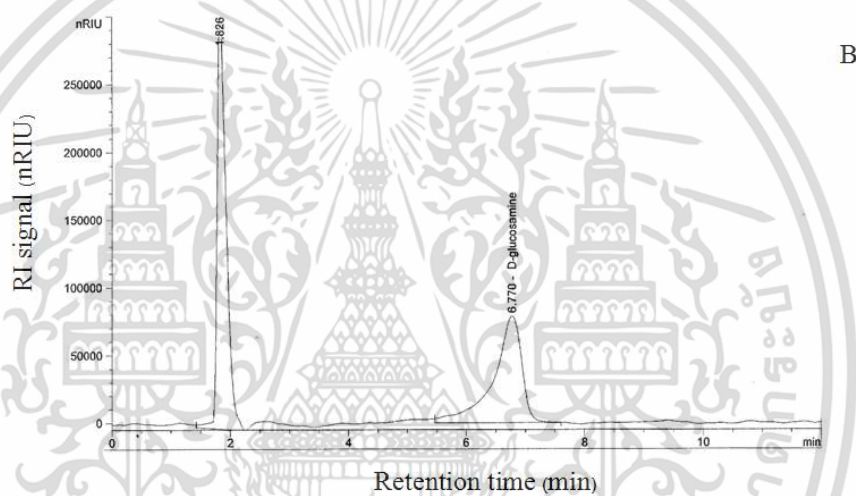
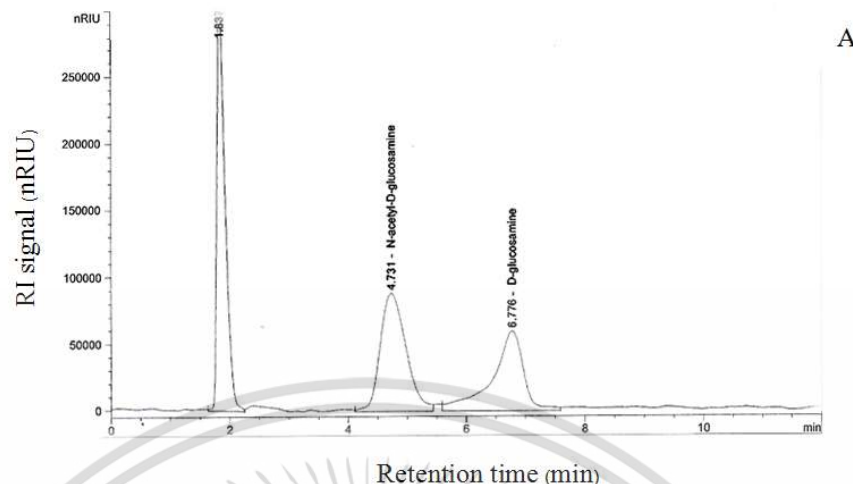
ตารางที่ 5 สภาวะ และปริมาณผลผลิตของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากน้ำหนักเปลือกปูแห้ง

สภาวะ		ปริมาณผลผลิตต่อเปลือกปูอบแห้ง (%)
ความเข้มข้นของ HCl (%)	ระยะเวลาในการย่อย (นาที)	
30	30	36.47

4.4 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีน

4.4.1 วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค HPLC

ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าโดยใช้เทคนิค HPLC แสดงในภาพที่ 17 พบว่าโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine พบจุดสูงสุด (peak) ที่ retention times (RT) เท่ากับ 4.731 และ 6.776 นาที ตามลำดับ กลูโคซามีนจากเปลือกปูม้าแสดงจุดสูงสุดแค่จุดเดียวที่ retention times (RT) เท่ากับ 6.770 นาที ซึ่งใกล้เคียงกับ D-glucosamine และพบว่าปริมาณของ D-glucosamine ในตัวอย่างเท่ากับ 808.15 ± 4.25 mg/g ดังนั้นจากผลการวิเคราะห์ข้างต้นกล่าวได้ว่ากลูโคซามีนจากเปลือกปูม้ามีความบริสุทธิ์สูง และมีองค์ประกอบหลักคือ D-glucosamine ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Sibi และคณะ (2013) ที่มีการศึกษาความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนจากเปลือกครัสเตเชียนด้วยเทคนิค HPLC พบว่า GluHCl ที่เตรียมจากเปลือกกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*) และเปลือกปูดาว (*Portunus sanguinolentus*) มีปริมาณ D-glucosamine เท่ากับ 3.32 และ 21.64 มิลลิกรัมต่อกรัมตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับแล้วพบว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้ามีความบริสุทธิ์สูงกว่าเปลือกของครัสเตเชียนชนิดอื่น

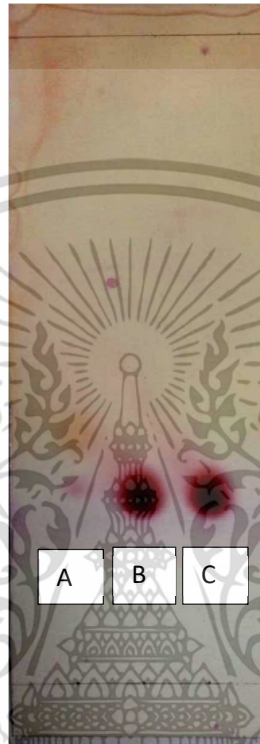


ภาพที่ 17 HPLC โครมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine D-glucosamine (A) และกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า (B)

4.4.2 วิเคราะห์โดยใช้เทคนิค TLC

การทดสอบความบริสุทธิ์ของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าด้วยเทคนิค Thinlayerchromatography (TLC) เทียบกับสารมาตรฐานคือ N-acetyl-D-glucosamine และ D-glucosamine แสดงผลดังภาพที่ 18 หลังจากการย้อมสีด้วยนินไฮดรินพบว่า N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งเป็นโมโนเมอร์ของไคตินปรากฏความเข้มของ band ต่ำ เนื่องจากไม่มีหมู่อะมิโนอิสระ ($-NH_2$) ในโครงสร้าง (Friedman, 2004) ซึ่งตรงกันข้ามกับกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าที่พบความเข้มของ band สูง ที่ R_f เดียวกันกับสารมาตรฐาน D-glucosamine โดย D-glucosamine เป็นองค์ประกอบหลักในโครงสร้างของไคโตซานเพราะฉะนั้นเป็นไปได้ว่าไคตินที่เตรียมได้บางส่วนอาจเปลี่ยนรูปเป็นไคโตซานในระหว่างกระบวนการผลิตกลูโคซามีน การเปลี่ยนรูปจากไคตินไปเป็นไคโตซานนั้นมีหลายสาเหตุคือ อุณหภูมิของปฏิกิริยา ระยะเวลาในการย่อย และ

ความเข้มข้นของต่าง (Kangde และคณะ, 2012) จากผลการทดสอบความบริสุทธิ์พบว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้ไม่ปรากฏจุดของสารปนเปื้อนอื่นที่สามารถย้อมสีได้ด้วยนินไฮดริน และมีจุดการเคลื่อนที่ในแนวเดียวกันกับตัวอย่าง D-glucosamine และ N-acetyl-D-glucosamine จึงกล่าวได้ว่ากลูโคซามีนที่เตรียมได้มีความบริสุทธิ์สูง



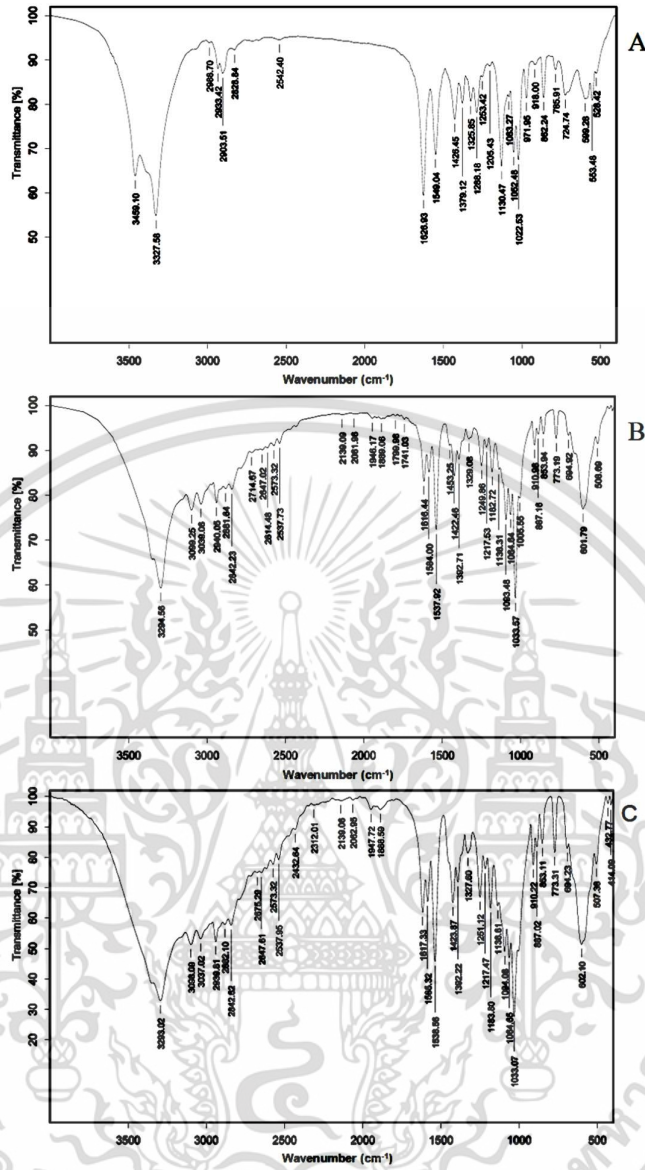
ภาพที่ 18 TLC โคโรมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine (A), กลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปู (B) และ D-glucosamine (C)

4.4.3 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR)

การตรวจสอบของพันธะที่เป็นองค์ประกอบของกลูโคซามีนด้วยเทคนิค Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ในการตรวจสอบใช้ปริมาณตัวอย่าง 0.1 กรัม โดยใช้เครื่อง EQUINOX55 และใช้ความถี่ในช่วง $4,000-400\text{cm}^{-1}$ พบว่า N-acetyl-D-glucosamine, D-glucosamine และกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูมีแสดงสเปกตรารายอยู่ในบริเวณ amide (ภาพที่ 19) ซึ่ง D-glucosamine (B) และกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูมี (C) มีสเปกตราแตกต่างจาก N-acetyl-D-glucosamine (A) โดยรูปแบบพีคของ N-acetyl-D-glucosamine ที่ amide A พบพีคทั้งหมด 2 พีค ซึ่งมีค่า wavenumber เท่ากับ 3327.58 cm^{-1} และ 3459.10 cm^{-1} ขณะที่ตัวอย่างกลูโคซามีนจากเปลือกปูมีรูปแบบของพีคในรูปแบบเดียวกันกับที่พบใน D-glucosamine

ซึ่งมีค่า wavenumber ใกล้เคียงกันคือ 3293.02cm^{-1} และ 3294.56cm^{-1} ตามลำดับ จากผลการวิเคราะห์ที่ใกล้เคียงกับการรายงานของ Benavente และคณะ (2015) ว่ากลูโคซามีนที่เตรียมจากเปลือกครัสเตเซียนแสดงแถบพีคที่ $3,370\text{-}3,300\text{cm}^{-1}$ ซึ่งสัมพันธ์กับการยืดหด (stretching) ของ O-H และ N-H ที่ $1,615\text{cm}^{-1}$ และ $1,094\text{cm}^{-1}$ ที่พบการตัดหมู่อะมิโน (NH_2 scissoring) กลายเป็นแอลกอฮอล์ปฐมภูมิ (secondary alcohol -OH) อีกทั้งสเปกตรัมของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้ายังแสดงถึงการตัดหมู่อะเซทิล (deacetylation) เนื่องจากไม่ปรากฏพีคที่ wavenumber เท่ากับ 1726cm^{-1} ซึ่งแสดงถึงพันธะระหว่าง C=O ที่พบในไคติน (Islam และคณะ, 2011) นอกจากนี้ที่ช่วง wavenumber เท่ากับ 1616.2 และ $1585\text{-}1535\text{cm}^{-1}$ เกี่ยวข้องกับการงอแบบสมมาตรและไม่สมมาตรของ NH_3^+ และในช่วง $3400\text{-}2500\text{cm}^{-1}$ ยังแสดงถึงการยืดหดของ NH_3^+ ในโครงสร้างของ GluHCl อีกด้วย (Pavia และคณะ, 2001; Silverstien และคณะ, 1991)





ภาพที่ 19 TLC โครมาโตแกรมของ N-acetyl-D-glucosamine (A) กลูโคซามินที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า (B) และ D-glucosamine (C)

4.5 การตรวจสอบคุณสมบัติของกลูโคซามิน

4.5.1 การวัดค่าสี

การวัดค่าสีของผลึกกลูโคซามินที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า แสดงผลดังตารางที่ 6 พบว่าผลึกกลูโคซามิน มีค่า L^* สูง (83.01) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ผลึกกลูโคซามินมีความสว่างมาก และค่า a^* ของผลึกกลูโคซามิน ให้ค่าเป็นบวก ซึ่งค่า a^* (5.03) ค่าที่บ่งบอกถึงความเป็นสีแดง และค่า b^* (-3.38) ให้ค่าเป็นลบ บ่งบอกความเป็นสีเหลือง และเมื่อนำค่า L^* a^* และ b^* มาวิเคราะห์หาค่าความขาว (whiteness) พบว่าค่าความขาวของกลูโคซามินที่เตรียมได้เท่ากับ 81.96 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ GluHCl ที่เตรียมได้จากรังไหม (*Bombyx mori* L.) คือ 83.56 และยังพบการศึกษาของ Potivas

และ Laokuldilok (2014) ได้มีการศึกษา whiteness ของ chitosan ที่เตรียมจากการกำจัดหมู่อะซิทิลของ chitin จากเปลือกกุ้งด้วย 50% NaOH (อัตราส่วน 1: 50, น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาในการย่อยต่างๆ คือ 120, 150, 180, 210, 240, 270 และ 300 นาที พบว่าค่า whiteness ของไคโตซานที่ระยะเวลาในการย่อยต่างๆอยู่ในช่วง 77-79 ซึ่งค่า whiteness ของไคโตซานที่เตรียมได้ มีค่าสูงกว่าไคติน (72.82) แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

จากการสังเกตของผู้วิจัยผลึกของกลูโคซามีนมีสีเทา ภาพที่ 20 อาจเป็นผลมาจากขั้นตอนของการเตรียมผลึกกลูโคซามีนในระหว่างการตกผลึกของกลูโคซามีนจากการลดปริมาณ และเพิ่มความเข้มข้นของตัวอย่าง ด้วยวิธีการระเหย (Evaporation) ที่ใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และการเก็บเกี่ยวผลผลิตโดยการใช้เอทานอล 95% และเอทานอล 99% ก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงสีของผลึกกลูโคซามีนได้

ตารางที่ 6 สีของกลูโคซามีนที่ผลิตจากเปลือกปูม้า

ค่าสี	Color Glucosamine crystal*
L*	83.01 ± 0.35
a*	5.03 ± 0.01
b*	-3.38 ± 0.08
Whiteness	81.96

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)



ภาพที่ 20 ผลึกกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้า

4.5.2 การตรวจสอบการละลายในสภาวะความเป็นกรด-ต่าง (pH) ต่างๆ

จากการทดลองการละลายของเปลือกปูม้าในสภาวะความเป็นกรด-ต่าง (pH) ต่างๆ แสดงดังตารางที่ 7 โดยการละลายจากผลึกกลูโคซามีนที่ผลิตได้ซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมมี pH เท่ากับ 4.38 ซึ่งเตรียมจากสารละลายที่มีกลูโคซามีนปริมาณ 100 มิลลิกรัม แต่เมื่อตรวจสอบพบว่าปริมาณกลูโคซามีนถึง 113.24 มิลลิกรัม คิดเป็น 100% ของการละลาย ซึ่งมีความผิดพลาดในระหว่างกระบวนการวิเคราะห์เล็กน้อย เมื่อเทียบกับการละลายของกลูโคซามีน 1, 3, 5, 7 และ 9 พบว่าที่ pH เท่ากับ 3 กลูโคซามีนสามารถละลายได้ดีที่สุด ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับสภาวะ pH อื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคซามีนที่ผลิตได้อยู่ในรูปของระดับสภาวะของความเป็นกรด เมื่อทำการละลายกับน้ำที่มีค่า pH เท่ากับ 3 ที่ใกล้เคียงกับค่า pH ของชุดควบคุม (4.38) จึงทำให้มีสภาวะเหมาะสมต่อการละลายได้ดีที่สุด

ตารางที่ 7 ผลของค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) ต่อการละลายของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า

pH	ปริมาณ glucosamine ในสารละลาย (มิลลิกรัม)*	การละลาย (%) *
ชุดควบคุม (4.38)	113.24 ± 1.39 ^f	100.00 ± 1.13 ^{ff}
1	51.15 ± 0.86 ^a	45.18 ± 1.08 ^a
3	76.62 ± 0.81 ^e	67.66 ± 0.72 ^e
5	60.02 ± 0.42 ^b	53.00 ± 0.37 ^b
7	61.02 ± 0.92 ^c	53.89 ± 0.81 ^c
9	63.59 ± 0.78 ^d	56.15 ± 0.69 ^d

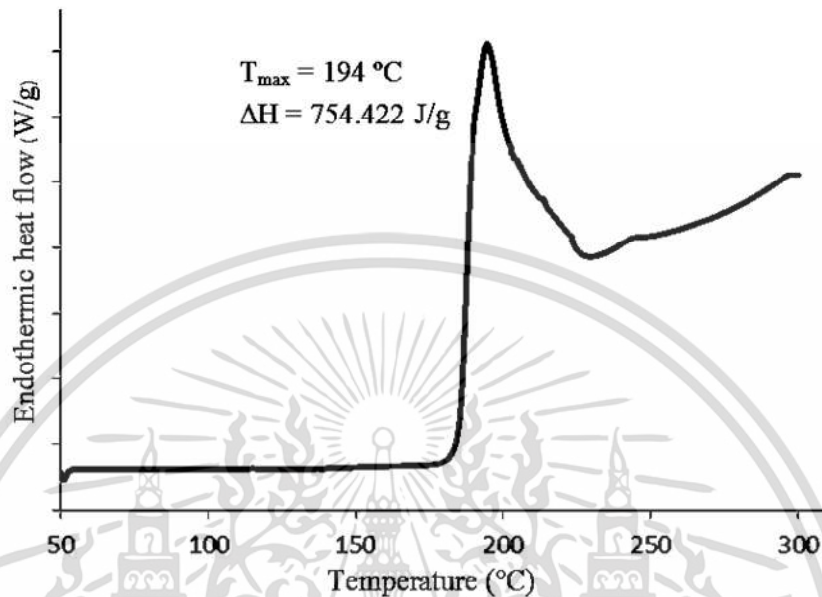
* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

† ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.5.3 การวิเคราะห์หาจุดหลอมเหลว

จากการทดลองการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวด้วยเทคนิค Differential Scanning calorimetry (DSC) ตามวิธีการของ Al-Hamidi และคณะ (2010) โดยนำตัวอย่างที่สกัดได้จากเปลือกปูม้ามาทำการวิเคราะห์ พบว่าที่ค่า peak สูงสุด อาจเกิดจากการหลอมละลายของตัวอย่าง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้าง โดยพบว่ากลูโคซามีนจากเปลือกปูม้ามีอุณหภูมิในการหลอมเหลวสูงสุด (T_{max}) ที่ เท่ากับ 194 องศาเซลเซียส และใช้พลังงานทั้งหมด (ΔH) เท่ากับ 753.422 J/g แสดงผลดังภาพที่ 21 ซึ่งผลการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวของกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้าใกล้เคียงกับจุดหลอมเหลวของ D-glucosamine ที่เตรียมจากเปลือกกุ้งบังคลาเทศคือ 192-194 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ D-glucosamine จากรังไหมที่มีจุดหลอมเหลวอยู่ในช่วง 189-193 องศา

เซลเซียส (Rosmiati และคณะ, 2016) ซึ่งแตกต่างจาก N-acetyl-D-glucosamine ที่มีจุดหลอมเหลวเท่ากับ 221 องศาเซลเซียส (Chen และคณะ, 2010) จากผลการวิเคราะห์จึงแสดงให้เห็นว่าตัวอย่างกลูโคซามีนจากเปลือกปูมามีจุดหลอมเหลวใกล้เคียงกับ D-glucosamine จากแหล่งอื่นๆ



ภาพที่ 21 DSC เทอร์โมแกรมของกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้า

4.6 การตรวจสอบความคงตัวของกลูโคซามีนระหว่างการให้ความร้อน

4.6.1 ความคงตัวของกลูโคซามีนในสภาวะ pH ต่างๆ

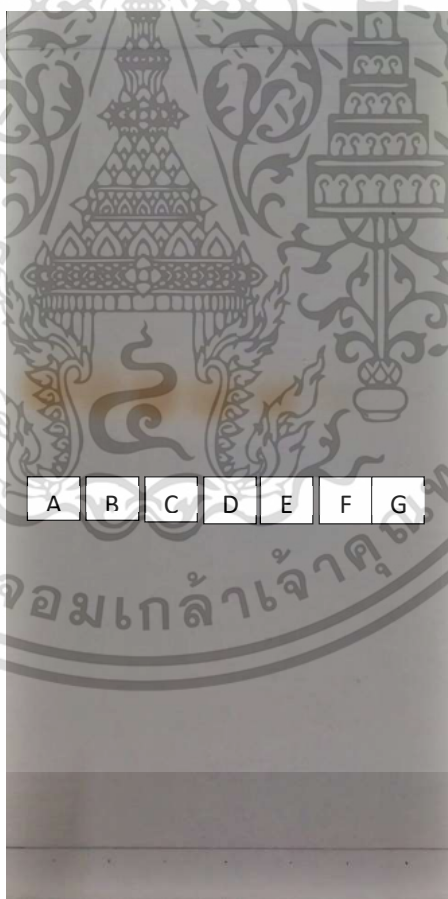
จากการศึกษาความคงตัวของกลูโคซามีนในสภาวะ pH ต่างๆ (1, 3, 5, 7, 9, 11, 13) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบว่าเมื่อ pH เพิ่มขึ้น ปริมาณกลูโคซามีนในสารละลายยังมีปริมาณลดลง ($P < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 8 โดยที่ pH เท่ากับ 1, 3 และ 5 มีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุดซึ่งมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) และปริมาณกลูโคซามีนในสารละลายที่พบต่ำที่สุดคือ pH เท่ากับ 13 (33.27 ± 0.12 มิลลิกรัม) ซึ่งสอดคล้องกับ TLC โครมาโตแกรม (ภาพที่ 22) ที่จะเห็นได้ว่าความเข้มของ band ค่อยๆจางลงเมื่อค่า pH เพิ่มขึ้นจึงสรุปได้ว่าสารละลายกลูโคซามีนคงตัวได้ดีในสภาวะที่ pH เป็นกรด (ช่วง pH เท่ากับ 1-5) และเมื่อค่า pH สูงขึ้น กลูโคซามีนจะไม่คงตัว และสามารถสลายตัวได้ ซึ่งใกล้เคียงกับการรายงานของ Poxon และ Walters (2012) ที่มีการศึกษาการพัฒนาความคงตัวของกลูโคซามีน พบว่ากลูโคซามีนจะเสถียรถ้ามีค่า pH ไม่เกิน 7 และการเพิ่มวิตามิน หรือแร่ธาตุลงในสารละลาย เช่นวิตามินเอ เบต้า-แคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี เป็นต้น จะช่วยเพิ่มความคงตัวของกลูโคซามีนได้

ตารางที่ 8 ปริมาณกลูโคซามีนในสภาวะ pH ต่างๆ

pH	ปริมาณ glucosamine ที่เหลืออยู่ในสารละลาย (มิลลิกรัม)*	ปริมาณกลูโคซามีนที่เหลือ (%)
1	75.93 ± 2.11 ^{et}	75.93
3	79.85 ± 1.32 ^e	79.85
5	76.95 ± 4.05 ^e	76.95
7	59.79 ± 1.74 ^d	59.79
9	49.15 ± 0.83 ^c	49.15
11	38.80 ± 2.64 ^b	38.80
13	33.27 ± 0.12 ^a	33.27

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

† ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 22 TLC โครมาโตแกรมของกลูโคซามีนที่ pH เท่ากับ 1 (A), 3 (B), 5 (C), 7 (D), 9 (E), 11 (F), 13 (G)

4.6.2 ความคงตัวของระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ

จากการศึกษาความคงตัวของกลูโคซามีนที่เหลือในระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ (0, 10, 20, 40, 60, 90 และ 120 นาที) โดยเตรียมจากสารละลายกลูโคซามีนความเข้มข้น 1% (น้ำหนักต่อปริมาตร) แสดงผลเป็นปริมาณกลูโคซามีนที่เหลือในสารละลาย (มิลลิกรัม) และ % กลูโคซามีนที่เหลือในสารละลาย ดังแสดงในตารางที่ 9 พบว่าโดยรวมแล้วเมื่อระยะเวลาในการฆ่าเชื้อเพิ่มขึ้นปริมาณกลูโคซามีนในสารละลายที่วิเคราะห์ได้มีค่าลดลง ($P < 0.05$) โดยในช่วงระยะเวลาการฆ่าเชื้อ 30-60 นาที ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าลดลงอย่างมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) หลังจากนั้นจะมีค่าลดลงอีกหลังจากเพิ่มระยะเวลาในการฆ่าเชื้อสูงขึ้น และในช่วง 90-120 นาที พบว่าปริมาณกลูโคซามีนมีค่าลดลงอย่างมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยในงานวิจัยนี้ได้เลือกระยะเวลาในการฆ่าเชื้อที่ 20 นาที เนื่องจากยังคงปริมาณกลูโคซามีนที่เหลือในสารละลายถึง 69.84 มิลลิกรัม และยังมีระยะเวลาในการฆ่าเชื้อสูงกว่า F_0 (11.2)

ภาพที่ 23 แสดง TLC โคโรมาโตแกรมของกลูโคซามีนที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าความเข้มของ band ไม่ได้มีแนวโน้มลดลงอาจสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวของกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้าโดยเทคนิค DSC โดยพบว่ากลูโคซามีนจากเปลือกปูม้ามีอุณหภูมิในการหลอมเหลวสูงสุด (T_{max}) เท่ากับ 194 องศาเซลเซียส ดังนั้นอุณหภูมิที่ใช้ฆ่าเชื้ออยู่ที่ 120 องศาเซลเซียสซึ่งมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลว จึงอาจส่งผลกระทบต่อการสลายตัวของกลูโคซามีนน้อย ทำให้ยังเห็นความเข้มของ band ชัดเจน

ตารางที่ 9 ปริมาณกลูโคซามีนที่เหลือจากระหว่างการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลาการฆ่าเชื้อ (นาที)	ปริมาณ glucosamine ในสารละลาย (มิลลิกรัม)*	ปริมาณกลูโคซามีนที่เหลือ (%)
0	80.20 ± 0.87 ^{a†} (pH 4.38)	80.20
10	74.03 ± 0.94 ^b	74.03
20	69.84 ± 2.65 ^c	69.84
30	65.90 ± 1.02 ^d	65.90
40	65.30 ± 2.34 ^d	65.30
60	64.52 ± 0.94 ^d	64.52
90	58.53 ± 0.48 ^e	58.53
120	56.36 ± 1.96 ^e	56.36

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

†ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 23 TLC โคโรมาโตแกรมของกลูโคซาไมนที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 120 องศาเซลเซียสนาน 0 (A), 10 (B), 20 (C), 30 (D), 40 (E), 60 (F), 90 (G) และ 120 (H) นาที

4.7 การศึกษาผลของปริมาณกลูโคซาไมนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซาไมนบรรจุกระป๋อง

4.7.1 การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซาไมนบรรจุกระป๋อง

จากการศึกษาผลของปริมาณกลูโคซาไมนต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซาไมนบรรจุกระป๋อง โดยการเติมกลูโคซาไมนที่เตรียมได้จากเปลือกบูม่าที่ความเข้มข้นต่างๆคือ 0%, 0.18% (250 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง), 0.36% (500 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง) และ 0.54% (750 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง) (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงในข้าวต้มก่อนนำไปบรรจุกระป๋อง และผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 24) ซึ่งผลการศึกษาพบว่าปริมาณกลูโคซาไมนส่งผลต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซาไมนบรรจุกระป๋องโดยเฉพาะค่าสี (ตารางที่ 10) ซึ่งเมื่อนำน้ำข้าวต้มเสริมกลูโคซาไมนบรรจุกระป๋องที่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อแล้วมาวิเคราะห์ค่าสี พบว่าข้าวต้ม

เสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) เพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) แต่เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกลูโคซามีน พบว่าค่าความสว่าง (L^*) และ ค่าสีเหลือง (b^*) มีค่าลดลง ส่วนค่าสีแดง (a^*) มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่า L^* a^* และ b^* นั้นอาจเป็นผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องจากข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องใช้กระบวนการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ ซึ่งมีอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อสูงถึง 120 องศาเซลเซียส โดยการให้ความร้อนส่งผลให้กลูโคซามีนซึ่งเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสเกิดการแตกสลาย และเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดทำให้เกิดสีน้ำตาลเข้มขึ้น (Ogutu และคณะ, 2017) ซึ่งปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างหมู่คาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซ์ กับหมู่อะมิโนของโปรตีนที่อุณหภูมิสูง ซึ่งปฏิกิริยานี้ทำให้เกิด Schiff base และเกิดการจัดเรียงตัวใหม่แบบ Amadori rearrangement ของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นอัลโดส หรือจัดเรียงตัวแบบ Heyns rearrangement ของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เป็นคีโตส จากนั้นเกิดการแตกสลาย และเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นสารสีน้ำตาล คือเมลานอยด์ดิน (Hong และ Betti, 2016) ซึ่งมีผลทำให้ค่าความสว่าง (L^*) ลดลง ส่วนค่าสีเหลือง (b^*) ที่ลดลงอาจมีผลมาจากค่าสีแดง (a^*) ที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากข้าวกล้องหอมมะลิแดงมีองค์ประกอบของรำข้าว ซึ่งในรำข้าวพบว่ามีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญคือโพรแอนโธไซยานินอยู่ในประมาณ 716.6 mg CAE/100 g (Goufo และ Trindade, 2014) ซึ่งโพรแอนโธไซยานินในข้าวพันธุ์สีแดงเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ และจะละลายออกมาเมื่อได้รับความร้อน (Finocchiaro และคณะ, 2007) อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Thitipramote (2016) ที่ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) ในข้าวกล้องหอมมะลิแดง พบว่ามีปริมาณ โพรแอนโธไซยานินอยู่ในประมาณ 3.168 mg CE/mg extract แต่ไม่พบแอนโธไซยานินโดยโพรแอนโธไซยานินเป็นโอลิโกเมอร์ หรือโพลีเมอร์ของฟีนอลิกที่ไม่มีสี จะประกอบด้วยหน่วยของ flavan-3-ol ซึ่งโพรแอนโธไซยานินสามารถเปลี่ยนเป็นแอนโธไซยานินที่เป็นสารที่ให้สีแดงได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง (McCallum และ Walker, 1990) ซึ่งสัมพันธ์กับการรายงานของ Reed (2001) กล่าวว่าโพรแอนโธไซยานินในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงภายใต้ความร้อน สามารถเกิดปฏิกิริยา auto-oxidation เกิดเป็นสารตัวกลางก่อนจะเกิดปฏิกิริยา oxidation กลายเป็นแอนโธไซยานินที่เป็นสารที่ให้สี หรือโพรแอนโธไซยานิน ซึ่งเกิดปฏิกิริยา oxidation ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนเช่น phlobatannins and phlobaphenes ซึ่งมีสีแดง (Finocchiaro และคณะ, 2007)

เมื่อวิเคราะห์ค่าความขุ่น Hardness stickiness และความหนืดของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีความเข้มข้นของกลูโคซามีนต่างๆคือ 0.18%, 0.36% และ 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) พบว่าค่าความขุ่น hardness stickiness และความหนืดของตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกลูโคซามีน แต่มีความแตกต่างกันกับชุดควบคุม โดยค่าความขุ่นของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องในทุกความเข้มข้นมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม ($P < 0.05$) โดยกลูโคซามีนจัดว่าเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส (Chen และคณะ, 2010) ดังนั้นจึงสอดคล้องกับการรายงานของ Chen และคณะ (2014) ที่ได้ศึกษาผลของน้ำตาลต่อ

ลักษณะทางเคมีกายภาพของแป้งเชิงซ้อนจากแป้งมันฝรั่งกับโพลีแซคคาไรด์จากเมล็ดแฟล็กซ์ พบว่า อุณหภูมิที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature) จะเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระดับ ความเข้มข้นของน้ำตาล ซึ่งเป็นผลมาจากการไฮเดรชันของน้ำตาลที่ส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระ (free water) สำหรับไฮเดรชันกับแป้งลดลง จึงทำให้ขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (Eliasson, 1992) จึงส่งผลให้ค่าความชุ่มของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุมซึ่งสัมพันธ์กับ ค่า hardness ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีค่ามากกว่าชุดควบคุม เนื่องจากเม็ด สตาร์ชที่อยู่ในสารละลายน้ำตาลจะไม่สามารถพองตัวได้ดีเมื่อเทียบกับสภาวะปกติ (Shama และ คณะ, 2008) โดยในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคส การไหลออก (leaching out) ของอะไมโลส (amylose) จะลดลง ซึ่งทำให้โมเลกุลของน้ำตาลสามารถแทรกซึมเข้าไปในเม็ดสตาร์ชและทำปฏิกิริยากับสายอะ ไมโลสในส่วนอสัณฐาน (amorphous regions) ของโมเลกุลสตาร์ช โดยการเข้าถึงของน้ำตาลใน ส่วนอสัณฐานของโมเลกุลสตาร์ชมีผลต่อการพองตัวของเม็ดสตาร์ช โดยสาเหตุที่ทำให้การพองตัวของ เม็ดสตาร์ชลดลงมาจากความเข้มข้นของน้ำตาลที่สูงขึ้น (Ahmad และ Williams, 1999) ซึ่ง สอดคล้องกับการรายงานของ Sun และคณะ (2014) ที่ได้ศึกษาค่าความแข็ง (hardness) ของเจ ลจากแป้งข้าวโพดโดยเปรียบเทียบเมื่อใส่ไซรัป 3 ชนิด คือกลูโคส ฟรักโทส และมอลโทสที่มีความ เข้มข้นต่างกัน ซึ่งจะเห็นได้ว่าไซรัปที่มีความเข้มข้นต่ำ ส่งผลให้ค่าความแข็งต่ำ แต่เมื่อเพิ่มความ เข้มข้นของไซรัปทั้ง 3 ชนิดสูงถึง 13% และ 25% จะส่งผลให้ค่าความแข็งเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่ง สาเหตุที่ทำให้ค่าความแข็งเพิ่มขึ้น คือในระบบที่มีสตาร์ชและน้ำตาล ปริมาณน้ำอิสระ (free water) จะลดลง ทำให้ความเข้มข้นของอะไมโลสเพิ่มขึ้น ซึ่งโครงสร้างของโมเลกุลสตาร์ชจะเกิดโครงข่ายสาม มิติมากขึ้น ส่งผลให้ค่าความแข็งของเจลสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบการรายงานของ Gunaratne และ คณะ (2007) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของซูโครส กลูโคส และกลีเซอรอลต่อค่าความแข็งของเจลจากแป้ง สาลี พบว่าเมื่อเพิ่มซูโครส และกลูโคสจะส่งผลให้ค่าความแข็งของเจลจากแป้งสาลีเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากซูโครส และกลูโคสสามารถเพิ่มจุดเชื่อมต่อ (junction zones) ของสายอะไมโลสได้ จึง สามารถเปลี่ยนลำดับการเชื่อมต่อ และการเชื่อมระหว่างโมเลกุลของสายโซ่อะไมโลสได้ ส่งผลให้ เจลอะไมโลสเกิดโครงข่ายที่แข็งแรง ซึ่งสารที่มีอิทธิพลต่อค่าความแข็งของเจลจากแป้งสาลีมากที่สุด คือกลูโคส ซูโครส และกลีเซอรอล ตามลำดับ

ค่า hardness ยังสัมพันธ์กับค่า stickiness อีกด้วย โดยค่า stickiness ของข้าวต้มเสริม กลูโคซามีนบรรจุ กระป๋องมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม ($P < 0.05$) โดยปกติเม็ดแป้งเมื่ออยู่ในน้ำเย็นจะดูด ซึมน้ำและพองตัวได้เล็กน้อยแต่เมื่อให้ความร้อนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงในภายในโมเลกุลของเม็ดแป้ง พันธะไฮโดรเจนจะคลายตัวลง จากนั้นเม็ดแป้งจะดูดซึมน้ำเข้าไปภายใน และพองตัวมากขึ้นแบบผัน กลับไม่ได้ เรียกว่าการเกิดเจลาทีไนซ์เซชัน ซึ่งการดูดซึมน้ำเข้าไปส่งผลให้แกรนูลขยายตัว และเกิด การแตกออกของอะไมโลส (Tester และ Morrison, 1990) แต่เนื่องจากอิทธิพลของกลูโคซามีนซึ่ง เป็นอนุพันธ์ของกลูโคสที่มีต่อเม็ดสตาร์ชที่ทำให้เม็ดสตาร์ชมีค่าความแข็งสูงขึ้นกว่าชุดควบคุมซึ่งเป็น สภาวะที่ไม่มีกลูโคซามีน จึงส่งผลให้ปริมาณอะไมโลสที่แตกออกมามีปริมาณน้อย ทำให้ค่า

stickiness ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่วิเคราะห์ได้มีค่าน้อย และอาจสอดคล้องกับอุณหภูมิในการเกิดเจล (gelatinization temperature) ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ทำให้เม็ดแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และสูญเสียโครงสร้างแบบ birefringence (Ratnayake และ Jackson, 2006) โดยน้ำตาลซูโครส กลูโคส ฟรักโทส และมอลโทส สามารถเพิ่มอุณหภูมิในการเกิดเจล (Tgel) และพลังงานในการเกิดเจล (gelatinization enthalpy) ได้ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแป้ง ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาล (Ahmad และWilliams, 1999) นอกจากนี้ยังพบการรายงานของ Babic และคณะ (2009) ที่ทำการศึกษาอิทธิพลของทรีฮาโลส กลูโคส ฟรักโทส และซูโครส ต่อการเกิดเจลที่ในซีเซชันของแป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลัง วิเคราะห์ด้วยเครื่อง DSC พบว่าทรีฮาโลส กลูโคส ฟรักโทส และซูโครส สามารถเพิ่มอุณหภูมิในการเกิดเจล (Tgel) และพลังงานในการเกิดเจล (gelatinization enthalpy) ได้ในแป้งข้าวโพด และแป้งมันสำปะหลังได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งน้ำตาลที่มีอิทธิพลต่อแป้งข้าวโพดจากน้อยไปมากคือ ฟรักโทส < กลูโคส < ทรีฮาโลส < ซูโครส และน้ำตาลที่มีอิทธิพลต่อแป้งมันสำปะหลังจากน้อยไปมากคือ ฟรักโทส < ทรีฮาโลส < ซูโครส < กลูโคส เนื่องจากน้ำตาลสามารถจับกับน้ำส่งผลให้ปริมาณน้ำอิสระ (free water) ลดลง ทำให้ความสามารถในการเกิดเจลที่ในซีเซชันลดลงจึงต้องใช้พลังงานในการเกิดเจลสูงขึ้น และอันตรกิริยาของน้ำตาลที่มีต่อสายโซ่ของแป้งในบริเวณอสัณฐานของเม็ดแป้ง ส่งผลให้ต้องการพลังงานในการเกิดเจลสูงขึ้น (Spies และ Hosseney, 1982) ดังนั้นข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีอุณหภูมิในการเกิดเจลสูงกว่าชุดควบคุม จึงส่งผลให้ค่า stickiness น้อยกว่าชุดควบคุม นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ค่าความหนืดของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม ($P < 0.05$) เนื่องจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้นจึงสรุปได้ว่าน้ำตาลมีผลในการเพิ่มอุณหภูมิในการเกิดเจล และพลังงานในการเกิดเจล จึงทำให้ที่ระยะเวลา และอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่เท่ากัน ตัวอย่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีการแตกออกของอะไมโลสน้อยกว่าชุดควบคุม ดังนั้นค่าความหนืดที่วิเคราะห์ได้จึงมีค่าน้อยกว่าชุดควบคุม ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Sharma และคณะ (2008) ที่ได้ศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสต่อคุณสมบัติด้านความหนืดของแป้งมันสำปะหลังพบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกลูโคส (0%, 10.71%, 19.35%, 32.43%) ส่งผลให้ค่าความหนืดของแป้งมันสำปะหลังลดลง ($P < 0.05$) เนื่องจากเม็ดแป้งในสารละลายน้ำตาลไม่สามารถพองตัวได้ดีเท่ากับสารละลายปกติ

จากผลการศึกษาผลของปริมาณกลูโคซามีนต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า L^* , a^* , b^* , ความขุ่น ความหนืด ค่า hardness และ stickiness ที่กล่าวมาข้างต้น จึงสามารถสรุปกลไกที่สามารถอธิบายอิทธิพลของน้ำตาลต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในการเกิดเจลดังนี้ อันตรกิริยาระหว่างแป้งและน้ำตาล (Hansen และคณะ, 1989; Lim และคณะ, 1992) การสร้างสารเชิงซ้อนของแป้ง-น้ำตาล (Tomasik และคณะ, 1995) ความสามารถของน้ำตาลในการแย่งจับน้ำกับแป้งส่งผลให้ค่าวอเตอร์แอคทิวิตีลดลง (Derby และคณะ, 1975)

4.7.2 การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

4.7.2.1 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการเติมกลูโคซามีนที่เตรียมได้จากเปลือกปูม้าที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0%, 0.18%, 0.36% และ 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ตารางที่ 10) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของกลูโคซามีน ค่า pH ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยชุดควบคุมมีค่า pH เท่ากับ 6.95 และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีนสูงถึง 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ค่า pH ลดลงเท่ากับ 5.33 เนื่องจากกลูโคซามีนที่เตรียมได้เป็นกลูโคซามีนไฮโดรคลอไรด์ (GluHCl) ซึ่งเตรียมด้วยวิธีการใช้กรด HCl ดังนั้นเมื่อข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อซึ่งใช้อุณหภูมิในการฆ่าเชื้อสูงถึง 120 องศาเซลเซียส และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีน ทำให้กรดไฮโดรคลอริกในกลูโคซามีนจะเกิดการแตกตัวและให้โปรตอน (H^+) จึงมีค่าความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้ยังเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคซามีน ค่า pH ที่วัดได้จึงมีค่าลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Wang และคณะ (2011) ที่มีการศึกษาการสลายตัวของสารละลาย N-Acetyl-d-glucosamine และ d-Glucosamine ที่ความเข้มข้นต่างๆคือ 0.25, 0.5, และ 1.0% (น้ำหนักต่อปริมาตร) และให้ความร้อนที่ 190 และ 200 องศาเซลเซียสตามลำดับพบว่าค่า pH ของ N-Acetyl-d-glucosamine และ d-Glucosamine ลดลงเมื่อความเข้มข้นของกลูโคซามีนทั้งสองชนิดเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออนสูงขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 10 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่ความเข้มข้นต่างๆ

คุณลักษณะ	กลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (%)*			
	0% (ชุดควบคุม)	0.18%	0.36%	0.54%
L*	17.24±0.62 ^{a†}	27.75±2.14 ^d	24.84±1.92 ^c	22.32±1.05 ^b
a*	11.75±0.79 ^b	10.54±0.52 ^a	16.34±0.89 ^c	20.27±1.22 ^d
b*	9.34±0.66 ^a	15.46±1.46 ^c	12.58±0.79 ^b	9.41±0.69 ^a
ความขุ่น (NTU)	298.35±4.91 ^b	264.50±1.83 ^a	254.70±1.26 ^a	266.67±1.57 ^a
Hardness (N)	464.81±7.39 ^a	502.90±7.6 ^b	506.13±4.76 ^b	507.77±4.98 ^b
Stickiness	53.25±1.67 ^b	42.84±2.02 ^a	43.32±2.04 ^a	43.70±2.46 ^a
ความหนืด (cP)	36.84±2.66 ^b	10.47±2.16 ^a	10.93±1.94 ^a	11.32±1.15 ^a
pH	6.95±0.02 ^d	5.98±0.01 ^c	5.85±0.02 ^b	5.33±0.02 ^a

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

†ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



ภาพที่ 24 ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ (0% (A), 0.18% (B), 0.36% (C), 0.54% (D))

4.7.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.18%, 0.36% และ 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) โดยเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่เติมกลูโคซามีนแสดงดังตารางที่ 11 พบว่าผู้ทดสอบกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 60-70 ปีให้คะแนนข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้น 0.18% และ 0.36% (น้ำหนักต่อปริมาตร) แตกต่างจากชุดควบคุมเล็กน้อยและข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้น 0.54% (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีความแตกต่างกับชุดควบคุมปานกลาง อาจเนื่องมาจากเมื่อเพิ่มปริมาณกลูโคซามีนส่งผลให้ลักษณะเนื้อสัมผัส สี กลิ่นรสมีความแตกต่างจากชุดควบคุมมากขึ้น โดยเฉพาะรสเปรี้ยวที่เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มปริมาณกลูโคซามีน จึงเป็นข้อจำกัดในด้านรสชาติซึ่งจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงให้เห็นว่าระดับความเข้มข้นที่ผู้วิจัยควรเลือกคือข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้น 0.36% (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 11 การทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆกับชุดควบคุม

ปริมาณกลูโคซามีน	ค่าความแตกต่างโดยรวม (Difference from control test)*
0.18%	1.2333 ± 0.89 ^{a†}
0.36%	1.5667 ± 0.93 ^a
0.54%	2.5667 ± 1.28 ^b

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=30)

† ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.8 การศึกษาผลของปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

4.8.1 การตรวจสอบคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

จากการศึกษาผลของปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง โดยการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0%, 0.5% 1% และ 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงในข้าวต้มก่อนนำไปบรรจุกระป๋อง และผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ (ภาพที่ 25) ซึ่งผลการศึกษา พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติส่งผลต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง โดยเฉพาะค่าสี และความหนืด (ตารางที่ 12) โดยเมื่อเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติให้สูงขึ้น ค่าความสว่าง (L^*) และค่าสีเหลือง (b^*) มีค่าเพิ่มขึ้น ($P < 0.05$) ส่วนค่าสีแดง (a^*) มีค่าลดลง ($P < 0.05$) โดยจากผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Zhang และคณะ (2018) ที่มีการเติมคอลลาเจนไฮโดรไลสจากหนังหมูลงในเครื่องต้มจากดอกเบญจมาศบรรจุกระป๋องที่ผ่านกระบวนการสเตอริไลซ์เชชันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบว่าเมื่อใส่คอลลาเจนไฮโดรไลสจำนวน 0.8 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้ค่า L^* ของเครื่องต้มจากดอกเบญจมาศมีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนค่า a^* และ b^* มีค่าลดลงและยังสอดคล้องกับการรายงานของ Huda และคณะ (2013) ที่มีการเติมคอลลาเจนจากเท้าเป็ดจำนวน 2% ผสมกับเกลือ 3% ลงในซุริมิจากปลาชาร์ดิน และซุริมิจากปลาทรายแดง จำนวน 95% พบว่าซุริมิจากปลาชาร์ดิน และซุริมิจากปลาทรายแดงมีสีที่ดีขึ้นเมื่อเติมคอลลาเจนจากเท้าเป็ด โดยมีค่าความสว่าง (L^*) เพิ่มสูงขึ้นจาก 66.47 เป็น 66.89 (ปลาทรายแดง) และจาก 62.32 เป็น 63.60 (ปลาชาร์ดิน)

การเปลี่ยนแปลงค่าสีของข้าวต้มอาจมีสาเหตุมาจากคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติมีสีเหลืองอ่อน แล้วนำมาใส่ในข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูงถึง 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาทีทำให้น้ำตาลในผลิตภัณฑ์เกิดการแตกสลาย และเกิดเป็นสารโพลีเมอร์ของอัลดีไฮด์หรือคีโตนซึ่งทำให้เกิดสีน้ำตาลเข้มขึ้น (Kamuf และคณะ, 2003) จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดซึ่งจะเกิดขึ้นกับระบบที่มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบ โดยน้ำตาลรีดิวซ์ เช่น กลูโคส (glucose) และฟรุคโตส (fructose) จะทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนเกิดเป็นสารประกอบกลูโคส-เอมีน (glucose-amine compound) ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีสีน้ำตาลซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดได้ทั้งในสภาวะที่มีความร้อน และไม่มีความร้อนเข้ามาเกี่ยวข้องในปฏิกิริยา (Plakas และคณะ, 1985) นอกจากนี้ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุ กระป๋องที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติยังมีค่าความขุ่นลดลงเมื่อเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติเนื่องมาจากคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติมีหรือเจลาตินมีคุณสมบัติเป็นสารอเล็กโทรไลต์จึงทำให้สามารถตกตะกอนอนุภาคแขวนลอยหรือคอลลอยด์ที่ไม่คงตัวได้ (Johnston-Banks, 1990) นอกจากนี้คอลลาเจนที่ผ่านการ

ไฮโดรไลซ์ยังสามารถป้องกันการตกตะกอน และสามารถช่วยแก้ปัญหาด้านความขุ่นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มได้ (Bilek และ Bayram, 2015) โดย Stocké (1998) รายงานว่าเจลาตินมักใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำแอปเปิ้ล ซึ่งใช้ในกระบวนการทำให้น้ำแอปเปิ้ลใสทำหน้าที่เป็นสารช่วยตกตะกอน โดยจะไปเกาะกับอนุภาค หรือใช้ไอออนทำให้อนุภาครวมตัวกัน และเกิดการตกตะกอนตามหลักของแรงโน้มถ่วงโลก ซึ่งความแตกต่างของไอออนตามธรรมชาติของโปรตีน โพลีฟีนอล และสารช่วยตกตะกอนจะส่งผลให้อนุภาครวมตัวกัน และเกิดการตกตะกอน ทำให้สามารถกำจัดอนุภาคที่ทำให้เกิดความขุ่นของสารละลายได้ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Zhang และคณะ (2018) ที่ศึกษาผลของคอลลาเจนไฮโดรไลสจากหนังหมูต่อเครื่องดื่มจากดอกเบญจมาศบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที พบว่าคอลลาเจนไฮโดรไลสจากหนังหมูมีผลต่อความใสของเครื่องดื่มจากดอกเบญจมาศบรรจุกระป๋อง โดยปริมาณที่ทำให้ค่าความส่องผ่านของแสง (%T) สูงที่สุดคือ 0.8 กรัม/ลิตร นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติยังส่งผลต่อค่า hardness และค่า stickiness ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องโดยปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลให้ค่า hardness มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นส่วนค่า stickiness มีค่าลดลง ($P < 0.05$) เนื่องจากปริมาณโปรตีนมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวสุก โดยโปรตีนจะสร้างโครงข่ายของโปรตีนรอบๆเม็ดสตาร์ช และสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับสตาร์ชในระหว่างการหุงต้มเม็ดสตาร์ชจึงดูดซึมน้ำอย่างจำกัด ทำให้การแตกออกของอะไมโลสในระหว่างการหุงต้มลดลง ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวได้น้อยลง (Hamaker และคณะ, 1991; Hamaker และ Griffin, 1993; Fitzgerald และคณะ, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Suwannaporn และคณะ (2007) ที่ได้ศึกษาผลของปริมาณอะไมโลส และปริมาณโปรตีนในข้าวทั้งหมด 9 สายพันธุ์ต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าว พบว่าปริมาณโปรตีนคือปัจจัยหลักที่มีอิทธิพลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวโดยข้าวที่มีปริมาณโปรตีนสูงจะมีเนื้อสัมผัสที่แข็งกว่า และมีความเหนียวน้อยกว่าข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ

นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติยังมีค่าความหนืดเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ ($P < 0.05$) เนื่องจากสารละลายเจลาตินเป็นสารละลายที่มีความหนืดสูงเมื่อเทียบกับสารละลายโปรตีนอื่นๆ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายเจลาตินให้สูงขึ้น จึงทำให้สายโซ่ของเจลาตินที่มีความยืดหยุ่นสูงมีความสามารถในการขยายตัวหรือหดตัวของสายโซ่เพิ่มสูงขึ้นด้วย (Domenek และคณะ, 2008) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Mahjoorian และคณะ (2013) ได้ศึกษาผลของระดับความเข้มข้นของเจลาตินจากปลาเตอร์เจียนขาวต่อความหนืดของสารละลายเจลาติน พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของเจลาติน (0.5, 1, 2, และ 3) % (w/v) ส่งผลให้สารละลายเจลาตินจากปลาเตอร์เจียนขาวมีค่าความหนืดสูงขึ้น อีกทั้งยังสอดคล้องกับการรายงานของ Sai และ Babu (2001) ที่ศึกษาผลของความเข้มข้นของคอลลาเจนที่เตรียมได้จากหนังกบนา (*Rana tigerina*) ที่มีต่อความหนืด โดยนำคอลลาเจนจากหนังกบนาละลายในกรดอะซิติกความเข้มข้นต่างๆ (0.1, 0.2, 0.4 และ 0.6%) และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของคอลลาเจนให้สูงขึ้น พบว่าค่าความหนืดมีค่าสูงขึ้นด้วย

ซึ่งค่าความหนืดที่เพิ่มสูงขึ้นนี้เป็นผลมาจากพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุล และระหว่างโมเลกุล นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความหนืดของเจลาติน คือความเข้มข้นของเจลาติน อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง และเกลือ (Wasswa และคณะ, 2007)

ตารางที่ 12 คุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่างๆ

คุณลักษณะ	คอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่างๆ (%)*			
	0% (ชุดควบคุม)	0.5%	1%	2%
L*	27.73±0.49 ^{a†}	28.84±0.19 ^b	29.22 ±0.22 ^c	30.12±1.14 ^d
a*	13.20±0.68 ^c	10.68±0.45 ^b	9.34±0.59 ^a	8.86±0.88 ^a
b*	10.13±0.28 ^a	11.40±0.59 ^b	11.68±0.69 ^b	14.13±0.34 ^c
ความขุ่น (NTU)	270.16±2.05 ^c	265.67 ±1.56 ^b	262.48 ±1.69 ^a	260.23 ±2.18 ^a
Hardness (N)	502.97±2.77 ^a	513.94±2.58 ^b	518.63±3.09 ^b	518.90±4.08 ^b
Stickiness	57.56±1.44 ^c	51.37±1.92 ^b	45.17 ±2.52 ^a	44.29±1.63 ^a
ความหนืด (cP)	11.83±0.39 ^a	12.68 ±0.13 ^b	13.99±0.77 ^c	16.32±0.65 ^d
pH	5.86±0.01 ^a	5.85±0.01 ^a	5.85±0.01 ^a	5.87±0.21 ^a

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=5)

†ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 25 ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นต่างๆ (0% (A), 0.5% (B), 1% (C), 2% (D))

4.8.2 คุณสมบัติทางเคมี

4.8.2.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0%, 0.5%, 1% และ 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) (ตารางที่ 12) พบว่าเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ ค่าความเป็นกรด-ด่างของข้าวต้มบรรจุกระป๋องมีค่าคงที่ ($P < 0.05$) เนื่องจากการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.9 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรด-ด่างของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องชุดควบคุมที่ไม่มีคอลลาเจน จึงทำให้เมื่อเพิ่มปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติจึงไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

4.8.3 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นต่างๆ คือ 0%, 0.5%, 1% และ 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยวิธี 5-Point Hedonic Scale แสดงดังตารางที่ 13 พบว่าผู้ทดสอบกลุ่มผู้สูงอายุตั้งแต่ 60-70 ปี ให้คะแนนความชอบคุณลักษณะด้านการกลืนได้ง่ายของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นต่างๆคือ 0%, 0.5%, 1% และ 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่ต่างกัน ($P > 0.05$) ส่วนคะแนนด้านความชอบโดยรวมของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้น 0.5% มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด ($P < 0.05$) โดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 4.3333 แสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบประเมินข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องในระดับชอบมาก ซึ่งเมื่อประเมินจากผลการทดสอบทางเคมีกายภาพของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้น 0.5% ยังมีความเหมาะสมทั้งในด้านสี ความชุ่ม ความหนืดสุที่เหมาะสมและไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างอีกด้วยดังนั้นระดับความเข้มข้นที่ผู้วิจัยควรเลือกเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป คือข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้น 0.5% (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ตารางที่ 13 การทดสอบความแตกต่างระหว่างข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นต่างๆ

ปริมาณคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติ	การกลืนได้ง่าย*	คะแนนความชอบโดยรวม*
0%	4.0333 ± 0.76 ^{a†}	3.8 ± 0.85 ^a
0.5%	4.3667 ± 0.72 ^a	4.3333 ± 0.84 ^b
1%	4.1667 ± 0.79 ^a	4.1333 ± 0.68 ^{ab}
2%	3.9333 ± 1.05 ^a	4.0667 ± 0.91 ^{ab}

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=30)

†ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรกำกับต่างกันในแนวนอนแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

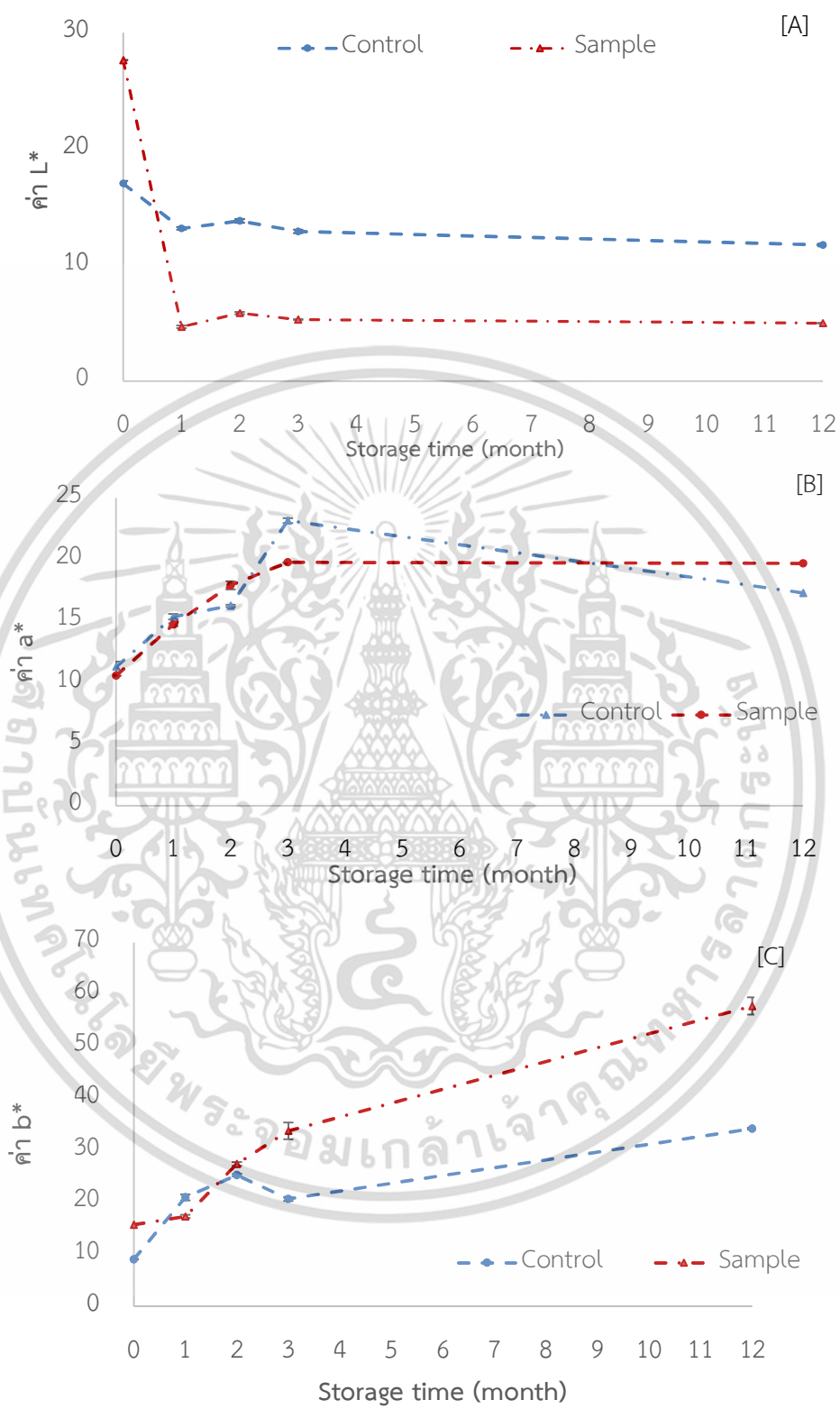
4.9 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม กระป๋องในระหว่างการเก็บรักษา

4.9.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

การติดตามการเปลี่ยนแปลงของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม โดยมีกลูโคซามีน 0.36% การคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 เดือน จากนั้นวัดค่าการเปลี่ยนแปลงด้านต่างๆในเดือนที่ 0, 1, 2, 3 และเดือนที่ 12 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงในหลายๆคุณลักษณะ โดยเมื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าสี L* [A], a* [B] และ b* [C] ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องกับชุดควบคุมที่ไม่มีกลูโคซามีน และคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งแสดงดังภาพที่ 26 พบว่าค่าความสว่าง (L*) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง และชุดควบคุม มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่า L* ที่มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนค่า a* ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีค่าเพิ่มสูงขึ้นจากนั้นมีค่าคงที่ ส่วนชุดควบคุมมีค่าเพิ่มสูงขึ้นจากนั้นมีแนวโน้มลดลง มีสาเหตุมาจากการเปลี่ยนแปลงของโพรแอนโธไซยานินดินซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเป็นรงควัตถุในพันธุ์ข้าวที่มีสีแดงที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยของ flavan-3-ol เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี (Min และคณะ, 2011) ซึ่งสีแดงของข้าวจะมีสีเข้มขึ้นเมื่อเมล็ดข้าวผ่านกระบวนการที่ทำให้สุก นอกจากนี้การเปลี่ยนแปลงของสีแดงไปเป็นสีน้ำตาลแดงเข้มข้นในระหว่างการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว เนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของโพรแอนโธไซยานินดิน (Hayashi และ Yanase, 2016) อีกทั้งในสภาวะที่มีความเป็นกรดโพรแอนโธไซยานินดินสามารถเปลี่ยนเป็นแอนโธไซยานินดินได้ ซึ่งสารแอนโธไซยานินดินเช่นกลุ่มของไซยานินดินเป็นสารที่ละลายน้ำได้ดีเนื่องจากมีโครงสร้างของ

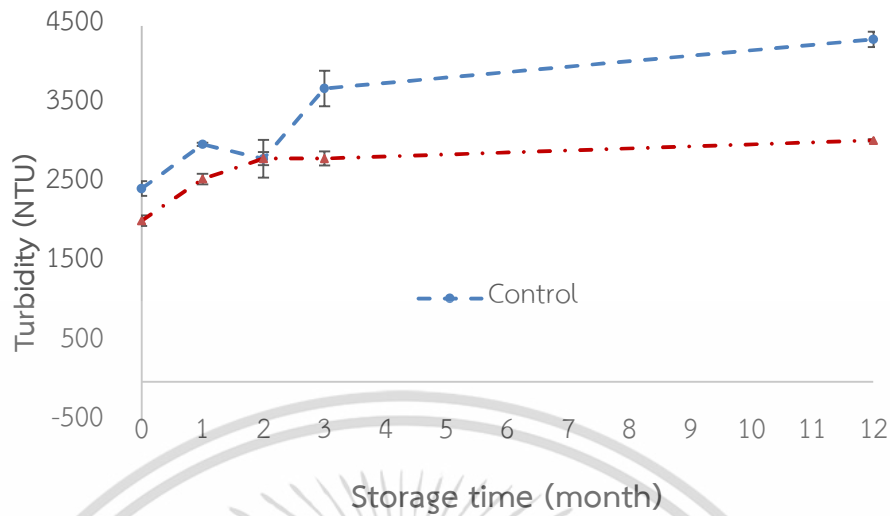
flavylum cation ซึ่งให้สีแดง (Maatta และคณะ, 2001) และในสภาวะเป็นกรด flavylum cation จะมีความคงตัวสูง (Khooและคณะ, 2017) โดยที่ pH ต่ำ ($pH < 3$) ไซยานินดินจะมีสีแดง ที่ pH 7–8 จะมีสีน้ำเงิน และที่ pH สูง ($pH > 11$) (Zheng และคณะ, 2003) ซึ่งสอดคล้องกับผลของการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนค่าสีเหลือง (b^*) ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องและชุดควบคุมมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Kongkiattikajorn (2008) ที่ศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อคุณลักษณะต่างๆของข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวขัดสีของข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาข้าวทั้ง 3 ชนิดในอุณหภูมิอากาศที่อุณหภูมิ 25 และ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 เดือนค่า b^* มีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลามากกว่า 4 เดือน และ 3 เดือน ตามลำดับ โดยข้าวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่า b^* สูงกว่าที่ 25 องศาเซลเซียสจะเห็นได้ว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น และในตัวอย่างข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม มีกลูโคซามีนเป็นส่วนประกอบจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดมากกว่าชุดควบคุม ส่งผลให้ค่า L^* ต่ำกว่าชุดควบคุม ส่วนค่า b^* สูงกว่าชุดควบคุม





ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าสี L* [A], a* [B] และ b* [C] ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริมเทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

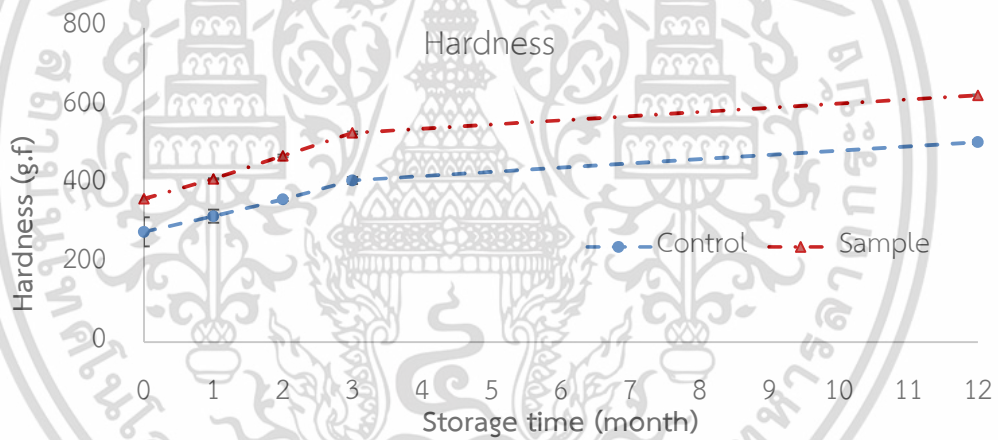
การเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 27 จะเห็นได้ว่าค่าความชื้นเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือน โดยชุดควบคุมมีค่าความชื้นสูงกว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง เนื่องจากกลูโคซามีนซึ่งเป็นอนุพันธ์ของกลูโคสมีผลทำให้ความสามารถในการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชันลดลง ซึ่งในสภาวะที่มีน้ำตาลกลูโคส จะต้องใช้อุณหภูมิในการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชันของสตาร์ชสูงขึ้น (Sharma และคณะ, 2008) โดยน้ำตาลจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับสายโซ่อะไมโลสในสตาร์ช แกรนูล และจำกัดการพองตัวของสตาร์ช ทำให้การแตกออกของเม็ดสตาร์ชลดลง (Hoover และ Senanayake, 1996) และระยะเวลาในการเก็บรักษายังส่งผลต่อการแตกออกของเม็ดสตาร์ช โดยค่าความชื้นที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษามีผลมาจากการแตกออกของสายโซ่อะไมโลส และอะไมโลเพคติน ซึ่งทำให้เกิดการกระเจิงของแสงมาก (Perera และ Hoover, 1999) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Andrabi และคณะ (2016) ที่ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งจากถั่วแดงและถั่วเขียวสายพันธุ์อินเดียที่เก็บรักษาในตู้เย็น เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าค่าการส่งผ่านของแสงลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นซึ่งเป็นผลมาจากการเกิดรีโทรกราเดชันของสตาร์ช ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเชื่อมพันธะที่แตกออกให้มารวมตัวกันอีกครั้งในโครงสร้างของสตาร์ช โดยการพองตัวออกของแกรนูล การแตกออกของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน และความยาวของสายโซ่ ทำให้การส่งผ่านของแสงลดลง หรือทำให้ความชื้นของสตาร์ชเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา อีกทั้งยังสอดคล้องกับการรายงานของ Fuguzawa และคณะ (2016) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นในสตาร์ชจากข้าวสาลีในระหว่างการเก็บรักษา โดยสารละลายสตาร์ชความเข้มข้นต่างๆ (10, 20, 25, 30, 35 และ 40% (w/w)) ที่ให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ก่อนจะเก็บใส่ glass cell และเก็บในตู้เย็นปิดสนิท จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5, 30, 50, และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน พบว่าสตาร์ชจากข้าวสาลีมีอุณหภูมิในการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชันคือ 45 องศาเซลเซียส และเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชัน (50 และ 70 องศาเซลเซียส) สารละลายจะมีความใสมากกว่าสตาร์ชที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชัน (5 และ 30 องศาเซลเซียส) และจะมีการเกิดรีโทรกราเดชัน ส่งผลให้ความชื้นสูงขึ้น และจากการศึกษาด้วย NMR พบว่าเกิดการรวมตัวกันของสายโซ่อะไมโลสที่แตกออกมาจากแกรนูลในระหว่างการเกิดเจลลาทีไนซ์เซชัน



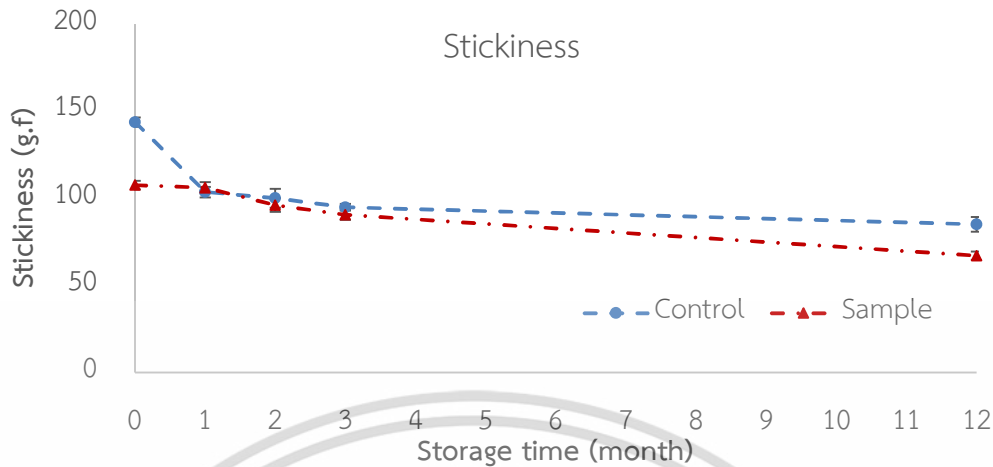
ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงค่าความขุ่นของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (hardness) และความเหนียว (stickiness) ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา แสดงดังภาพที่ 28 และ 29 ตามลำดับ โดยค่า hardness ของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง และชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 12 เดือนมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ส่วนค่า stickiness มีค่าลดลง เนื่องจากในระหว่างการเก็บรักษาพันธะไฮโดรเจนระหว่างน้ำ และโมเลกุลสตาร์ชจะถูกทำลาย ซึ่งถือเป็นขั้นตอนแรกของการเกิดโรทรกราเดชัน ส่งผลให้ค่า hardness เพิ่มสูงขึ้น ตามด้วยเกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลสตาร์ช หลังจากที่มีการดึงโมเลกุลน้ำออก (Jung และคณะ, 2017) ซึ่ง Kock และคณะ (1995) รายงานว่าค่า hardness จะเพิ่มขึ้น ส่วนค่า stickiness จะลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาอันยาวนานที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลที่ไนซ์เซชัน ซึ่งอิทธิพลหลักของค่า hardness ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษามาจากอะไมโลสที่แตกออกมาในน้ำระหว่างการหุงต้ม และเกิดเป็นแผ่นฟิล์มเคลือบเมล็ดข้าว (Leelayuthsoontorn และ Thipayarat, 2006) ดังนั้นถ้าปริมาณอะไมโลสที่แตกออกมามีปริมาณมาก ก็จะส่งผลให้เกิดแผ่นฟิล์มเคลือบเมล็ดข้าวหนาขึ้น ทำให้อะไมโลสเกิดโรทรกราเดชันได้อย่างรวดเร็ว ค่า hardness ของข้าวจึงสูงขึ้นระหว่างการเก็บแม่เก็บในระยะเวลาอันสั้น (Yu และคณะ, 2009) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Narkruga และ Saeleaw (2009) ที่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวบรรจุกระป๋องทั้งหมด 3 สายพันธุ์ คือข้าวขาวหอมมะลิ ข้าวขาวตาแห้ง และข้าวญี่ปุ่นโคชิฮิการิ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 8 เดือน ผลการศึกษาพบว่าข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์มีค่า hardness เพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูง (ข้าวขาวตาแห้ง) จะเกิดโรทรกราเดชันได้มากกว่าข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสน้อย (ข้าวขาวหอมมะลิ) ซึ่งปริมาณอะไมโลส และระยะเวลาในการเก็บรักษามีผล

อย่างยิ่งต่อค่า hardness ของเมล็ดข้าว และนอกจากนี้การที่ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรจุระป้องกันมีค่า hardness สูง และค่า stickiness ต่ำกว่าชุดควบคุมเนื่องมาจากน้ำตาลจะลดปริมาณน้ำอิสระโดยจะสร้างพันธะกับน้ำ ซึ่งจะขัดขวางการไฮเดรชันของเมล็ดข้าว และเกิดอันตรกิริยาระหว่างน้ำกับน้ำตาล (Wootton และ Bamunuarachchi, 1980) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Chen และคณะ (2014) ที่มีการศึกษาผลของปริมาณน้ำตาลกลูโคส และซูโครสต่อความแข็งของเจลจากโพลีแซคคาไรด์จากเมล็ดแฟลกซ์-แป้งมันฝรั่ง (flaxseed polysaccharide-potato starch complexes) โดยเตรียมแป้งมันฝรั่ง (7%, w/w) ที่มีน้ำตาลกลูโคส และซูโครสความเข้มข้นต่างๆ (0-6%, w/w) ผสมกับโพลีแซคคาไรด์จากเมล็ดแฟลกซ์ (0.3%, w/w) ก่อนนำไปต้มให้เดือด และทำให้เย็น จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อให้เกิดเจล และนำมาวัดค่า hardness ผลการศึกษาพบว่าเจลจากโพลีแซคคาไรด์จากเมล็ดแฟลกซ์-แป้งมันฝรั่งมีค่า hardness เพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลกลูโคส และซูโครส โดยปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น สามารถปรับปรุงโครงข่ายหรือโครงสร้างของเจลให้แข็งแรงมากขึ้น ส่งผลให้เจลมีความคงทนสูงขึ้น

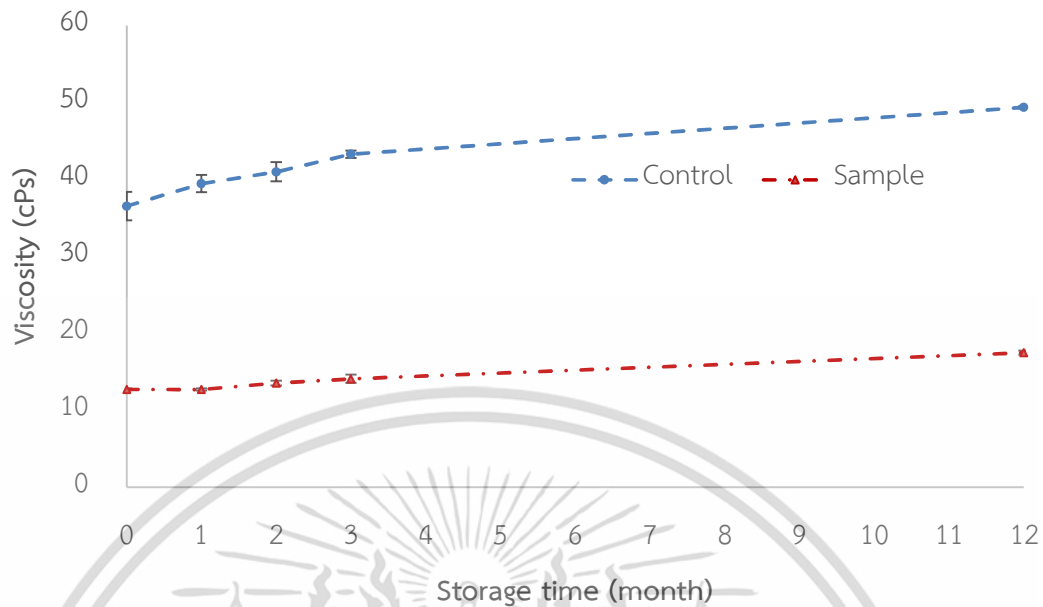


ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงค่าความแข็ง (hardness) ของข้าวต้มบรรจุระป้องกันที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงค่าความเหนียว (stickiness) ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงค่าความเหนียวของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง นาน 12 เดือน แสดงดังภาพที่ 30 พบว่าค่าความเหนียวของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีความเหนียวเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนชุดควบคุมมีค่าความเหนียวสูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Abu-jdayil และคณะ (2001) ที่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความเหนียวของสตาร์ชจากข้าวสาลีในระหว่างการเก็บรักษา โดยเตรียมสตาร์ชจากข้าวสาลีความเข้มข้น 5% (w/v) ผสมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ (0-6% (w/v)) จากนั้นให้ความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วเก็บรักษาที่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน พบว่าในชุดควบคุม (น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0%) มีค่าความเหนียวสูงที่สุดในระหว่างการเก็บรักษา ส่วนสตาร์ชจากข้าวสาลีที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งเป็นผลมาจากคุณสมบัติของน้ำตาลที่สามารถเพิ่มอุณหภูมิในการเจลาติไนซ์เซชัน และพลังงานในการเกิดเจลาติไนซ์เซชันได้ โดยน้ำตาลส่วนใหญ่จะสามารถลดการแตกออกของอะไมโลส (Ahmad และ Williams, 1999) และน้ำตาลสามารถลดการเกิดรีโทรกราเดชันได้เมื่อเก็บรักษาสตาร์ชเป็นเวลานาน (Ikeda และคณะ, 2001) ทำให้ค่าความเหนียวของสตาร์ชในสภาวะที่มีน้ำตาลมีการเปลี่ยนแปลงน้อยในระหว่างการเก็บรักษาเมื่อเทียบกับชุดควบคุม



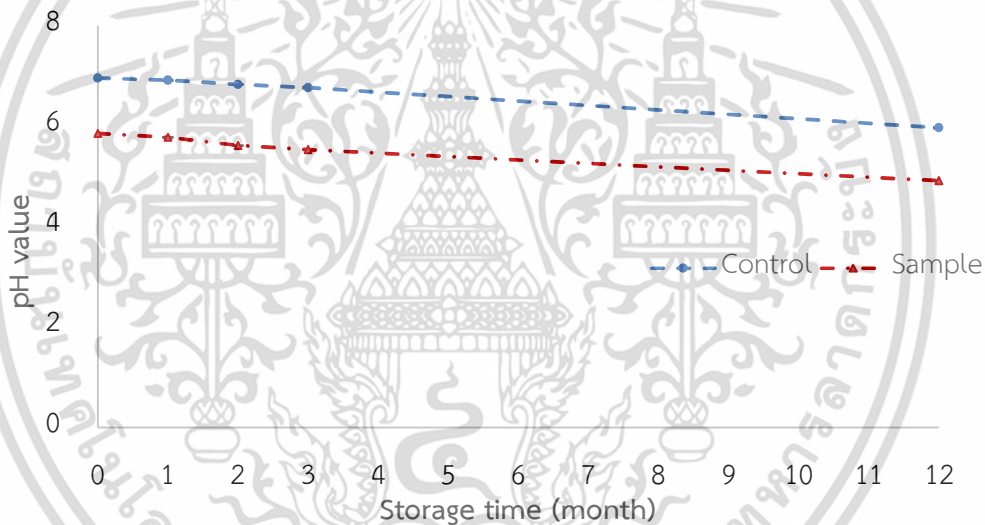
ภาพที่ 30 การเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

4.9.2 คุณสมบัติทางเคมี

4.9.2.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยเครื่อง pH meter

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง นาน 12 เดือน (ภาพที่ 31) พบว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีค่า pH ลดลงจาก 5.85 เป็น 4.91 ซึ่งมีค่า pH น้อยกว่าชุดควบคุมเนื่องจากมีส่วนผสมของกลูโคซามีนที่สกัดด้วยกรดจึงสามารถเกิดการแตกตัวและให้โปรตอน (H^+) ได้ ส่วนชุดควบคุมมีค่า pH ลดลงจาก 6.95 เป็น 5.97 โดยความเป็นกรดที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาเกิดจากปริมาณกรดไขมันอิสระ และฟอสเฟตที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการเสื่อมสภาพที่เพิ่มขึ้นของแป้ง (Morrison, 1963) นอกจากนี้การเชื่อมพันธะของหมู่อะมิโนจากกรดอะมิโน เพปไทด์สายสั้น และโปรตีนจะทำให้ปลายด้านคาร์บอกซิลิกเป็นอิสระ ทำให้เกิดผลพลอยได้ที่เป็นกรดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดที่เป็นสาเหตุสำคัญของปริมาณกรดที่เพิ่มสูงขึ้นในเมล็ดธัญพืชที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงขึ้น (Ferguson, 1969; Gardner, 1979) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Rehman (2006) ที่มีการศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อคุณภาพของธัญพืช โดยทำการเก็บรักษาข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาธัญพืชต่างๆที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และค่าความเป็นกรด แต่ในการเก็บรักษาธัญพืชต่างๆที่อุณหภูมิ 25 และ 45 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ลดลง และค่าความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการรายงานของ Paraginski และ

คณะ (2014) ที่มีการศึกษาผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อคุณลักษณะทางเคมีกายภาพของข้าวโพด โดยเก็บรักษาข้าวโพดในถุงพอลิเอทิลีนที่อุณหภูมิต่างๆ (5, 15, 25 และ 35 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 12 เดือน พบว่าข้าวโพดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5, 15 และ 25 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และค่าความเป็นกรดต่ำกว่าข้าวโพดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน แต่ข้าวโพดที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน โดยพบว่าข้าวโพดมีค่า pH ต่ำลง และค่าความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการการแตกออกของไฮโดรเจนไอออนจากภายในเมล็ดเนื่องมาจากเซลล์ถูกทำลาย และเซลล์จะถูกทำลายเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง นอกจากนี้ค่าความเป็นกรดที่เพิ่มสูงขึ้นเนื่องมาจากความเป็นกรดของไขมันที่เพิ่มขึ้นซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไตรกลีเซอไรด์ในระหว่างการเก็บรักษาที่สามารถเกิดขึ้นได้เร็วกว่าการแตกสลายของโปรตีน และสตาร์ช



ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เทียบกับชุดควบคุมในระหว่างการเก็บรักษา

4.9.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องก่อนการฆ่าเชื้อ เปรียบเทียบกับข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยเครื่องรีทอร์ทชนิด water spray over pressure retort โดยฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ด้วยเทคนิค HPLC แสดงดังตารางที่ 14 พบว่าหลังจากการฆ่าเชื้อ ปริมาณ D-glucosamine ไม่ลดน้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์จุดหลอมเหลวด้วยเทคนิค Differential Scanning calorimetry (DSC) โดยกลูโคซามีนจากเปลือกปูมามีอุณหภูมิในการหลอมเหลวสูงสุด (T_{max}) ที่ เท่ากับ 194 องศา

เซลเซียส ซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ จึงทำให้ปริมาณของ D-glucosamine ไม่เปลี่ยนแปลง และสามารถคงตัวอยู่ได้ภายหลังการฆ่าเชื้อ อาจมีสาเหตุมาจากในผลิตภัณฑ์ข้าวต้มกระป๋องที่มีสารอาหารเสริมมีองค์ประกอบของเมทริกซ์ที่ช่วยให้กลูโคซามีนสามารถคงตัวอยู่ได้ หรือเกิดการสลายตัวได้น้อยหลังการฆ่าเชื้อ

ตารางที่ 14 ปริมาณกลูโคซามีนของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม ก่อนการฆ่าเชื้อเทียบกับหลังการฆ่าเชื้อ

Sample	ความเข้มข้นของ D-glucosamine (mg/l) *	%RSD
Non-sterilized sample	11597.64 ± 73.02	0.62962
Sterilized sample	11946.77 ± 58.51	0.48976

* ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

4.9.2.3 การวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ

การตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม แสดงดังตารางที่ 15 พบว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องมีปริมาณโปรตีน 1.38 กรัมต่อ 100 กรัม ไขมัน 0.38 กรัมต่อ 100 กรัม คาร์โบไฮเดรต 7.63 กรัมต่อ 100 กรัม นอกจากนี้ยังพบว่ามีพลังงาน 39.46 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม ซึ่งถือว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำ ซึ่งพลังงานที่ผู้สูงอายุควรได้รับต่อวันไม่ควรน้อยกว่า 1,200 กิโลแคลอรีต่อวัน ควรได้รับโปรตีนประมาณ 1 กรัม ต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัมต่อวัน คาร์โบไฮเดรต 50-55% ของปริมาณพลังงานที่ได้รับต่อวัน และแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับผู้สูงอายุคือแคลเซียม โดยปริมาณแคลเซียมที่ควรได้รับเท่ากับ 1,200 มิลลิกรัมต่อวัน (วรรณวิมล, 2555) นอกจากนี้ปริมาณใยอาหารที่แนะนำให้บริโภคสำหรับผู้สูงอายุคือ 25 กรัมต่อวัน และไขมันที่ควรได้รับคือ 20-35% ของพลังงานทั้งหมดที่ได้รับต่อวัน (คณะกรรมการอาหารแห่งชาติ, 2559) มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมในการบริโภคกลูโคซามีนต่อวัน ที่มีผลในการบรรเทาโรคข้อเสื่อมในผู้สูงอายุ ซึ่งผลการศึกษาส่วนใหญ่พบว่าผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับกลูโคซามีนซัลเฟตในขนาด 1,500 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลานาน 3 ปี จะมีการปวดของข้อลดลงได้ลดลง (Jerosch, 2011) ซึ่งในงานวิจัยนี้มีการเติมกลูโคซามีนในปริมาณ 500 มิลลิกรัมต่อกระป๋อง ซึ่งถือว่าให้ปริมาณกลูโคซามีนถึง 1 ใน 3 ของปริมาณที่ควรได้รับต่อวัน

ตารางที่ 15 ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

รายการทดสอบ	ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการ	
	ต่อ 100 กรัม	ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (160 กรัม)
พลังงาน, กิโลแคลอรี	39.46	60
พลังงานจากไขมัน, กิโลแคลอรี	3.42	0
ไขมันทั้งหมด, กรัม	0.38	0.5
ไขมันอิ่มตัว, กรัม	0.09	0
โคเลสเตอรอล, มิลลิกรัม	0	0
โปรตีน, กรัม	1.38	2
คาร์โบไฮเดรต, กรัม	7.63	12
ใยอาหาร, กรัม	0.02	0
น้ำตาล, กรัม	0.35	น้อยกว่า 1
โซเดียม, มิลลิกรัม	89.60	140
วิตามินเอ, ไมโครกรัม	0	0
วิตามินบี 1, มิลลิกรัม	0.12	0.19
วิตามินบี 2, มิลลิกรัม	0	0
แคลเซียม, มิลลิกรัม	7.29	11.66
เหล็ก, มิลลิกรัม	0	0

4.9.3 คุณสมบัติทางจุลินทรีย์

4.9.3.1 ผลการตรวจสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count; TPC) โดยวิธี Pour plate (AOAC, 2000)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ของข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 12 เดือน แสดงดังตารางที่ 16 พบว่าทั้งชุดควบคุม และข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องตรวจไม่พบจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นปกติของการแปรรูปโดยใช้กระบวนการสเตอริไลซ์เซชัน แสดงให้เห็นได้ว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง สามารถเก็บได้เกินกว่า 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ จึงมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภค เนื่องจากกระบวนการสเตอริไลซ์เซชันเป็นกระบวนการที่สามารถฆ่า หรือกำจัด ฟังไจ แบคทีเรีย ไวรัส และพรีออนได้

ตารางที่ 16 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count; TPC)

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	
	ชุดควบคุม	ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม
0	ND	ND
1	ND	ND
2	ND	ND
3	ND	ND
4	ND	ND
5	ND	ND
6	ND	ND
7	ND	ND
8	ND	ND
9	ND	ND
10	ND	ND
11	ND	ND
12	ND	ND

ND คือ ตรวจสอบไม่พบ (Not detectable)

4.9.4 ตรวจสอบวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่องอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ข้อ 3 (1) อาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4.6

ผลการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข(ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ข้อ 3 (1) อาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4.6 แสดงดังตารางที่ 17 (ภาคผนวก ง) จากการตรวจสอบไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 35°C, 53 °C, *Clostridium botulinum*, ปริมาณตะกั่วในปริมาณต่ำ และผลิตภัณฑ์อยู่ในลักษณะปกติ ปลอดภัยต่อการบริโภค ซึ่งถือว่าข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้มาตรฐานตามตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข(ฉบับที่ 355) พ.ศ. 2556 เรื่องอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ข้อ 3 (1) อาหารที่มีความเป็นกรด-ด่าง สูงกว่า 4.6

ตารางที่ 17 ผลการตรวจวิเคราะห์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ
น้ำหนักสุทธิ เฉลี่ย กรัม	164.16
น้ำหนักเนื้อ เฉลี่ย กรัม	108.95
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.58
Water activity	1.00
ด้านในภาชนะบรรจุ	ปกติ
ปริมาณตะกั่ว มิลลิกรัม ต่อ กิโลกรัม	น้อยกว่า 0.1
เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 35°C, โคโลนี ต่อกรัม	ไม่พบ
เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 53°C, โคโลนี ต่อกรัม	ไม่พบ
<i>Clostridium botulinum</i> ต่อกรัม	ไม่พบ

4.10 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

การสำรวจการยอมรับของผู้บริโภคกลุ่มเป้าหมาย โดยการนำข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม ซึ่งมีกลูโคซามีน 0.36% และเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติที่ความเข้มข้น 0.5% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) มาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคกลุ่มผู้สูงอายุ อายุ 60 ถึง 70 ปี จำนวน 100 คน โดยทำการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส ความหนืด สี การกลืนได้ง่าย และความชอบโดยรวม นอกจากนี้แบบทดสอบยังครอบคลุมถึงข้อมูลทั่วไปของผู้ทดสอบ และความถี่ในการซื้อผลิตภัณฑ์ ข้อมูลที่ได้จากการสำรวจมีดังนี้

4.10.1 ข้อมูลทางประชากรศาสตร์

โดยทำการสำรวจในหน่วยงานบริการด้านสุขภาพจำนวน 10 แห่ง ประกอบด้วยโรงพยาบาลจำนวน 5 แห่ง และศูนย์ดูแลผู้สูงอายุจำนวน 5 แห่ง ดังภาคผนวกที่ จ1 โดยผู้ตอบแบบสอบถามเป็นกลุ่มผู้สูงอายุที่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 64 เพศชายร้อยละ 36 อยู่ในช่วงอายุ 60-65 ปี ร้อยละ 72 และอายุในช่วง 65-70 ปี ร้อยละ 28 โดยส่วนใหญ่มีอาชีพวัยเกษียณค้าขาย ร้อยละ 47 รองลงมาคืออาชีพรับจ้างทั่วไป และค้าขาย ร้อยละ 18 ซึ่งกลุ่มผู้สูงอายุส่วนใหญ่มีการศึกษาในระดับประถมศึกษา ร้อยละ 41 รองลงมาในระดับมัธยมศึกษา/ปวช. ร้อยละ 24 โดยมีรายได้เฉลี่ยต่อเดือน 5,001-10,000 บาท ร้อยละ 39 ซึ่งผู้สูงอายุส่วนใหญ่มักอยู่กับศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ ร้อยละ 51 รองลงมาคืออยู่กับครอบครัว โดยมีบุตรหลานและคู่สมสร้อยละ 31 ข้อมูลแสดงดังภาคผนวก (ตารางที่ จ2)

4.10.2 ความชอบของผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

คะแนนความชอบทางด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุ ช่วงอายุระหว่าง 60-70 ปี ต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง แสดงดังตารางที่ 18 ซึ่งผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ผู้ทดสอบให้คะแนนเกิน 4 ในทุกคุณลักษณะ และให้คะแนนความชอบโดยรวมที่ 4.43 คะแนน

ตารางที่ 18 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน 100 คน ด้วยวิธี 5-point Hedonic Scale ต่อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม†

คุณลักษณะ	คะแนนความชอบ †
ลักษณะปรากฏ	4.58 ± 0.56
กลิ่นรส	4.6 ± 0.58
ความหนืด	4.63 ± 0.53
สี	4.5 ± 0.66
การกลืนได้ง่าย	4.54 ± 0.63
ความชอบโดยรวม	4.43 ± 0.63

† ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=100)

4.10.3 ความถี่ที่ผู้ทดสอบจะซื้อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

ผลการสำรวจโดยการสอบถามถึงความถี่ที่ผู้ทดสอบกลุ่มผู้สูงอายุ ที่มีอายุในช่วง 60-70 ปี จำนวน 100 คน ที่มีโอกาสจะซื้อข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง แสดงดังตารางที่ 19 ผลการสำรวจแสดงให้เห็นว่าผู้ทดสอบคาดว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์ในอัตราความถี่ในช่วง 1-3 ครั้งต่อเดือน จำนวนร้อยละ 42 และคาดว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์ทุกเดือนจำนวนร้อยละ 36

ตารางที่ 19 ความถี่ที่ผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุระหว่าง 60-70 ปี จำนวน 100 คนที่จะซื้อผลิตภัณฑ์ข้าวต้มบรรจุกระป๋องที่มีสารอาหารเสริม

ความถี่	%
ทุกๆ วัน	3
1-3 ครั้ง/สัปดาห์	13
ทุกๆ เดือน	36
1-3 ครั้ง/เดือน	42
1-3 ครั้ง/ปี	6



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

กลูโคซามีนที่เตรียมได้โดยการย่อยสลายไคตินจากเปลือกปูม้าด้วยกรดเกลือความเข้มข้นร้อยละ 30 เป็นเวลา 30 นาที มีความบริสุทธิ์สูงเมื่อทดสอบด้วย HPLC, TLC และ FT-IR และมีองค์ประกอบหลักคือ D-glucosamine อีกทั้งกลูโคซามีนจากเปลือกปูม้ามีคุณสมบัติในการหลอมเหลวสูงสุด (T_{max}) ที่เท่ากับ 194 องศาเซลเซียส ทำให้สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องได้ เนื่องจากสภาพที่ใช้ในการฆ่าเชื้ออยู่ 120 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่กลูโคซามีนสลายตัวได้น้อยมาก อีกทั้งยังมีการเติมคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติเพื่อช่วยปรับคุณสมบัติด้านความหนืด เพื่อให้เหมาะกับกลุ่มผู้บริโภคในกลุ่มผู้สูงอายุมากขึ้น นอกจากนี้ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋องที่มีความเข้มข้นของกลูโคซามีนร้อยละ 0.36% (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) และคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติความเข้มข้นร้อยละ 0.5% ที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลาถึง 12 เดือน พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางด้านกายภาพเล็กน้อย ไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้านปริมาณกลูโคซามีน และไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ และเมื่อสำรวจการยอมรับของผลิตภัณฑ์น้ำข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋องสำหรับผู้สูงอายุ โดยทดสอบในกลุ่มผู้สูงอายุ อายุระหว่าง 60-70 ปี พบว่า กลุ่มผู้ทดสอบมีการยอมรับในผลิตภัณฑ์ และผู้ทดสอบคาดว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์ในอัตราความถี่ในช่วง 1-3 ครั้งต่อเดือน ดังนั้นกลูโคซามีนที่ผลิตได้จากเปลือกปูม้าจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางอาหาร และทางด้านเภสัชกรรม อีกทั้งผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋อง สามารถนำไปต่อยอด และผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อตอบสนองความต้องการของกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นกลุ่มผู้สูงอายุ และกลุ่มผู้รักสุขภาพได้

5.1 ข้อเสนอแนะ

5.1 ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋อง

5.2 เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม ควรมีการศึกษาต้นทุนการผลิตที่ครอบคลุมค่าใช้จ่ายโดยรวม และการสำรวจความต้องการของผู้บริโภคให้มากขึ้น

5.3 ศึกษาถึงการใช้วัตถุดิบอื่นๆในการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์น้ำข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนที่สูญเสียสภาพธรรมชาติบรรจุกระป๋อง เพื่อช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหาร ปรับปรุงรสชาติ ให้เหมาะสมสำหรับกลุ่มผู้บริโภคมมากขึ้น

บรรณานุกรม

- กรมการค้าไทย. 2563. โครงสร้างสินค้าส่งออกปี 2562. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
http://www.ops3.moc.go.th/infor/MenuComTH/stru1_export/export_topn_re/eport.asp (วันที่สืบค้นข้อมูล: 26 กรกฎาคม 2563).
- คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2553. กลูโคซามีนซัลเฟตกับโรคข้อเสื่อม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 25 มกราคม 2559).
- คณะกรรมการอาหารแห่งชาติ. 2559. องค์ความรู้ด้านอาหารและโภชนาการสำหรับทุกช่วงวัย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: วิทยานิพนธ์ฝ่ายเลขานุการคณะกรรมการอาหารแห่งชาติ สำนักงานอาหารสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.
- จิราภรณ์ สุขุมวาสิ. 2544. ไคติน. หน้า 62-63. วิทยาศาสตร์สำหรับเยาวชน เทคโนโลยีชีวภาพใกล้ตัว. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- ธนรัตน์ สรวลเสน่ห์. 2554. กลูโคซามีนกับโรคข้อเสื่อม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/41>. (วันที่สืบค้นข้อมูล: 25 กุมภาพันธ์ 2559).
- บริบูรณ์ สมฤทธิ์. 2542. ข้าวแดงหอมและมาตรฐานการปลูก. กรุงเทพมหานคร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- บรรจง เทียนสงรัมย์. 2551. ถอดรหัสปูม้า. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).
- พัฒน์นันทน์ วงศ์วิวัฒน์. 2545. การสกัดไคติน ไคโตซานจากเปลือกหอย. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, ดวงเดือน วาริระณิข, อรรถกฤต กันทะวงศ์ และวีระพงษ์ ศรีโฉมงาม. 2556. ผลผลิตและคุณลักษณะของไคโตซานจากเปลือกปูที่เหลือทิ้งจากอวนจับปู. หน้า 373-380. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- พิมพ์อร ศีตคุนรัตน์. 2552. ข้าวกล้องงอก ราชาน้ำข้าว สุดยอดอาหารเพื่อสุขภาพและความงาม. กรุงเทพฯ: ฐานบัณฑิต.
- มาลัยวรรณ อารยะสกุล และ วรรณวิบูลย์ กาญจนกฤษ. 2549. เนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- รัฐ พิษณุวงกูร. 2544. การตัดโคตินและโคโตซานโดยเอนไซม์. หน้า 41-51. การประชุมวิชาการเชิงปฏิบัติการโคตินและโคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. กรุงเทพฯ: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- รัตนา รุจิรวนิช. 2544. การผลิตโคตินโคโตซาน, หน้า 1-10. ในการประชุมเชิงปฏิบัติการโคตินและโคโตซานจากวัตถุดิบธรรมชาติสู่การประยุกต์ใช้. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วาริช ศรีละออง. 2549. รงควัตถุในข้าวมีความสำคัญอย่างไร. วารสารจารย์พา. 14: 54-55.
- วรรณวิมล เมฆวิมล. 2555. “ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อพฤติกรรมการรับประทานอาหารของผู้สูงอายุจังหวัดสมุทรสงคราม”. รายงานการวิจัย. วิทยาลัยสหเวชศาสตร์, มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. 2552. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2552. กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.
- สุนทร สุวรรณลิขณณ์. 2553. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เทเบิลไซรัปจากกากน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์พิเศษ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 18: 42-55.
- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2557. ข้าวกล้องหอมมะลิแดง. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก: http://www.acfs.go.th/warning/view_Knowledge.php?id=97 (วันที่สืบค้นข้อมูล: 25 กุมภาพันธ์ 2559).
- สมเกียรติ แสงวัฒนาโรจน์. 2548. คอเลสเทอรอล. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ
- อานนท์ ภาคมาลี. 2555. ข้าวต้ม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.gotoknow.org/posts/521504> (วันที่สืบค้นข้อมูล: 1 กรกฎาคม 2557).
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารคณะอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- Abdel, F.W. and Hammad, T. 2001. Chondroitin sulfate and glucosamine: A review of their safety profile. *Journal of the American Medical Association*. 3: 16-23.
- Abu-jdayil, B., Azzam, M.O.J. and Al-Malah, K.I.M. 2001. Effect of glucose and storage time on the viscosity of wheat starch dispersions. *Carbohydrate Polymers*. 46: 207-215.
- Ahmad, M., Benjakul, S. and Nalinanon, S. 2010. Compositional and physicochemical characteristics of acid solubilized collagen extracted from the skin of unicorn leatherjacket (*Aluterus monoceros*). *Food Hydrocolloid*. 24: 588-594.
- Ahmad, F.B. and Williams, P.A. 1999. Effect of sugars on the thermal and rheology properties of sago starch. *Biopolymers*. 50: 401-412.

- Al-Hamidi, H., Edwards, A.A., Mohammad, M.A. and Nokhodchi, A. 2010. Glucosamine HCl as a new carrier for improved dissolution behaviour: effect of grinding. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 81: 96-109.
- Altman, R.D. 2009. Glucosamine therapy for knee osteoarthritis: pharmacokinetic considerations. *Expert Review of Clinical Pharmacology*. 2: 359-371.
- Andrabi, S.N., Wani, I.A., Gani, A., Hamdani, A.M. and Masoodi, F.A. 2016. Comparative study of physico-chemical and functional properties of starch extracted from two kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) and green gram cultivars (*Vigna radiata* L.) grown in India. *Starch/Stärke*. 68: 416-426.
- AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Babic, J., Šubaric, D., Miličević, B., Ackar, D., Kopjar, M. and Tiban, N.N. 2009. Influence of Trehalose, Glucose, Fructose, and Sucrose on Gelatinisation and Retrogradation of Corn and Tapioca Starches. *Czech Journal of Food Sciences*. 27: 151-157.
- Bae, I., Osatomi, K., Yoshida, A., Osako, K., Yamaguchi, A. and Hara, K. 2008. Biochemical properties of acid-solubilized collagens extracted from the skins of under-utilised fishes. *Food Chemistry*. 108: 49-54.
- Bailey, A.J. and Light, N.D. 1989. *Connective Tissue in Meat and Meat Product*. Elsevier Sciences Publishers, London.
- Balian, G. and Bowes, J.H. 1977. The structure and properties of collagen. 1-31. In A. G. Ward and A. Courts (Eds.). *The science and technology of gelatin*. London: Academic Press.
- Barclay, T.S., Tsourounis, C. and McCart, G.M. 1998. Glucosamine. *The Annals of Pharmacotherapy*. 32: 574-579.
- Begum, S., Ikejima K., Ara, H. and Islam, M.Z. 2006. Solar Drying as an Option for Shrimp Processing Biowaste in Khulna District- Southwest Bangladesh. *Journal of Apply Science*. 5: 1220-1224.
- Benavente, M., Arias, S., Moreno, L. and Martínez, J. 2015. Production of Glucosamine Hydrochloride from Crustacean Shell. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 3: 20-26.

- Bhattacharjee, A. and Bansal, M. 2005. Collagen structure: The Madras triple helix and the current scenario. *IUBMB Life*. 57: 161-172.
- Bhattacharjee, P., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. 2002. Basmati rice: A review. *International Journal of Food Science & Technology*. 37: 1-12.
- Bigi, A., Bracci, B., Cojazzi, G., Panzamolta, S. and Roveri, N. 1998. Drawn delatin films with improved mechanical properties. *Biomaterials*. 19: 2335-2340.
- Bilek, S.E. and Bayram, S.K. 2015. Fruit juice drink production containing hydrolyzed collagen. *Journal of Functional Foods*. 14: 562-569.
- Boonprab, K. and Noojuy, N. 2010. Critical limit and monitoring system for critical control points of Thai salted crab processing. The 36th Congress on Science and Technology of Thailand (STT36). 26-28 October 2010. Bangkok, Thailand.
- Bruyere, O., Pavelka, K., Rovati, L.C., Gatterová, J., Giacovelli, G. and Olejarová, M. 2008. Total joint replacement after glucosamine sulphate treatment in knee osteoarthritis: results of a mean 8-year observation of patients from two previous 3-year, randomised, placebo-controlled trials. *Osteoarthritis and Cartilage*. 16: 254-260.
- Castaneda-Ovando, A., Pacheco-Heenandez, M.L., Paez-Hernandez, M.E., Rodriguez, J.A. and Galan-Vidal, C.A. 2009. Chemical studies of anthocyanins: A review. *Food Chemistry*. 113: 859-871.
- Chang, K.B., Lee, J. and Fu, W.R. 2000. HPLC Analysis of N-acetyl-chito-oligosaccharides during the acid hydrolysis of chitin. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2: 75-83.
- Changlian, P. 2006. The anti-photooxidation of anthocyanins-rich leaves of a purple rice cultivar. *Science in China Series C: Life Sciences*. 49: 543-551.
- Chaudhary, R.C. 2003. Speciality rices of the world: Effect of WTO and IPR on its production trend and marketing. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 1: 34-41.
- Chen, H.H., Wang, Y.S., Leng, Y., Zhao, Y. and Zhao, X. 2014. Effect of NaCl and sugar on physicochemical properties of flaxseed polysaccharide-potato starch complexes. *ScienceAsia*. 40: 60-68.
- Chen, J.K., Shen, C.R. and Liu, C.L. 2010. N-Acetylglucosamine: Production and Applications. *Marine Drugs*. 8: 2493-2516.

- Cho, S.Y. and Rhee, C. 2004. Mechanical properties and water vapor permeability of edible films made from fractionated soy proteins with ultrafiltration. *Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 37: 833–839.
- Chumniwikri, P. and Peuchkamut, Y. 2015. Production of canned red brown rice gruel: effect of soaking time. *Proceedings of 18th ISERD International Conference*. Tokyo, Japan.
- Clegg, D. O. and Jackson, C. G. 2005. Glucosamine. In *Encyclopedia of Dietary Supplements*, edited by Coates, P.M., Blackman, M.R., Cragg, G., Levine, M., Moss, J. and White, J.D. New York: Marcel Dekker.
- Cole, C.G.B. 2000. Gelatin. In *Encyclopedia of food science and technology*. 2nd ed. Wiley. New York. 1183-1188.
- Creighton, T.E. 1993. *Protein: Structure and molecular properties*. New York: W.H. Freeman Company.
- Cruz, B.P, Chedier, L.M., Fabri, R.L. and Pimenta, D.S. 2011. Chemical and agronomic development of *Kalanchoe brasiliensis* Camb. and *Kalanchoe pinnata* (Lamk.) Pers under light and temperature levels. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 83: 1435-1441.
- DeAngelis, K.M., Lindow, S.E. and Firestone, M.K. 2008. Bacterial quorum sensing and nitrogen cycling in rhizosphere soil. *FEMS Microbiology Ecology*. 66: 197–207.
- Derby, R. I., Miller, B. S. and Trimbo, H. B. 1975. Visual observations of wheat-starch gelatinization in limited water systems. *Cereal Chemistry*. 52: 702–713.
- Domenek, S., Petit, E., Ducept, F., Mezdour, S., Brambati, N., Ridoux, C., Guedj, S. and Michon, C. 2008. Influence of concentration and ionic strength on the adsorption kinetics of gelatin at the air/water interface. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 331: 48–55.
- Eastoe, J.E. and Leach, A.A. 1977. Chemical constitution of gelatin. In A. G. Ward, & A. Courts (Eds.), *The science and technology of gelatin*. 73–107. New York: Academic Press.
- Edward J.T. 1955. Stability of glycosides to acid hydrolysis-A conformational analysis. *Chemistry and industry*. 36: 1102-1104.
- Eliasson, A.C. 1992. A calorimetric investigation of the influence of sucrose on the gelatinization of starch. *Carbohydrate Polymers*. 18: 131-138.

- Esters, V., Angenot, L., Brandt, V., Frederich, M., Tits, M., Nerum, V.C., Wauters, J.N. and Hubert, P. 2006. Validation of a high-performance thin-layer chromatography/densitometry method for the quantitative determination of glucosamine in a herbal dietary supplement. *Journal of Chromatography A*. 1112: 156–164.
- Fargerson, S. I. 1969. Thermal degradation of carbohydrate: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 17: 747–750.
- Fattahi A., Ghorat M., Pourjavadi A., Kurdtabar M. and Torabi A. A. 2008. DFT/B3LYP Study of Thermochemistry of D-glucosamine, a Representative Polyfunctional Bio-organic Compound. *Scientia Iranica*, 15: 422-429.
- Fenton, J.I., Chlebek-Brown, K.A., Peters, T.L., Caron, J.P. and Orth, M.W. 2000. The effects of glucosamine derivatives on equine articular cartilage degradation in explant culture. *Journal of the OsteoArthritis Research Society International*. 8: 444–451.
- Finocchiaro, F., Ferrari, B. and Gianinetti, A. 2010. A study of biodiversity of flavonoid content in the rice caryopsis evidencing simultaneous accumulation of anthocyanins and proanthocyanidins in a black-grained genotype. *Journal of Cereal Science*. 51: 28–34.
- Fitzgerald, M.A., Martin, M., Ward, R.M., Park, W.D. and Shead, H.J. 2003. Viscosity of rice flour: A rheological and biological study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 2295–2299.
- Foegeding, E.A., Lanier, T.C. and Hultin, H.O. 1996. Characteristics of edible muscle tissues. 879-942. In *Food Chemistry*. 3rd ed. New York: Marcel Dekker.
- Frei, M. and K. Becker. 2005. On rice, Biodiversity and Nutrients. Institute of Animal Production in the Tropics and Subtropics. University of Hohenheim, Germany [Online], <http://www.greenpeace.org/raw/content/international/press/reports/rice-biodiversity-nutrients.pdf>. (17 December 2015).
- Friedman, M. 2004. Applications of the Ninhydrin Reaction for Analysis of Amino Acids, Peptides, and Proteins to Agricultural and Biomedical Sciences. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52: 385-406.
- Friess, W. 1998. Collagen biomaterial for drug delivery. *European Journal Pharmaceutical and Biopharmaceutics*. 45: 113-136.

- Fox, B.A. and Stephens, M.M. 2007. Glucosamine hydrochloride for the treatment of osteoarthritis symptoms. *Clinical Interventions in Aging*. 2: 599–604.
- Fukuzawa, S., Ogawa, T., Nakagawa, K. and Adachi, S. 2016. Kinetics on the turbidity change of wheat starch during its retrogradation. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 80: 1609–1614.
- Gandhi, N. and Laidler, J.K. Preparation of glucosamine hydrochloride. U.S. patent no. 6486307. 26 November 2002.
- Gardner, H. W. 1979. Lipid hydroperoxide reactivity with protein and amino acids: a review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 27: 220–228.
- Goufo, P. and Trindade, H. 2014. Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, c-oryzanol, and phytic acid. *Food Science & Nutrition*. 2: 75–104.
- Gregorio, G.B. 2002. Progress in breeding for trace minerals in staple crops. *Journal of Nutrition*. 132: 500-502.
- Gunaratne, A., Ranaweera, S. and Corke, H. 2007. Thermal, pasting, and gelling properties of wheat and potato starches in the presence of sucrose, glucose, glycerol, and hydroxypropyl beta-cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*. 70: 112–122.
- Hajji, S., Ghorbel-Bellaaj, O., Younes, I., Jellouli, K. and Nasri, M. 2015. Chitin extraction from crab shells by *Bacillus* bacteria. Biological activities of fermented crab supernatants. *International Journal of Biological Macromolecules*. 79: 167-173.
- Hamaker, B.R. and Griffin, V.K. 1993. Effect of disulfide bond-containing protein on rice starch gelatinization and pasting. *Cereal Chemistry*. 70: 377–380.
- Hamaker, B.R., Griffin, V.K. and Moldenhauer, K.A.K. 1991. Potential influence of a starch granule-associated protein on cooked rice stickiness. *Journal of Food Science*. 56: 1327–1329.
- Hansen, L. M., Setser, C. S. and Paukstelis, J. V. 1989. Investigations of sugar-starch interactions using carbon-13 nuclear magnetic resonance. I. Sucrose. *Cereal Chemistry*. 66: 411–415.
- Hansen, E. F. and Lee, S. N. 1991. The effects of relative humidity on some physical properties of modern vellum: implication for the optimum relative humidity for the display and storage of parchment. *The book and Paper Group*. 44: 112-117.

- Hathcock, J.N. and Shao, A. 2007. Risk assessment for glucosamine and chondroitin sulfate. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 47: 78–83.
- Hayashi, S. and Yanase, E. 2016. A study on the color deepening in red rice during storage. *Food Chemistry*. 199: 457–462.
- Hong, P.K. and Betti, M. 2016. Non-enzymatic browning reaction of glucosamine at mild conditions: Relationship between colour formation, radical scavenging activity and a-dicarbonyl compounds production. *Food Chemistry*. 212: 234–243.
- Hoover, R. and Senanayake, N. 1996. Effect of sugars on the thermal and retrogradation properties of oat starches. *Journal of Food Biochemistry*. 20: 65-83.
- Hotz, C. and K- Brown. 2004. Assessment of the risk of zinc deficiency in populations and options for its control. *Food and Nutrition Bulletin*. 25:94-203.
- Huda, N., Seow, E. K., Normawati, M. N., Nik Aisyah, N. M., Fazilah, A. and Easa, A. M. 2013. Effect of duck feet collagen addition on physicochemical properties of surimi. *International Food Research Journal*. 20: 537-544.
- Ikedo, S., Yabuzoe, T., Takaya, T. and Nishinari, K. 2001. Effect of sugars on gelatinization and retrogradation of corn starch. In: *Starch: Advances in Structure and Function*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK, 67-76.
- Jadwiga Wilska-Jeszka. 2002. Food colorants. In Zdzislaw E. Sikorski, 2nd ed. *Chemical and Functional Properties of Food Components*. CRC Press. 205-229.
- Jerosch, J'org. 2011. Effects of Glucosamine and Chondroitin Sulfate on Cartilage Metabolism in OA: Outlook on Other Nutrient Partners Especially Omega-3 Fatty Acids. *International Journal of Rheumatology*. 2011: 1-17.
- Johnston-Banks, F. 1990. Gelatin. In: *Food Gels* (Ed. P. Harris). Elsevier Applied Science. London, 233-289.
- Jolanta, K., Matgorzata, C., Zbigniew, K., Anna, B., Krzysztof, B., Jorg, T. and Piotr, S. 2010. Application of spectroscopic methods for structural analysis of chitin and chitosan. *Marine Drugs*. 8: 1567–636.
- Jung, C.W., Jo, J.R., Lee, S.H., Park, Y.K., Jung, N.K., Song, D.K., Bae, J., Nam, K.Y., Ha, J.S., Park, I.S., Park, G.Y., Jang, B.C. and Park, J.W. 2012. Anti-cancer hydrochloride. *Organic Syntheses*. 26: 36-37.
- Jung, K.J. Lee, H., Lee, S.H. and Kim, J.C. 2017. Retrogradation of heat-gelatinized rice grain in sealed packaging: investigation of moisture relocation. *Food Science and Technology*. 37: 97-102.

- Kamuf, W., Nixon, A., Parker, O. and Barnum, G.C. 2003. Overview of caramel colors. *Cereal Food World*. 48: 64-69.
- Kandra, P., Challa, M.M. and Jyothi, H.K. 2012. Efficient use of shrimp waste: present and future trends. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 93: 17-29.
- Kangde, Y., Junjie, L., Fanglian, Y. and Yuji, Y. 2012. From chitin to chitosan In: *Chitosan-Based Hydrogels: Functions and Applications*. CRC Press, Newyork.
- Kelly, G.K. 1998. The role of glucosamine sulfate and chondroitin sulfates in the treatment of degenerative joint disease. *Alternative Medicine Review*. 3: 27-39.
- Khoo, H.E., Azlan, A., Tang, S.T. and Lim, S.M. 2017. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*. 61: 1-21.
- Kim, S. K. 2011. Chitin, Chitosan, oligosaccharides and their derivatives: Biological activities and applications. CRC Press, 447-461.
- Kimura, S. and Ohno, Y. 1987. Fish type I collagen: tissue-specific existence of two molecular forms, $\alpha 1$ $\alpha 2$ $\alpha 3$, in Alaska pollack. *Comparative Biochemistry and Physiology, part B*. 88: 409-413.
- Kock, S., Minnaar, A., Berry, D. and Taylor, J. 1995. The effect of freezing rate on the quality of cellular and non-cellular par-cooked starchy convenience foods. *LWT-Food Science and Technology*. 28: 87-95.
- Kongkiattikajorn, J. 2008. Effect of Storage Time and Temperature on Volatile Aroma Compounds and Physicochemical Properties of Rice. *Kasetsart Journal (Natural Science)*. 42: 111-117.
- Kukam-oo, A., Noenplab, A., Immark, S. and Chankasem, L. 2009. Evaluation of Nutritional Values in Colored Rice. *agricultural science journal*. 40: 345-348.
- Lawless, H.T. and Heymann, H. 2010. *Sensory Evaluation of Food: Principles and Practices*. 2nd Edition, New York: Springer.
- Leelayuthsoontorn, P. and Thipayarat, A. 2006. Textural and morphological changes of Jasmine rice under various elevated cooking conditions. *Food Chemistry*. 96: 606-613.
- Lertsutthiwong, P., How, N.C., Chandkrachang, S. and Stevens, W.F. 2002. Effect of Chemical Treatment on the Characteristics of Shrimp Chitosan. *Journal of Metals, Materials and Minerals*. 12: 11-18.

- Lim, H., Setser, C. S., Paukstelis, J. V. and Sobczynska, D. 1992. Nuclear magnetic resonance studies on wheat starch-sucrose water interactions with increasing temperature. *Cereal Chemistry*. 69: 382–386.
- Maatta, K.R., Kamal-Eldin, A. and Torronen, R. 2001. Phenolic compounds in berries of black, red, green and white currant (*Ribes* sp.). *Antioxidant Redox Signaling*. 3: 981-993.
- Magaña Alcázar, A., Wrobel, K., Corrales Escobosa, A.R. and Wrobel, K. 2014. Fast determination of glucosamine in pharmaceutical formulations by high performance liquid chromatography without pre-column derivatization. *Acta Universitaria Multidisciplinary Scientific Journal*. 24: 16-22.
- Mahjoorian, A., Mortazavi, S.A., Tavakolipour, H., Motamedzadegan, A. and Askari, B. 2013. Rheological properties of skin gelatin of Beluga Sturgeon (*Huso Huso*) from The Caspian Sea. *Annals of Biological Research*. 4: 227-234.
- Mary, A.L. 2004. Anthocyanins and Human Health: An In Vitro Investigative Approach. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 5: 306-313.
- Messier, S.P., Mihalko, S., Loeser, R.F., Legault, C., Jolla, J. and Fruender, J.P. 2007. Glucosamine/chondroitin combined with exercise for treatment of knee osteoarthritis: a preliminary study. *Osteoarthritis and Cartilage*. 15: 1256-1266.
- Miller, G., 1959. Use of dinitrisalicylic acid reagent for determination of reducing sugars. *Analytical Chemistry* 31: 426-429.
- Min, B., McClung, A.M. and Chen, M.H. 2011. Phytochemicals and Antioxidant Capacities in Rice Brans of Different Color. *Journal of Food Science*. 76: 117-126.
- Morrison, W. R. 1963. The free fatty acid content of some wheat flours. *Science of Food and Agriculture*. 14: 870–873.
- Nagai, T., Araki, Y. and Suzuki, N. 2002. Collagen of the skin of ocellate puffer fish (*Takifugu rubripes*). *Food Chemistry*. 78: 173-177.
- Nagaoka, I., Igarashi, M., Hua, J., Ju, Y., Yomogida, S. and Sakamoto, K. 2011. Recent aspects of the anti-inflammatory actions of glucosamine. *Carbohydrate Polymers*. 84: 825- 830.
- Narkrugsa, W. and Saeleaw, M. 2009. The retrogradation of canned rice during storage. *KMITL Science and Technology Journal*. 9: 1-8.

- No, H.K. and Meyers, S.P. 1997. Preparation of chitin and chitosan. Di dalam RAA Muzzarelli dan MG Peter (ed). Chitin Handbook. European Chitin Society. Grottamar.
- Novikov, V.Y. 2004. Acid hydrolysis of chitin and chitosan. Russian Journal of Applied Chemistry. 77: 490-493.
- Obiakor-Okeke, P. N. , Amadijoy, A. C. and Chikwendu, J. N. 2014. Development and evaluation of complementary foods based on soyabean, sorghum and sweet potatoes flours blends. Food Science and Quality Management. 33: 77-86.
- Ogawa, M., Moody, M.W. Portier, R.J. Bell, J., Schexnayder, M.A. and Losso, J.N. 2003. Biochemical properties of black drum and sheepshead seabream skin collagen. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51: 8088-8092.
- Ogut, B., Kim, Y.J., Kim D.W., Oh, S.C., Hong, D.L. and Lee, Y.B. 2017. Optimization of maillard reaction between glucosamine and other precursors by measuring browning with a spectrophotometer. Preventive Nutrition and Food Science. 3: 211-215.
- Oh, H.J., Lee, J.S., Song, D.K., Shin, D.H., Jang, B.C., Suh, S.I., Park, J.W., Suh, M.H. and Baek, W.K. 2007. D-Glucosamine inhibits proliferation of human cancer cells through inhibition of p70S6K. Biochemical and Biophysical Research Communications. 360: 840-845.
- Oki, T., Masuda, M., Nagai, S., Take'ichi, M., Kobayashi, M., Nishiba, Y., Sugawara, T., Suda, I. and Sato, T. 2005. Radical-scavenging activity of red and black rice. Pages 256-259. In: Rice is life: scientific perspectives for the 21st century. Proceedings of the World Rice Research Conference held in Tsukuba, Japan, 4-7 November 2004.
- Olsen, D., Yang, C., Bodo, M., Chang, R., Leigh, S., Baez, J., Carmichael, D., Perala, M., Hamalainen, E., Jarvinen, M. and Polarek, J. 2003. Recombinant collagen and gelatin for drug delivery. advanced drug delivery reviews. 55: 1547-1567.
- Ohtsubo, K., Suzuki, K., Yasui, Y. and Kasumi, T. 2005. Bio-functional components in the processed pregerminated brown rice by a twin-screw extruder," Journal of Food Composition and Analysis. 18: 303-316.

- Pan, S.K., Wu, S.J. and Kim, J.M. 2011. Preparation of glucosamine by hydrolysis of chitosan with commercial α -amylase and glucoamylase. *Journal of Zhejiang University-SCIENCE B (Biomedicine & Biotechnology)*. 12: 931-934.
- Papon, P., Leblon, J. and Meijer, P.H.E. 2007. Gelation and transitions in biopolymers. In *The physics of phase transitions*. 189–213. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Paraginski, R.T., Vanier, N.L., Berrios, J.D.J., Oliveira, M. and Elias, M.C. 2014. Physicochemical and pasting properties of maize as affected by storage temperature. *Journal of Stored Products Research*. 59: 209-214.
- Park, J.W. 1994. Functional Protein Additives in Surimi Gels. *Journal of Food Science*. 59: 525-527.
- Pavia, D.L., Lampman, G.M. and Kriz, G.S. 2001. *Introduction to Spectroscopy*. Thomson learning inc., Third Edition, 72-74 & 78.
- Perera, C. and Hoover, R. 1999. Influence of hydroxypropylation on retrogradation properties of native, defatted and heat-moisture treated potato starches. *Food Chemistry*. 64: 361–375.
- Pichyangkura, R., Kudan, S., Kuttiyawong, K., Sukwattanasinitt, M. and Aiba, S.I. 2002. Quantitative Production of 2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucose from Crystalline Chitin by Bacterial Chitinase. *Carbohydrate Research*. 337: 557-9.
- Piez, K.A. and Gross, J. 1960. The amino acid composition of some fish collagens: the relation between composition and structure. *Journal of Biological Chemistry*. 235: 995-999.
- Piperno, M., Reboul, P., Hellio Le Graverand, M.P., Peschard, M.P., Annefeld, M., Richard, M. and Vignon, E. 2000. Glucosamine sulfate modulates dysregulated activities of human osteoarthritic chondrocytes in vitro. *Osteoarthritis Cartilage*. 8: 207–212.
- Plakas, S.M., Lee, T.C., Wolke, R.E. and Meade, T.L. 1895. Effect of maillard browning reaction on protein utilization and plasma amino acid response by rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of Food and Nutrition Research*. 115: 1589-1599.
- Potivas, T. and Laokuldilok, T. 2014. Deacetylation of Chitin and the Properties of Chitosan Films with Various Deacetylation Degrees. *CMUJ NS Special Issue on Food and Applied Bioscience*. 13: 559-567

- Poxon, S.W. and Walters, D.L. Method to stabilize a dietary supplement comprising glucosamine. EPatent no. 2429500. 21 March 2012.
- Ratnayake, W.S. and David, S.J. 2006. Gelatinization and solubility of corn starch during heating in excess water: new insights. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54: 3712–3716.
- Reginster, J.Y., Neuprez, A., Lecart, M.P., Sarlert, N. and Bruyere, O. 2007. Role of glucosamine in the treatment of osteoarthritis. *Rheumatology International*. 46: 731–735.
- Rehman, Z.U. 2006. Storage effects on nutritional quality of commonly consumed cereals. *Food Chemistry*. 95: 53–57.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. *Progress in Polymer Science*. 31: 603–632.
- Rosado, J. 2003. Zinc and copper: proposed fortification levels and recommended zinc compounds. *Journal of Nutrition*. 133: 2585-2989.
- Sai, K.P. and Babu, M. 2001. Studies on *Rana tigerina* skin collagen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*. 128: 81-90.
- Santhosh, S. R., Anandan- Sini T.K. and Mathew, P.T. 2007. Protective effect of glucosamine against ibuprofen- induced peptic ulcer in rats. *Journal of Gastroenterol Hepatol*. 22: 949-953.
- Santos, S.D., Cahu, T.B., Firmino, G.O., De Castro, C.C., Carvalho, L.B., Bezerra, R.S. and Filho, J.L. 2012. Shrimp waste extract and astaxanthin. Rat alveolar macrophage, oxidative stress and inflammation. *Journal of Food Science*. 77: 141-146.
- Sashiwa, H., Fujishima, S., Yamano, N., Kwasaki, N., Nadayama, A., Muraki, E., Hiraga, K., Oda, K. and Aiba, S. 2002. Production of *N*-acetyl-D-glucosamine from α -chitin by crude enzymes from *Aeromonas hydrophila* H-2330. *Carbohydrate Research*, 337: 761-763.
- Sashiwa, H., Fujishima, S., Yamano, N., Kawasaki, N., Nakayama, A., Muraki, E., Sukwattanasinitt, M., Pichyangkura, R. and Aiba, S.I. 2003. Enzymatic production of *N*- acetyl- D- glucosamine from chitin; degradation study of *N*-acetylchitooligosaccharide and the effect of mixing of crude enzymes. *Carbohydrate Polymers*. 51: 391–395.

- Setthakaset, P. , Pichyangkura, R. , Ajavakom, A. and Sukwattanasinit, M. 2008. Preparation of N- acetyl- D- Glucosamine Using Enzyme from *Aspergillus sp.* Journal of Metals, Materials and Minerals.18:53-57.
- Setnika, R. Cereda, M.A. Pacini and L. Revel, 1991. Anti reactive properties of glucosamine sulfate. Arzneimittel-Forschung/Drug Research Journal.41: 157-161.
- Sharma, R., Oberoi, D.P.S., Sogi, D.S. and Gill, B.S. 2008. Effect of sugar and gums on the pasting properties of cassava starch. Journal of Food Processing and Preservation. 33: 401–414.
- Shitandi, A. , Oketch, A. and Mahungu, S. 2006. Evaluation of a *Bacillus stearothermophilus* tube test as a screening tool for anticoccidial residues in poultry. Journal of Veterinary Science. 7: 177-180.
- Shoulders, M.D. and Rains, R.T. 2009. Collagen Structure and Stability. California: California Institute of Technology.
- Sibi, G., Dhananjaya, K., Ravikumar, K.R., Mallesha, H., Venkatesha, R.T., Dwijendra, T., Bhusal, K.P., Gowda, N. and Gowda, K. 2013. Preparation of Glucosamine Hydrochloride from Crustacean Shell Waste and It's Quantitation by RP-HPLC. American-Eurasian Journal of Scientific Research. 8: 63-67.
- Sikorski, Z.E., Scott, D.N. and Buisson, D.H. 1984. The role of collagen in the quality and processing of fish. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 20: 301–343.
- Silverstien, R.M. , Clayton, B.G. and Morill, T.C. 1991. Spectrometric Identification of Organic Compounds. John wiley & sons inc., Fifth Edition, 125.
- Singh, P., Benjakul, S., Maqsood, S. and Kishimura, H. 2011 Isolation and characterisation of collagen extracted from the skin of striped catfish (*Pangasianodon hypophthalmus*). Food Chemistry. 124: 97–105.
- Sinha, S., Kumar¹, R., Dhakate, S.R. and Chand, S. 2011. Glucosamine production using immobilized chitosanase on PANnanofibres. International Proceedings of Chemical, Biological and Environmental Engineering. 9: 119-124.
- Spies, R.D. and Hosney, R.C. 1982. Effect of sugars on starch gelatinization. Cereal chemistry. 59: 128-131.
- Steel, R.G., Torrie, J.H. and Dickey, D.A. 1996. Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach.

- Stocké, R. 1998. The 3-component stabilization with bentonite, gelatin and silica sol. *Fruit Processing*. 1: 6–10.
- Sudtongkong, C. 2006. Reproductive biology of *P. pelagicus* Linnaeus in Sikao Bay southern Thailand, Department of Marine Science Rajamangala University Thailand, International conference on “coastal oceanography and sustainable marine aquaculture, confluence & synergy” 2-4 May 2006, Kota Kinabalu, Sabah –Malaysia: 138-150.
- Suttajit, M., Immark, S., Teerajan, S., Suttajit, S. and Chiyasut, C. 2006. Antioxdative activity and polyphenolcontent in different varieties of Thai rice grains. *Proceedings of Asia Pacific Clinical Nutrition Society. Joint 8th ISCN and 5th APCNS conference 2006*.
- Suwannaporn, P., Pitiphunpong, S. and Champangern, S. 2007. Classification of rice amylose content by discriminant analysis of physicochemical properties. *Starch/Stärke*. 59: 171–177.
- Suzuki, S., Sugawara, K., Satoh, Y. and Toyota, T. 1991. Insulin Stimulates the Generation of Two Putative Insulin Mediators, Inositol-glycan and Diacylglycerol in BCSH-1 Myocytes. *Journal of Biological Chemistry*. 266. 8115-8121.
- Tester, R.F. and Morrison, W.R. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. Effects of amylopectin, amylose, and lipids. *Cereal Chemistry*. 67: 551-557.
- Thakral, R., Debnath, U.K. and Deng, C. 2007. Role of glucosamine in osteoasthritis. *Current Orthopedics*. 21: 386-389.
- Thitipramote, N., Pradmeeteekul, P., Nimkamnerd, J., Chaiwut, P., Pintathong, P. and Thitilerdecha, N. 2016. Bioactive compounds and antioxidant activities of red (Brown Red Jasmine) and black (Kam Leum Pua) native pigmented rice. *International Food Research Journal*. 1: 410-414.
- Tomasik, P., Wang, Y.J. and Jane, J.L. 1995. Complexes of starch with low-molecular saccharides. *Stärke*. 47: 185–191.
- Wakil, S.M. and Kazeem, M.O. 2012. Quality assessment of weaning food produced from fermented cereal- legume blends using starters. *International Food Research Journal*. 4: 1679-1685.
- Wang, R., Kobayashi, T. and Adachi, S. 2011. Degradation of *N*-Acetyl-d-glucosamine and d-Glucosamine in subcritical water and properties of the degradation products. *Food Science and Technology Research*. 17: 273–278.

- Wang, S.L., Shih, I.L., Wang, C.H., Tseng, K.L., Chang, W.T., Twu, Y.K., Ro, J.J. and Wang, C.L. 2002. Production of antifungal compounds from chitin by *Bacillus subtilis*. *Enzyme and Microbial Technology*. 31: 321-328.
- Ward, A.G. and Courts, A. 1977. *The science and technology of gelatin*. London: Academic Press.
- Wasswa, J., Tang, J. and Gu, X.H. 2007. Utilization of fish processing by-products in the gelatin industry. *Food Reviews International*. 23: 159-174.
- Woolf, A.D. and Pflieger, B. 2003. Burden of major musculoskeletal conditions. *Bull World Health Organ*. 81: 646-56.
- Wootton, M. and Bamunuarachchi, A. 1980. Application of differential scanning calorimetry to starch gelatinization. III. Effect of sucrose and sodium chloride. *Starch-Stärke*. 32: 126-129.
- Wu, Y., Hussain, M. and Fassihi, R. 2005. Development of a simple analytical methodology for determination of glucosamine release from modified release matrix tablets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 38: 263-269.
- Xavier, M. 2006. Standardization of optimum conditions for the production of glucosamine hydrochloride from chitin. PhD Thesis, Cochin University of Science and Technology, India.
- Xu, Y., C. Gallert, and Winter, J. 2008. Chitin purification from shrimp wastes by microbial deproteination and decalcification, *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79: 687-697.
- Yu, S., Ma, Y. and Sun, D.W. 2009. Impact of amylose content on starch retrogradation and texture of cooked milled rice during storage. *Journal of Cereal Science*. 50: 139-144.
- Zhang, X., Wang, L., Cheng, M., Wang, R., Luo, X., Li, Y. and Chen, Z. Influence of ultrasonic enzyme treatment on the cooking and eating quality of brown rice. *Journal of Cereal Science*. 63: 140-146.
- Zhang, Q.X., Fu, R.J., Yao, K., Jia, D.Y., He, Q. and Chi, Y.L. 2018. Clarification effect of collagen hydrolysate clarifier on chrysanthemum beverage. *LWT*. In Press, accepted manuscript. doi: 10.1016/j.lwt.2018.01.041.
- Zhao, C.L. 2009. Pharmacological and nutritional activities of potato anthocyanins. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2: 463-468.

Zheng, W.; Wang, S.Y. 2003. Oxygen radical absorbing capacity of phenolics in blueberries, cranberries, chokeberries, and lingonberries. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 502-509.





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

1. การวัดค่าสี (L^* a^* และ b^*) โดยเครื่องวัดสีแบบสารละลาย Hunter Lab

การวัดสีด้วยเครื่องวัดสี Hunter Lab แบบสารละลาย จะให้ค่า L^* เป็นค่าความสว่าง (Lightness) ค่าสี a^* เป็นค่าสีแดงและสีเขียว (Redness/Greeness) และ ค่าสี b^* เป็นค่าสีเหลืองและน้ำเงิน (Yellowness/Blueness)

ค่า L^* คือ ค่าแสดงความสว่างของสี มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 100

กรณีถ้า L^* มีค่าเท่ากับ 0 หมายถึง มืด (darkness) แต่ถ้ามีค่าเท่ากับ 100 หมายถึง สว่าง (lightness)

ค่า a^* คือ แสดงความเป็นสีแดง และเขียว (redness/greeness)

กรณีถ้า a^* มีค่าเป็นบวก หมายถึง สีแดง และถ้ากรณี ถ้า a^* มีค่าเป็นลบ หมายถึง สีเขียว

ค่า b^* คือ แสดงความเป็นสีเหลือง และน้ำเงิน (yellowness/blueness)

กรณีถ้า b^* มีค่าเป็นบวก หมายถึงสีเหลือง และกรณี ถ้า b^* มีค่าเป็นลบ หมายถึงสีน้ำเงิน

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดสี Hunter Lab ยี่ห้อ Color Quest, XE
2. ชุด Calibrate เครื่อง Hunter Lab

วิธีการ

1. เปิดเครื่องคอมพิวเตอร์ และเครื่อง Hunter Lab
2. ทำการ calibrate เครื่องโดย เลือกโหมด TTRAN โดยทำการปรับมาตรฐานโดยใช้แผ่นสีดำ และตัวน้ำกลั่นที่ใส่ cell สำหรับการวัด
3. ทำการใส่ตัวอย่างน้ำทับทิมใส่ cell ปริมาตร 40 มิลลิลิตร
4. ทำการวัดค่าสีตัวอย่างน้ำข้าวต้ม

2. การวิเคราะห์ความขุ่น

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความขุ่น Lovibon รุ่น Therbichek
2. น้ำยา Calibrate ช่วง 1, 10, 100, 1000 NTU 1 ชุด
3. หลอดทดลอง 10 ml 2 หลอด

วิธีการ

1. เปิดเครื่องวัดความชื้นทำการ calibrate เครื่องโดยใช้ชุดน้ำยา ช่วง 1, 10, 100, 1000 NTU
2. นำตัวอย่างน้ำข้าวต้มมาวัดค่าความชื้นโดยใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 10 มิลลิลิตร
3. อ่านค่าหน้าจอแสดงผลที่ได้เป็นหน่วย NTU

3. การวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส ด้วยวิธีการวัดค่าการต้านแรงกด (Back extrusion test) (Leelayuthsoontorn และคณะ, 2006)

อุปกรณ์

1. เครื่อง Texture Analyzer
2. หัววัด back extrusion

วิธีการ

1. กรองน้ำข้าวต้มออกจากข้าวด้วยกระชอน หรือผ้าขาวบาง
2. ชั่งตัวอย่างข้าวต้มจำนวน 20 กรัมใส่ในกระบอกพลาสติก
3. ตั้งค่าเครื่องโดยระบุหัววัด back extrusion
4. ระบุค่าที่ต้องการเป็นค่าความแข็ง (hardness) และ stickiness

4. การวิเคราะห์ความหนืด ด้วยเครื่องวัดความหนืด Brookfield viscometer Model DV-II

อุปกรณ์

1. ชุด small sample adapter
2. หัววัดเบอร์ 18
3. Chamber

วิธีการ

1. ปรับลูกน้ำให้อยู่ที่จุดกึ่งกลางของเส้นวงกลม เพื่อตั้งเครื่องให้สมดุล
2. เปิดเครื่องสำรองไฟ และเปิดเครื่องวัดความหนืด โดยกดปุ่มสวิทช์ด้านหลังของเครื่อง
3. กดปุ่ม motor on/off เพื่อเข้าสู่โปรแกรมวัดความหนืด เครื่องจะทำการปรับศูนย์อัตโนมัติ เมื่อหน้าจอขึ้น Auto zero is complete กด Next

4. นำตัวอย่างน้ำข้างต้มใส่ใน chamber ที่ติดตั้งเข้ากับชุด small sample adapter ควบคุมอุณหภูมิน้ำข้างต้มตลอดการวิเคราะห์ที่ 40 ± 1 องศาเซลเซียส
5. นำหัววัดประกอบเข้ากับเครื่องวัดความหนืด ซึ่งตัวอย่างน้ำข้างต้มใช้หัววัดเบอร์ 18
หมายเหตุ : หลักการเลือกหัววัด คือ ตัวอย่างที่มีความหนืดมากให้ใช้หัววัดที่มีขนาดเล็กและตัวอย่างที่มีความหนืดน้อยให้ใช้หัววัดที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งต้องสังเกตค่าของ % Torque ให้อยู่ในช่วง 85-100%
6. กด Select SPDL เพื่อเลือกรหัสหัววัดคือ 18 และ กด Select SPDL อีกครั้งเพื่อตอบตกลง
7. ใส่ตัวเลขที่ความเร็วรอบ 200 RPM อ่านค่าความหนืดของตัวอย่างเป็น cP.



ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ห้องค์ประกอบทางเคมี (AOAC, 2000)

1.1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

อุปกรณ์

1. ถ้วยอะลูมิเนียม
2. ตู้อบลมร้อน
3. โถสุญญากาศ
4. เครื่องชั่งน้ำหนัก

วิธีการ

1. อบถ้วยอะลูมิเนียมในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ทำให้เย็นใน desiccator นำมาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมที่อบแห้ง และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
3. นำถ้วยอะลูมิเนียมที่บรรจุตัวอย่างเข้าอบที่อุณหภูมิ 105 ถึง 107 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที
4. นำเอามาใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง
5. นำไปชั่งน้ำหนักอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้จะแตกต่างกันไม่เกิน 2 มิลลิกรัม
6. จดน้ำหนักที่น้อยที่สุดของถ้วยอะลูมิเนียมและน้ำหนักตัวอย่างหลังจากอบแห้งแล้ว

การคำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักที่หายไป (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

1.2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

อุปกรณ์

1. Gerhardt Micro-Kjeldahl Digestion Unit
2. ชุดเครื่องกลั่น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน ประมาณ 1-2 ลงในหลอดย่อยโปรตีน

2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา ที่ประกอบด้วยคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) 1 ส่วน ต่อโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 9 ส่วน จำนวน 1 กรัม และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร
3. นำหลอด buchi ไปย่อยบนเตา โดยค่อยๆเพิ่มความร้อนในการย่อย จนส่วนผสมในหลอดย่อยโปรตีนกลายเป็นสีเขียวใส
4. ปิดเตาย่อย
5. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลานาน ประมาณ 30 นาที
6. นำไปต่อเข้ากับเครื่องกลั่น เติมน้ำกลั่นลงในหลอดย่อย จำนวน 30 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันไม่ให้ NH_4 ตกผลึก
7. เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 32 จำนวน 50 มิลลิลิตร
8. นำ receiving flask ที่มี 4% boric acid อยู่ 25 มิลลิลิตร และเติม indicator (โดยใช้ methylred 0.1 กรัม: bromocresol green 0.1 กรัม ใน ethanol 100 มิลลิลิตร) มาเรียบร้อยแล้ว มารองรับสารละลายที่กลั่นได้
9. กลั่นจนได้สารละลายปริมาตร 25 มิลลิลิตร
10. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ด้วย 0.1 N HCl จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีชมพูอ่อน
11. คำนวณหาปริมาณโปรตีนจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A-B) \times N \times 1.4 \times F}{Wt}$$

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกใช้ในการไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

Wt คือ น้ำหนักของตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (N)

F คือค่าแฟคเตอร์

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน
2. Soxhlet apparatus
3. โถดูดความชื้น

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบแห้ง ประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1
2. ใส่ตัวอย่างในทิมเบล
3. ใส่ทิมเบลลงในชุดแยกสกัด และเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ประมาณ 250 มิลลิลิตร ลงใน Soxhlet flask แล้วจ่อเข้ากับชุดสกัด ใช้เวลาสกัดไขมันนาน 6-8 ชั่วโมง
4. ระเหยเอาปิโตรเลียมอีเทอร์ในชุดออกให้หมด
5. นำไขมันที่สกัดได้ไปอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็นใน โถดูดความชื้น
6. ชั่งน้ำหนักของน้ำมัน หรือไขมันที่ได้
7. คำนวณหาปริมาณไขมัน

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า อุปกรณ์

1. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน จำนวน 5 กรัมใส่ในกรูชีเบลที่ผ่านการเผา และทราบ น้ำหนักที่แน่นอนแล้ว
2. นำตัวอย่างไปเผาโดยใช้ hot plate ทำในตู้ดูดควัน เผาจนกระทั่งตัวอย่างไม่มี ควัน
3. นำตัวอย่างไปเผาต่อในเตาเผาเถ้า ที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
4. ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้
6. คำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของเถ้าหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละ)} = 100 - (\% \text{ไขมัน} + \% \text{โปรตีน} + \% \text{ความชื้น} + \% \text{เถ้า})$$

2. Reducing sugar DNS method (Miller, 1959)

สารเคมี

1. DNS reagent (3,5- dinitrosalicylic acid)
2. Sodium hydroxide (NaOH)
3. Potassium sodium tartrate (KNaC₄H₄O₅·4H₂O)
4. Glucose
5. น้ำกลั่น

การเตรียมสารเคมี

1. dinitrosalicylic reagent (DNS reagent) ละลาย 3,5- dinitrosalicylic acid 1 กรัม ใน 2 N NaOH 20 มล เติมน้ำกลั่น 50 มล จากนั้นเติม Potassium sodium tartrate 30 กรัม คนให้ละลาย ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล ด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน เตรียมสารละลายกลูโคสจากกลูโคสที่ผ่านการอบแห้งที่ 100 °ซ นาน 2 ชั่วโมง โดยละลายกลูโคส 0.0901 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มล ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 5.0 มม/มล

วิธีการ

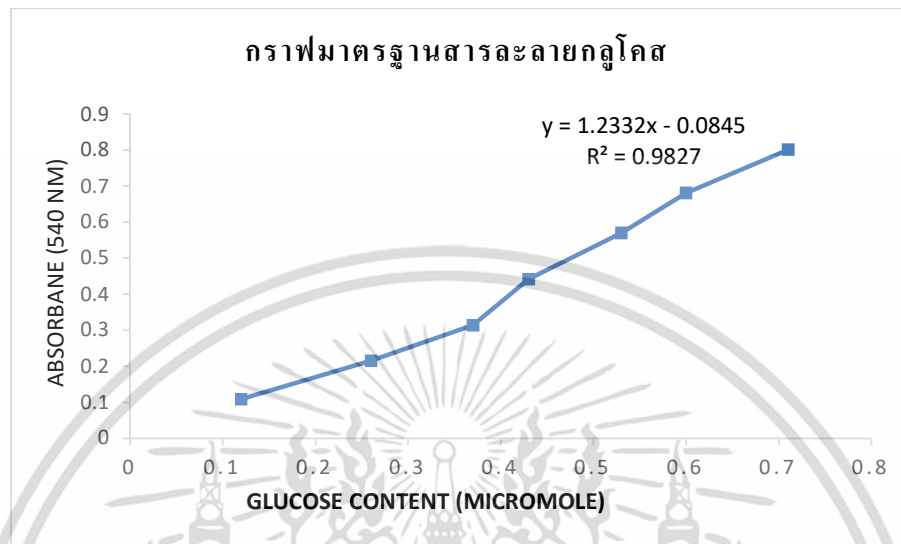
1. การเตรียมกราฟมาตรฐาน

- 1.1 ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ปริมาตร 0.2,0.4,0.6,0.8,1.0 มล
- 1.2 เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรรวมแต่ละหลอดเป็น 1 มล
- 1.3 เติม DNS reagent หลอดละ 1 มล จากนั้นปิดฝา
- 1.4 ต้มในน้ำเดือด 3 นาที และแช่เย็นทันที
- 1.5 เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มล
- 1.6 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ blank ใช้ น้ำกลั่นแทน สารละลายกลูโคส

2. การวิเคราะห์ตัวอย่าง

- 2.1 ปิเปตตัวอย่างใส่หลอดทดลอง 1 มล
- 2.2 เติม DNS reagent หลอดละ 1 มล จากนั้นปิดฝา
- 2.3 ต้มในน้ำเดือด 3 นาที และแช่เย็นทันที
- 2.4 เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มล
- 2.5 วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับ blank ใช้ น้ำกลั่นแทน สารละลายกลูโคส

1.6 นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟกลูโคสมาตรฐาน และคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากสมการกราฟมาตรฐาน $y = 1.2332x - 0.0845$, $R = 0.9827$



ภาพที่ ข-1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (OD 540) กับ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ไมโครโมล)

3. การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน (Wu และคณะ, 2005)

สารเคมี

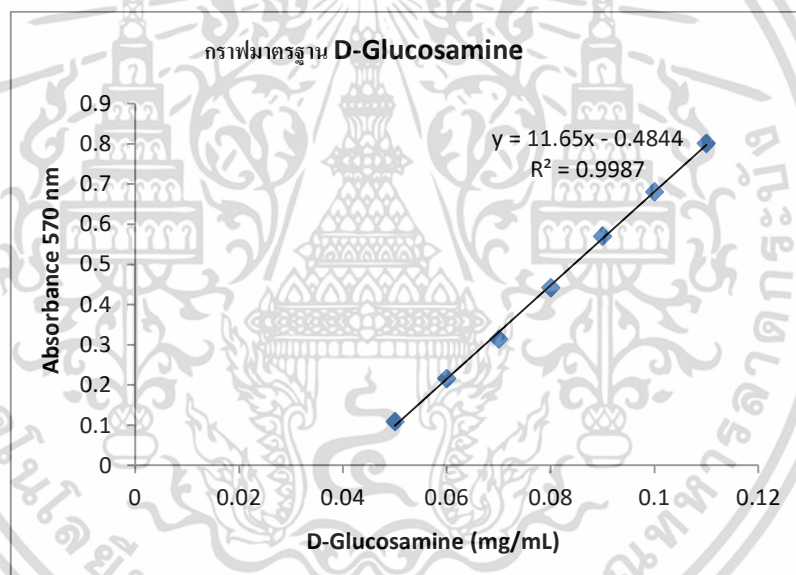
1. สารละลายกลูโคซามีน
2. นินไฮดริน
3. ฟอสเฟตบัฟเฟอร์

การเตรียมตัวอย่าง

1. การเตรียมสารละลายกลูโคซามีน ที่ความเข้มข้น 0.005-0.050% ซึ่งสารละลาย กลูโคซามีน 0.025 กรัม มาละลายน้ำแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มล.
2. การเตรียมนินไฮดริน ที่ความเข้มข้น 0.8 % ด้วยการชั่งนินไฮดรินมา 0.4 กรัมมาละลายน้ำ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 50 มล.
3. การเตรียมสาร Na_2HPO_4 ที่ความเข้มข้น 0.2 M (pH 6) ซึ่งสาร Na_2HPO_4 มา 28.39 กรัมละลายน้ำ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มล.

วิธีการ

1. ปิเปตสารละลายกลูโคซามีนใส่หลอดทดลองจำนวน 7 หลอด ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 3 จำนวน 4 มล.
2. ปิเปตสารละลายนินไฮดรินและฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ปริมาตร 0.5 มล. นำสารที่เตรียมจาก ข้อ 1 มาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer
3. นำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 15 นาที
4. เมื่อครบเวลานำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็น 3-5 นาที แล้วจึงนำมาพักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15-20 นาที
5. นำมาวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร
6. นำค่าที่ได้จากข้อ 5 มาทำกราฟมาตรฐาน (ภาพที่ ข-1)



ภาพที่ ข-2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (OD 570) กับ ปริมาณ D-glucosamine(mg/mL)

4. การวิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

อุปกรณ์

1. pH meter (Mettler Toledo, FEP-20/FG20)
2. เครื่องปั่น
3. เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge)

วิธีการ

1. เสียบปลั๊ก เปิดเครื่อง pH meter
2. ทำการปรับเทียบมาตรฐาน (Calibrate) เครื่อง pH meter
3. ชั่งข้าวต้มจำนวน 20 กรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
4. ปั่นด้วยเครื่องปั่น ความเร็วเบอร์ 3 นาน 5 นาที
5. ปั่นเหยียงที่ 3000 rpm เป็นเวลา 15 นาที
6. นำส่วนของเหลวไปวัดค่า pH ที่อุณหภูมิห้อง



ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

1. การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Total Plate Count (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
2. หลอดทดลองขนาด 10 มิลลิลิตรพร้อมฝาปิด (Test tube)
3. ไมโครปิเปต
4. อ่างควบคุมอุณหภูมิ
5. ตู้บ่มเชื้อ
6. หม้อนึ่งความดัน

อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายสำหรับเจือจาง

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar
2. Peptone ความเข้มข้นร้อยละ 0.1

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA) ปริมาณ 23.5 กรัม ละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 มิลลิลิตร
2. นำไปให้ความร้อนจนอาหารเลี้ยงเชื้อละลายหมด จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121-124 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายสำหรับเจือจาง

เตรียมสารละลายเปปโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยทำการชั่งเปปโตนปริมาณ 50 กรัม ละลาย และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. เจือจางตัวอย่างข้าวต้มโดยการปิเปต 1 มิลลิลิตรของตัวอย่างลงใน peptone water ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เป็นการเจือจาง 10-1 เท่า ถึง 10-3 เท่า ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
2. ปิเปต 1 มิลลิลิตร ของการเจือจางที่ 10-1 เท่า ถึง 10-3 เท่า ลงใน Petri dish
3. เทอาหาร Plate Count Agar ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส แล้วทำการผสมให้เข้ากันโดยการหมุนจานเป็นวงกลมอย่างช้าๆ ทั่วอาหารแข็งตัว
4. นำ Petri dish ไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. นับจำนวนโคโลนีเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารในแต่ละความเจือจาง (30-300 โคโลนี)
6. คำนวณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็น (log CFU/ml)



ภาคผนวก ง
ใบรายงานผล

ที่ ศร 0513.12201/601170



รายงานผลการทดสอบ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 งามวงศ์วาน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ 0 2942 8629-35
โทรสาร 0 2942 7601

หมายเลขทะเบียน 1089/49

คำขอบริการเลขที่ : 601170 วันที่ 21 มีนาคม 2560
ผู้ขอรับบริการ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง
เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
ผู้ผลิต : นางสาวจิตราภานดี ไกรแสงศรี
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง
เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
ชื่อตัวอย่าง : ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง
ชนิดตัวอย่าง : ฉลากโภชนาการ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) พ.ศ. 2541
ลักษณะบรรจุ : กระป๋องโลหะปิดสนิท
ขนาดบรรจุต่อหน่วย : 160 กรัม
ลักษณะตัวอย่าง : เมล็ดข้าวสีน้ำตาลอ่อนปนสีน้ำตาลเข้ม ในของเหลวขุ่นสีน้ำตาล
วันที่รับตัวอย่าง : 31 มกราคม 2560
วันที่ทำการทดสอบ : 2 กุมภาพันธ์ - 17 มีนาคม 2560

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ (ต่อ 100 กรัม)	วิธีทดสอบ	หมายเหตุ
พลังงาน, กิโลแคลอรี	39.46	Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand, 1 st ed. 2003	*
พลังงานจากไขมัน, กิโลแคลอรี	3.42	Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand, 1 st ed. 2003	*
ไขมันทั้งหมด, กรัม	0.38	In house method based on AOAC (2016) 2003.05	-
ไขมันอิ่มตัว, กรัม	0.09	In house method based on Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand, 1 st ed. 2003	-
โคเลสเตอรอล, มิลลิกรัม	ไม่พบ	In house method based on AOAC (2016) 994.10	*
โปรตีน (แอฟเตอร์ 5.95), กรัม	1.38	In house method based on AOAC (2016) 991.20	-
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด, กรัม	7.63	Compendium of Methods for Food Analysis, Thailand, 1 st ed. 2003	*
ใยอาหาร, กรัม	0.02	In house method based on AOAC (2016) 985.29	-
น้ำตาล, กรัม	0.35	In house method based on AOAC (2016) 982.14	*
โซเดียม, มิลลิกรัม	89.60	In-house method TM-CH-105 based on AOAC (2012) 984.27	**

รายงานผลการวิเคราะห์นี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
เอกสารทุกฉบับต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ
ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601



1/4

ภาพที่ ง1 ผลการทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

รายงานผลการทดสอบ (คำขอบริการเลขที่ 601170)



หมายเลขทะเบียน 1089/49

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ (ต่อ 100 กรัม)	วิธีทดสอบ	หมายเหตุ
วิตามินเอ (เบต้า-แคโรทีน), ไมโครกรัม	ไม่พบ	In house method based on Food Chemistry (2003), 83(2) : 205-212	*
วิตามินบี 1, มิลลิกรัม	0.12	In house method based on Journal of Cereal Science (2005), 42 : 101-108	-
วิตามินบี 2, มิลลิกรัม	ไม่พบ	In house method based on Analytica Chimica Acta (2005), 538 : 135-141	-
แคลเซียม, มิลลิกรัม	7.29	In-house method TM-CH-105 based on AOAC (2012) 984.27	**
เหล็ก, มิลลิกรัม	ไม่พบ	In-house method TM-CH-105 based on AOAC (2012) 984.27	**
เถ้า, กรัม	0.25	In house method based on AOAC (2016) 938.08	-
ความชื้น, กรัม	90.36	In house method based on AOAC (2016) 925.45	-

หมายเหตุ : * รายการทดสอบที่ไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005
 ** รายการทดสอบนี้ทำโดยห้องปฏิบัติการรับเหมาช่วง

ผู้รายงาน

ผู้รับรอง

ลงชื่อ..... สุภาวดี ดั่งใจ

(นางสาวสุดารัตน์ ดังใจ)

นักวิทยาศาสตร์

ลงชื่อ..... Daman Damm

(นางจันทร์สุดา จรรย์วัฒน์วิจิตร)

หัวหน้าศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร

ลงชื่อ..... วิจิตร ชูวร.

(นางจุฬาลักษณ์ จารุบุษ)

รองผู้อำนวยการฝ่ายวางแผนและพัฒนา
ปฏิบัติงานแทนผู้อำนวยการ

รายงานผลการวิเคราะห์ที่มีรับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
 เอกสารทุกฉบับต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ
 ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601

2/4

ภาพที่ ง1 (ต่อ) ผลการทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

รายงานผลการทดสอบ (คำขอบริการเลขที่ 601170)



หมายเลขทะเบียน 1089/49

ผลการทดสอบต่อ 100 กรัม ผลการคำนวณคุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค และร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน

(ผู้ส่งแจ้ง : หนึ่งหน่วยบริโภค = 1 กระจบอง (160 กรัม) ขนาดบรรจุ = 160 กรัม)

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ		
	ต่อ 100 กรัม	ต่อหนึ่งหน่วยบริโภค (160 กรัม)	ร้อยละของปริมาณที่ แนะนำต่อวัน
พลังงาน, กิโลแคลอรี	39.46	60	
พลังงานจากไขมัน, กิโลแคลอรี	3.42	0	
ไขมันทั้งหมด, กรัม	0.38	0.5	1
ไขมันอิ่มตัว, กรัม	0.09	0	0
โคเลสเตอรอล, มิลลิกรัม	0.00	0	0
โปรตีน (แฟคเตอร์ 5.95), กรัม	1.38	2	
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด, กรัม	7.63	12	4
ใยอาหาร, กรัม	0.02	0	0
น้ำตาล, กรัม	0.35	น้อยกว่า 1	
โซเดียม, มิลลิกรัม	89.60	140	6
วิตามินเอ, ไมโครกรัม อาร์ อี	0.00	(0.00)	0
วิตามินบี 1, มิลลิกรัม	0.12	(0.19)	15
วิตามินบี 2, มิลลิกรัม	0.00	(0.00)	0
แคลเซียม, มิลลิกรัม	7.29	(11.66)	0
เหล็ก, มิลลิกรัม	0.00	(0.00)	0
ถั่ว, กรัม	0.25		
ความชื้น, กรัม	90.36		

ผู้รายงาน

ลงชื่อ..... สุภาวดี ดั่งใจ.....
(นางสาวสุภารัตน์ ดั่งใจเพ็ญ)
นักวิทยาศาสตร์

ผู้รับรอง

ลงชื่อ..... Ornan Odm.....
(นางจันทร์สุดา จรรย์วัฒนวิจิตร)
หัวหน้าศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร

รายงานผลการวิเคราะห์ที่รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
เอกสารทุกฉบับต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ
ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601

3/4

ภาพที่ ๑1 (ต่อ) ผลการทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระจบอง



หมายเลขทะเบียน 1089/49

ข้อมูลโภชนาการ			
หนึ่งหน่วยบริโภค : 1 กระจบอง (160 กรัม)			
จำนวนหน่วยบริโภคต่อกระจบอง : 1			
คุณค่าทางโภชนาการต่อหนึ่งหน่วยบริโภค			
พลังงานทั้งหมด 60 กิโลแคลอรี (พลังงานจากไขมัน 0 กิโลแคลอรี)			
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน *			
ไขมันทั้งหมด	0.5 ก.		1 %
ไขมันอิ่มตัว	0 ก.		0 %
โคเลสเตอรอล	0 มก.		0 %
โปรตีน	2 ก.		
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	12 ก.		4 %
ใยอาหาร	0 ก.		0 %
น้ำตาล	น้อยกว่า 1 ก.		
โซเดียม	140 มก.		6 %
ร้อยละของปริมาณที่แนะนำต่อวัน *			
วิตามินเอ	0 %	วิตามินบี 1	15 %
วิตามินบี 2	0 %	แคลเซียม	0 %
เหล็ก	0 %		
* ร้อยละของปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวันสำหรับคนไทยอายุตั้งแต่ 6 ปีขึ้นไป (Thai RDI) โดยคิดจากความต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี			
ความต้องการพลังงานของแต่ละบุคคลแตกต่างกัน ผู้ที่ต้องการพลังงานวันละ 2,000 กิโลแคลอรี ควรได้รับสารอาหารต่าง ๆ ดังนี้			
ไขมันทั้งหมด		น้อยกว่า	65 ก.
ไขมันอิ่มตัว		น้อยกว่า	20 ก.
โคเลสเตอรอล		น้อยกว่า	300 มก.
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด			300 ก.
ใยอาหาร			25 ก.
โซเดียม		น้อยกว่า	2,400 มก.
พลังงาน (กิโลแคลอรี) ต่อกรัม : ไขมัน = 9 ; โปรตีน = 4 ; คาร์โบไฮเดรต = 4			

ผู้รายงาน

ผู้รับรอง

ลงชื่อ.....สุวิมล งาม.....สาว ๒๙๑๑

(นางสาวสุวิมล งาม)
นักวิทยาศาสตร์

ลงชื่อ.....สมาน งาม.....

(นางจันทร์สุดา จรรย์วัฒน์วิจิตร)
หัวหน้าศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร



รายงานผลการวิเคราะห์ที่รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
เอกสารทุกฉบับต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ
ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601

4/4

ภาพที่ ๑1 (ต่อ) ผลการทดสอบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระจบอง

ที่ ศร 0513.12201/601171



รายงานผลการทดสอบ

สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
50 งามวงศ์วาน จตุจักร กรุงเทพฯ 10900
โทรศัพท์ 0 2942 8629-35
โทรสาร 0 2942 7601

หมายเลขทะเบียน 1089/49

คำขอบริการเลขที่ : 601171 วันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2560
 ผู้ขอรับบริการ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
 เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง
 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
 ผู้ผลิต : นางสาวจิตราภรณ์ ไกรแสงศรี
 คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง
 เลขที่ 1 ซอยฉลองกรุง 1 ถนนฉลองกรุง แขวงลาดกระบัง
 เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520
 ชื่อตัวอย่าง : ข้าวต้มบรรจุกระป๋อง
 ชนิดตัวอย่าง : อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355 (พ.ศ. 2556) ข้อ 3 (1)
 อาหารที่มีค่าความเป็นกรด - ด่าง สูงกว่า 4.6
 ภาชนะบรรจุ : กระป๋องโลหะปิดสนิท
 ขนาดบรรจุต่อหน่วย : 160 กรัม
 ลักษณะตัวอย่าง : เมล็ดข้าวสีน้ำตาลอ่อนปนสีน้ำตาลเข้ม ในซองเหลวซูนสีน้ำตาล
 วันที่รับตัวอย่าง : 31 มกราคม 2560
 วันที่ทำการทดสอบ : 31 มกราคม - 22 กุมภาพันธ์ 2560

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ	หมายเหตุ
น้ำหนักสุทธิ เฉลี่ย, กรัม	164.16	Direct weighing	*
น้ำหนักเนื้ออาหาร, กรัม	108.95	Direct weighing	*
ค่าความเป็นกรด - ด่าง	5.58	pH meter	*
Water Activity (a_w) at 25°C	1.00	In house method based on AOAC (2016) 978.18	-
ด้านในภาชนะบรรจุ	ปกติ	Sensory test	*
โลหะหนัก			
ปริมาณตะกั่ว, มิลลิกรัม / กิโลกรัม	น้อยกว่า 0.10	In house method based on AOAC (2016) 984.27	*



รายงานผลการวิเคราะห์ที่รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
 เอกสารทุกฉบับต้องมีตราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้อำนวยการ
 ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601

1/2

ภาพที่ ง2 ผลการทดสอบอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่

รายงานผลการทดสอบ (คำขอบริการเลขที่ 601171)



หมายเลขทะเบียน 1089/49

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	วิธีทดสอบ	หมายเหตุ
เชื้อจุลินทรีย์			
จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 35 °C, โคโลนี / กรัม	ไม่พบ	APHA 2001, Chapter 62	*
จุลินทรีย์ที่เจริญได้ที่ 55 °C, โคโลนี / กรัม	ไม่พบ	APHA 2001, Chapter 62	*
<i>Clostridium botulinum</i> / กรัม	ไม่พบ	APHA 2001, Chapter 33	*

หมายเหตุ : * รายการทดสอบที่ไม่ได้รับการรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005

ผู้รายงาน

ผู้รับรอง

ลงชื่อ... ณิศา นิมิตต์
 (นางสาวศุภธิดา พิมพ์สมทร์)
 นักวิทยาศาสตร์

ลงชื่อ... จันทรา จรรย์พัฒนวิจิตร
 (นางจันทราสุตา จรรย์พัฒนวิจิตร)
 หัวหน้าศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร

ลงชื่อ... 
 (นางพัชรี ตั้งตระกูล)
 นักวิจัย เชี่ยวชาญ
 ปฏิบัติหน้าที่แทนผู้อำนวยการ

รายงานผลการวิเคราะห์นี้รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้รับเท่านั้น และห้ามนำไปใช้ประโยชน์ในการโฆษณา
 เอกสารทุกฉบับต้องมิดราประทับของสถาบันฯ และลงนามกำกับโดยผู้มีอำนาจ
 ศูนย์บริการประกันคุณภาพอาหาร โทร. 0 2942 8629-35 ต่อ 1800, 1811 โทรสาร 0 2942 7601

2/2

ภาพที่ ๓2 (ต่อ) ผลการทดสอบอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 355

ภาคผนวก จ1

เอกสารแนะนำแบบสอบถาม



แบบสอบถามนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

“ขอขอบพระคุณอย่างสูงสำหรับเวลา และความคิดเห็นอันมีค่าต่อการศึกษา และขอเรียนว่าข้อมูล
ส่วนตัวของท่านในแบบสอบถามนี้จะไม่ถูกนำไปเผยแพร่เพื่อการอื่นแต่อย่างใด”

นางสาวจิตรา กานต์ ไกรแสงศรี

ภาคผนวก จ1 (ต่อ)
แบบสอบถามผู้สูงอายุ

“ผลิตภัณฑ์ข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนและคอลลาเจนบรรจุกระป๋องสำหรับผู้สูงอายุ”

ข้อมูลผู้สูงอายุ

1. เพศ

หญิง

ชาย

2. อายุปี

3. อาชีพ

ว่างเกษียณ

ข้าราชการ-รัฐวิสาหกิจ

ธุรกิจส่วนตัว

รับจ้างทั่วไป

ค้าขาย

อื่นๆ.....

4. ระดับการศึกษา

ประถมศึกษา

มัธยมศึกษา/ปวช.

อนุปริญญา/ ปวส.

ปริญญาตรี

สูงกว่าระดับปริญญาตรี

อื่นๆ.....

5. รายได้ของท่านต่อเดือน

ต่ำกว่า 5,000 บาท

5,001-10,000 บาท

10,001-15,000 บาท

15,001-20,000 บาท

สูงกว่า 20,000 บาท

6. ปัจจุบันท่านอาศัยอยู่กับ

อยู่ตามลำพัง

คู่สมรส

บุตร-หลาน

อื่นๆ

ภาคผนวก จ1 (ต่อ)

ข้อมูลเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ (กรุณาพิจารณาตัวอย่างก่อนทำแบบสอบถาม)

ประเมินความชอบของตัวอย่างในการทดสอบ

7. ระดับความชอบลักษณะปรากฏ



8. ระดับความชอบกลิ่นรส



9. ระดับความชอบความหนืด



10. ระดับความชอบสี



11. ระดับความชอบการกลืนง่าย



12. ระดับความชอบโดยรวม



ภาคผนวก จ1 (ต่อ)

13. หลังจากการทดสอบผลิตภัณฑ์แล้วท่านยอมรับผลิตภัณฑ์นี้หรือไม่
[] ยอมรับ
[] ไม่ยอมรับ
14. หากผลิตภัณฑ์นี้มีวางจำหน่ายในท้องตลาดท่านมีความสนใจที่จะซื้อหรือไม่
[] ซื้อ
[] ไม่ซื้อ
15. ความถี่ที่ท่านคิดว่าจะซื้อผลิตภัณฑ์นี้
[] ทุกๆวัน [] 1-3 ครั้ง/สัปดาห์ [] ทุกๆเดือน [] 1-3 ครั้ง/เดือน []
1-3 ครั้ง/ปี



ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก จ1 (ต่อ)

ข้อมูลแบบสอบถาม

ตารางที่ จ1 ข้อมูลประชากรศาสตร์ของกลุ่มผู้สูงอายุในช่วง 60-70 ปี

ข้อมูล	ผลการสำรวจ	ร้อยละ
เพศ	หญิง	64
	ชาย	36
อายุ	60-65 ปี	72
	66-70 ปี	28
อาชีพ	วัยเกษียณ	47
	ข้าราชการ-รัฐวิสาหกิจ	13
	ธุรกิจส่วนตัว	4
	รับจ้างทั่วไป	18
	ค้าขาย	18
อื่นๆ	0	
การศึกษา	ประถมศึกษา	41
	มัธยมศึกษา/ปวช.	24
	อนุปริญญา/ปวส.	10
	ปริญญาตรี	12
	สูงกว่าระดับปริญญาตรี	4
อื่นๆ	9	
รายได้เฉลี่ยต่อเดือน	ต่ำกว่า 5,000 บาท	7
	5,001-10,000 บาท	39
	10,001-15,000 บาท	35
	15,001-20,000 บาท	15
	มากกว่า 20,001 บาท ขึ้นไป	4
สภาวะความเป็นอยู่	อยู่ตามลำพัง	2
	คู่สมรส	16
	บุตร-หลาน และคู่สมรส	31
	อื่นๆ	51

หมายเหตุ จำนวนผู้ทดสอบ 100 คน

ตารางที่ จ2 ข้อมูลหน่วยงานผู้ให้บริการด้านสุขภาพต่อการยอมรับข้าวต้มเสริมกลูโคซามีนบรรจุกระป๋อง

ชื่อหน่วยงาน	ประเภทหน่วยงาน
โรงพยาบาลสิรินธร	โรงพยาบาล
โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานคร	โรงพยาบาล
โรงพยาบาลนพรัตนราชธานี	โรงพยาบาล
โรงพยาบาลชลประทาน	โรงพยาบาล
โรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี	โรงพยาบาล
ศูนย์คุณอายุเนิร์สซิ่งโฮม	ศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ
บ้านพอใจเนิร์สซิ่งโฮม	ศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ
ศูนย์บริการผู้สูงอายุदिนแดง	ศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ
ศรีวารีเฮลท์แคร์	ศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ
เซ็นจูรี่แคร์	ศูนย์ดูแลผู้สูงอายุ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาวจิตรา กานต์ ไกรแสงศรี

วัน เดือน ปีเกิด 28 ธันวาคม 2535

ที่อยู่ 15/21 ซอยเวฬุวนาราม 34 แขวงดอนเมือง เขตดินเมือง จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10210

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2557 จบการศึกษาหลักสูตร วิทยาศาสตรบัณฑิต คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สาขาอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558 ศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะ

อุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสำเร็จการศึกษาใน

ปี พ.ศ. 2563

การนำเสนอผลงาน

Jittrakan Kraisansri and Sitthipong Nalinanon. 2017. Effects of Sterilization Times on Physicochemical Properties of Canned Gruel Produced from Red Jasmine Brown Rice Fortified with D-glucosamine. *Current Applied Science and Technology*. 17 (2): 15-17. (Publishing)

Jittrakan Kraisansri., Sitthipong Nalinanon* , Siriporn Riebroy., Suthasinee Yarnpakdee and Palanivel Ganesan. 2018. Physicochemical Characteristics of Glucosamine from Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus*) Shell Prepared by Acid Hydrolysis. *Walailak Journal of Science and Technology*. 15 (12): 869-877. (Publishing)