โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) : การสกัด การเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

ณัฐพงษ์ มุงเมือง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) : การสกัด การเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

ณัฐพงษ์ มุงเมือง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) : การสกัด การเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

ณัฐพงษ์ มุงเมือง

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

พิจารณาเห็นชอบโดย อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล เสนพันธุ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร .....
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล เสนพันธุ์)
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว .....
(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)
รองอธิการบดี
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ชื่อเรื่อง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) : การสกัด การเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

ชื่อผู้เขียน นายณัฐพงษ์ มุงเมือง

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล เสนพันธุ์

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ เพราะอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง นิยมบริโภคโดยตรง หรือใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อช่วยบำรุงร่างกาย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกันที่มีผลต่อคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองจากกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ศึกษากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตไมโครเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง และการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองชนิดผงสำเร็จรูป ซึ่งในตอนที่ 1 จะศึกษาเปรียบเทียบการสกัดโปรตีนไอโซเลต 3 วิธี ได้แก่ 1) ตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) อิ่มตัวร้อยละ 80 (ปริมาตร/ปริมาตร) 2) ตกตะกอนด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 (ปริมาตร/ปริมาตร) และ 3) ปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กตริก (PI) วิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ องค์ประกอบทางเคมี สมบัติเชิงหน้าที่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติทางความร้อน และคุณสมบัติเชิงโครงสร้าง พบว่าโปรตีนไอโซเลตทุกชุดการทดลองมีค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) และค่าความต่างสี (ΔE^*) อยู่ในช่วง 0.22-0.25 51.45-67.12 10.89-18.74 37.71-41.93 และ 47.56-60.28 ตามลำดับ มีกิจกรรมน้ำอิสระ (a_W) อยู่ในช่วง 0.22-0.25 มีปริมาณความชื้น ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตอยู่ในช่วงร้อยละ 0.49-0.66 2.30-2.69 2.17-3.64 และ 15.71-35.77 ตามลำดับ โปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีร้อยละผลผลิต และปริมาณโปรตีนสูงที่สุดถึงร้อยละ 20.21 และ 78.90 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) อีกทั้งยังอุดมไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็น เช่น ทรีโอนีน วาลีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ฟีนิลอะลานีน และไลซีน เป็นต้น เมื่อพิจารณาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ พบว่ามีความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมสูงที่สุดถึงร้อยละ 95.33 และ 87.00 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุดเช่นกันเท่ากับ

363.83 และ 137.51 ตารางเมตร/กรัม ($p \leq 0.05$) ส่วนโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 มีความสามารถในการละลายสูงที่สุด (ร้อยละ 92.34) ที่ค่าพีเอช 10 มีความสามารถในการอุ้มน้ำ และน้ำมันสูงที่สุดเช่นกัน 2.06 และ 1.78 มิลลิลิตร/กรัมตัวอย่าง ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ รวมถึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด 204.15 mg GAE/g sample ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับโปรตีนไอโซเลตที่สกัดโดยวิธีอื่น ๆ ส่วนโปรตีนไอโซเลตที่ปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กทริก (PI) มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด 47.97 mg QE/g sample ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้โปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ $ABTS^{\bullet+}$ สูงสุด 965.63 และ 2,247.69 µM TE/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนการตกตะกอนด้วยวิธีการปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุด PI มีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) สูงที่สุด 1,183.92 µM TE/g sample และโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลมีกิจกรรมการจับโลหะเฟอรัสไอออน (Fe^{2+}) สูงสุด 399.79 µM EDTA eqi/g sample ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามโปรตีนไอโซเลตมีการเสียสภาพธรรมชาติจากความร้อนมีค่าอุณหภูมิที่สูงสุด (Tg) เท่ากับ 80.06 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษารูปแบบของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าโปรตีนไอโซเลตทุกชุดการทดลองมีแถบโปรตีนภายใต้สภาวะ Non-reducing และ Reducing ที่ใกล้เคียงกันโดยมีน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนอยู่ในช่วง 11.1-16.6 KDa วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าโปรตีนไอโซเลตทุกตัวอย่างมีหมู่ฟังก์ชันหลักคือ หมู่ Amide I Amide II และAmide III มีเลขคลื่นเท่ากับ 1,650.84, 1,547.35 และ 11,457.23 cm^{-1} ตามลำดับ และเมื่อพิจารณาโครงสร้างทางจุลภาคด้วยเทคนิคกล้องจุลทัศน์แบบส่องกราด พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ และเอทานอลมีลักษณะเป็นผงขนาดเล็กอนุภาคสม่ำเสมอ มีพื้นผิวที่เรียบเนียน และกระจายตัวได้ดี โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 20-90 และ 10-80 ไมโครเมตร จากผลการทดลองสรุปได้ว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เป็นกระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตที่ดีที่สุด ในการนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการห่อหุ้มด้วยกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันต่อไป

การศึกษาผลของชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน (MD) เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-CD) และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (MD : beta-CD) ที่อัตราส่วน 1:1 (MD1:beta-CD1) 1:2 (MD1:beta-CD2) และ 2:1 (MD2:beta-CD1) (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ที่มีผลต่อคุณลักษณะ และคุณภาพไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (Protein isolate form *Cordyceps militaris*; PICM) ด้วยกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย ใช้อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:4 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) วิเคราะห์ร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน (%EE) ค่าสี ค่า

a_W ความสามารถในการละลายน้ำ องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ $ABTS^{\bullet+}$ พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย MD1:Beta-CD2 มีร้อยละผลผลิต และปริมาณโปรตีนสูงที่สุดถึงร้อยละ 73.89 และ 16.75 ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามโปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย beta-CD มี %EE และความสามารถในการละลายสูงที่สุดร้อยละ 89.44 และ 95.67 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ไมโครเอนแคปซูลทุกชุดการทดลองมีค่า a_W ค่า L^* a^* b^* และค่า ΔE^* อยู่ในช่วง 0.21-0.25 74.74-79.20 7.32-8.65 35.59-41.52 และ 38.94-46.21 ตามลำดับ โปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย beta-CD มีปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 101.45 mg GAE/g sample ($p \leq 0.05$) แต่การห่อหุ้มด้วย MD1:beta-CD2 กลับมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ สูงสุดเท่ากับ 1,536.49 µmol TE/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ห่อหุ้มด้วย MD1:beta-CD2 จึงเป็นกระบวนการห่อหุ้มที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีร้อยละผลผลิต และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงจึงนำไปศึกษาผลของระดับอัตราส่วนของสารห่อหุ้ม (wall material; WM) ที่ระดับต่าง ๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ศึกษาโดยวิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อสารห่อหุ้ม (PICM:WM) ในอัตราส่วนที่ 1:2 (PICM1:WM2) 1:3 (PICM1:WM3) 1:4 (PICM1:WM4) และ 1:5 (PICM1:WM5) (น้ำหนัก/น้ำหนัก) วิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีกายภาพ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติทางความร้อน และคุณสมบัติเชิงโครงสร้าง พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ใช้อัตราส่วนการห่อหุ้มด้วย PICM1:WM4 และ PICM1:WM3 มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุดที่ร้อยละ 70.11 และ 69.69 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) อีกทั้งยังมี %EE สูงสุดที่ร้อยละ 91.96 และ 92.74 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตที่ถูกห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้มในอัตราส่วนต่าง ๆ มีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* อยู่ในช่วง 64.93-73.25 9.66-12.24 36.04-41.47 และ 40.08-53.91 ตามลำดับ ลักษณะปรากฏของไมโครเอนแคปซูลข้างต้น มีขนาดอนุภาคที่เล็กละเอียด ไม่จับตัวกันเป็นก้อน และมีสีเหลืองอ่อน มีความหนาแน่นรวม และความหนาแน่นจำเพาะอยู่ในช่วง 0.53-0.62 และ 0.65-0.69 g/cm^3 ซึ่งการเพิ่มอัตราส่วนของสารห่อหุ้มจะมีผลทำให้โปรตีนลดแต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรต และค่าการละลายสูงขึ้น ($p \leq 0.05$) การห่อหุ้มด้วย PICM1:WM2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด 123.22 mg GAE/g sample และ 37.17 mg QE/g sample ตามลำดับ รวมถึงมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ $ABTS^{\bullet+}$ FRAP และกิจกรรมการจับโลหะเฟอรัสไอออน (Fe^{2+}) สูงสุด 385.32 1731.69 336.27 µM TE/g sample และ 179.87 µM EDTA eqi/g sample ตามลำดับ นอกจากนี้การห่อหุ้มด้วย PICM1:WM2 มีค่าอุณหภูมิการเสียสภาพสูงสุด (Tg) เท่ากับ 113.06 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามโครงสร้างทางผลึกของไมโครเอนแคปซูลทุกการทดลองมีมุมกระเจิงของรังสีเอกซ์ที่ตำแหน่ง 6.0271 และ 26.1251 2θ (Degrees) ส่วนการวิเคราะห์หมู่

ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FT-IR พบว่าทุกชุดการทดลองมีหมู่ Amide I หมู่ Amide II และหมู่ Amide III มีเลขคลื่นที่ 1637.0 1401.8 และ 1304.2 cm^{-1} ตามลำดับ นอกจากนี้โปรตีนไอโซเลตทุกชุดการทดลองมีโครงสร้างทางจุลภาคของไมโครเอนแคปซูลมีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครเมตร มีพื้นผิวค่อนข้างเรียบปนกับอนุภาคผิวที่ขรุขระ มีการยุบตัวเล็กน้อย และมีการกระจายตัวของอนุภาคได้ดี ดังนั้นโปรตีนไอโซเลตจากถังเช่าสีทองที่มีอัตราส่วนการห่อหุ้มด้วย PICM1:WM3 เมื่อพิจารณาจากร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน จึงเป็นอัตราส่วนในการห่อหุ้มด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันที่ดีที่สุด

ออกแบบสูตรเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเพื่อหาส่วนประกอบของวัตถุดิบที่เหมาะสมจากการออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design) พบว่าสูตรที่ 8 มีส่วนประกอบของข้าวกล้องงอกร้อยละ 24 น้ำตาลหล่อฮั่งก๊วยที่ร้อยละ 12 และ นมผงที่ร้อยละ 44 ซึ่งเป็นสูตรที่มีคะแนนความชอบจากการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีทดสอบความชอบแบบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) สูงที่สุดในแต่ละด้าน ได้แก่ ลักษณะกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม 7.28 7.04 7.28 และ 7.30 คะแนน ตามลำดับ การเสริมสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ระดับร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) วิเคราะห์คุณลักษณะเคมี-กายภาพ ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ และคุณลักษณะการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ที่เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนต่าง ๆ มีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* อยู่ในช่วง 77.41-78.15 2.13-2.54 5.85-7.91 และ 17.04-17.94 ตามลำดับ และมีค่า a_W อยู่ในช่วง 0.31-0.33 นอกจากนี้การเสริมโปรตีนไอโซเลตในปริมาณที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อระยะเวลาในการคืนตัว องค์ประกอบทางเคมี กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่สูงตาม และจากการทดสอบคุณภาพด้านจุลินทรีย์ ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา ซึ่งการเสริมสารสกัดโปรตีนไอโซเลตที่อัตราส่วนร้อยละ 7 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด 18.77 mg GAE/g sample และ 6.62 mg QE/g sample นอกจากนี้ยังมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ABTS$^{\bullet+}$ FRAP และกิจกรรมการจับโลหะเฟอรัสไอออน (Fe^{2+}) สูงสุด เท่ากับ 146.75 221.62 55.50 µmol TE/g sample และ 73.44 µM EDTA eqi/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และมีคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูงกว่าสูตรอื่น ๆ ดังนั้นผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ที่เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนร้อยละ 7 เป็นสูตรต้นแบบที่อาจจะมีศักยภาพในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องฟังก์ชันที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ

และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณที่สูง

คำสำคัญ : การสกัด, เครื่องดื่มสำเร็จรูป, โปรตีนไอโซเลต, เห็ดถั่งเช่าสีทอง, เอนแคปซูเลชัน

Title PROTEIN ISOLATE FROM *Cordyceps militaris* : EXTRACTION, ENCAPSULATION AND APPLICATION IN INSTANT HEALTHY DRINK PRODUCT

Author Mr. Natthaphong Mungmuang

Degree Master of Science in Food Science and Technology

Advisory Committee Chairperson Assistant Professor Dr. Theeraphol Senphan

ABSTRACT

Cordyceps militaris is currently an economically significant mushroom due to its high nutritional value and the presence of bioactive substances. It is popular for direct consumption and is also added to various food products to enhance their nutritional value. The objective of this research is to enhance the extraction efficiency, characteristics and properties of protein isolate from *Cordyceps militaris* obtained from tissue culture media. The optimize microencapsulation processes of protein isolate from *Cordyceps militaris* and development of an instant germinated brown rice from Jao Kam Hom Maejo 1 A beverage supplemented with protein isolate from *Cordyceps militaris* were studies. Protein isolates were extracted using three methods: 1) Precipitation with 80% ammonium sulfate ($(NH_4)_2SO_4$), 2) Precipitation with 80% ethanol and 3) Isoelectric point (PI) precipitation. Physical characteristics, chemical composition, functional properties, total phenolic compound content, antioxidant activity, thermal properties and structural properties were analyzed. It was observed that protein isolates in all experimental samples exhibited brightness values (L^*), red values (a^*), yellow values (b^*), and color contrast values (ΔE^*) in the ranges of 0.22-0.25, 51.45-67.12, 10.89-18.74, 37.71-41.93, and 47.56-60.28, respectively. Water activity (a_W) was in the range of 0.22-0.25. Moisture, fat, Ash, and carbohydrate contents within the ranges of 0.49-0.66, 2.30-2.69, 2.17-3.64, and 15.71-35.77, respectively. Precipitation of protein isolate with $(NH_4)_2SO_4$ had

the highest in % yield and protein content of 20.21% and 78.90%, respectively ($p \leq 0.05$). It was also rich in essential amino acids such as threonine, valine, isoleucine, leucine, phenylalanine, and lysine. When considering the functional properties of all treatment samples. protein isolate precipitated with $(NH_4)_2SO_4$ exhibits the highest foaming capacity and foam stability as 95.33% and 87.00%. Additionally, emulsion activity index and emulsion stability index were also the highest at 363.83 and 137.51 m^2/g, respectively ($p \leq 0.05$). The protein isolate precipitated with ethanol exhibited the highest solubility at pH 10, reaching 92.34%. It also demonstrated water and oil holding capacities at 2.06 and 1.78 ml/g sample ($p \leq 0.05$), respectively. Furthermore, it contained the highest total phenolic compounds of 204.15 mg GAE/g sample ($p \leq 0.05$), when compared to protein isolates extracted by other methods. On the other hand, protein isolate precipitated with pH adjustment to isoelectric point showed the highest total flavonoid content of 47.97 mg QE/g sample ($p \leq 0.05$). In addition, precipitation of protein isolate with $(NH_4)_2SO_4$ demonstrated the highest $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activity of 965.63 and 2,247.69 µM TE/g sample, respectively ($p \leq 0.05$). Protein isolate precipitated with pH adjustment to isoelectric point showed the highest ferric reducing ability (FRAP) at 1,183.92 µM TE/g sample, while protein isolate precipitated with ethanol had the highest metal chelating on ferrous ion (Fe^{2+}) activity at 399.79 µM EDTA eqi/g sample ($p \leq 0.05$). For thermal property, the protein isolates were denaturated by heat with the highest temperature reaching 80.06 °C. Protein pattern analysis of protein isolate from *Cordyceps militaris* using sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) technic under both non-reducing and reducing conditions, exhibiting similar molecular weights in the range of 11.1-16.6 kDa. Analysis of functional groups of all protein isolate samples by Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR) technique found amide I, amide II, and amide III groups with wavenumbers ranging from 1647.58-1650.84, 1457.07-1547.35, and 1407.49-1457.23 cm^{-1}, respectively. Additionally, the microstructure by SEM analysis of protein isolates precipitated with $(NH_4)_2SO_4$ and ethanol revealed small had uniform powder particles with smooth surfaces and excellent dispersibility. The particle sizes of all protein isolates within the range of 20-90 and 10-80 micrometers. Consequently, the

protein isolate precipitated with $(NH_4)_2SO_4$ is the best condition method for extracting protein isolate from *Cordyceps militaris* for microencapsulation processes.

The effect of different wall materials (maltodextrin (MD), beta-cyclodextrin (beta-CD), and a combination of maltodextrin and beta-cyclodextrin) and its ratios on characteristics and properties of protein isolate from *Cordyceps militaris*, was studied. Characteristics and qualities of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* were investigated. The ratios of MD:beta-CD studied were 1:1 (MD1 : beta-CD1), 1:2 (MD1:beta-CD2) and 2:1 (MD2:beta-CD1) (w/w). These microencapsulation processes were performed using the spray drying technique with a protein isolate to encapsulated with wall material ratio of 1:4 (w/w). The evaluation included appearance, % yield, encapsulation efficiency (%EE), color value, water activity, solubility, chemical composition, total phenolic content, and antioxidant activity. The results revealed that protein isolate encapsulated with MD1:beta-CD2 had the highest %yield of 73.89% and protein content of 16.75% ($p \leq 0.05$). However, protein isolate encapsulated with beta-CD exhibited higher in encapsulation efficiency and solubility of 89.44% and 95.67%, respectively ($p \leq 0.05$). The microencapsulation processes of protein isolate from *Cordyceps militaris* resulted in water activity, L^*, a^*, b^* and ΔE^* values at ratios of 0.21-0.25, 74.74-79.20, 7.32-8.65, 35.59-41.52, and 38.94-46.21, respectively. Protein isolate encapsulated with Beta-CD had the highest total phenolic content of 101.45 mg GAE/g sample ($p \leq 0.05$), while Protein isolate encapsulated with MD1:beta-CD2 showed the highest $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activity of 1,536.49 µmol TE/g sample ($p \leq 0.05$). Therefore, Protein isolate from *Cordyceps militaris* encapsulated with a ratio of MD1:beta-CD2 is the appropriated condition due to its high %yield, phenolic content, and antioxidant activity. The effect of different protein isolate (PICM) and wall materials (MW) ratios on properties of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris.* PICM:WM ratios including 1:2, 1:3, 1:4, and 1:5 (w/w) were studied and analyzed the physiochemical properties, total phenolic content, antioxidant activity, thermal and structural properties. The ratios of PICM1:WM4 and PICM1:WM3 resulted in the highest %yields of 70.11% and 69.69% ($p \leq 0.05$), as well as the highest

encapsulation efficiency at 91.96% and 92.74%, respectively ($p \leq 0.05$). All samples of microencapsulated protein isolate samples had the values for L^*, a^*, b^*, and ΔE^* in the ranges of 64.93-73.25, 9.66-12.24, 36.04-41.47, and 40.08-53.91, respectively. The protein isolate from *Cordyceps militaris* exhibited water activity in the rang of 0.08-0.41. They exhibited small, finely dispersed particles with a yellow color and no clumping. It has bulk density and tapped density ranging from 0.53-0.62 and 0.65-0.69 g/cm³, respectively. Increasing the ratio of wall materials leads to a decreasing in protein content but an increasing in carbohydrate content, along with higher solubility values ($p \leq 0.05$). The ratios of PICM1:WM4 had higher total phenolic and total flavonoid contents at 123.22 mg GAE/g sample and 37.17 mg QE/g sample, respectively. DPPH$^{\bullet}$ and ABTS$^{\bullet+}$ radical scavenging activities, FRAP and metal chelating activity on ferrous ion (Fe^{2+}) of PICM1:WM4 reached maximum values of 385.32, 1731.69, 336.27 µM TE/g sample, and 179.87 µM EDTA eqi/g sample, respectively. The ratios of PICM1:WM5 resulted in a maximum peak temperature (T_{peak}) of 113.06 °C. When studying the crystal structure of microencapsulation processes of protein isolate from *Cordyceps militaris* using X-ray diffraction (XRD) had the peak in rang of 6.0271-26.1251 2θ (Degrees). Additionally, functional groups of all experimental samples by FT-IR technique found Amide I, Amide II, and Amide III groups with wave numbers in the range of 1637.0-1638.7, 1401.8-1402.2 and 1304.2-1305.7 nm, respectively. In terms of microstructure, the particle sizes ranged from 10-100 micrometers, and the particles had a relatively smooth surface mixed with rough surface particles, exhibiting slight collapse and good particle distribution. Therefore, PICM1:WM3 is the best condition of microencapsulation protein isolate from *Cordyceps militaris*, considering %yield and encapsulation efficiency.

The design of the formula using a mixture design approach for the development of instant germinated brown rice (Maejo rice 1 A) supplemented protein isolate from *Cordyceps militaris* aimed to selection a suitable ingredient for beverage production. The study revealed that the formula 8 contained 24% germinated brown rice, 12% monk fruit sweetener and 44% powdered milk, received the highest liking scores in sensory characteristics tests conducted using a 9-point

hedonic scale. These sensory tests encompassed odor appearance, color, texture and overall had scores of 7.28, 7.04, 7.28 and 7.30, respectively. Additionally, the research analyzed the effects of protein isolate extracts from *Cordyceps militaris* supplemention at different ratios of 0%, 3%, 5%, and 7% (w/w) on physicochemical, characteristics, total phenolic content, antioxidant activity, microbiological test and sensory evaluation. The instant germinated brown rice (Maejo rice 1 A) supplemented with different levels of protein isolate from *Cordyceps militaris*, exhibited values for L^*, a^*, b^*, ΔE^* and water activity at the range of 77.41-78.15, 2.13-2.54, 5.85-7.91, 17.04-17.94 and 0.31-0.33, respectively. Furthermore, increasing in protein isolate supplementation affected on yield, chemical composition, antioxidant activity including a high amount of anthocyanin. Microbiological test had not found total plate count, yeast and mold. The formula of 7% protein isolate had the highest levels of total phenolic compounds of 18.77 mg GAE/g sample and flavonoid compounds of 6.62 mg QE/g sample. It also exhibited $DPPH^{\bullet}$ and $ABTS^{\bullet+}$ radical scavenging activities, FRAP and metal chelating activity on ferrous ion (Fe^{2+}) of 146.75, 221.62, 55.50 μmol TE/g sample, and 73.44 μM EDTA eqi/g sample, respectively ($p \leq 0.05$). In sensory evaluation, this formula outperformed others, indicating that the instant germinated brown rice (Maejo rice 1 A) supplemented with protein isolate from *Cordyceps militaris* at the ratios of 7% (w/w) is a prototype product with potential for the development of functional products characterized by nutritional richness and abundant biologically active substances.

Keywords : Extraction, Instant drink, Protein isolate, Cordyceps militaris, Encapsulation

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดีได้ด้วยความกรุณา และความช่วยเหลือจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธีรพล เสนพันธุ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก รวมถึงรองศาสตราจารย์ ดร. วิจิตรา แดงปรก และรองศาสตราจารย์ ดร. มงคล ถิรบุญยานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม อาจารย์ ดร. จิตราพร งามพีระพงศ์ อีกทั้งประธานคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา คำแนะนำ รวมถึงความรู้ในกระบวนการทำวิจัย การเขียนบทความวิจัย รวมถึงการนำเสนองานที่ถูกต้องตามหลักวิชาการ ตลอดจนการตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นในการทำวิทยานิพนธ์เรื่องโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง : การสกัด การเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพฉบับนี้ จนการทำวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณแหล่งทุนให้การสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีงบประมาณ 2565 เลขที่สัญญา มจ. 1-65-046.2 และขอขอบพระคุณทุนก้นกุฏิ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประจำปีการศึกษา 2564

ขอขอบพระคุณสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ และศูนย์บริการวิชาการด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ ตลอดจนเจ้าหน้าที่ และบุคลากรในสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ทุกท่านที่กรุณาประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้แก่ข้าพเจ้า ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ การใช้เครื่องมือต่าง ๆ รวมถึงคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และช่วยผลักดันในการทำวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และสมาชิกในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนการศึกษาและให้กำลังใจที่ดีตลอดมา รวมถึงเพื่อน ๆ พี่ ๆ และน้อง ๆ นักศึกษาปริญญาโททุกท่านที่ได้มีส่วนร่วมในการช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ และกำลังใจด้วยดีเสมอมา สุดท้ายนี้ผลอันจะเป็นประโยชน์ความดีความงามทั้งปวงที่เกิดขึ้นจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้ของมอบแด่บิดา มารดาที่เคารพยิ่ง หากมีข้อบกพร่องด้วยประการใดก็ตามผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบพระคุณยิ่ง

ณัฐพงษ์ มุงเมือง

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ช

กิตติกรรมประกาศ ..... ฐ

สารบัญ ..... ฑ

สารบัญตาราง ..... ด

สารบัญรูปภาพ ..... ท

บทที่ 1 บทนำ 1

ที่มาและความสำคัญของปัญหา 1

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 3

กรอบแนวคิดงานวิจัย 4

บทที่ 2 การตรวจเอกสาร 9

2.1 เห็ดถั่งเช่า 9

2.2 เห็ดถั่งเช่าสีทอง 9

2.3 โปรตีนทางเลือก 14

2.4 หลักการสกัด และวิธีการตกตะกอนโปรตีน 15

2.5 สมบัติของโปรตีน 23

2.6 เทคนิคกระบวนการไมโครเอนแคปซูล 26

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ 34

2.8 เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป 37

2.9 ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ 38

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 41

บทที่ 3 วิธีการดำเนินวิจัย 44
ตอนที่ 1 ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณลักษณะ และสมบัติของการสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 46
ตอนที่ 2 การศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 61
ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 69
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารย์ผลการทดลอง 76
ตอนที่ 1 ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณลักษณะ และสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่า 76
ตอนที่ 2 การศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 103
ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 138
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย 156
บรรณานุกรม 157
ภาคผนวก 194
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี 195
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ 202
ภาคผนวก ค กระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 217
ภาคผนวก ง กระบวนไมโครเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 219
ภาคผนวก จ กระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 221
ภาคผนวก ฉ การรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ 224
ภาคผนวก ช การตีพิมพ์ผลงาน 233
ประวัติผู้วิจัย 235

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 11

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดไขมันในเห็ดถังเช่าสีทอง 11

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง 13

ตารางที่ 4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีน 17

ตารางที่ 5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร 26

ตารางที่ 6 ชนิดและประเภทของสารห่อหุ้มที่นิยมใช้ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน 29

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน 31

ตารางที่ 8 ข้อดีและข้อเสียของการเอนแคปซูเลชันโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย 34

ตารางที่ 9 ปริมาณสารอาหารของข้าวกล้อง และคุณประโยชน์ต่อร่างกาย 39

ตารางที่ 10 ชนิด และอัตราส่วนของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 61

ตารางที่ 11 ค่ารหัสและค่าจริงของส่วนผสมเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอชนิดผงสำเร็จรูป 70

ตารางที่ 12 ร้อยละผลผลิตของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 78

ตารางที่ 13 ค่าสีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 79

ตารางที่ 14 ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 80

ตารางที่ 15 องค์ประกอบทางเคมีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่างๆ 81

ตารางที่ 16 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ 83

ตารางที่ 17 ความคงตัวของโฟมของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 87

ตารางที่ 18 ร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 105

ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 106

ตารางที่ 20 ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 108

ตารางที่ 21 ปริมาณน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 109

ตารางที่ 22 ความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 110

ตารางที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 111

ตารางที่ 24 ร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 117

ตารางที่ 25 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 118

ตารางที่ 26 ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 119

ตารางที่ 27 ปริมาณน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 121

ตารางที่ 28 ความหนาแน่นรวม และความหนาแน่นจำเพาะของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ... 122

ตารางที่ 29 ความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 123

ตารางที่ 30 องค์ประกอบทางเคมีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 125

ตารางที่ 31 คะแนนการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูป 139

ตารางที่ 32 ค่าสีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 142

ตารางที่ 33 กิจกรรมของน้ำอิสระของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 143

ตารางที่ 34 ระยะเวลาในการคืนตัวของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 144

ตารางที่ 35 ค่าความหนืดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 145

ตารางที่ 36 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 145

ตารางที่ 37 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 147

ตารางที่ 38 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 147

ตารางที่ 39 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และราของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 153

ตารางที่ 40 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 155

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 โครงสร้างของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (A) เห็ดถั่งเช่าทองที่เจริญในดักเด้ (B) สปอร์ราของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในไข่จักจั่น (C) ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (D) 10

ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก 12

ภาพที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ 14

ภาพที่ 4 การกระจายตัวของส่วนที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของโปรตีน 16

ภาพที่ 5 การกำจัดเกลือด้วยวิธีไดอะไลซิส (dialysis) 19

ภาพที่ 6 การรวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีนโดยแรงกระทำเมื่อเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไป 20

ภาพที่ 7 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการเสียสภาพของโมเลกุลโปรตีน 20

ภาพที่ 8 แรงกระทำทางไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีน 21

ภาพที่ 9 ความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ค่า pH ต่าง ๆ 22

ภาพที่ 10 โครงสร้างของไมโครเอนแคปซูล 28

ภาพที่ 11 โครงสร้างของมอลโทเดกซ์ทริน 30

ภาพที่ 12 โครงสร้างของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน 31

ภาพที่ 13 ขั้นตอนการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย 32

ภาพที่ 14 ลักษณะของต้นข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ (ก) เมล็ดข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ (ข) 39

ภาพที่ 15 ลักษณะของเมล็ดข้าวกล้องงอก 40

ภาพที่ 16 กระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 50

ภาพที่ 17 ลักษณะปรากฏทางกายภาพของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 76

ภาพที่ 18 ความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ ในช่วงค่า pH 1-10 85

ภาพที่ 19 ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 86

ภาพที่ 20 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 88

ภาพที่ 21 ความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่างๆ 89

ภาพที่ 22 ความสามารถในการอุ้มน้ำ และน้ำมันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 90

ภาพที่ 23 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 91

ภาพที่ 24 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 92

ภาพที่ 25 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (A) จกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (B) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 96

ภาพที่ 26 สมบัติทางความร้อนของเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 98

ภาพที่ 27 รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 99

ภาพที่ 28 FTIR spectrum ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 101

ภาพที่ 29 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยเทคนิค SEM ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ ที่กำลังขยาย 300 เท่า 102

ภาพที่ 30 ลักษณะปรากฏของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 104

ภาพที่ 31 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ 113

ภาพที่ 32 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ (A) และ ABTS$^{\bullet+}$ (B) ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ..... 114

ภาพที่ 33 ลักษณะปรากฏทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 116

ภาพที่ 34 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ..... 126

ภาพที่ 35 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ..... 127

ภาพที่ 36 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ (A) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet}$ (B) ความสามารถในการรีดิวซ์ (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ..... 130

ภาพที่ 37 สมบัติทางความร้อนของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ..... 132

ภาพที่ 38 การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ..... 133

ภาพที่ 39 FTIR spectrum ของรังสีเอกซ์ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ 134

ภาพที่ 40 ลักษณะปรากฏของไมโครเอนแคปซูลสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ต่อโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ... 137

ภาพที่ 41 ลักษณะปรากฏของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ..... 141

ภาพที่ 42 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ..... 149

ภาพที่ 43 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 149

ภาพที่ 44 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 151

ภาพที่ 45 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (A) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (B) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ 152

บทที่ 1
บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันกระแสการบริโภคอาหารแห่งอนาคตที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเป็นอีกหนึ่งเทรนที่ผู้บริโภคกำลังสนใจเป็นอย่างมาก ส่งผลให้ตลาดของอาหารสุขภาพได้รับความนิยมมากขึ้น หนึ่งในอาหารสุขภาพที่ได้รับความสนใจอย่างยิ่ง คือผลิตภัณฑ์โปรตีนทางเลือก (alternative protein) ซึ่งในปี 2022 โปรตีนทางเลือกมีมูลค่าทางการตลาดโลกสูงถึงที่ 35,000 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ และคาดการณ์ว่าในปี 2025 จะมีมูลค่าทางการตลาดเพิ่มขึ้นอีกเท่าตัวที่ 68,500 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ (Wangand Hartel, 2022) ส่วนของประเทศไทยคาดว่าในปี 2024 จะมีมูลค่าการบริโภคโปรตีนทางเลือกมากถึง 5.67 หมื่นล้านบาท (Rawdkuen *et al*., 2022) สาเหตุของผู้บริโภคที่หันมารับประทานโปรตีนทางเลือกนั้น เนื่องจากมีความตระหนักในการบริโภคโปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่อุดมไปด้วยไขมัน และคลอเลสเตอรอลสูง เสี่ยงต่อการเกิดโรคอ้วน ไขมันอุดตันในเส้นเลือดและโรคหัวใจตามมา นอกจากนี้ในเนื้อสัตว์มีสารตกค้างต่าง ๆ เช่น ยาปฏิชีวนะ สารเร่งเนื้อแดง ฮอร์โมนและโลหะหนักที่จะส่งผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพ อีกทั้งการบริโภคเนื้อสัตว์ยังเป็นการเบียดเบียน และทรมานสัตว์ รวมถึงมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคติดต่อร้ายแรงจากสัตว์ เช่น โรควัวบ้า ไข้หวัดนก โรคอหิวาต์แอฟริกาในสุกร โรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบจากวัว และโรคหูดับ เป็นต้น (Clemmons *et al*., 2021; Rubio *et al*., 2020; Sánchez-Vizcaíno *et al*., 2013)

โปรตีนทางเลือกที่ผู้บริโภคให้ความสนใจในปัจจุบันสามารถแบ่งออกเป็น โปรตีนจากแหล่งพืช (plant-based protein) เช่น ถั่วเหลือง ข้าวโพด ข้าวสาลี และบร็อกโคลี เป็นต้น โปรตีนจากแมลง (insect protein) เช่น จิ้งหรีด รถด่วน และหนอนไหม เป็นต้น โปรตีนจากจุลินทรีย์ (mycoprotein) เช่น ยีสต์และเห็ดรา (Sari *et al*., 2015; Wangand Marcone, 2011; Yu *et al*., 2021) มีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเชื้อราที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสรรพคุณทางยาที่มักมีการใช้กันมายาวนานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ส่วนใหญ่มักพบในประเทศแถบเอเชียตะวันออก เช่น จีน ญี่ปุ่น และเกาหลี เป็นต้น (Cui, 2015; Shrestha *et al*., 2012) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยโพลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนสูงถึงร้อยละ 59.8 และ 29.1 ตามลำดับ (Ashraf *et al*., 2020; Elkhateeb *et al*., 2019; Rakhee *et al*., 2016) มีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับนำสารสกัดโพลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาใช้ประโยชน์ในสรรพคุณทางยาหลายประการ เช่น การต้านมะเร็ง การลด การอักเสบ ควบคุมปริมาณน้ำตาลในเลือด ลดระดับคลอเรสเตอรอล บำรุง และเสริมสมรรถภาพทางเพศ ช่วย

ชะลอความเสื่อมของเซลล์ในร่างกาย ป้องกันโรคความจำเสื่อมในผู้สูงอายุและยังช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เป็นต้น (Jo *et al*., 2010; Lin *et al*., 2018; Luo *et al*., 2017) อีกทั้งยังมีสรรพคุณ ในการต้านอนุมูลอิสระ (Sutthilert, 2020) และต้านจุลินทรีย์ (Lao *et al*., 2020) รวมถึงช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Vuong Hoai *et al*., 2020) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโปรตีนในเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงไม่แพ้สารในกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ (Yu *et al*., 2021) ดังนั้นการนำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาศึกษากระบวนการสกัดโปรตีน เพื่อศึกษาคุณลักษณะและฤทธิ์ทางชีวภาพจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากอาจเป็นโปรตีนทางเลือกใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มได้ ซึ่งกระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ได้แก่ การตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ (ammonium sulfate precipitation) การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (solvent precipitation) และการปรับค่าpHเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กตริก (Isoelectric point precipitation) ซึ่งกระบวนการข้างต้นเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถทำได้ง่าย ส่งผลกระทบต่อการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนน้อยและมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำในการสกัดโปรตีน อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาสารสกัดโปรตีน โดยเทคนิคการเอนแคปซูเลชัน (encapsulation) ก็เป็นสิ่งสำคัญและมีความจำเป็นในการนำสารสำคัญ หรือสารที่ต้องการกักเก็บ (core material) มาบรรจุอยู่ภายในแคปซูลด้วยสารชนิดอื่นหรือสารห่อหุ้ม (wall material) เป็นวิธีการที่ช่วยรักษาคุณภาพของโปรตีนสกัดช่วยป้องกันการสูญเสียปริมาณสารสำคัญและการสูญเสียคุณสมบัติทางหน้าที่ (Zhu, 2017) ยังเป็นกระบวนการที่ทำให้โปรตีนที่ถูกห่อหุ้ม มีความคงตัวสูงง่ายต่อการเก็บรักษาโดยสามารถเก็บในสภาวะอุณหภูมิปกติได้ มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนาน

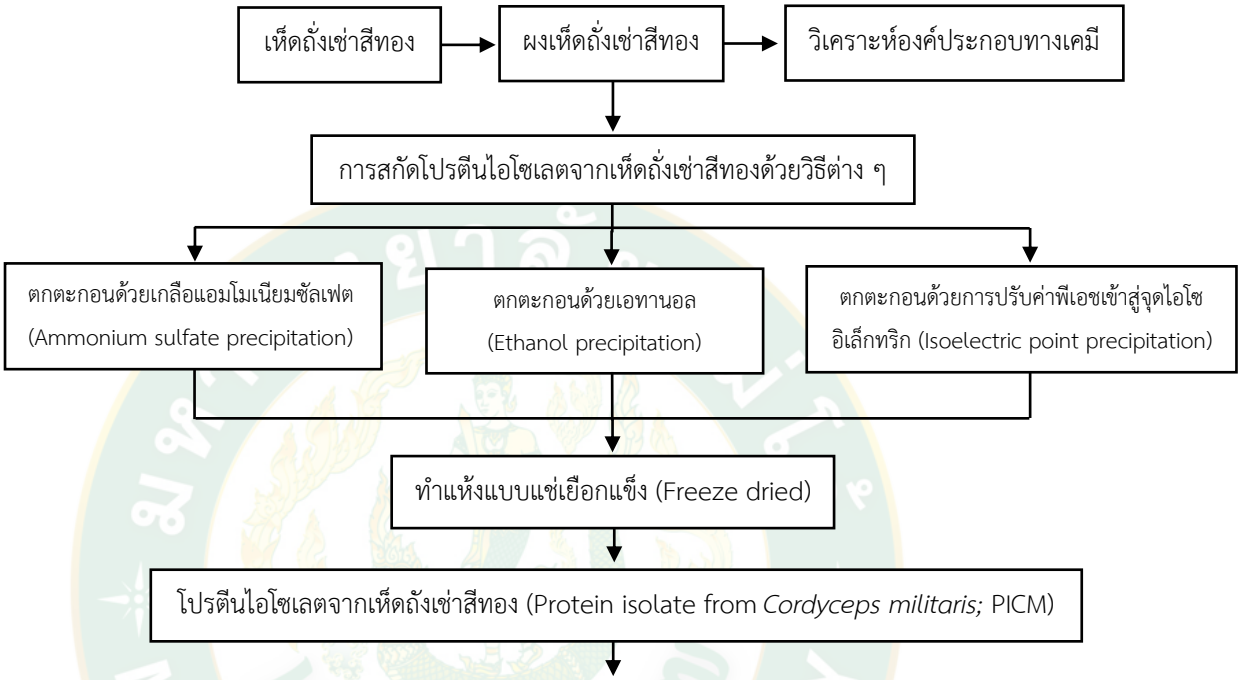
ปัจจุบันงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับเห็ดถั่งเช่าสีทองมักจะเน้นไปที่สารจำพวก พอลิแซ็กคาไรด์ รวมถึงสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ เช่น คอร์ไดเซปิน และอะดีโนซีน (Xin *et al*., 2019) งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองยังมีน้อยมากในด้านการสกัด คุณสมบัติเชิงหน้าที่ คุณสมบัติทางโครงสร้าง คุณสมบัติทางความร้อน ฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง รวมถึงการเอนแคปซูเลชัน และการประยุกต์ใช้โปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการสกัด คุณสมบัติ ฤทธิ์ทางชีวภาพ และการเอนแคปซูเลชันของโปรตีนสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองก่อนนำไปประยุกต์ใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มฟังก์ชันที่มีมูลค่าสูง

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลของการวิธีการสกัดที่แตกต่างกันที่มีผลต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
2. เพื่อศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันที่เหมาะสมสำหรับผลิตของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์ผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

กรอบแนวคิดงานวิจัย

ตอนที่ 1 ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณลักษณะ และสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

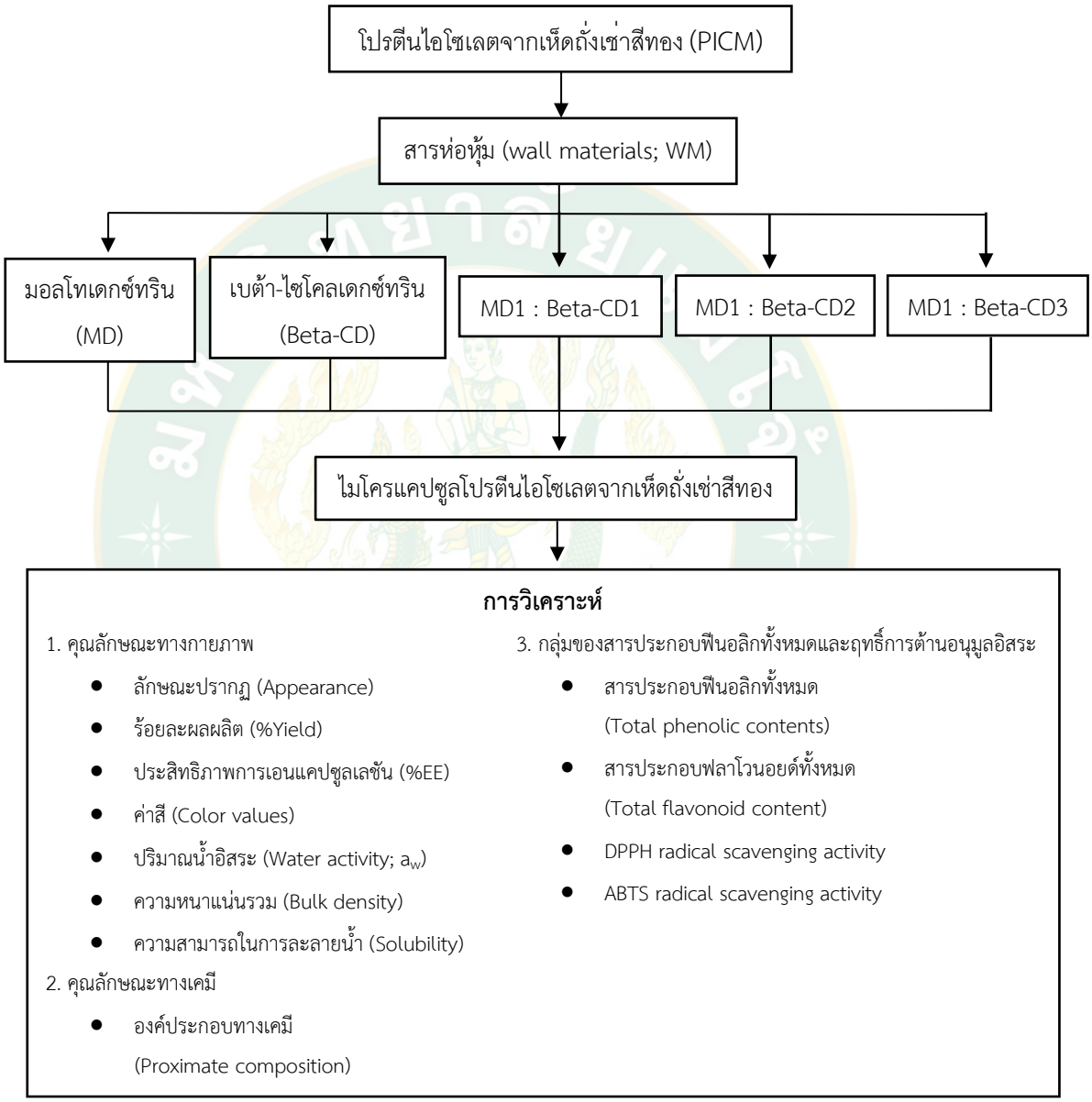


การวิเคราะห์

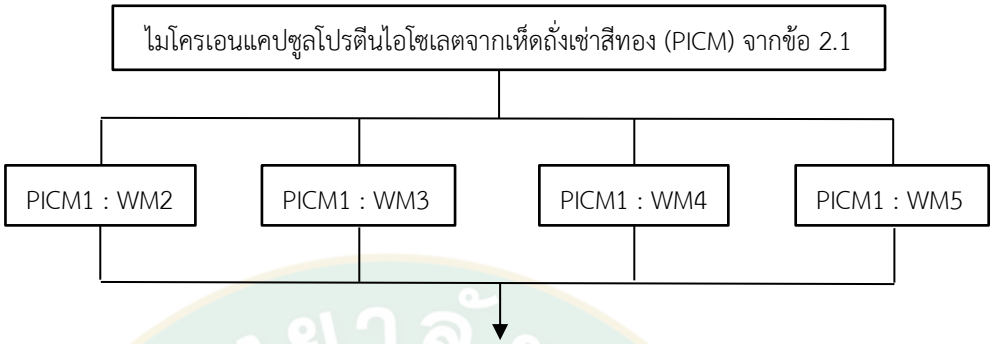
1. คุณลักษณะทางกายภาพ
   - ร้อยละผลผลิต (%Yield)
   - ค่าสี (Color values)
   - ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity; a_w)
   - ลักษณะปรากฏ (Appearance)
2. คุณลักษณะทางเคมี
   - องค์ประกอบทางเคมี (Proximate composition)
   - องค์ประกอบของกรดอะมิโน (Amino acid profile)
3. สมบัติเชิงหน้าที่
   - ความสามารถในการละลาย (Solubility)
   - ความสามารถในการเกิดโฟมและความคงตัวของโฟม (Foaming capacity and foam stability)
   - ความสามารถในการเกิดอิมัลชันและความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion capacity and emulsion stability)
   - ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity)
   - ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil holding capacity)
4. กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
   - สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)
   - สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)
   - DPPH radical scavenging activity
   - ABTS radical scavenging activity
   - Ferric reducing antioxidant power; FRAP
   - Metal chelating activity on Fe^{2+}
5. คุณสมบัติทางความร้อน
   - สมบัติทางความร้อน (DSC)
6. คุณสมบัติทางโครงสร้าง
   - รูปแบบบโปรตีน (SDS-PAGE)
   - โครงสร้างทางจุลภาค (SEM)
   - หมู่ฟังก์ชัน (FT-IR spectra)

ตอนที่ 2 การศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูลเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.1 ศึกษาผลของชนิดของสารห่อหุ้มต่อคุณลักษณะและประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง



2.2 ศึกษาผลของระดับอัตราส่วนของสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ต่อคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน

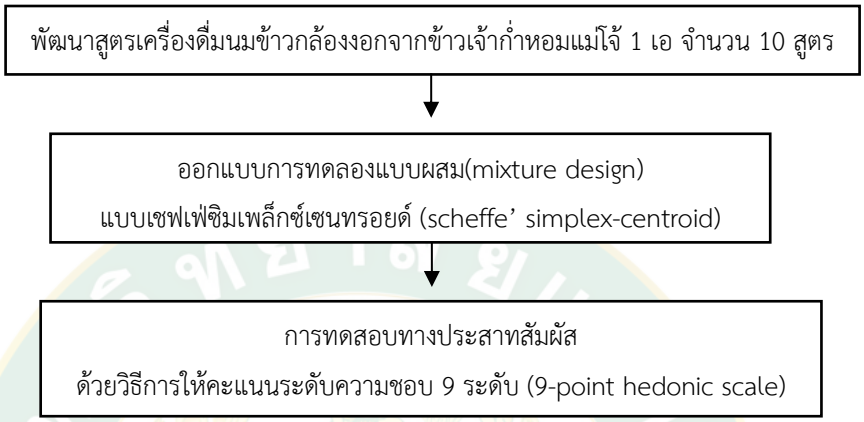


การวิเคราะห์

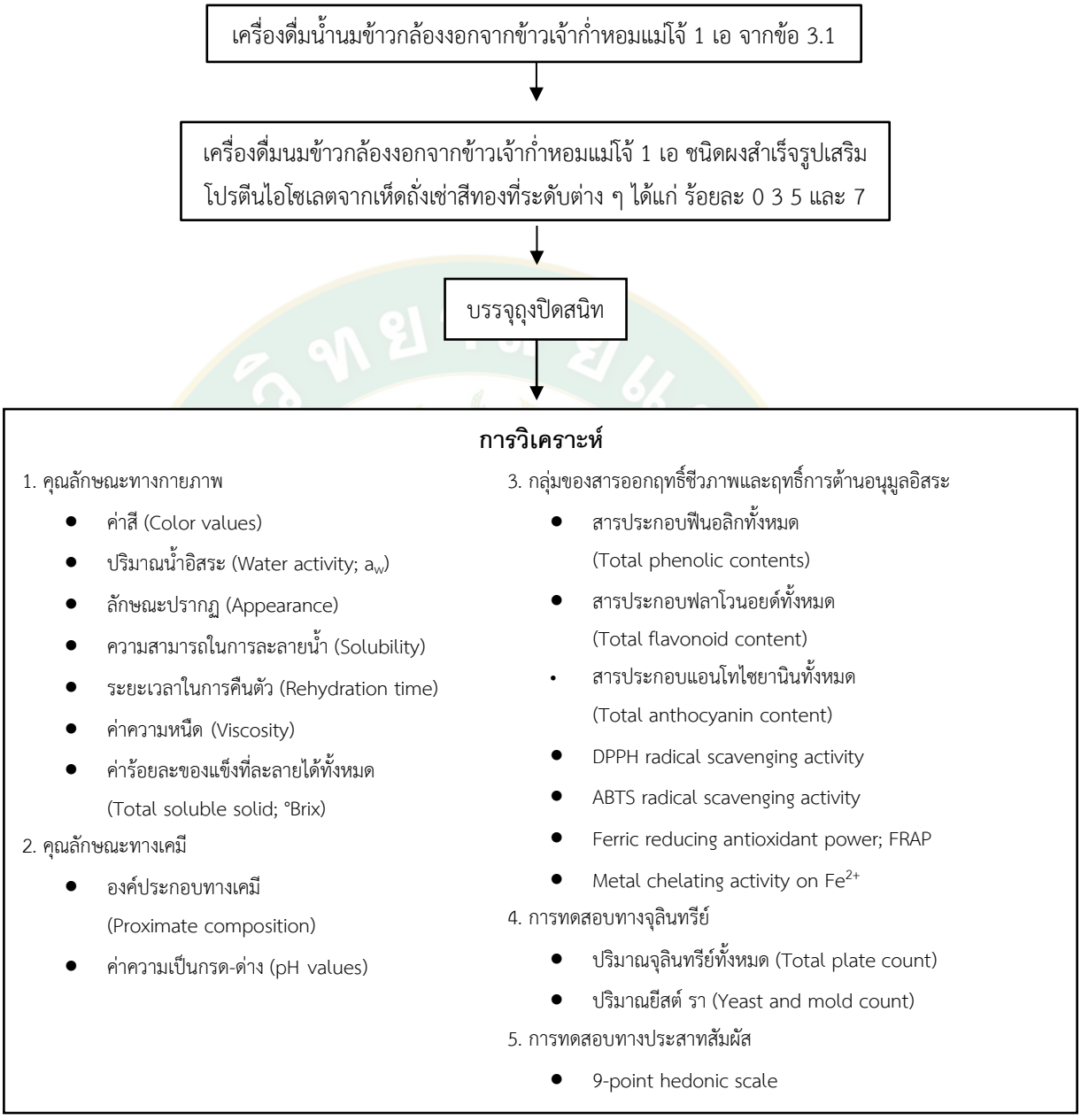
1. คุณลักษณะทางกายภาพ
   - ร้อยละผลผลิต (%Yield)
   - ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน (%EE)
   - ค่าสี (Color values)
   - ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity; a_w)
   - ลักษณะปรากฏ (Appearance)
   - ความหนาแน่นรวม (Bulk density)
   - ความสามารถในการละลายน้ำ (Solubility)
2. คุณลักษณะทางเคมี
   - องค์ประกอบทางเคมี (Proximate composition)
3. กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
   - สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)
   - สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)
   - DPPH radical scavenging activity
   - ABTS radical scavenging activity
   - Ferric reducing antioxidant power; FRAP
   - Metal chelating activity on Fe^{2+}
4. คุณสมบัติทางความร้อน
   - สมบัติทางความร้อน (DSC)
5. คุณสมบัติทางโครงสร้าง
   - โครงสร้างทางจุลภาค (SEM)
   - โครงสร้างทางผลึก (XRD)
   - หมู่ฟังก์ชัน (FT-IR spetra)

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.1 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูป



3.2 ศึกษาผลของเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ระดับต่าง ๆ



บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

2.1 เห็ดถั่งเช่า

เห็ดถั่งเช่า (*Cordyceps spp.*) จัดเป็นราแมลง หรือราที่กินแมลง (entomofungus) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของ Ascomycetes (Kang *et al.*, 2017) มักเกิดจากสปอร์ราที่แมลงกินเข้าไปส่งผลให้ราสร้างเส้นใยฝังตัวอยู่ภายในอวัยวะของแมลงทำให้สามารถเข้าไปแทนที่อยู่ในลำตัวของแมลง (Shrestha *et al*., 2012) เห็ดถั่งเช่ามีความสำคัญทางเศรษฐกิจเป็นอย่างมากโดยมีราคาสูงถึง 12,000 ดอลลาร์สหรัฐฯ ต่อ 1 กิโลกรัม (Ashraf *et al*., 2020) สามารถพบได้ทั่วโลกมากกว่า 750 สายพันธุ์ (Xin *et al*., 2019) ซึ่งสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยม ได้แก่ ถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) ถั่งเช่าจักจั่น (*Paecilomyces cicodae*) ถั่งเช่าหิมะ (*Paecilomyces tenuipes*) และถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) อย่างไรก็ตามเห็ดถั่งเช่าส่วนใหญ่พบได้ในประเทศแถบทวีปเอเชีย เช่น จีน ทิเบต เนปาล เกาหลี ญี่ปุ่นและไทย (Daba, 2020; Sung *et al*., 2007) เห็ดถั่งเช่าจัดเป็นสมุนไพรที่มักนิยมนำมาใช้ในทางการแพทย์เพื่อใช้ในการรักษาโรค และใช้ประกอบเป็นอาหารเสริมเพื่อช่วยบำรุงร่างกาย (Zhao *et al*., 2014) มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โพลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ 55.7 โปรตีนร้อยละ 21.5 ไขมันร้อยละ 1.8 เถ้าร้อยละ 7.5 เส้นใยหยายร้อยละ 6.4 และความชื้นร้อยละ 7.2 (Chan *et al*., 2015) รวมถึงยังมีสารประกอบ ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ สารประกอบโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ วิตามินและแร่ธาตุ (Fe, Ca K, Al, Ni, Ti, Cr, Ga, Mn และ Zr) และโพลิแซ็กคาไรด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารคอร์ไดเซปิน (cordycepin) (Ashraf *et al.*, 2020; Elkhateeb *et al*., 2019; Rakhee *et al*., 2016) นอกจากนี้เห็ดถั่งเช่ายังประกอบไปด้วยนิวคลีโอไซด์ เช่น อะดีโนซีน อะดีนีน ยูริดีน ไทมีนและอินโนซีน เป็นต้น
(Long *et al*., 2021)

2.2 เห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) จัดอยู่ในตระกูลเดียวกับเห็ดถั่งเช่าทิเบต (*Ophiocordyceps sinensis*) ซึ่งได้รับความนิยมในการรับประทานเป็นอาหารเสริมสุขภาพของมนุษย์ มนุษย์ (Das *et al*., 2010; Winkler, 2008) แต่เนื่องด้วยเห็ดถั่งเช่าทิเบต สามารถพบได้เพียงตามธรรมชาติที่บริเวณบนเทือกเขาสูง และเพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ยาก ส่งผลทำให้เห็ดถั่งเช่าทิเบตจึงมีราคาที่สูง (Yu *et al*., 2006) อย่างไรก็ตาม เห็ดถั่งเช่าสีทองสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่าย ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งมักจะเพาะเลี้ยงในอาหารเทียมที่มีลักษณะเป็นอาหารเหลวหรืออาหารแข็ง เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพดและซูโครส เป็นต้น อีกทั้งยังสามารถเพาะเลี้ยงในอาหารที่เป็นจำพวกแมลง

เช่น ดักแด้ไหมและดักแด้จักจั่นได้ ส่งผลทำให้มีผลผลิตตลอดทั้งปีที่เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภคและผู้บริโภคทั่วไปสามารถมีกำลังในการซื้อ จึงทำให้เห็ดถั่งเช่าสีทองได้รับความนิยมมากกว่าเห็ดถั่งเช่าชนิดอื่น (Cui, 2015; Luerdara *et al*., 2016; Singpoonga *et al*., 2016) ซึ่งลักษณะปรากฏและโครงสร้างของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ภาพที่ 1)

ภาพที่ 1 โครงสร้างของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (A) เห็ดถั่งเช่าทองที่เจริญในดักแด้ (B) สปอร์ราของเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เจริญในไข่จักจั่น (C) ลักษณะของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (D)
ที่มา: ดัดแปลงจาก Guo *et al*. (2016)

2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ประกอบไปด้วยโพลิแซ็กคาไรด์ร้อยละ 59.8 โปรตีนร้อยละ 29.1 ไขมันร้อยละ 2.2 เถ้าร้อยละ 5.7 และความชื้นร้อยละ 3.2 (Chan *et al*., 2015) นอกจากนี้วิตามินที่พบมากที่สุดได้แก่ วิตามินเอ วิตามินบีสามและวิตามินอี เป็นต้น ส่วนแร่ธาตุ ที่พบมากที่สุด ได้แก่ โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส กำมะถัน แมกนีเซียมและแคลเซียม เป็นต้น นอกจากนี้ชนิดของโปรตีนส่วนใหญ่ที่พบในเห็ดถั่งเช่าสีทองจะประกอบไปด้วยโปรตีนอัลบูมิน โกลบูลิน และกลูเตลิน ในส่วนของปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด พบว่าส่วนของดอกเห็ดถังเช่าสีทอง (corpus) มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าส่วนของเส้นใยของเห็ดถังเช่าสีทอง (fruiting body) ที่ปริมาณ 69.3 และ 14.03 มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดอะมิโนในแต่ละชนิดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ตารางที่ 1) และมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงถึงร้อยละ 70 ในส่วนของดอกและเส้นใยของเห็ดถังเช่าสีทอง โดยพบกรดไลโนเลอิก (C18:3) สูงถึงร้อยละ 61.3 และร้อยละ 33.0 ตามลำดับ กรดปาลมิติก (C16:0) เป็นกรดไขมันอิ่มตัวที่พบได้มากที่สุดร้อยละ 24.5 และ 21.5 ตามลำดับ (Hur, 2008) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 ปริมาณกรดอะมิโนของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ชนิดของกรดอะมิโน	โครงสร้างของเห็ดถั่งเช่า (มิลลิกรัม/กรัมของน้ำหนักแห้ง)		ชนิดของโปรตีน (มิลลิกรัม/กรัมของโปรตีน)		
	ดอกเห็ด	ก้านเห็ด	Albumin	Globulin	Glutelin
Aspartic acid	4.75	0.36	96.45	106.05	85.70
Serine	3.13	0.39	53.99	47.29	45.76
Glutamic acid	8.79	1.40	98.14	88.05	84.19
Glycine	1.84	0.52	54.39	47.06	41.82
Histidine	1.84	0.46	22.33	23.93	21.82
Arginine	5.29	0.65	65.92	65.22	59.20
Threonine	5.99	0.86	70.94	68.54	55.04
Alanine	5.18	0.98	4.077	44.70	46.69
Proline	6.68	2.99	33.70	33.07	42.90
Valine	3.46	0.65	51.49	55.45	55.04
Lysine	15.06	2.20	42.57	37.01	43.72
Isoleucine	1.16	0.35	34.25	40.50	34.32
Leucine	1.43	0.46	58.19	52.97	70.30
Phenylalanine	1.15	0.42	44.73	37.301	43.72

ที่มา: ดัดแปลงจาก Hur (2008); Yu *et al*. (2021)

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดไขมันในเห็ดถังเช่าสีทอง

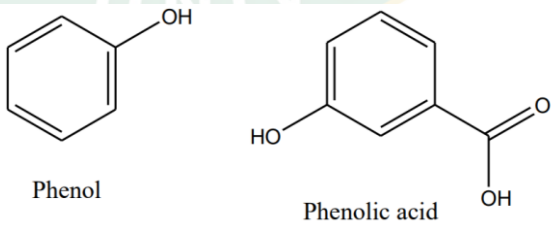
ชนิดกรดไขมัน	ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด	
	ดอกเห็ด	ก้านเห็ด
Palmitic acid (C16:0)	24.5	21.5
Palmitoleic acid (C16:1)	2.3	2.1
Stearic acid (C18:0)	5.8	5.0
Oleic acid (C18:1)	6.0	17.7
Linoleic acid (C18:2)	61.3	33.0
Linolenic acid (C18:3)	-	20.6

ที่มา: ดัดแปลงจาก Hur (2008)

2.2.2 สารสำคัญ และฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง สารในกลุ่มของพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น สารคอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีน มีส่วนในการช่วยป้องกันการเกิดโรคเบาหวานและโรคไต (Dong *et al*., 2014; Ma *et al*., 2015) ช่วยต้านสภาวะไขมันในเลือดสูง (Sun *et al*., 2021; Wang *et al*., 2015) ช่วยต้านการเกิดเนื้องอก ยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งตับ และมะเร็งต่อมน้ำเหลือง (Liu *et al*., 2017) รวมถึงยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ ต้านแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา อีกทั้งยังช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่ (Lee *et al*., 2015; Reis *et al*., 2013; Ren *et al*., 2020; Smiderle *et al*., 2014; Wang *et al*., 2016) นอกจากนี้เห็ดถั่งเช่าสีทองยังมีปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 3)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารที่สามารถพบได้ในพืชผักผลไม้ สมุนไพร และเครื่องเทศ เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ โดยพืชจะสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองเนื่องจากสภาวะทางธรรมชาติที่ไม่เหมาะสมในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ เชื้อราแมลงและรังสียูวีจากแสงแดด มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) มากกว่าหนึ่งหมู่ภายในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเป็นอนุพันธ์ของเบนซินของสารฟีนอลิกพื้นฐาน คือฟีนอลโดยจะประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ (ภาพที่ 2) สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชตามธรรมชาติส่วนใหญ่นั้นจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ฟีนอล (phenol) คิวโนน (quinine) และฟีนิล (phenyl) เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้จะเป็นส่วนที่ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างพืชที่ให้มีความแข็งแรงต่อผนังเซลล์ รวมถึงยังเป็นส่วนที่ทำให้เกิดสีต่าง ๆ ในพืชผักผลไม้ และยังมีหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Laura *et al*., 2019)



ภาพที่ 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก
ที่มา: Jideani *et al*. (2014)

สารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid content; TFC) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นแบบไดฟีนิลโพรเพน (diphenyl propane; C_6-C_3-C_6) จะประกอบด้วยวงแหวนของเบนซิน 2 วง และคาร์บอนสามอะตอมเชื่อมอยู่ ในรูปของ Oxygenate heterocyclic (ภาพที่ 3) (Panche *et al*., 2016)

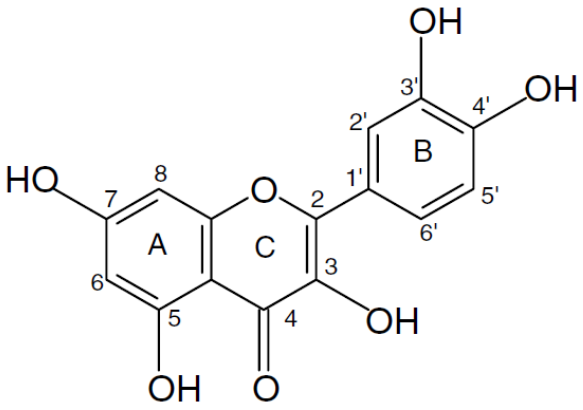
สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 5 ประเภท ได้แก่ 1) ฟลาโวน (flavone) 2) ฟลาโวนอล (flavonol) 3) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidin) 5) ฟลาวาโนน (flavanone) เป็นต้น (Iwashina, 2013; Szkudelskaand Nogowski, 2007)

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารประกอบฟลาโวนอยด์ช่วยในการยับยั้ง เชื้อไวรัส เชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย ช่วยลดการอักเสบ ช่วยยับยั้งเอนไซม์ ยับยั้งการเกิดเนื้องอก ชะลอการออกซิเดชันของคอเลสเตอรอล (low density lipoprotein; LDL) รวมถึงช่วยในการออกซิเดชัน (oxidation) เพื่อสลายคอเลสเตอรอลที่ส่งผลทำให้เกล็ดเลือดเกิดการแข็งตัวอันส่งผลต่อต้นเหตุของหลอดเลือดหัวใจ ช่วยป้องกันการจับตัวของไขมัน และหลอดเลือด ป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Griesbach, 2010; Samanta *et al*., 2011; Takahashiand Ohnishi, 2004) สารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ที่เป็นองค์ประกอบหลัก และพบมากในเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้แก่ shikimic acid, chlorogenic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid และ ferulic acid เป็นต้น (Yu *et al*., 2021)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเห็ดถั่งเช่าสีทอง

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	ผลการการออกฤทธิ์
Antioxidant, antiaging	ช่วยในการยับยั้งอนุมูลอิสระ และช่วงเพิ่มความอ่อนเยาว์
Antiinflammatory	ลดการอักเสบ
Antiacncer	ยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็ง และลดการเกิดมะเร็งเนื้องอก
Antileukemic	ยับยั้งการเกิดมะเร็งในเม็ดเลือดขาว
Antiproliferative	ยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์มะเร็ง
Antimetastatic	ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง
Antimicrobial	ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์
Antiangiogenic	ช่วยขัดขวางการเกิดหลอดเลือดฝอยแตก
Antidiabetic	ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน
AntiHIV	ต้านการเกิดโรคเอดส์
Antimalarial	ป้องกันการเกิดโรคมาลาเรียและไข้จับสั่น
Immunomodulatory	ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน
Steroidogenic	การสังเคราะห์ฮอร์โมนสเตรียรอยด์
Hypoglacaemic	ช่วยลดน้ำตาลในเลือด
Neuroprotective	ช่วยป้องกันเซลล์ประสาท

ที่มา: ดัดแปลงจาก Ren *et al*. (2020)



ภาพที่ 3 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์
ที่มา: Droguett Ossa *et al*. (2014)

2.3 โปรตีนทางเลือก

โปรตีนทางเลือก (alternative protein) หรือโปรตีนที่ไม่ได้มาจากแหล่งของเนื้อสัตว์ (non-meat-based protein) โดยเป็นที่ทราบกันดีว่าเนื้อสัตว์เป็นแหล่งของโปรตีนหลัก และมีการบริโภคอย่างกว้างขวางทำให้ผู้คนเริ่มคำนึงถึงการทารุณกรรมสัตว์ที่ต้องนำมารับประทานเป็นอาหารส่งผลทำให้ตลาดของโปรตีนทางเลือกขยายตัวเพิ่มสูงขึ้น ในปัจจุบันได้รับความนิยมในตลาดผู้บริโภคเฉพาะกลุ่ม (niche market) และผู้คนทั่วไปมากขึ้น โดยแหล่งของโปรตีนทางเลือกสามารถแบ่งออกเป็น 3 แหล่ง ได้แก่ โปรตีนจากแมลง (insect protein) ซึ่งเป็นแหล่งของโปรตีนทางเลือกใหม่ที่เริ่มได้รับความสนใจมากขึ้น เช่น จิ้งหรีด หนอนไหม หนอนด้วง และตั๊กแตน เป็นต้น (Imathiu, 2020) โปรตีนจากพืช (plant-based protein) เช่น พืชตระกูลถั่ว รวมถึงผลของเมล็ดพืชต่าง ๆ ได้แก่ เม็ดมะม่วงหิมพานต์และพืชใบเขียว เป็นต้น โปรตีนจากเชื้อจุลินทรีย์ (mycoprotein) ได้แก่ เห็ดถั่งเช่า เชื้อราต่าง ๆ และยีสต์ นอกจากนี้ยังรวมถึงโปรตีนจากนวัตกรรมทางชีวภาพ (biotechnological) เช่น เนื้อเทียม หรือเนื้อสังเคราะห์จากเชื้อรา เป็นต้น (Bashi *et al*., 2019; Thavamani *et al*., 2020)

2.3.1 ชนิดของโปรตีนทางเลือก

ชนิดของโปรตีนทางเลือกสามารถแบ่งออกเป็น 3 ประเภทดังนี้

1) โปรตีนจากพืช คือโปรตีนที่ได้จากพืชชนิดต่าง ๆ โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ 1) พืชตระกูลถั่ว เช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง เป็นต้น 2) ธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และลูกเดือย เป็นต้น 3) เมล็ดพืช เช่น ควินัว เมล็ดเจีย และเมล็ดแฟลกซ์ เป็นต้น 4) ผักผลไม้ เช่น ผักโขม บรอกโคลี อะโวคาโด และคะน้าแม็กซิโก เป็นต้น 5) หญ้า เช่น หญ้าเนเปียร์ หญ้าแพงโกล่า และหญ้าซิกแนล เป็นต้น ซึ่งพืชเหล่านี้อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เช่น โปรตีน

กรดอะมิโนจำเป็น แร่ธาตุ วิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ และไฟเบอร์ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เป็นต้น

2) โปรตีนจากแมลง ซึ่งปัจจุบันผู้บริโภคนิยมรับประทานแมลงกันมากขึ้น เนื่องด้วยจำนวนประชากรมนุษย์ที่เพิ่มขึ้นรวมถึงแมลงมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูง เช่น โปรตีน และไขมัน เป็นต้น โดยแมลงเป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลังซึ่งจะมีความหลากหลายทางชีวภาพเป็นอย่างมาก และแมลงมีจำนวนมากที่สุดในอาณาจักรสัตว์ เนื่องจากมีสัดส่วนถึงร้อยละ 95 นอกจากนี้แมลงเป็นสัตว์ที่สามารถรับประทานได้หลากหลายช่วงอายุไม่ว่าจะเป็น ไข่ ตัวอ่อน ดักแด้ รวมทั้งตัวโตเต็มวัย การรับประทานแมลงเป็นอาหารมีมาตั้งแต่สมัยยุคก่อนประวัติศาสตร์จนถึงปัจจุบันแมลงที่นิยมในการรับประทานได้แก่ ผึ้ง ตัวต่อ แมลงปีกแข็ง จักจั่น จิ้งหรีด มด ตั๊กแตน และหนอน เป็นต้น (Kourimská, 2015)

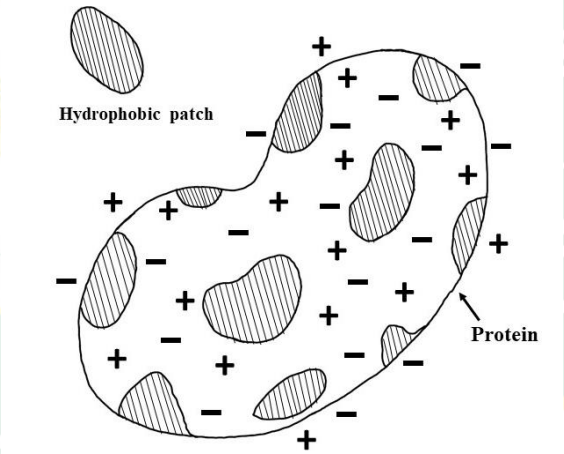
3. โปรตีนจากจุลินทรีย์ คือโปรตีนที่ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ รา ยีสต์ จัดว่าเป็นอาหารที่มีส่วนประกอบของไฟเบอร์ในปริมาณสูง ไขมันต่ำ ซึ่งโปรตีนในกลุ่มนี้จะรวมถึง เห็ดรา เช่น เห็ดทรัฟเฟิล เห็ดนางรม เห็ดชิตาเกะ เห็ดหูหนู และเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นต้น (Cruz-Solorio *et al*., 2018) นอกจากนี้ยังมีการใช้เชื้อราที่เกิดจากการหมักเชื้อราในกลุ่มของ *Fusarium venenatum* โดยใช้วัตถุดิบที่มีสารตั้งต้นเป็นคาร์โบไฮเดรตเพื่อผลิตโปรตีนเข้มข้น และนำไปทดสอบทางคลินิกกับผู้บริโภคอาสาสมัคร พบว่าหลังจากการรับประทานโปรตีนจากจุลินทรีย์ สามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยควบคุมความหิว ให้พลังงานต่ำและลดปริมาณน้ำตาลในเลือดได้ (Denny *et al*., 2008; Finnigan *et al*., 2017) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Barber *et al*. (2020) พบว่าโปรตีนจากจุลินทรีย์ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ และหลอดเลือด ส่วน Derbyshire and Delange (2021) และ Coelho *et al*. (2020) พบว่าโปรตีนจากเชื้อราสายพันธุ์ *Fusarium venenatum* มีช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดหลังการรับประทานอาหารกลางวัน รวมถึงช่วยเพิ่มความอิ่มได้นาน นอกจากนี้ Cherta-Murillo and Frost (2022) ได้ผลิตผลิตภัณฑ์โปรตีนที่มาจากเชื้อราและโปรตีนจากเนื้อไก่ โดยทดลองให้ผู้บริโภคที่มีน้ำหนักเกินรับประทาน พบว่าในการรับประทานโปรตีนจากจุลินทรีย์สามารถปริมาณน้ำตาลในเลือดลงได้ถึงร้อยละ 13 รวมถึงช่วยความคุมปริมาณอินซูลินได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับการรับประทานโปรตีนจากเนื้อไก่ เป็นต้น

2.4 หลักการสกัด และวิธีการตกตะกอนโปรตีน

โปรตีนสามารถละลายน้ำได้ เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำ (ภาพที่ 4) โดยส่วนที่ชอบน้ำจะทำให้เกิดแรงกิริยากับน้ำได้ เรียกว่า Hydrophobic patches เกิดแรงดึงดูดทางไฟฟ้าส่งผลทำให้โมเลกุลของน้ำมาล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีน และภายในโมเลกุลของโปรตีนมีประจุไฟฟ้าบริสุทธิ์ (electrostatic repulsion) สูงกว่าแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตจึงทำให้เกิดการ

ผลักกันของโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเอง ทำให้โปรตีนไม่สามารถรวมตัวกันแล้วตกตะกอนลงมา ดังนั้นเมื่อจะตกตะกอนโปรตีนได้ต้องเพิ่มปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโปรตีน (protein-protein interaction) หรือการลดปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุลของน้ำกับโปรตีน (water-protein interaction) เพื่อให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลง แล้วส่งผลทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนแทน

โปรตีนของสิ่งมีชีวิตทั้งโปรตีนจากพืชและโปรตีนจากสัตว์ มักเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นตามธรรมชาติเรียกว่า โปรตีนธรรมชาติ (native protein) ซึ่งจะมีโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้มีโอกาสเปลี่ยนแปลงโครงสร้างได้ง่าย เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมหรือสภาวะที่เปลี่ยนไปจากธรรมชาติ คุณสมบัติของโครงสร้างโปรตีนที่เปลี่ยนไป เป็นสิ่งที่บ่งบอกว่ามีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนจากธรรมชาติ ซึ่งเรียกว่าโปรตีนเสียสภาพทางธรรมชาติ (denatured protein) โดยการสูญเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ (ตารางที่ 4)



ภาพที่ 4 การกระจายตัวของส่วนที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของโปรตีน
ที่มา: ดัดแปลงจาก Sygusch and Chevrier (1998)

ตารางที่ 4 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีน

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสียสภาพ	ลักษณะของการเสียสภาพ
1. เกลือของโลหะหนัก	เกลือจะมีความสามารถในการจับกับประจุลบของโปรตีน (ionic interaction) จึงส่งผลทำให้เกิดการตกตะกอนลงมา ส่งผลทำให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างทางธรรมชาติของโปรตีน
2. ตัวทำละลายอินทรีย์	ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีค่าไดอิเล็กทริกต่ำกว่าน้ำ จึงส่งผลให้โปรตีนเกิดความสามารถในการละลายได้น้อยลง และเกิดการเสียสภาวะทางธรรมชาติของโปรตีน
3. ค่าพีเอช (pH)	ค่า pH จะเปลี่ยนประจุของโปรตีนบนโมเลกุลทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ ทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ ส่งผลต่อการจับตัวกันเป็นก้อนของโปรตีน
4. ความร้อน และรังสี	ความร้อน และรังสี ทำให้อะตอมที่อยู่ภายในโมเลกุลของโปรตีนเกิดการสั่นสะเทือนที่เกิดจากความเร็วของพันธะไฮโดรโฟบิกและพันธะไฮโดรเจนที่ถูกทำลาย ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางธรรมชาติของโปรตีน
5. เอนไซม์	เอนไซม์จะทำให้โครงสร้างของโปรตีนถูกย่อย และเกิดเสียสภาพ เอนไซม์ที่มักจะใช้ในการย่อยโปรตีน ได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส
6. แอลคาลอย รีเอเจนท์	แอลคาลอยรีเอเจนท์ จะไปจับกับประจุบวกของโปรตีน ทำให้เกิดเกลือที่ไม่สามารถละลาย ส่งผลต่อโปรตีนทำให้เกิดการเสียสภาพ นิยมใช้ กรดแทนนิก และกรดไตรคลอโรแอซิติก เป็นต้น
7. ชาร์โทรปิก รีเอเจนท์	ชาร์โทรปิก รีเอเจนท์ มีคุณสมบัติในการทำลายพันธะไฮโดรเจนที่อยู่ในพอลิเพปไทด์ ของตัวทำละลายที่เป็นน้ำ และโปรตีน จึงส่งผลต่อโครงสร้างของโปรตีนทำให้เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ ชาร์โทรปิก รีเอเจนท์ ที่นิยมใช้ ยูเรีย และกัวนีดีนไฮโดรคลอไรด์ เป็นต้น
8. ดีเทอร์เจนท์	เทอร์เจนท์ เป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีคุณสมบัติการเป็นแอมฟิฟาติก มีความสามารถในการจับโปรตีนส่งผลทำให้โครงสร้างของโปรตีนเกิดการเสียสภาพธรรมชาติ ดีเทอร์เจนท์ที่นิยมใช้ ได้แก่ โซเดียมโดดีซิลซัลเฟต เป็นต้น

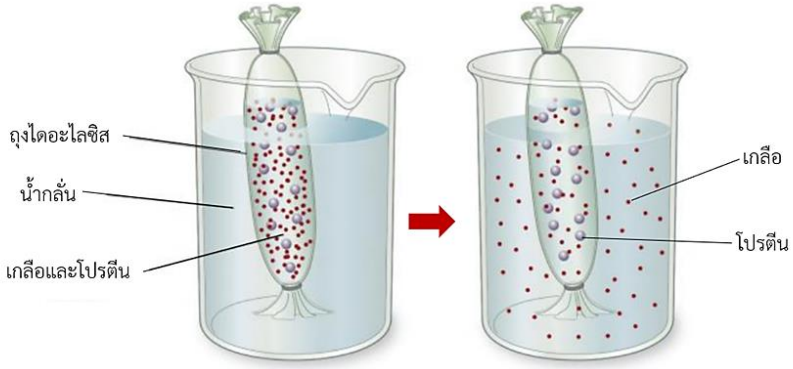
ที่มา: ดัดแปลงจาก Rattanapanon (2014)

ดังนั้นในการสกัดโปรตีนจะต้องคำนึงถึงสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนแต่ละชนิดด้วย เพื่อป้องกันไม่ให้โปรตีนที่สกัดได้มีการจับตัวกับสารอื่น มักจะใช้สารที่มีคุณสมบัติในการช่วยละลายโปรตีนออกมา รวมถึงหากใช้วิธีการตกตะกอนโปรตีนที่ไม่ส่งผลเสียต่อโครงสร้างโปรตีนที่เสียสภาพ และเป็นวิธีตกตะกอนโปรตีนที่ได้รับความนิยม ได้แก่ 1) การปรับค่า pH เข้าสู่จุดไอโซอิเล็กตริก 2) การตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และ 3) การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือ มีหลักการดังนี้

2.4.1 การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือ

เป็นการอาศัยหลักการเพิ่มค่าความแรงอิออนโดยใช้เกลือในการช่วยตกตะกอน ซึ่งจะต้องใช้ความเข้มข้นของเกลือในระดับความเข้มข้นสูง เพื่อสามารถตกตะกอนของโปรตีนเรียกว่า Salting Out โดยเติมเกลือลงในตัวอย่างที่ต้องการสกัดโปรตีนเพื่อเพิ่มแรงอิออน (ionic strength) ซึ่งเกลือจะไปแย่งจับโมเลกุลของน้ำที่ล้อมรอบโปรตีน ทำให้เกิดแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำเหลือน้อยกว่าแรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับโปรตีน ส่งผลให้โปรตีนเกิดการจับตัวกันและตกตะกอนลงมา ซึ่งการรวมตัวกันของโปรตีนนั้นเกิดจากส่วนที่ไม่ชอบน้ำในโมเลกุลของโปรตีน แต่ละตัว เคลื่อนที่เข้ามาอยู่ใกล้กันแล้วเกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของโปรตีนในส่วนที่ไม่ชอบน้ำเหมือนกัน ทำให้เกิดโมเลกุลของโปรตีนที่มีการจับตัวกันใหญ่ขึ้นจึงส่งผลทำให้เกิดการตกตะกอนลงมา เรียกว่า Salting out effect

เกลือที่นิยมใช้ในการตกตะกอนโปรตีน คือเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) โปตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) แมกนีเซียมซัลเฟต $(MgSO_4)$ และโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) ซึ่งเป็นเกลือที่มีค่าการละลายน้ำสูง สามารถใช้ตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำได้ดีที่ช่วง 0-30 องศาเซลเซียส ไม่ส่งผลเสียต่อโครงสร้างของโปรตีน วิธีการตกตะกอนด้วยเกลือจะต้องมีการกำจัดเกลือออกจากสารละลายโปรตีนเสมอ โดยมีหลายวิธีที่นิยม ได้แก่ การไดอะฟิวเตชัน (diafiltration) เจลฟิลเตรชัน (gel filtration) และไดอะไลซิส (dialysis) โดยถุงไดอะไลซิสจะทำหน้าที่เป็นเยื่อเลือกผ่าน (ภาพที่ 5) โดยเกลือที่มีขนาดโมเลกุลเล็กสามารถผ่านเมมเบรนออกไปได้จนกระทั่งแรงออสโมติก (osmotic pressure) ด้านในและด้านนอกมีความสมดุลกัน โดยบรรจุโปรตีนที่ผ่านการตกตะกอนด้วยเกลือให้อยู่ภายในถุงไดอะไลซิส ส่วนภายนอกจะเป็นบัฟเฟอร์ซึ่งมักนิยมใช้น้ำกลั่น โดยจะต้องมีการเปลี่ยนน้ำภายนอกถุงเมมเบรนอยู่บ่อย ๆ ภายใต้อุณหภูมิต่ำที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 5 การกำจัดเกลือด้วยวิธีไดอะไลซิส (dialysis)
ดัดแปลงจาก : Voet *et al*. (2016)

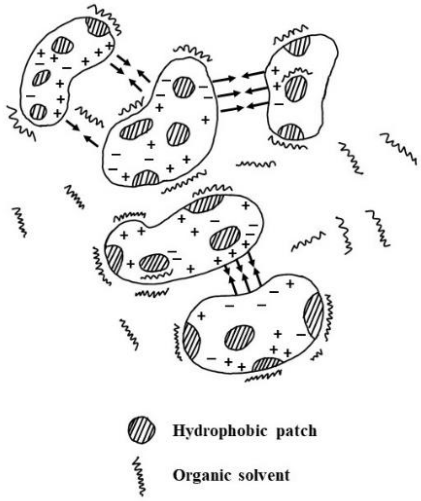
2.4.2 การตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

การตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent precipitation) โดยตัวทำลายจะไปลดค่ากิจกรรมของน้ำซึ่งมีผลต่อค่าไดอิเลคตริค (dielectric constant) ส่งผลทำให้ความสามารถในการเป็นตัวทำละลายของน้ำลดลง เกิดการเข้ามารวมตัวของโมเลกุลโปรตีนตกตะกอน ซึ่งตัวทำละลายควรมีคุณสมบัติดังนี้ เป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำ ไม่มีการเกิดปฏิกิริยากับโปรตีน ไม่มีความเป็นพิษ ส่งผลให้ตกตะกอนได้ดี มีจุดเยือกแข็งต่ำ ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้ในการตกตะกอนโปรตีน ได้แก่ อะซิโตน เอทานอล เมทานอล และไอโซโปรปานอล เป็นต้น

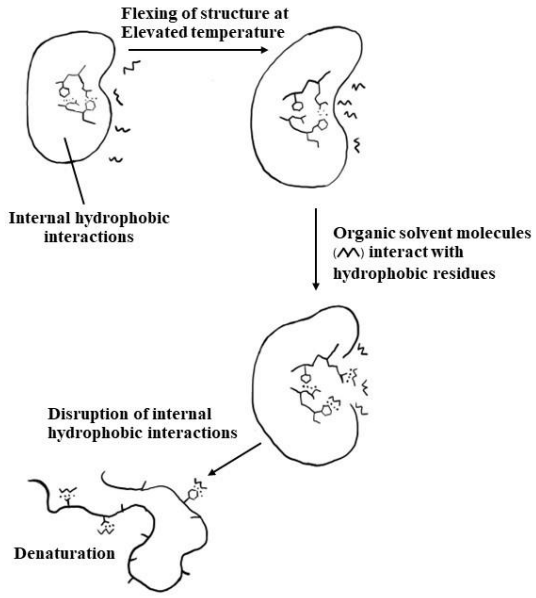
ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้จะไปลดค่ากิจกรรมของน้ำโดยมีผลต่อค่าคงที่ไดอิเลคตริค (dielectric constant) ของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายลดลง ทำให้ความสามารถในการเป็นตัวทำละลายของน้ำลดลง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นตัวทำละลายอินทรีย์มากขึ้น จนถึงจุดที่แรงกระทำระหว่างโมเลกุลของโปรตีนในส่วนของพลังงานไฟฟ้าสถิตบนโมเลกุลของโปรตีนที่มีแรงกระทำที่สูงกว่าแรงกระทำระหว่างโปรตีนกับน้ำ เกิดการเข้ามารวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีนตกตะกอนลงได้ (ภาพที่ 7)

หลักการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการตกตะกอนโปรตีน ทำได้โดยการตกตะกอนโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำ (-20 ถึง 4 องศาเซลเซียส) เพื่อป้องกันการเสียสภาพทางธรรมชาติของโปรตีนที่อุณหภูมิต่ำ โครงสร้างของโปรตีนจะมีความเสถียรสูง เนื่องจากการยึดด้วยแรงไฮโดรโฟบิคอย่างแข็งแรงภายในโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีนเอง ทำให้การแทรกตัวของตัวทำละลายอินทรีย์ผ่านผนังของโมเลกุลโปรตีนไปได้ยาก แต่ที่อุณหภูมิสูงโครงสร้างของโมเลกุลโปรตีนเกิดรอยแตกบนโมเลกุลทำให้ตัวทำละลายอินทรีย์สามารถซึมผ่านเข้าไปภายในโมเลกุลของโปรตีนได้ จึงเกิดแรงดึงดูดกับส่วนไฮโดรโฟบิคภายในโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน โดยเฉพาะส่วนของกรดอะมิโน เช่น ลิวซีน ทริปโตซิน และวาลีน เป็นต้น ส่งผลต่อโครงสร้างภายในเกิดการสลายตัวของโมเลกุลโปรตีนซึ่งมักเกิดกับตัวทำละลายที่เป็น

แอลกอฮอล์สายยาวมากกว่าแอลกอฮอล์สายสั้น ซึ่งผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการสลายตัวของโปรตีน (ภาพที่ 6) ควรระวังไม่ให้ตัวทำละลายอินทรีย์มากเกินไปจนกลายเป็นตัวทำละลายใหม่แทนน้ำ ส่งผลต่อการเกิดปัญหาในการแยกเอาตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากน้ำ



ภาพที่ 6 การรวมตัวกันของโมเลกุลโปรตีนโดยแรงกระทำเมื่อเติมตัวทำละลายอินทรีย์ลงไป
ที่มา: ดัดแปลงจาก Sygusch and Chevrier (1998)

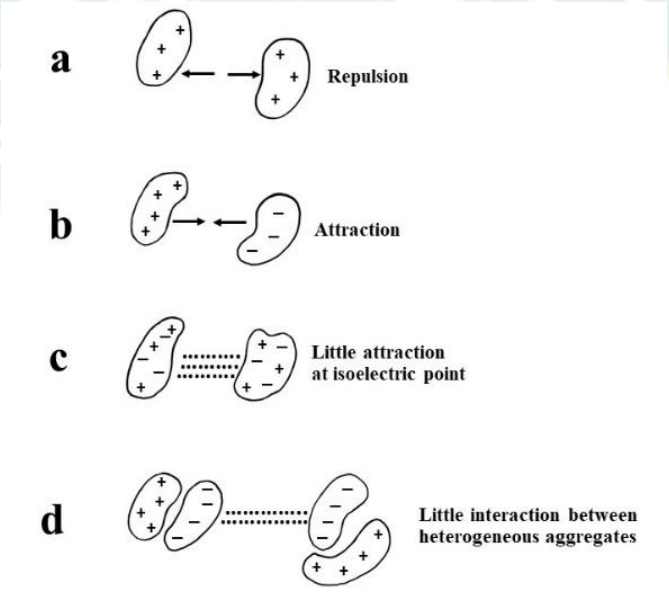


ภาพที่ 7 ผลของตัวทำละลายอินทรีย์ต่อการเสียสภาพของโมเลกุลโปรตีน
ที่มา; Sygusch and Chevrier (1998)

2.4.3 การตกตะกอนด้วยการปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กทริค

การตกตะกอนด้วยการปรับค่าพีเอช (pH) เข้าสู่จุดไอโซอิเล็กทริค (isoelectric precipitation; pI) เป็นการตกตะกอนที่จุดไอโซอิเล็กทริคโดยโปรตีนในแต่ละชนิดนั้นจะมีจุดไอโซอิเล็กทริคที่ต่างกัน เมื่อมีการปรับค่า pH ให้มีค่าเท่ากับค่าไอโซอิเล็กทริคโปรตีนก็จะเกิดการรวมตัวกันแล้วเกิดการตกตะกอนตามมา เพราะไม่มีแรงผลักดันไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีน ทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นศูนย์ โปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากพอที่จะทำให้เกิดการรวมตัวแล้วตกตะกอนลงมา

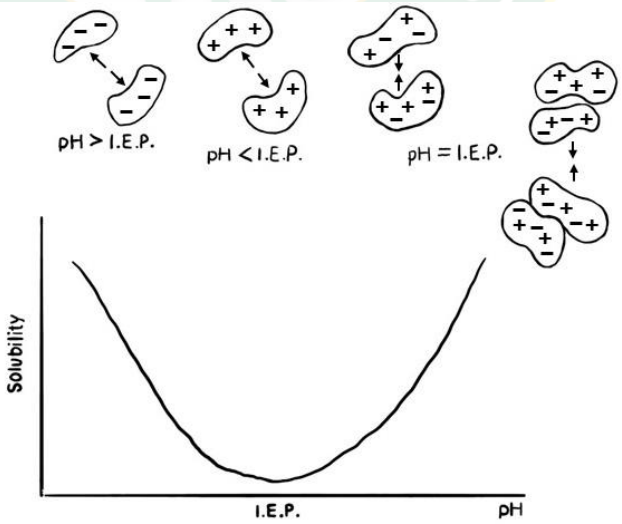
โดยโมเลกุลของเอนไซม์ที่ละลายในโปรตีนผสมซึ่งมีการผลักกันเนื่องจากประจุสุทธิของโมเลกุลของเอนไซม์มีประจุเดียวกัน ส่งผลให้โมเลกุลของเอนไซม์อยู่ห่างกันมากจึงสามารถละลายอยู่ในน้ำได้ (ภาพที่ 8a) ส่วนแรงดึงดูดโมเลกุลของเอนไซม์ที่มีประจุต่างชนิดกัน เอนไซม์จะอยู่ใกล้กัน (ภาพที่ 8b) ทำให้ตกตะกอนลงมารวมตัวกันได้ นอกจากนี้เมื่อประจุบวกและประจุลบของเอนไซม์ มีความสมดุลกัน จากการปรับค่า pH ให้มีค่าไอโซอิเล็กทริค ที่เหมาะสมสำหรับการตกตะกอนจึงทำให้เกิดแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลขึ้น ทำให้เอนไซม์เข้าหากันมากขึ้นจึงสามารถรวมตัวกันแล้วตกตะกอนลงมา (ภาพที่ 8c) และ (ภาพที่ 8d) แสดงให้เห็นเมื่อแรงกระทำอย่างเบาระหว่างการรวมตัวกันและตกตะกอนของกลุ่มเอนไซม์ (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 แรงกระทำทางไฟฟ้าสถิตระหว่างโมเลกุลของโปรตีน
ที่มา: ดัดแปลงจาก Sygusch and Chevrier (1998)

การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนโดยการปรับค่า pH ที่ส่งผลต่อลักษณะต่าง ๆ (ภาพที่ 9) ค่า pH ของสารละลายโปรตีนที่มีค่า pH ต่ำกว่าค่าไอโซอิเล็กทริคที่ต้องการแยก เมื่อประจุสุทธิของโมเลกุลเอนไซม์เป็นประจุบวก ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างประจุบวกเหมือนกัน เกิดความสามารถในการละลายน้ำได้ เมื่อทำการปรับ pH ให้อยู่ใกล้ค่าไอโซอิเล็กทริคที่ต้องการ แรงประจุสุทธิจะมีค่าเป็นบวกน้อยลง ทำให้แรงผลักระหว่างโมเลกุลน้อยลงตาม ส่งผลต่อการเคลื่อนที่เข้าใกล้กันมากขึ้น ความสามารถในการละลายจึงลดลงจนถึงจุดที่ค่า pH เท่ากับค่าไอโซอิเล็กทริค หรือประจุสุทธิมีค่าเท่ากับศูนย์ โมเลกุลของเอนไซม์จึงเคลื่อนที่เข้าหากันจึงเกิดการรวมตัวกันแล้วตกตะกอนลงมากตาม อาจจะเรียกว่าเป็นจุดที่มีค่าการละลายต่ำที่สุด ส่วนเมื่อมีการปรับค่า pH มากกว่าค่า pI จะทำให้ประจุสุทธิของโมเลกุลเอนไซม์แต่ละโมเลกุลจะมีค่าเป็นลบ เกิดแรงผลักระหว่างประจุลบ มากขึ้นทำให้โมเลกุลอยู่ห่างกันมากขึ้น และมีค่าการละลายเพิ่มมาขึ้นตาม

โปรตีนแต่ละชนิดจะมีค่าไอโซอิเล็กทริคที่แตกต่างกันออกไป การที่จะตกตะกอนโปรตีนในทางปฏิบัติถึงแม้จะปรับค่า pH ให้อยู่ใกล้เคียงกัน เช่น ปรับค่า pH เท่ากับ 3.9 แต่ค่าไอโซอิเล็กทริคของโปรตีนชนิดนั้น ๆ มีค่าเท่ากับ 4.0 การแยกหรือการตกตะกอนโปรตีนก็จะแยกกันได้ไม่สมบูรณ์ Yu *et al*. (2021) เป็นข้อเสียของวิธีการสกัดโปรตีนด้วยการตกตะกอน ดังนั้นกระบวนการตกตะกอนโปรตีนจึงนิยมใช้เพื่อตกตะกอนกับโปรตีนที่สนใจหรือการทำให้โปรตีนบริสุทธิ์ในระดับหนึ่งเท่านั้น ไม่สามารถตกตะกอนออกมาเป็น เดียว ๆ ได้เพียงชนิดเดียวตามที่ต้องการได้ งานวิจัยของรายงานว่า ค่าไอโซอิเล็กทริคของโปรตีนแต่ละชนิดของเห็ดถั่งเช่าสีทอง ได้แก่ อัลบูมิน มีค่าเท่ากับ 4.47 กลูเตลินมีค่าเท่ากับ 4.19 และโกลบูลินค่าเท่ากับ 3.77



ภาพที่ 9 ความสามารถในการละลายของโปรตีนที่ค่า pH ต่าง ๆ
ที่มา: Sygusch and Chevrier (1998)

2.5 สมบัติของโปรตีน

2.5.1 สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน

สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สำคัญ คือสมบัติทางเคมีและกายภาพที่มีผลต่อพฤติกรรมของโปรตีนในอาหารระหว่างการแปรรูป การเก็บรักษารวมถึงการบริโภค ซึ่งในการเติมโปรตีนเป็นส่วนประกอบของอาหารในจำนวนที่น้อย ก็อาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอาหารได้ เช่น การเติมโปรตีนจากถั่วเหลืองเพื่อเป็นส่วนผสมในการทำไส้กรอกที่ร้อยละ 4 ก็ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในด้านของเนื้อสัมผัสได้ เป็นต้น (Rattanapanon, 2014) โดยคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สำคัญมีดังต่อไปนี้

2.5.1.1. สมบัติการละลาย

ความสามารถในการละลาย (solubility properties) เป็นคุณสมบัติที่จำเป็นของโปรตีนโดยจะมีผลต่อคุณสมบัติเชิงหน้าที่อื่น ๆ เช่น การเกิดโฟม การเป็นอิมัลชัน รวมถึงส่งผลต่อความหนืด ปัจจัยที่ส่งผลต่อการละลายของโปรตีนมีดังนี้ ค่า pH สัดส่วนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำบริเวณผิวหน้าของโปรตีน อุณหภูมิและความเข้มข้นของโปรตีน เป็นต้น

2.5.1.2. สมบัติการเกิดฟอง

ความสามารถในการเกิดฟอง (foaming properties) หรือความสามารถในการดูดซับอากาศและน้ำ ในพื้นที่ผิว ช่วยรักษาความคงตัวของฟิล์มไม่ให้เกิดการเปลี่ยนแปลง โดยฟิล์มจะช่วยห่อหุ้มอากาศไว้ ปัจจัยที่ส่งผลต่อความสามารถในการเกิดฟองขึ้นอยู่กับโครงสร้างของพื้นฐานขององค์ประกอบของโปรตีนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ รวมถึงค่า pI เป็นต้น (Chen *et al*., 2019)

2.5.1.3. สมบัติการเป็นอิมัลชัน

ความสามารถในการเป็นอิมัลชัน (emulsion properties) มีความสำคัญต่อความคงตัวของอาหาร เกิดจากโปรตีนที่ละลายน้ำสามารถอยู่ระหว่างเฟสของน้ำและน้ำมัน โดยจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหาน้ำมัน หันส่วนที่ชอบน้ำเข้าหาเฟสของน้ำ ทำให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคของน้ำและน้ำมันได้ดี ไม่ทำให้น้ำและน้ำมันเกิดการรวมตัวกัน พบได้ในน้ำสลัดและไส้กรอก เป็นต้น โดยมีปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณสมบัติการเป็นอิมัลชัน ได้แก่ ความสามารถในการละลายและการสูญเสียสภาพของโปรตีน เป็นต้น (Amagliani *et al*., 2017)

2.5.1.4 สมบัติการเกิดเจล

ความสามารถในการเกิดเจล (gel properties) มาจากโมเลกุลของโปรตีนที่เกิดการจัดเรียงตัวกัน โดยมีการเชื่อมประสานกับพันธะต่าง ๆ เช่น พันธะไฮโดรเจน พันธะไดซัลไฟด์ เป็นต้น ซึ่งความสามารถในการเกิดเจลจะสามารถเหนี่ยวนำด้วยความร้อน ความดัน กรด เอนไซม์ รวมถึงการเหนี่ยวนำด้วยสารเคมี โดยเจลที่ได้อาจจะมีลักษณะที่แตกต่างกัน ในด้านของความขุ่น ความสามารถในการจับน้ำและความโปร่งแสง เป็นต้น (Benjakul *et al*., 2005)

2.5.1.5 สมบัติการเกิดฟิล์ม

ความสามารถในการเกิดฟิล์ม (film properties) มีลักษณะเป็นโครงข่ายที่เรียงตัวกันระหว่างโมเลกุล ทำให้มีโครงสร้างเป็นสามมิติ นิยมในการเติมสารเพิ่มความยืดหยุ่น ทำให้ฟิล์มยืดตัวได้ดีและช่วยป้องกันการจับตัวกันเป็นก้อนของโปรตีน สามารถเตรียมจากกรรมวิธีการใช้กรด-ด่างก่อนขึ้นรูปและการให้ความร้อนก่อนขึ้นรูป เป็นต้น ฟิล์มจากโปรตีนจะมีคุณสมบัติในการป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจนได้ดี สามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ รวมถึงสามารถรับประทานได้ (Fetzer *et al*., 2021; Wu *et al*., 2018)

2.5.1.6 สมบัติการจับน้ำและน้ำมัน

ความสามารถในการจับน้ำ (water holding properties) ซึ่งเมื่อโปรตีนมีความสามารถในการจับน้ำสูงก็จะส่งทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีความนุ่ม มีความชุ่มฉ่ำ ไม่แห้งแข็ง เช่น ไส้กรอก และชาลามี่ เป็นต้น ส่วนความสามารถในการจับน้ำมัน (oil holding properties) เกิดจากโมเลกุลของโปรตีนที่ประกอบด้วยหมู่ที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำเป็นจำนวนมาก ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้มักใช้ในการปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร (Li *et al*., 2022; Liu *et al*., 2018)

2.5.2 สมบัติทางความร้อน

สมบัติทางความร้อนของโปรตีน (Thermal properties of protein) เมื่อโปรตีนได้รับความร้อนในอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างสายพอลิเฟปไทด์ถูกทำลาย โดยเฉพาะที่อุณหภูมิสูงจะทำให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงสภาวะทางธรรมชาติของโปรตีนที่ผันกลับไม่ได้ (irreversible) จะส่งผลทำให้เกิดคุณสมบัติในการเกิดเจลของโปรตีนได้ ซึ่งเป็นโครสร้างสามมิติที่เกิดจากโมเลกุลโปรตีนมีการจัดเรียงตัวโดยการเชื่อมประสานด้วยพันธะต่าง ๆ เช่น พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไดซัลไฟด์ เป็นต้น (Kashyap *et al*., 2023, Lian *et al*., 2021)

2.5.3 สมบัติเชิงโครงสร้าง

สมบัติเชิงโครงสร้างของโปรตีน (Structural properties of protein) จะถูกกำหนดโดยลำดับของกรดอะมิโน ซึ่งโดยทั่วไปโปรตีนจะมีโครงสร้างสามมิติสี่ระดับ ได้แก่ 1) โครงสร้างปฐมภูมิ เป็นโครงสร้างที่แสดงพันธะระหว่างกรดอะมิโนแต่ละตัว 2) โครงสร้างทุติยภูมิ เป็นโครงสร้างที่แสดงการจัดตัวของกรดอะมิโนที่อยู่ใกล้กัน 3) โครงสร้างตติยภูมิ แสดงการจัดตัวของกรดอะมิโนตลอดทั้งสาย พบได้ในโปรตีนที่มีลักษณะเป็นก้อน การจับตัวกันเป็นกลุ่มก้อนของสารพอลิเพปไทด์ และ 4) โครงสร้างจตุภูมิ แสดงการจับตัวระหว่างสายโพลีเพป โดยแต่ละหน่วยย่อยคือสายโพลีเพปไทด์หนึ่งเส้น การจัดตัวขึ้นกับลำดับกรดอะมิโนและสารอื่นๆที่เข้ามาจับเช่นเดียวกัน (Bailey *et al*., 2020)

2.5.4 การประยุกต์ใช้สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร

การนำโปรตีนที่สกัดได้จากแหล่งต่าง ๆ มาเป็นส่วนผสมในอาหารซึ่งโปรตีนจะทำหน้าที่สำคัญต่าง ๆ ได้หลายประการ เช่น การเกิดอิมัลชันเมื่อเติมลงในอาหารจะส่งผลทำให้เกิดความคงตัวของอิมัลชันมากขึ้น เช่น ไส้กรอก ไส้อั่ว ซุป และเค้ก เป็นต้น การเกิดเจลโดยทำหน้าที่เป็นตัวเชื่อมทำให้อาหารมีเนื้อสัมผัสที่ดีมากขึ้น เช่น อาหารประเภทเนื้อ ไส่กรอก ลูกชิ้นและเบเกอรี่ เป็นต้น สมบัติด้านความยืดหยุนเป็น hydrophobic bonding เช่น การเกิดพันธะไดซัลไฟด์ในเจล สมบัติการอุ้มน้ำ ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลของน้ำทำให้น้ำถูกจับไว้ในโมเลกุลของโปรตีน เช่น อาหารประเภทเนื้อ เค้ก และโดนัท เป็นต้น สมบัติการเกิดโฟมซึ่งจะช่วยห่อหุ้มฟองอากาศไว้ทำให้เกิดความคงตัวของโฟม เช่น วิพพ์ครีม ชิฟฟอน ชูครีม และขนมหวานต่าง ๆ เป็นต้น สมบัติการละลายซึ่งจะทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายของอาหารมากขึ้นในเครื่องดื่ม (Kumar *et al*., 2022; Schweiggert-Weisz *et al*., 2020; Vermaand Srivastav, 2022)

Elsorady (2020) ได้ศึกษาความสามารถในการเกิดอิมัลชันของเค้กโดยการเติมโปรตีนไอโซเลตจากงาขาว พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลตจากงาขาวช่วยเพิ่มคุณสมบัติการเป็นอิมัลชัน มีความสามารถในการเกิดโฟม ความสามารถในการก่อเจลได้ดี ช่วยลดความหนาแน่น รวมถึงปริมาณการดูดซึมน้ำ-ไขมันดีกว่าเค้กที่ไม่มีการเติมโปรตีนไอโซเลตจากงาขาว ส่วน Zhang, M. et al. (2022) ศึกษาการเติมโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาเพื่อเป็นสารทดแทนไขมันสำหรับไส้กรอกไขมันต่ำ โดยศึกษาคุณสมบัติการเป็นอิมัลชัน และคุณลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัส พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาร้อยละ 20 มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันสูงถึง 63 ตารางเมตร/กรัม และมีความคงตัวของอิมัลชันนานถึง 60 นาที ช่วยเพิ่มความแน่นเนื้อ (firmness) ความสามารถในการเกาะติด ความยืดหยุ่น (springiness) และความเคี้ยวได้ (chewiness) รวมถึงยังช่วยอุ้มน้ำในไส้กรอกได้ดีเมื่อผ่านความร้อน นอกจากนี้ Shevkani *et al*. (2015) ได้ศึกษาการเติมโปรตีนไอโซเลตจากถั่วขาวคาวพีจำนวน 12 กรัม ในแป้ง 100 กรัม ของมัฟฟินข้าวปราศจากกลูเตน พบว่าการเติมโปรตีนไอโซเลต

จากถั่วขาวคาวพีในมัฟฟินช่วยเพิ่มคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัสเมื่อเทียบกับมัฟฟินที่ไม่เติม ได้แก่ ความแน่นเนื้อเท่ากับ 19.4 นิวตัน ความสามารถในการเกาะติด (chewiness) เท่ากับ 0.65 ความยืดหยุ่น (springiness) เท่ากับ 0.88 และความเคี้ยวได้ (chewiness) เท่ากับ 10 นิวตัน เป็นต้น

ตารางที่ 5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสมบัติทางหน้าที่ของโปรตีนในอาหาร

ตัวอย่างโปรตีน	สมบัติทางหน้าที่	ผลิตภัณฑ์	แหล่งที่มา
โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่วหรั่ง	ปรับปรุงเนื้อสัมผัส	ไส้กรอก	Gao *et al*. (2022)
โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดฟักทอง	การเกิดอิมัลชัน	ไส้กรอก	Broucke *et al*. (2022)
โปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลือง	การเกิดอิมัลชัน	ไส้กรอก	Yuan *et al*. (2021)
โปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดอะโวคาโด	การเกิดอิมัลชัน	ไส้กรอก	Wang *et al*. (2019)
โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดนางรม	การอุ้มน้ำ-น้ำมัน	โดนัท	(Ahlborn *et al*., 2019)
โปรตีนจากเห็ด *Agaricus blazei*	การละลายน้ำ	เครื่องดื่ม	Stoffel *et al*. (2019)
โปรตีนไอโซเลตจากมะพร้าว	การเกิดอิมัลชัน	เค้ก	Rodsamran and Sothornvit (2018)
โปรตีนไอโซเลทจากเมล็ดพริก	การเกิดอิมัลชัน	ไส้กรอก	Li *et al*. (2018)
โปรตีนไอโซเลตจากถั่วลูปิน	เพิ่มความหนืดและปรับปรุงเนื้อสัมผัส	พาสต้าและขนมปัง	Piornos *et al*. (2017)
โปรตีนไอโซเลตจากถั่วงอก	การเกิดอิมัลชันและการเกิดฟอง	มัฟฟินและคุกกี้	Ayogu *et al*. (2016)

2.6 เทคนิคกระบวนการไมโครเอนแคปซูล

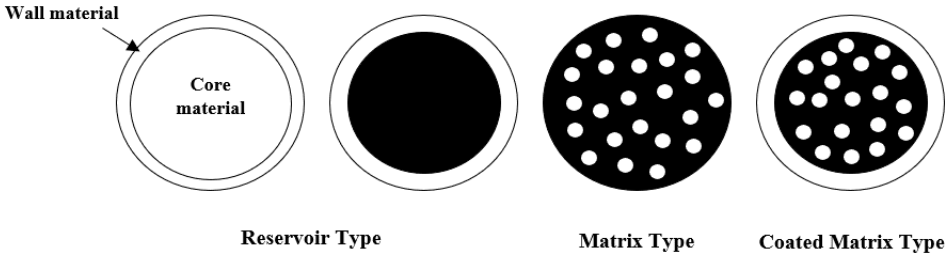
เทคนิคกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน (micro-encapsulation techniques) เป็นกระบวนการกักเก็บสารสำคัญให้ถูกเคลือบด้วยสารชนิดอื่นโดยเทคโนโลยีการเอนแคปซูเลชัน เป็นเทคโนโลยีสำหรับบรรจุหรือห่อหุ้มสารซึ่งมีสถานะเป็นของแข็ง ของเหลวและก๊าซด้วยสารที่ถูกเคลือบ (coated) และสารที่ใช้ยึดจับ (entrapped) โดยส่วนใหญ่จะเป็นสารที่เป็นของเหลว ส่วนสารที่นำมาเคลือบจะเรียกว่า Wall material และ Coating (ภาพที่ 10) เพื่อป้องกันปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อสารสำคัญ เช่น ออกซิเจน แสง ความชื้น และการเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบอื่น ๆ ซึ่งในการห่อหุ้มสารสำคัญนั้นจะมีขนาดอนุภาคที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ที่ 1-1,000 ไมโครเมตร (Veiga *et al*., 2019) ซึ่งสารสำคัญที่ป้องกันในไมโครแอนแคปซูลจะเรียกว่า คอร์ (core) ส่วนผนังที่อยู่ด้านนนอกหรือสารที่ใช้ในการห่อหุ้มสารสำคัญเรียกว่า วอลล์ (wall) ซึ่งเป็น ตัวการสำคัญของเทคนิคไมโครเอนแคปซูลเลชัน โดยสารห่อหุ้มหรือวอลล์ควรจะมีคุณสมบัติที่ยืดหยุ่นได้ มีความหนืดต่ำเมื่ออยู่ในสถานะ

ของแข็ง มีความสามารถในการทำให้เกิดอิมัลชัน สามารถเคลือบหรือยึดติดกับสาระสำคัญได้ดี มีความคงตัวสูงรวมถึงป้องกันสารสำคัญได้ดีในสภาพแวดล้อม ไม่ดูดความชื้น และไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยากับสารสำคัญ (Zhu, 2017)

2.6.1 การเอนแคปซูเลชันโปรตีน

การเอนแคปซูเลชันโปรตีนเป็นที่นิยมกันมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็น โปรตีนไฮโดรไลเสต โปรตีนไอโซเลต รวมถึงสารสกัดเปปไทด์ต่าง ๆ มักนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ รวมถึงโปรตีนมีสารออกฤทธิ์ที่สูงมักมีการนำไปใช้เพื่อรักษาและป้องกันโรคต่าง ๆ ซึ่งหากเก็บรักษาโปรตีนในรูปแบบสารสกัดเข้มข้นจะทำให้ยากต่อการเก็บรักษา การขนส่ง อีกทั้งยังทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี-กายภาพของโปรตีนได้ง่าย ส่งผลต่อคุณภาพของโปรตีนที่ลดลงตามลง และเสี่ยงต่อการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์เนื่องจากมีปริมาณน้ำอิสระสูง (Jafari *et al*., 2019; Sarabandi *et al*., 2020) จึงมีงานวิจัยเกี่ยวกับการเอนแคปซูเลชันโปรตีนเพื่อทำให้โปรตีนอยู่ในรูปแบบของผงที่ง่ายต่อการเก็บรักษาและลดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีมากขึ้น เช่น Akbarbaglu *et al*. (2019) ศึกษาเกี่ยวกับการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเมล็ดแฟลกซ์โดยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI ซึ่งปรับค่า pH ของตัวอย่างให้เท่ากับ 10 จากนั้นนำส่วนใส่ที่ได้มาปรับค่า pH เพื่อตกตะกอนโปรตีนที่ 4.2 และนำสารสกัดโปรตีนเข้มข้นจากเมล็ดแฟลกซ์มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.01 โมลาร์ ในอัตราส่วนร้อยละ 5 จากนั้นนำมาย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลตร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทำแห้งแบบพ่นฝอย จะได้ผงโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเมล็ดแฟลกซ์โดยนำมาผสมกับมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:3 จากนั้นนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยอีกครั้ง ซึ่งจะได้ผงไมโครเอนแคปซูลของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเมล็ดแฟลกซ์ จากการทดลอง พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเมล็ดแฟลกซ์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ร้อยละ 68.93 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ร้อยละ 85.62 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ Hydroxyl ร้อยละ 94.97 และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดร้อยละ 96.68 นอกจากนี้ยังมีร้อยละผลผลิตที่ 46.54 และความสามารถในการละลายน้ำร้อยละ 95.84 ส่วน Hassan *et al*. (2019) ศึกษาเกี่ยวกับโปรตีนไฮโดรไลเสตจากลำไส้ปลาสลิดผง โดยใช้เทคนิคการเอนแคปซูเลชัน ซึ่งนำลำไส้ปลาสลิดมาย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ปรับ pH ตัวอย่างเท่ากับ 7 แล้วกวนเป็นเวลา 5 ชั่วโมง และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ 100 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใส่ที่ได้มาผสมกับมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 ตัวอย่าง/มอลโทเดกซ์ทริน แล้วนำไปทำแห้งด้วยเทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่อุณหภูมิขาเข้า 180 องศาเซลเซียส พบว่าผงโปรตีนไฮโดรไลเสต จากลำไส้ปลาสลิดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ร้อยละ 88.33 ส่วนฤทธิ์การต้าน

อนุมูลอิสระ DPPH• ที่ร้อยละ 33.56 และมีปริมาณโปรตีนทั้งหมดร้อยละ 78.14 นอกจากนี้ Murthy *et al*. (2017) ศึกษากระบวนการเอนแคปซูเลชันของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเนื้อปลาคอน สีชมพู โดยนำเนื้อปลาคอนที่บดละเอียดมาผสมกับน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:2 แล้วเติมเอนไซม์ปาเปนจากมะละกอ ร้อยละ 1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 60 นาที ที่ pH 6.6 และทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จะได้โปรตีนไฮโดรไลเสตเข้มข้น จากนั้นเตรียมสารห่อหุ้มโดยนำมอลโทเดกซ์ทริน 20 กรัม ผสมกับกัมอะราบิก 10 กรัม นำมาผสมกับโปรตีนสกัดเข้มข้นในอัตราส่วน 3:1 แล้วนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้า 160 องศาเซลเซียส อุณหภูมิขาออก 80 องศาเซลเซียส ขนาดของหัวฉีด 0.5 มิลลิเมตร ในอัตราการไหล 20 มิลลิลิตร/นาที พบว่าผงโปรตีนไฮโดรไลเสตจากปลาคอนมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ที่ร้อยละ 49.75 อนุมูลอิสระ Metal chelating ร้อยละ 25.10 มีความสามารถในการละลายสูงที่ร้อยละ 84.91 ความหนาแน่น 0.12 กรัม/มิลลิลิตร และมีค่า *L** เท่ากับ 91.75 *a** เท่ากับ -0.75 *L** เท่ากับ 5.51



ภาพที่ 10 โครงสร้างของไมโครเอนแคปซูล
ที่มา: ดัดแปลงจาก Jeyakumari *et al*. (2016)

2.6.2 ชนิดของไมโครแคปซูลที่ผลิตโดยใช้กระบวนการเอนแคปซูเลชัน

1. Single core (true encapsulation) ใช้เทคนิคการ Coacervation
2. Multi-core หรือ Matrix encapsulation มักใช้กับสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรส มักจะผลิตในระดับอุตสาหกรรม โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย
3. Multi-wall หรือ Control release มักใช้กับสารให้กลิ่นรสที่มีการเคลือบผิวสองครั้ง ด้วยเทคนิค Fluidized bed หรือ Centrifugal coating ช่วยในการควบคุมการปลดปล่อยสารให้กลิ่นรสในสภาวะที่ต้องการได้

2.6.3 ชนิดของสารเคลือบที่มักใช้ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน

สารห่อหุ้ม (wall material) คือสารที่นำมาเคลือบผิวชั้นนอกของสารสำคัญในกระบวนการเอนแคปซูเลชัน ซึ่งมีหลายชนิดที่นิยมนำมาใช้เป็นสารห่อหุ้มทั้งจากธรรมชาติ และการสังเคราะห์ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการเคลือบ โดยสารห่อหุ้มต้องไม่เป็นอันตราย ไม่มีกลิ่น สี ที่ส่งผลเสียต่อสารสำคัญ ไม่ควรเสียสภาพง่ายในระหว่างการเก็บรักษา ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่จะกักเก็บ สามารถปลดปล่อยสารที่ถูกกักเก็บได้ดี รวมถึงสามารถป้องกันสารที่ถูกกักเก็บจากสภาวะแวดล้อม เป็นต้น ชนิดและประเภทของสารห่อหุ้มที่นิยมใช้ในการเอนแคปซูเลชัน สามารถแบ่งออกได้เป็น 5 ประเภทหลักคือ 1) กลุ่มของคาร์โบไฮเดรต 2) กลุ่มของโปรตีน 3) กลุ่มของไขมัน 4) สารกลุ่มของเอสเทอร์หรืออีเทอร์ของเซลลูโลส และ 5) สารกลุ่มของยางหรือกัม (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ชนิดและประเภทของสารห่อหุ้มที่นิยมใช้ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน

ประเภทของสารห่อหุ้ม	ชนิดของสารห่อหุ้มที่นิยมใช้ในเกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน
1. คาร์โบไฮเดรต	สตาร์ช (starch) แป้งดัดแปร (modified starch) มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins) คอนไซรัป (corn syrup) เพคติน (pectin) ไคโตซาน (chitosan)
2. โปรตีน	กลูเตน (gelatin) เคซีน (casein) แปปไทด์ (peptides)
3. ลิปิด	กลีเซอรอล (glycerol) พาราฟิน (paraffin) บีแว็กซ์ (bee wax)
4. เซลลูโลส	เซลลูโลสอะซีเตต (cellulose acetate) เอทิลเซลลูโลส (ethyl cellulose) เมทิลเซลลูโลส (methyl cellulose)
5. กัม	กัมอะราบิก (Gum acacia) แอลจีเนต (alginate)

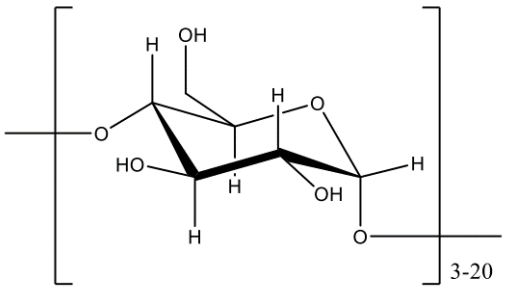
ที่มา: ดัดแปลงจาก Cano-Higuita *et al*. (2015); Gupta *et al*. (2016); Sarabandi *et al*. (2020)

2.6.3.1 มอลโทเดกซ์ทริน

มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) เป็นคาร์โบไฮเดรตซึ่งส่วนใหญ่ได้จากการย่อยสลายแป้งบางส่วนโดยใช้กรดหรือเอนไซม์ให้เป็นสารสั้นของน้ำตาลกูลโคสอยู่ในรูปของค่า Dextrose Equivalent (DE) โดยมีสูตรโครงสร้าง (ภาพที่ 11) มีลักษณะเป็นผงสีขาวที่ไม่มีกลิ่นมีรสชาติหวานเล็กน้อย สามารถละลายน้ำได้ดี มักนิยมใช้เพื่อเพิ่มปริมาณของอาหาร (bulking agent) ใช้เพื่อป้องกัน สารต่าง ๆ จับกันเป็นก้อน (Sarabandi *et al*., 2017)

ค่า DE เป็นการวัดระดับของการย่อยสลายพอลิเมอร์ของสตาร์ช ซึ่งจะเป็นค่าที่บ่งบอกถึงความสามารถในการทำให้เกิดเมทริกซ์โดยมีส่วนสำคัญในการเกิดการเคลือบผิว ที่มีค่าอยู่ในช่วง 5-20

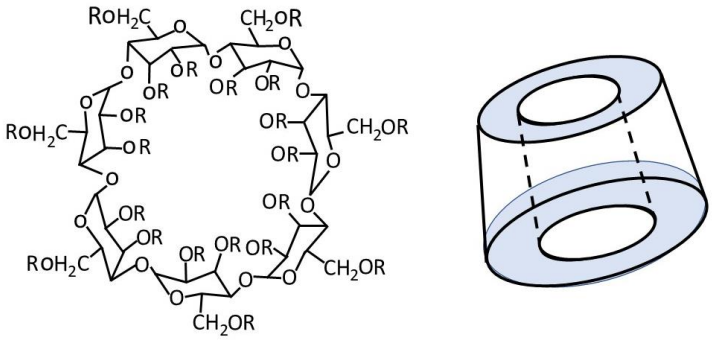
ซึ่งมอลโตเดกซ์ทรินที่มีค่า DE สูง เนื่องจากโมเลกุลของสตาร์ชถูกย่อย และได้น้ำตาลกลูโคสที่มาก จึงส่งผลทำให้มีความหวานมากกว่า และมีค่าการละลายที่ดีกว่า มอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE ต่ำ (Castro *et al*., 2016; Negrão-Murakami *et al*., 2017)



ภาพที่ 11 โครงสร้างของมอลโทเดกซ์ทริน
ที่มา: Guntero *et al*. (2020)

2.6.3.2 ไซโคลเดกซ์ทริน

ไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins) เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่นิยมใช้เป็นสารห่อหุ้มในกลุ่มสารสำคัญจำพวก วิตามิน สารให้สี กลิ่นรส และน้ำมันหอมระเหย เป็นต้น เกิดจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ Cyclodextrins Glucotransferase; CGTase ในปฏิกิริยา Trans glycosylation ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,4 glycosidic linkage โดยไซโคลเด็กซ์ทรินมีจะมีสมบัติในการชอบน้ำ (hydrophilic) แต่ด้านในโพรงของวงแหวนจะมีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ ซึ่งไซโคลเดกซ์ทรินจะมีโครงสร้างอยู่ 3 แบบ ได้แก่ แอลฟา-ไซโคลเดกซ์ทริน (alpha-cyclodextrin) เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-cyclodextrin) และแกมมา-ไซโคลเดกซ์ทริน (gamma-cyclodextrin) เป็นต้น มีการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ ไม่ว่าจะเป็นด้านอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยใช้ในการลดแรงตึงผิวในกระบวนการซักล้างเส้นใย เป็นต้น ในด้านอุตสาหกรรมทางยา และเครื่องสำอาง มักจะใช้ในการรักษากลิ่นของเครื่องสำอางให้มีความคงทน ช่วยลดการระคายเคืองผิว เพิ่มความสามารถในการดูดซึ่งของร่างกาย ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของยา ในด้านของอุตสหกรรมอาหาร มักนิยมใช้ในการรักษากลิ่น สี รสชาติของอาหารต่าง ๆ ของเครื่องเทศให้คงตัวได้นาน โดยส่วนใหญ่มักนิยมใช้เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (ตารางที่ 7) เนื่องจากมีราคาถูก มีสมบัติที่เสเถียรต่อความร้อนสูง ซึ่งเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจะสลายตัวเมื่อมีอุณหภูมิสูงที่ 300 องศาเซลเซียส รวมถึงเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจะไม่ละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ (Yang *et al*., 2012) โดยมีสูตรโครงสร้าง (ภาพที่ 12)



ภาพที่ 12 โครงสร้างของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
ที่มา: Stella (2020)

ตารางที่ 7 คุณสมบัติของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

คุณสมบัติ	เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน
สูตรเคมี	$C_{42}H_{70}O_{35}H_2O$
น้ำหนักโมเลกุล	1135 ดาลตัน
ปริมาณกลูโคส	7
จุดหลอมเหลว	290-300 องศาเซลเซียส
ความลึกของโพรง	7.9 อังสตรอม
เส้นผ่านศูนย์กลางของโพรง	60-65 อังสตรอม

ที่มา: Stella (2020)

2.6.4 วิธีการเอนแคปซูเลชัน

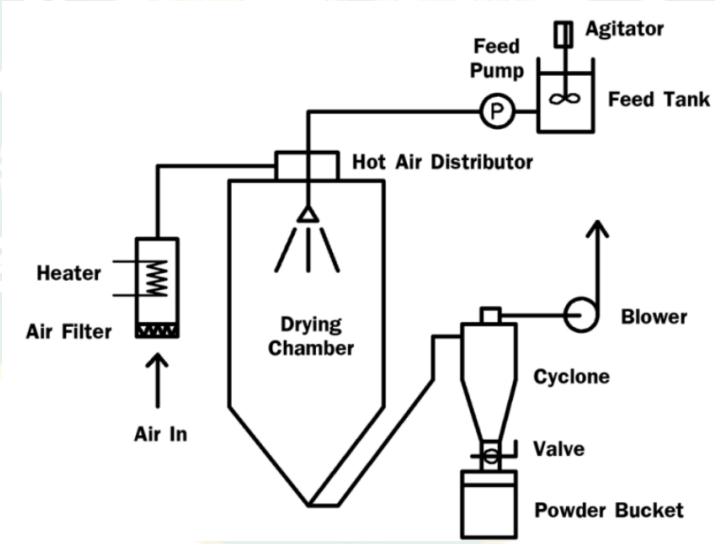
วิธีการเอนแคปซูเลชัน (encapsulation) เป็นการเคลือบผิวของสารที่ต้องการห่อหุ้มหรือสารสำคัญ (core material) ที่มีลักษณะเป็นของเหลว ของแข็ง และก๊าซให้อยู่ภายในแคปซูลซึ่งห่อหุ้มด้วยสารชนิดอื่นหรือสารห่อหุ้ม (wall material) โดยทำหน้าที่ในการเป็นเปลือกหุ้มช่วยควบคุมอัตราเร็วในการปลดปล่อยสารสำคัญออกมา นิยมนำมาใช้เพื่อป้องกันการสลายตัวของสารสำคัญ เมื่อถูกสภาวะสิ่งแวดล้อม เช่น ความร้อน ออกซิเจน แสง และค่า pH เป็นต้น ซึ่งจะนำมาเคลือบสารที่มีราคาแพง มีความไวต่อสภาพแวดล้อมหรือสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เช่น สารให้กลิ่นรส เอนไซม์ สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน และแร่ธาตุ เป็นต้น

เทคนิคที่ใช้ในการเอนแคปซูเลชันที่ใช้อย่างแพร่หลายในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่ เทคนิคการอบแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) และเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) สเปรย์ชิลลิง และคูลลิง (spray chilling and cooling) การเคลือบโดยใช้เทคนิคฟลูอิดไดส์เบด (fluidized bed coating)

การใช้ไลโปโซมในการหุ้ม (liposome entrapment) และเทคนิคการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) เป็นต้น (Ferreira *et al*., 2015) ซึ่งวิธีการเอนแคปซูเลชันที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือเทคนิคการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

2.6.4.1 การเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

เทคนิคการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying technique) เป็นเทคนิคการเอนแคปซูเลชันที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม เนื่องจากมีต้นทุนในการผลิตต่ำกว่าวิธีอื่น โดยมีขั้นตอนที่ประกอบไปด้วยการนำตัวกลางที่ใช้ในการเคลือบ เช่น สตาร์ชดัดแปร กัมอะราบิก และมอลโทเดกซ์ทริน เป็นต้น แล้วนำมาเอนแคปซูเลชัน โดยจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน โดย 1) การทำอิมัลชันระหว่างสารละลายของสารเคลือบกับสารแกน 2) การนำอิมัลชันเข้าสู่กระบวนการทำแห้งในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ภาพที่ 13)



ภาพที่ 13 ขั้นตอนการเอนแคปซูเลชันด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย
ที่มา: Sarabandi *et al.* (2020)

2.6.4.1.1 ขั้นตอนการเตรียมไมโครแคปซูลด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย

1) ตัวทำละออง

ตัวทำละออง (atomizer) เป็นการทำให้ของเหลวแตกตัวมีขนาดเล็ก และเป็นละอองฝอย เพื่อเพิ่มพื้นที่สัมผัสกับความร้อน โดยตัวทำละอองที่มักนิยมใช้ มีดังนี้

1.1) ตัวทำละอองแบบจานเหวี่ยง (rotary atomizer) โดยระบบจะส่งของเหลวไหลลงไปในจานหมุนใกล้กับจุดศูนย์กลาง ที่ระดับความเร็ว 5,000-10,000 รอบ/นาที โดยของเหลวที่ตกลงบนจานหมุนจะถูกเหวี่ยงออกด้านข้างทำให้เกิดเป็นละออง ซึ่งจะมีขนาดอนุภาค 30-120 ไมครอน

1.2) หัวฉีดแรงดันสูง (pressure nozzles) ซึ่งของเหลวจะไหลไปตามช่องของหัวฉีดที่ความดันสูง โดยของเหลวที่ออกมาจะเกิดจากหัวฉีดแล้วกระจายเป็นละอองฝอย มีอนุภาคเฉลี่ย 120-150 ไมครอน

1.3) หัวฉีดสองหัวพร้อมกัน (two-fluid nozzle atomizer) ของเหลว และอากาศจะไหลผ่านหัวพ่น ทำให้เกิดการแตกตัวเป็นละอองฝอย เพราะเกิดการไหลผ่านอากาศที่ความเร็วสูงภายในหัวพ่น วิธีนี้มักใช้กับของเหลวที่มีความหนืดสูง

2) การสัมผัสระหว่างหยดของเหลวและอากาศร้อน

การสัมผัสระหว่างหยดของเหลวและอากาศร้อน (spray-air contact stage) ในขั้นตอนนี้จะทำให้หยดของเหลวถูกสัมผัสด้วยความร้อน ซึ่งจะทำให้น้ำในของเหลวเกิดการระเหยออกโดยทิศทางของการเคลื่อนที่ของอากาศร้อนมีผลต่อการทำแห้ง การสัมผัสระหว่างความร้อนและหยดของเหลวสามารถแบ่งเป็น 3 แบบดังนี้

2.1) การไหลในทิศทางเดียวกัน (co-current flow) ซึ่งอาหารจะถูกพ่นออกในทิศทางเดียวกับอากาศร้อน มักเหมาะกับตัวอย่างของอาหารที่ไม่ทนต่อความร้อน เนื่องจากวิธีการนี้ทำให้เกิดการระเหยน้ำได้เร็ว

2.2) การไหลแบบสวนทางกัน (counter-current flow) ซึ่งตัวอย่างอาหารเหลวจะถูกพ่นสวนทางกับอากาศร้อน เริ่มจากหยุดของตัวอย่างอาหารที่มีอุณหภูมิต่ำ แล้วมีอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น จนอุณหภูมิของตัวอย่างเท่ากับอากาศร้อน ทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนอย่างมีประสิทธิภาพ วิธีการนี้เหมาะกับตัวอย่างอาหารที่มีความสามารถในการทนความร้อนสูงและอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิของอากาศร้อนที่ไหลออก

2.3) การไหลแบบผสมกัน (mixed flow) ตัวอย่างอาหารถูกอากาศร้อนในทิศทางที่ไหลไปในทางเดียวกันและสวนทางกัน

3) ช่วงการระเหย

ช่วงการระเหย (evaporation stage) จะอาศัยการถ่ายเทความร้อน และถ่ายเทมวลสาร โดยวิธีการนี้จะแตกต่างจากวิธีการทำแห้งแบบวิธีการอื่น การระเหยของน้ำจะเกิดในช่วงอัตราการทำแห้งคงที่เป็นส่วนมาก เนื่องจากอนุภาคของอาหารมีความชื้นสูง โดยตัวอย่างของอาหารจะทำให้มีอุณหภูมิที่สูงขึ้นจากการนำความร้อน และการพาความร้อนที่เกิดที่พื้นผิวของตัวอย่างอาหารให้อยู่ในรูปของความร้อนแฝงของการกลายเป็นไอ จากนั้นส่วนของไอน้ำจะถูกถ่ายมวลให้อากาศร้อน โดยการแพร่ (diffusion) และใช้การพาความร้อน (convection) ออกจากผิวหน้าของอนุภาค โดยอัตราในการระเหยจะขึ้นกับอุณหภูมิของอากาศร้อน ความดันไอ และความชื้นสัมพัทธ์ เป็นต้น

4) การแยกอาหารผงจากกระบวนการทำแห้ง

การแยกอาหารผงจากกระบวนการทำแห้ง (product recovery stage) เมื่อน้ำในอาหาร ถูกระเหยออกหมดอย่างสมบูรณ์ ผงของอาหารจะเกิดการตกลงในด้านล่างของถังทำแห้ง และจะมีการถูกดูดออกตามท่อลม ซึ่งผงของอาหารจะอาศัยแรงเหวี่ยงและการถ่ายเทโมเมนตัมเพื่อแยกออกจากอากาศร้อน (Edris *et al*., 2016; Mohammed *et al*., 2020)

ตารางที่ 8 ข้อดีและข้อเสียของการเอนแคปซูเลชันโดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ข้อดี	ข้อเสีย
1. เครื่องมือสามารถหาได้ง่ายเพราะมักใช้ทั่วไป 2. มีความสามารถในการป้องกันสารสำคัญได้ดีและสามารถใช้กับชนิดของสารเคลือบได้หลากหลาย 3. มีต่ำทุนในการผลิตที่ต่ำเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น ๆ	1. เป็นการใช้ความร้อนในการทำแห้งมักทำให้สูญเสียสารที่ให้กลิ่นรสที่มีจุดเดือดต่ำ 2. มีต่ำทุนในการผลิตที่ต่ำเมื่อเทียบกับวิธีการอื่น ๆ

ที่มา: Mohammed *et al*. (2020)

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระมีหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะมีกลไกในการดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain breaking) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยา อนุมูลอิสระ รวมถึงจับกับโลหะที่มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน (metal chelation) และยับยั้งการทำงานของปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) เป็นต้น แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ฟาโวนอยด์ แอนโทไซยานินท์ และแคโรทีนอยด์ ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) ที่เป็นส่วนประกอบของฟีนอลิก ได้แก่ 1) Butylated hydroxlanisole (BHA) นิยมเป็นสารกันหืนในอาหารจำพวกที่มีน้ำมันเป็นส่วนประกอบ และไขมัน 2) Propylene glycol (PG) เป็นสารต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันน้ำมันและเนย 3) Tertiary butyhydroquinone (TBHQ) ใช้เป็นสารกันหืนที่สามารถป้องกันจากปฏิกิริยาที่เกิดจากออกซิเดชันของลิพิด

2.7.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1) การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเชิงคุณภาพ การทดสอบหาสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่างซึ่งจะอาศัยหลักการเกิดตะกอน การเกิดสี การดูดซับและความสามารถในการละลาย โดยมีการวิเคราะห์ที่มักนิยมในการหาสารต้านอนุมูลอิสระดังนี้ การหาสารต้านอนุมูลอิสระด้วยเครื่องมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography; HPLC) การตรวจวัดด้วยโคมาโทกราฟี (chromatography) และการตรวจวัดปริมาณสารโพลีฟีนอล เช่น วิธี Pew test และวิธี Shinoda test เป็นต้น

2) การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเชิงปริมาณโดยวิธีที่นิยมในการวิเคราะห์ได้แก่ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) และกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน โดยจะมีการสร้างอนุมูลอิสระของตัวอย่างที่แน่นนอน โดยใช้หลักการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่เหลือจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงกับสารมาตรฐาน เช่น Trolox และ Ferrous sulfate ซึ่งหลักการดังนี้

2.1) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$

DPPH$^{\bullet}$ (2,2-Dipheny-1-pieryl-hydrozyl) เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรสูง นิยมใช้เป็นตัวชี้วัดในการต้านอนุมูลอิสระ สังเกตุจากการเปลี่ยนแปลงจากมีสีม่วงแดงสีจางลง เกิดจากการที่สารละลาย DPPH ทำปฏิกิริยากับสารละลายที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเมทานอล โดยให้ไฮโดรเจนแล้วเปลี่ยนอยู่ในรูปของสารรีดิวซ์ ทำให้เกิดสีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง (สมการที่ 1) โดยสามารถใช้ความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ 517 นาโนเมตร ข้อดีของวิธีการนี้คือสามารถทำการวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็ว ส่วนข้อเสียคือไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับการเกิดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย เนื่องจาก DPPH$^{\bullet}$ มีความเสถียรสูง ส่งผลทำให้ค่าการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่วัดได้มีปริมาณที่น้อยกว่าความเป็นจริงและต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ส่งผลทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอนและเมื่อมีการปนเปื้อนของโลหะจะส่งผลต่อสีของอนุมูลอิสระ DPPH จางลง (Shaikh *et al*., 2020)

DPPH (สีม่วงแดง) + สารต้านอนุมูลอิสระ $\longrightarrow$ DPPH-H (สีเหลือง) + A (สมการที่ 1)

2.2) กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$

ABTS (2,2'-Azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic)) เกิดจากการออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้เป็นอนุมูลอิสระ โดยถ้าสารละลายโปรตีนมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระจะทำให้เปลี่ยนสีของสารละลายที่มีสีน้ำเงินแกมเขียวที่จางลง (สมการที่ 2) สามารถใช้ความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ข้อดีของวิธีการนี้คือ ABTS$^{\bullet+}$ มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี สามารถเกิดปฏิกิริยากับ pH ในช่วงที่กว้างและเกิดปฏิกิริยาได้เร็วเนื่องจากเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ในส่วนของข้อเสียนั้น ABTS$^{\bullet+}$ ไม่พบในร่างกายและเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากไม่เป็นสารที่พบในธรรมชาติ รวมถึงมีการทำปฏิกิริยากับสารอื่นก่อน จึงจะสามารถเกิดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ (Monteiro *et al*., 2020)

$$ABTS^{\bullet+} + AH\ (\text{antioxidant}) \longrightarrow ABTS\ (\text{สีจางลง}) + A^{\bullet} \qquad \text{(สมการที่ 2)}$$

2.3) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP)

FRAP (ferric reducing antioxidant power) เป็นการวัดความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้ารอนุมูลอิสระที่มีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ ซึ่งจะมี 2,4,6-tri (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) และ fe^{3+} โดยถ้ามีสภาวะที่เป็นกรด Fe^{3+} ใน FRAP reagent จะเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระมาตราฐาน ทำให้เปลี่ยน Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} (สมการที่ 3) และมีสารประกอบเชิงซ้อนเกิดขึ้นกับ TPTZ โดยหลักการตรวจหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP วัดจากการเพิ่มขึ้นของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง TPTZ กับ Fe^{2+} โดยสามารถใช้ความยาวคลื่นในการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ข้อดีของวิธีการนี้คือมีวิธีการวิเคราะห์ที่ง่ายรวดเร็ว เมื่อทำการวิเคราะห์ซ้ำค่าที่ได้มักมีการเปลี่ยนแปลงน้อย ส่วนข้อเสียคือปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นเป็นปฏิกิริยาทางเคมีซึ่งไม่เกิดขึ้นในสภาวะของร่างกาย (Deepa *et al*., 2020; Sati *et al*., 2013)

$$Fe^{3+} + TPTZ + \text{สารแอนตี้ออกซิเดน} \longrightarrow Fe^{2+} + TPTZ \qquad \text{(สมการที่ 3)}$$

2.4) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน

กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Metal chelating activity) เป็นการวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ ในรูปของเฟอรัส (Fe^{2+}) โดยโลหะไอออนมีส่วนที่ทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาของสารอนุมูลอิสระ แล้วส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอากาศ เกิดเป็นสารอนุมูล Superoxide anion radical (O_2^-) ซึ่งสามารถทดสอบโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความ

ยาวคลื่น 562 นาโนเมตร จากการเติม Ferrozine แล้วไปจับกับ Fe^{2+} ในรูปของ Ferrozine - Fe^{2+} complex เมื่อสารที่ทดสอบมีความสามารถในการแย่งจับกับโลหะจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีแดงเข้ม ของ Antioxidant - Fe^{2+} complex เกิดความเข้มของสีที่จางลงของ Ferrozine - Fe^{2+} complex (Carrasco-Castilla *et al*., 2012; Dinis *et al*., 1994)

2.7.2 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากโปรตีนไอโซเลต

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากโปรตีนไอโซเลตในงานวิจัยของ Wongaem *et al*. (2021) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไอโซเลตที่สกัดจากเห็ดแครง (*Splitgill mushroom*) พบว่าโปรตีนที่มีมวลโมเลกุลมากกว่า 0.65 กิโลดาลตัน มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ที่ 2.62 ± 0.05 IC_{50} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ส่วน Angelini *et al*. (2020) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ด *Tricholosporum goniospermum* พบว่าค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ เท่ากับ 17.69 mg TE/g sample และค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเท่ากับ 20.54 mg TE/g sample Mudgil *et al*. (2019) และ Kimatu *et al*. (2017) ศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากโปรตีนจากไอโซเลตจากเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) พบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ สูงถึง 8.5 EC_{50} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกที่ 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน 0.1 EC_{50} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.8 เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป

เครื่องดื่มผงเป็นการลดปริมาณความชื้นของเครื่องดื่มที่ทำให้มีน้ำหนักที่เบา ทำให้ง่ายต่อการขนส่งการเก็บรักษาและการบริโภค ซึ่งสามารถชงด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็นได้ รวมถึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ยาวนานขึ้นเนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ได้มีปริมาณความชื้นที่น้อยทำให้เชื้อจุลินทรีย์ได้ยาก ซึ่งลักษณะเครื่องดื่มผงที่ดีควรจะมีการละลายน้ำได้ดี ไม่จับตัวกันเป็นก้อน มีความชื้นที่ต่ำกว่าร้อยละ 5 ส่วนข้อควรระวังในการทำแห้งของเครื่องดื่มผง ต้องระวังการใช้ความร้อนที่สูงเกินไป ในขั้นตอนการทำแห้ง ซึ่งจะส่งผลทำให้เกิดกลิ่นไหม้หรืออาจจะสูญเสียกลิ่นรสที่ระเหยได้ง่าย รวมถึงเกิดสีของผลิตภัณฑ์ที่ไม่เหมาะสม เช่น การเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ (caramelization) เป็นต้น

ประเภทของเครื่องดื่มผงแบ่งออกเป็น 3 แบบ ได้แก่ 1) เครื่องดื่มผงน้ำผลไม้แท้ เป็นการนำผลไม้มาสกัดโดยจากนั้นนำมาผ่านกระบวนการทำแห้ง ซึ่งการทำแห้งนั้นจะทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดรูพรุนส่งผลทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำได้ดีมากขึ้น รวมถึงยังส่งต่อการกลับคืนรูปเดิมได้ง่าย 2) เครื่องดื่มผงด้วยวิธีการเคลือบผิวน้ำตาล เป็นวิธีการเคลือบผิวน้ำตาลนั้นมักจะใช้กระบวนการทำแห้งแบบอบแห้งด้วยลมร้อน (cabinet tray drying) โดยจะทำการสกัดวัตถุดิบเพื่อให้ได้กลิ่นออกมาจาก

วิธีการกรอง โดยใช้การสกัดด้วยตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลา เพื่อให้ได้สีกลิ่น และรสชาติที่ดีที่สุด 3) เครื่องดื่มผงดัดแปลง เป็นการเติมสารให้กลิ่นรสจากสารสังเคราะห์ หรือสารสกัดจากธรรมชาติเป็นส่วนผสมของเครื่องดื่ม มักนิยมเติมน้ำตาล แป้งและนมผงเป็นส่วนผสมด้วยเพื่อเพิ่มร้อยละของผลผลิต องค์ประกอบที่ดีของเครื่องดื่มผง ประกอบด้วยคุณภาพของวัตถุดิบ ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มผงนั้นจะต้องมีคุณภาพที่ดี ไม่มีตำหนิ รวมถึงมีสี กลิ่นและรสชาติที่ดี ไม่มีกลิ่นที่แปลกไปจากธรรมชาติ ส่วนผสมที่เติมลงไปอาจจะเป็นสารที่ช่วยปรับปรุงคุณภาพ รวมถึงสารที่ช่วยทำให้โครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์มีความเหมาะสม โครงสร้างของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการอบแห้งต้องมีรูพรุนเพื่อจะทำให้เกิดการกลับคืนรูปได้เร็ว และมีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี โดยลักษณะของเครื่องดื่มผงที่ดีควรละลายน้ำได้ภายใน 1-2 นาที เป็นต้น

2.9 ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ

ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ (*Oryza sativa* L.) เป็นพันธุ์ข้าวที่มีการพัฒนาขึ้นใหม่โดยมีลักษณะของเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีม่วง เกิดจากการปรับปรุงขึ้นมาจากข้าวเจ้าสีดำที่มีกลิ่นหอมจากใบเตย มีลักษณะของต้นเตี้ยทนต่อการหักล้ม ทรงกอแบะ ความสูงของต้น 88.1 เซนติเมตร ใบสีเขียวอ่อน กาบใบสีเขียวลายใบตั้งตรง ยาว 45.11 เซนติเมตร กว้าง 1.14 เซนจติเมตร ไม่ไว้ต่อแสง สามารถปลูกได้ตลอดทั้ง (ภาพที่ 14) มีถิ่นกำเนิดจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ประเทศไทย ซึ่งข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ มีลักษณะคุณค่าทางโภชนาการใกล้เคียงกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี รวมถึงยังมีฤทธิ์ทางชีวภาพช่วยป้องกันการอักเสบ (Thiranusornkij *et al*., 2019) มักจะมีการปลูกข้าวกล้องในภาคเหนือ ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการให้ผลผลิตจะอยู่ในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนธันวาคมหรือในช่วงฤดูฝน จำนวนวันออกดอก 104 วัน มีจำนวนรวงต่อกอ 19 รวง อายุในการเก็บเกี่ยว 134 วัน ซึ่งติดเมล็ดง่าย มีปริมาณอะมิโลสต่ำร้อยละ 13.83 อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ ค่าการสลายเมล็ดในด่าง (1.7% KOH) เท่ากับ 7.0 อัตราการยืดตัวของข้าวสุก 1.64 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ประกอบด้วยวิตามินอี แทนนิน โพเลต รวมถึงมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง เช่น เบต้า-แคโรทีน แกมมาโอไรซานอลซึ่งสารเหล่านี้ส่งผลดีต่อสุขภาพ เช่น บำรุงสายตา ช่วยลดการอักเสบ ป้องกันการเกิดโรคความจำเสื่อม ช่วยลดคอเลสเตอรอล ชะลอความแก่ ลดการเสี่ยงเป็นโรคมะเร็ง เบาหวาน น้ำตาลในเลือดสูง และความดันโลหิตสูง เป็นต้น นอกจากนี้ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ยังอุดมไปด้วยสารอาหารมากมาย (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ปริมาณสารอาหารของข้าวกล้อง และคุณประโยชน์ต่อร่างกาย

ชนิดของสารอาหาร	ปริมาณ	ประโยชน์ต่อร่างกาย
แทนนิน	89.33 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	แกโรคท้องร่วง อาการบิด
วิตามินบี 1	0.42 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ระบบย่อยอาหาร และโรคเหน็บชา
โพลิฟีนอล	113.5 (มิลลิกรัม/กิโลกรัม)	ป้องกันโรคมะเร็ง
เบต้า-แคโรทีน	63 (ไมโครกรัม/100 กรัม)	ชะลอความแก่ บำรุงสายตา และป้องกันโรคมะเร็ง
แกมมา ไอโรซานอล	462 (ไมโครกรัม/100 กรัม)	ช่วยในการขับถ่าย เนื่องจากมีปริมาณใยอาหารสูง

ที่มา: Leardkamolkarn *et al*. (2011)

(ก) (ข)

ภาพที่ 14 ลักษณะของต้นข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ (ก) เมล็ดข้าวก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ (ข)
ที่มา: https://www.doa.go.th/pvp/wp-content

2.9.1 กระบวนการเพาะข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) เกิดจากการนำข้าวกล้องหรือข้าวที่ไม่ผ่านกระบวนการขัดขาวที่ยังคงมีเยื้อหุ้มชั้นนอกและมีจมูกข้าวหรือคัพคะอยู่ (rice germ) โดยข้าวกล้องหรือข้าวไม่ผ่านการขัดสีจะมีรงควัตถุปนอยู่เป็นจำนวนมากจึงส่งผลต่อสีของเมล็ดข้าว ได้แก่ สีม่วง สีน้ำตาลแดง และสีดำ เป็นต้น (Zhang *et al*., 2022) ซึ่งนำข้าวกล้องมาแช่น้ำเป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จากนั้นเทน้ำออกแล้วนำไปบ่มโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 30-40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-12 ชั่วโมง จนข้าวกล้องงอกออกมาตรงจมูกข้าวที่มีความยาว 0.5-1.0 มิลลิเมตร (Komatsuzaki *et al*.,

2007) ในกระบวนการงอกของข้าวนั้นจะทำให้เกิดคุณค่าทางโภชนาการที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งทำให้เกิดสารสำคัญได้แก่ สารกาบา (Castanho *et al*., 2023)

สารกาบาหรือแกมม่าอะมิโนบิวทิเรต (Gamma-Aminobutyric acid; GABA) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่เป็นองค์ประกอบของโปรตีน (non protein amino acid) ที่ผลิตจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชั่น (decarboxylation) ของกรดกลูตาเมตคาร์บอกซิเลส (glutamate decarboxylase) โดยเปลี่ยนวิตามินบีหกที่อยู่ในรูปของไพริดอกซอลฟอสเฟต (pyridoxal phosphate) เป็นโคแฟคเตอร์ มีบทบาทที่สำคัญเป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ภายในระบบประสาทส่วนกลางประเภทสารยับยั้งเพื่อรักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์ ลดความดันโลหิต รวมถึงยังช่วยทำให้สมองเกิดความผ่อนคลายสามารถช่วยในการนอนหลับให้สบายขึ้น (Akama *et al*., 2020; Wu *et al*., 2023)

ภาพที่ 15 ลักษณะของเมล็ดข้าวกล้องงอก
ที่มา: ดัดแปลงจาก Wang *et al*. (2010)

2.9.1.1 การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพในกระบวนการงอกของข้าว

การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพในกระบวนการงอกของข้าวเกิดขึ้นเมื่อเมล็ดข้าวได้รับน้ำเข้าไปในเซลล์ทำให้ส่งผลต่อการกระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ ภายในเซลล์เริ่มทำงาน ซึ่งจะสังเคราะห์สารที่จำเป็นในการทำงานของเซลล์รวมถึงกระบวนการย่อยสลาย กระบวนการลำเลียงสารอาหารของเซลล์ เพื่อทำให้เอมบริโอสามารถเจริญเป็นต้นกล้าได้ โดยมีกระบวนการดังต่อไปนี้

1. กระบวนการสังเคราะห์สารที่จำเป็นในการทำงานของเซลล์ ซึ่งกระบวนการสร้างโปรตีนจะเกี่ยวกับเอนไซม์ที่ได้มาจาก 2 แหล่ง คือ 1) เอนไซม์ที่สร้างขึ้นเมล็ดข้าวกำลังเจริญโดยน้ำจะเป็นตัวกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส (amylase) และเอนไซม์กลูโคซิเดส (glucosidase) 2) การสังเคราะห์ที่เกิดขึ้นใหม่โดยผ่านการควบคุมของกรดนิวคลิอิก (nucleic acid) ที่เซลล์อะลิวโรน

(aleulone) ของเมล็ดข้าว ซึ่งจะสังเคราะห์เอนไซม์อะไมเลส (amylase) โรโบนิวคลิเอส (ribonuclease) โปรทิเอส (protease) และไลเปส (lipase) โดยพลังงานที่ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีนของเมล็ดข้าวเกิดจาก เอทีพี (ATP) ผลิตโดยไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ที่ถูกกระตุ้นเมื่อเมล็ดข้าวได้รับน้ำเข้ามาในเมล็ด

2. กระบวนการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดข้าว สารอาหารส่วนใหญ่ของเมล็ดข้าว คือคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันเป็นหลัก ซึ่งจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่สร้างขึ้น โดยคาร์โบไฮเดรตถูกเอนไซม์ไฮโดรเลส (hydrolase) ได้แก่เอนไซม์อะไมเลสและฟอสฟอริเลส (phosphorylase) เปลี่ยนน้ำตาลให้สามารถละลายได้ทำให้ข้าวกล้องงอกมีรสหวาน ส่วนโปรตีนถูกย่อยด้วยเอนไซม์โปรทิเอส (protease) โดยสร้างในขั้นตอนการงอกของเมล็ดทำให้ได้กรดอะมิโนหลายชนิด ได้แก่ กรดแกมมาอะโนบิวทิริก (gamma amino butyric acid) หรือกาบา (GABA) และไขมันจะถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ไลเปส ทำให้ได้กรดไขมันและกลีซอลรอล (Lee *et al*., 2022)

ในการสลายตัวของโมเลกุลของพลลิเมอร์ขนาดใหญ่ในเมล็ดข้าวทำให้เกิดสารชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ วิตามินอี สารประกอบฟินอลิกที่มีคุณสมบัติช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดได้ รวมถึงมีแร่ธาตุต่าง ๆ เช่น ทองแดง แมกนีเซียม โคบอล และสังกะสี เป็นต้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของข้าวกล้องให้มีเนื้อสัมผัสที่นุ่นขึ้น รวมถึงสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ เช่น โรคมะเร็งโดยในข้าวกล้องงอกมีใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เฮมิโลส ลิกนิน เซลลูโลส ทำให้ร่างกายไม่สามารถย่อยได้จึงสามารถดูดซับสารก่อมะเร็ง (carcinogen) ที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสมและสามารถป้องกันโรคเบาหวานได้ เนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำจึงสามารถป้องกันการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่เส้นเลือดได้ (Chungcharoen *et al*., 2023; Jabeen et al., 2023)

2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Yu *et al*. (2021) ได้ทำการสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris Minfu20*) และศึกษาคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ รวมถึงคุณสมบัติเชิงโครงสร้างของโปรตีน (อัลบูมิน โกลบูลินและกูลเตลิน) ที่สกัดด้วยน้ำเกลือ และสารละลายอัลคาไลน์ตามลำดับ โดยพบว่าโปรตีนชนิดกลูเตลินมีร้อยละ 43.11 อัลบูมินร้อยละ 36.47 และโกลบูลินร้อยละ 17.94 ซึ่งโปรตีนชนิดอัลบูมิน และโกลบูลินมีความสามารถในการละลายน้ำสูง จึงส่งผลทำให้มีคุณสมบัติทำให้เกิดฟองสูงตามและยังมีคุณสมบัติการเป็นอิมัลชันที่ดี เหมาะสำหรับนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น เค้ก ไส้กรอกที่ทดแทนเนื้อสัตว์ และเครื่องดื่ม เป็นต้น นอกจากนี้ Dong *et al*. (2020) ทำการสกัดโปรตีนไฮโดรไลซิสจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเอนไซม์โปรตีเอส เพื่อเพิ่มความสามารถในการละลาย และ

คุณภาพทางเคมี-กายภาพของซุปไก่ผสมเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งพบว่าเมื่อซุปไก่ผสมเห็ดถั่งเช่าสีทอง เมื่อสกัดด้วยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ ทำให้ปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมด และกรดอะมิโนจำเป็น เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และทำให้ค่าความสามารถในการละลายของซุปไก่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ดีขึ้นตาม ขณะที่ Bai and Sheu (2018) ศึกษาการแยกโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีน้ำหนักโมเลกุล 18 กิโลดาลตัน โดยโปรตีนที่แยกได้มีความสามารถช่วยในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับได้ ซึ่งแปรผันตรงกับปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนที่เพิ่มขึ้น

Tehrani *et al*. (2012) ได้สกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) ด้วยสารละลาย Tris-base บัฟเฟอร์ที่มีโซเดียมคลอไรด์อยู่ด้วย pH 7.3 แล้วตกตะกอนโปรตีนด้วยสารละลาย $(NH_4)_2SO_4$ ที่ความอิ่มตัวร้อยละ 70 หรืออะซีโตน (เย็น) ร้อยละ 80 ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์โครมาโตกราฟีเจลฟิวเตรชัน และการแลกเปลี่ยนประจุไอออน พบว่าได้โปรตีนบริสุทธิ์ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ทั้งชนิดที่ดื้อยาและไม่ดื้อยาเมทิซิลิน นอกจากนี้ Park *et al*. (2009) สกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเอนไซม์โปรตีเอส ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH ให้เท่ากับ 7.0-9.0 โดยสารสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีมวลโมเลกุล 12 กิโลดาลตัน พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านเชื้อรารวมถึงยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งเต้านม และมะเร็งปากมดลูกของมนุษย์ ส่วน Barido and Lee (2021) ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของอกไก่ที่นุ่มขึ้น โดยนำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 100 กรัม นำมาสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 85 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 2,000 รอบ/นาที เวลา 20 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสมาเติมลงในอกไก่ที่ปริมาตรร้อยละ 4 เป็นระยะเวลา 4 วัน โดยทำการเปรียบเทียบกับเอนไซม์ทางการค้า (เอนไซม์ปาเปน) ที่ความเข้มข้น 0.2 กรัม/มิลลิลิตร ซึ่งพบว่าการใช้เอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับเอนไซม์ทางการค้า โดยมีค่าแรงเฉือนที่ 2.29 กิโลกรัม และค่าดัชนีความนุ่มของเนื้อที่ร้อยละ 83.11 González *et al*. (2021) ได้ศึกษาการสกัดโปรตีนเข้มข้นจากเห็ดหูหนู (*pleurotus ostreatus*) โดยการปรับค่า pH เข้าสู่ค่า pI พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ได้ มีปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 78 มีน้ำหนักโมเลกุลที่ 12-35 กิโลดาลตัน และมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง มีรายงานว่า Vuong Hoai *et al*. (2020) ศึกษาเกี่ยวกับเครื่องดื่มจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยเปรียบเทียบการสกัดด้วยน้ำ สกัดด้วยเอนไซม์แอลคาเลต และสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก พบว่าการใช้เอนไซม์แอลคาเลตร่วมกับคลื่นอัลตราโซนิกที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 120 นาที ส่งผลให้เครื่องดื่มจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีปริมาณอะดีโนซีนสูงถึง 2.852 มิลลิกรัม/กรัม เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำมีปริมาณอะดีโนซีนสูงกว่า 6.8 เท่า และมี

ปริมาณอะดีโนซีนสูงกว่าการสกัดด้วยเอนไซม์ 1.3 เท่า รวมถึงยังมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ปริมาณ 357.84 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งเซลล์มะเร็งได้ ส่วน Luo *et al*. (2020) ทดลองผลิตเครื่องดื่มผงจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยมีส่วนผสมดังนี้ ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองบดละเอียดร้อยละ 0.1 นมผงร้อยละ 1.5 ผงมะพร้าวร้อยละ 0.5 น้ำตาลทรายร้อยละ 2 คาราจีแนนร้อยละ 0.013 และโมโนกลีเซอรอลร้อยละ 0.1 ก่อนนำมาทำให้เป็นผงด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้า 170 องศาเซลเซียส พบว่าเครื่องดื่มผงจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง มีสีเหลืองอ่อน มีลักษณะของผงที่ละเอียด อนุภาคเท่ากัน โดยได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงถึง 93 คะแนน รวมถึงมีปริมาณคอร์ไดซิปิน และอะดีโนซีนที่ 1.13 และ 0.35 มิลิกรัม/กรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับ Nguyen (2022) ได้ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยการสกัดโปรตีนไอโซเลตเห็ดถั่งเช่าสีทองก่อนโดยวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอล จากนั้นนำมาผสมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่ระดับ DE เท่ากับ 12 ร้อยละ 40 แล้วทำแห้งโดยเทคนิคการทำแห้งด้วยตู้อบแห้งแบบถาด (tray drier) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ซึ่งจะได้เครื่องดื่มผงเห็ดถั่งเช่าที่มีลักษณะเป็นผงละเอียด ไม่จับตัวเป็นก้อน มีรสชาติหวานปนรสขมเล็กน้อย โดยมีความชื้นที่ร้อยละ 1.71 มีความสามารถในการละลายร้อยละ 94.84 และมีปริมาณสารคอร์ไดซิปิน 97.27 มิลลิกรัม/กรัม และ Lao *et al*. (2020) ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ร่วมกันเพื่อผลิตเครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลซิสจากเห็ดถั่งเช่าสีทองหมัก ซึ่งทำการบดผงเห็ดถั่งเช่าสีทองแล้วนำมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:10 ปรับ pH ให้เท่ากับ 4.8 แล้วเติมเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์เพคติเนสในอัตราส่วน 2:3 จากนั้นนำมาบ่มที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปหมักด้วยการเติมเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ระดับความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเติมยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำไปเซนทริฟิวจ์เพื่อเก็บสารละลายส่วนใส ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลซิสจากเห็ดถั่งเช่าสีทองหมัก มีปริมาณสารคอร์ไดซิปินร้อยละ 98.02 และได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงสุดที่ 82.56 คะแนน จึงทำให้สามารถสรุปได้ว่าโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นแหล่งโปรตีนชนิดใหม่ที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางชีวภาพ และทางการแพทย์ที่หลากหลายมากขึ้น

บทที่ 3
วิธีการดำเนินวิจัย

วัตถุดิบ

1. เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) อายุ 47-55 วัน ขนาดกว้าง 0.5-0.8 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร
2. ข้าวเจ้ากำหอมแม่โจ้ 1 เอ จากหน่วยความเป็นเลิศทางวิจัยและพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

วัสดุอุปกรณ์

1. Dialysis bag (10,000 MWCO, D9277-100FT, Sigma-Aldrich, U.S.A.)
2. Hand refractometer (N-1E, Atago, Japan)
3. Salinity refractometer (RHSN-10ATC, Atago, Japan)
4. Thimble (Whatman Cellulose Extraction 26 × 60 mm., England)
5. โถดูดความชื้น (GL32, Glaswerk Wertheim, Germany)
6. ไมโครปิเปต (Gilson, U.S.A.)
7. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 (Whatman International Ltd., Maidstone U.S.A.)
8. กระป๋องอลูมิเนียม (NANA-209691, MD ProSupply, Thailand)
9. กระปุกเซนตริฟิวจ์ (NUNC, Thermo Scientific339653, U.S.A.)
10. ตะแกรงร่อนขนาด 60 เมช (5657 HAAN W., Retsch, Germany)

เครื่องมือวิทยาศาสตร์

1. กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (JSM-5410LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan)
2. เครื่อง Brookfield viscometer (DV2T Viscometer, Brookfield Amptek, USA)
3. เครื่อง Differential scanning calorimeter (SII Nano Technology Inc., Japan)
4. เครื่อง Fourier transform infrared spectrometer (Bruker, Ettlingen, Germany)
5. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (Agilent Technologies, Germany)

6. เครื่อง Mini-PROTEAN Tetra Cell (BioRad Laboratories, Inc., Richmond, CA., U.S.A)
7. เครื่อง X-ray Diffractometer (PHILIPS, Eindhoven, the Netherlands; XRD)
8. เครื่องกวนสารแบบใบกวน (IKA-Labortechnik, Germany)
9. เครื่องเขย่าตะแกรงร่อน (Retsch, Germany)
10. เครื่องเขย่าสาร (Vortex-Genie 2, Scientific industries, U.S.A.)
11. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (FEP 20, Five Easy Plus, Switzerland)
12. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (LA2035, Sartorius, Germany)
13. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (GL3202i, Sartorius, Germany)
14. เครื่องฟรีซดราย (DW8, Heto Power Dry, Denmark)
15. เครื่องบดความเร็วสูง (DW8, Spring Green Evolution, China)
16. เครื่องเซนตริฟิวจ์ (Centrifuge 5910 R, Eppendor, Germany)
17. เครื่องวัดค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ Water Activity; a_w (series 3 TE, AQUA LAB, U.S.A.)
18. เครื่องวัดค่าสี (Color Flex EZ, Hunter Lab, U.S.A)
19. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (sohxlet apparatus) (Tecator Soxtex, Sweden)
20. เครื่องวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeltec, FOSS, Denmark)
21. เครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโน (L-8900, Hitachi amino acid analyzer, U.S.A.)
22. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (VIS-732G, Rayleigh, China)
23. เครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Ultra-Turrax T25, IKA-Labortechnik, Germany)
24. ตู้แช่เยือกแข็ง (SF-PC997, Panasonic, Thailand)
25. ตู้อบลมร้อน (SD-P9000/SD-S9000, Tribest, U.S.A)
26. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (wnb 22, Memmert, Germany)
27. อ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ (ONE, Memmert, Germany)

สารเคมี

1. 2, 2′-Azino-bis (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
2. 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
3. Aluminum chloride (Sigma-Aldrich, Steinheim, U.S.A.)
4. Ammonium sulfate (GRCI Labscan, Thailand)

5. Boric acid (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
6. Bromothymol blue (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
7. Copper sulfate (A.R. Grade, Quality Reagent Chemical, New Zealand)
8. Enzyme alkaline protease (Reach Biotechnology, Thailand)
9. Ethanol (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
10. Ferric chloride (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)
11. Ferrous sulfate (A.R. Grade, Ajax, Australia)
12. Ferrozine (Sigma-Aldrich, Switzerland)
13. Gallic acid monohydrate (Sigma-Aldrich, Steinheim, U.S.A.)
14. Glycerol (A.R. Grade, Quality Reagent Chemical, New Zealand)
15. Hexane (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
16. Hydrochloric acid (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
17. Methanol (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
18. Methyl red (Quality Reagent Chemical, New Zealand)
19. Nitro blue tetrazolium (Sigma-Aldrich, Steinheim, U.S.A.)
20. *p*-Coumaric acid (merck, Germany)
21. Phenazine methosulphate (PMS) (Sigma-Aldrich, Steinheim, U.S.A)
22. Quercetin (Sigma-Aldrich, Steinheim, U.S.A.)
23. Sodium hydroxide (A.R. Grade, RCI Labscan, Thailand)
24. Sodium Lauryl Sulphate (KemAus, Australia)
25. Tris Base (BP152-500, Fisher BioReagents, U.S.A.)
26. *Beta*-nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) (Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany)

ตอนที่ 1 ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณลักษณะ และสมบัติของการสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.1 การเตรียมผงเห็ดถั่งเช่าสีทองก่อนการสกัด

เห็ดถั่งเช่าสีทองขนาดกว้าง 0.5-0.8 เซนติเมตร ยาว 8-10 เซนติเมตร ที่ผ่านกระบวนการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื้อ อายุประมาณ 47-55 วัน ถูกเก็บเกี่ยวออกมาจากห้องปฏิบัติการของ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ ขนส่งมาที่ห้องปฏิบัติการแปรรูปผักและผลไม้ ของสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและ

อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ภายในระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที จากนั้นนำมาล้างน้ำให้สะอาดก่อนจึงนำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (UN55, Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง จะได้เห็ดถั่งเช่าสีทองแห้ง นำไปบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดความเร็วสูง (PG300, Spring Green Evolution, China) แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงมาตรฐานขนาด 60 เมช (mesh) จะได้ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้มาบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ ขนาดบรรจุถุงละ 100 กรัม นำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็ง (SF-PC997, Panasonic, Thailand) ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและสกัดโปรตีนไอโซเลตต่อไป

1.1.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เตรียมจากข้อ 1.1 โดยวิเคราะห์ปริมาณร้อยละความชื้น (moisture) เถ้า (Ash) โปรตีน (protein) และไขมัน (fat) ตามวิธีของ AOAC วิธีการที่ 927.05 942.05 920.38 และ 984.13 ตามลำดับ AOAC (2000) การคำนวณหาปริมาณโปรตีนโดยใช้ค่า Factor เท่ากับ 6.25 (Sharma *et al*,. 2018) ส่วนการหาปริมาณร้อยละคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) คำนวณโดยนำผลรวมของค่าร้อยละปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน มาหักลบดังสมการที่ 4 ดังนี้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (%) = 100 - (%ความชื้น + %เถ้า + %โปรตีน + %ไขมัน) (สมการที่ 4)

1.2 ศึกษาผลของวิธีการสกัดที่แตกต่างกันต่อคุณลักษณะ และคุณสมบัติของโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.2.1 การตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต

สกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) โดยดัดแปลงตามวิธีของ Zhang *et al*. (2017) นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองมาผสมกับสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 9) ในอัตราส่วน 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Ultra-Turrax T25, IKA-Labortechnik, , Germany) ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกวนสกัดตัวอย่างด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวน (overheat stirrer) (IKA-Labortechnik, Germany) ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ (Centrifuge 5910, Eppendor, Germany) ด้วยความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนเก็บสารละลายส่วนใสที่ลอยเหนือตะกอน (supernatant) มาเติมเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เข้มข้น

อิ่มตัวร้อยละ 80 โดยควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำไปกวนผสมด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนที่ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนโปรตีน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์อีกครั้งด้วยความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนที่ตกตะกอน (pellet) มาปรับ pH ให้เท่ากับ 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ นำมากำจัดเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ยังหลงเหลืออยู่ออกโดยใช้วิธีไดอะไลซิส (dialysis) ด้วยถุงไดอะไลซิส (dialysis bag) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (เปลี่ยนน้ำทุก 4 ชั่วโมง) จนไม่มีเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ หลงเหลืออยู่โดยวัดปริมาณเกลือด้วย Salinity refractometer (RHSN-10ATC, Atago, Japan) ภายหลังกระบวนการไดอะไลซิส นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาบรรจุลงถุงโพลีเอทิลีน (polyethylene; PE) จากนั้นนำไปแช่เยือกแข็งที่ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องฟรีซดราย (DW8, Heto Power Dry, Denmark) จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตเห็ดถั่งเช่าสีทองจากกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงมาตรฐานขนาด 60 เมช (mesh) จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้มาบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ ขนาดบรรจุถุงละ 100 กรัม นำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ต่อไป

1.2.2 การตกตะกอนด้วยเอทานอล

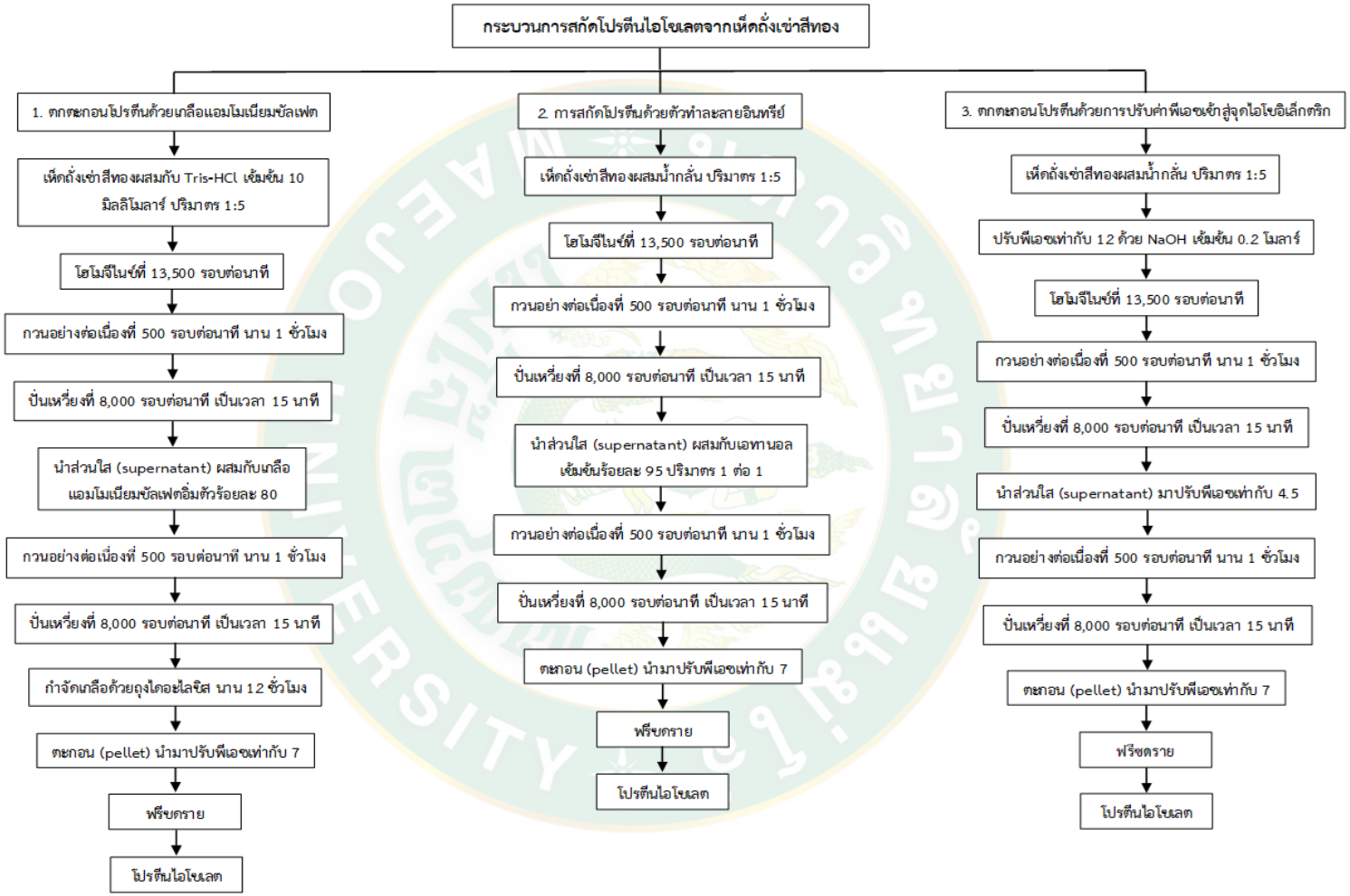
การสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเอทานอล ดัดแปลงตามวิธีของ Grossmann *et al*. (2018) นำผงเห็ดถังเช่าสีทองผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนปริมาตร 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) โฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เวลา 2 นาที กวนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนโดยใช้ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เวลา 15 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เก็บสารละลายส่วนใสที่ลอยเหนือตะกอนมาผสมกับตัวทำละลายเอทานอล (C_2H_6O) เข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) ในอัตราส่วน 1:1 กวนอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนด้วยความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์อีกครั้ง โดยใช้ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้เวลาปั่นเหวี่ยง 15 นาที เก็บส่วนที่ตกตะกอน (pellet) มาปรับ pH ให้เท่ากับ 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และนำมาไดอะไลซิสด้วยถุงไดอะไลซิสที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (เปลี่ยนน้ำทุก 4 ชั่วโมง) ภายหลังกระบวนการไดอะไลซิสนำสารละลายโปรตีนที่ได้มาบรรจุลงถุงโพลีเอทิลีน (polyethylene; PE) จากนั้นนำไปแช่เยือกแข็งที่ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องฟรีซดราย (DW8, Heto

Power Dry, Denmark) จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตเห็ดถั่งเช่าสีทองจากกระบวนการตกตะกอนด้วยเอทานอลจากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงมาตรฐานขนาด 60 เมช (mesh) จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้มาบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ ขนาดบรรจุถุงละ 100 กรัม นำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ต่อไป

1.2.3 การตกตะกอนด้วยการปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กทริก

สกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยการตกตะกอนด้วยการปรับค่าพีเอช (pH) เข้าสู่จุดไอโซอิเล็กตริก (pI) ซึ่งดัดแปลงตามวิธีของ Kudre *et al*. (2013) นำผงเห็ดถังเช่าสีทองผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปรับ pH ของตัวอย่างให้เท่ากับ 9 ด้วยโซเดียมไฮดรอไซด์ (NaOH) เข้มข้น 0.2 โมลาร์ นำมาโฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ใช้ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นกวนด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนด้วยความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ด้วยความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เวลา 15 นาที เก็บสารละลายส่วนใสที่ลอยเหนือตะกอนมาปรับ pH ให้เท่ากับ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กวนตัวอย่างด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนที่ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์อีกครั้ง โดยใช้ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 15 นาที จากนั้นนำตะกอนที่ได้ไปละลายกับน้ำกลั่นเล็กน้อยแล้วนำมาปรับ pH ให้เท่ากับ 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 โมลาร์ และนำมาไดอะไลซิสด้วยถุงไดอะไลซิสที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (เปลี่ยนน้ำทุก 4 ชั่วโมง) ภายหลังกระบวนการไดอะไลซิส นำสารละลายโปรตีนที่ได้มาบรรจุลงถุงโพลีเอทิลีนจากนั้นนำไปแช่เยือกแข็งที่ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยเครื่องฟรีซดราย จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตเห็ดถั่งเช่าสีทองจากกระบวนการตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงมาตรฐานขนาด 60 เมช (mesh) จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้มาบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ ขนาดบรรจุถุงละ 100 กรัม นำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์คุณสมบัติต่าง ๆ ต่อไป

โปรตีนไอโซเลตจากถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ 3 วิธี ได้แก่ การตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ การตกตะกอนด้วยเอทานอล และการตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI จะถูกนำมาวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ-เคมี สมบัติทางหน้าที่ กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติเชิงโครงสร้างต่อไป



ภาพที่ 16 กระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1.3 การศึกษาคุณลักษณะของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ

1.3.1 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ.

1.3.1.1 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพ (physical appearance) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยกระบวนการต่าง ๆ ทั้ง 3 วิธี โดยการถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล (X-A3, Fujifilm, Tokyo)

1.3.1.2 การวิเคราะห์ร้อยละผลผลิต

การคำนวณร้อยละผลผลิต (% yield) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี โดยนำมาเปรียบเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งจากสมการที่ 5 ดังนี้

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{น้ำหนักของโปรตีนไอโซเลต (กรัม)}}{\text{น้ำหนักผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง (กรัม)}} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 5)}$$

1.3.1.3 การวิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสี (color values) ของตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองจากกระบวนการต่าง ๆ 3 วิธี ด้วยเครื่องวัดค่าสี (Color Flex EZ, Hunter Lab, U.S.A) ในระบบ CIE ซึ่งทำการวิเคราะห์ค่า L^* value (ค่าความสว่าง) a^* value (ค่าสีแดงหรือสีเขียว) b^* value (ค่าสีเหลือง-สีน้ำเงิน) และวิเคราะห์ค่า ΔE^* (ความต่างของสี) โดยการคำนวณจากสมการที่ 6 ดังนี้

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \qquad \text{(สมการที่ 6)}$$

โดย ΔL^* Δa^* และ Δb^* คือความต่างระหว่างพารามิเตอร์สีของตัวอย่างและพารามิเตอร์สีของStandard ของค่าความเป็นสีขาว โดยค่า L^* เท่ากับ 93.59 ค่า a^* เท่ากับ -0.98 และ ค่า b^* เท่ากับ 0.35 กำหนดให้เป็น Background

1.3.1.4 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 3 วิธี มาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity; a_w) ด้วยเครื่องวัดค่าปริมาณกิจกรรมของน้ำอิสระ

(Series 3 TE, Aqua LAB, U.S.A) โดยใช้ตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ลงในเซลล์ของเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระก่อนวิเคราะห์ค่า a_W ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

1.3.2 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี

1.3.2.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ตามวิธีการของ AOAC (2000) ได้แก่ ร้อยละปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้า ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต วิเคราะห์ตาม ข้อ 1.1.1

1.3.2.2 องค์ประกอบของกรดอะมิโน

วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโน (amino acid composition) ของตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ 3 วิธี ตามวิธีการ AOAC (2000) วิธีการที่ 994.12 โดยนำตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตมาไฮโดรไลซ์ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ ในอ่างน้ำมันควบคุมอุณหภูมิ (oil bath) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบของอะมิโนด้วยเครื่องวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดอะมิโน (L-8900, Hitachi amino acid analyzer) รายงานผลในหน่วย กรัม/100 กรัมตัวอย่าง

1.3.4 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

1.3.4.1 การวิเคราะห์ค่าความสามารถในการละลาย

วิเคราะห์ค่าความสามารถในการละลาย (protein solubility; PS) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยดัดแปลงวิธีของ Malomo *et al*. (2014) นำผงโปรตีนไอโซเลตจาก เห็ดถั่งเช่าสีทอง 2 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาปรับค่า pH ต่าง ๆ ได้แก่ 2 4 6 8 10 และ 12 แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์โดยใช้ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่แยกได้มาคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของโปรตีนด้วยวิธีของไบยูเรต Robinson and Hogden (1940) ซึ่งคำนวณหาความสามารถใน การละลายจากสมการที่ 7 ดังนี้

$$\%PS = \frac{W_1}{W_0} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 8)}$$

เมื่อ W_0 = ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายหลังปั่นเหวี่ยง (มิลลิกรัม/กรัม)

W_1 = ความเข้มข้นของโปรตีนในสารละลายเริ่มต้น (มิลลิกรัม/กรัม)

1.3.4.2 การวิเคราะห์ค่าสมบัติของโฟม

วิเคราะห์ค่าความสามารถในการเกิดโฟม (foaming capacity; FC) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ดัดแปลงวิธีของ Malomo and Aluko (2015) เตรียมสารละลายผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองเข้มข้นร้อยละ 1 น้ำหนัก/ปริมาตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl ที่ระดับความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (pH 7) ผสมให้เข้ากันแล้ว นำสารละลายตัวอย่างจำนวน 50 มิลลิลิตร (V_0) มาโฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์เซอร์ที่ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที ก่อนเทลงในกระบอกตวงขนาด 200 มิลลิลิตร และวัดปริมาตรทั้งหมด (V_1) คำนวณหาค่าความสามารถในการเกิดโฟมจากสมการที่ 8 ดังนี้

$$\%FC = \frac{V_1 - V_0}{V_0} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 8)}$$

เมื่อ V_0 = ปริมาตรสารละลายโปรตีนเริ่มต้น (มิลลิลิตร)

V_1 = ปริมาตรของสารละลายโปรตีนรวมกับปริมาตรโฟมหลังโฮโมจีไนซ์ (มิลลิลิตร)

วิเคราะห์ค่าความคงตัวของโฟม (foam stability; FS) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ดัดแปลงวิธีของ Malomo and Aluko (2015) นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาทำให้เกิดโฟม ด้วยวิธีตามข้อ 1.3.4.2 นำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และทำการวัดปริมาตรของสารละลายโปรตีนรวมกับปริมาตรโฟมที่เวลา 0 30 60 และ 90 นาที คำนวณหาสมบัติการคงตัวของโฟมจากสมการที่ 9 ดังนี้

$$\%FS = \frac{V_t}{\%FC} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 9)}$$

เมื่อ V_t = ปริมาตรของโปรตีนรวมกับปริมาตรโฟมภายหลังที่ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องที่เวลา 0-90 นาที (มิลลิลิตร)

1.3.4.3 การวิเคราะห์สมบัติของอิมัลชัน

วิเคราะห์ค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชัน (emulsion activity index; EAI) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ โดยดัดแปลงวิธีของ Liu *et al*. (2011) ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 10 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เป็น 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ก่อนนำไปผสมกับน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วโฮโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ด้วยความเร็ว 13,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 2 นาที ปิเปตสารละลายที่ได้มา 100 ไมโครลิตร เจือจางด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulphate; SDS) เข้มข้นร้อยละ 0.1 (pH 7) ลงในหลอดทดลอง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (VIS-732G, Rayleigh, China) ที่ระดับความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร คำนวณหาค่าความสามารถในการเกิดอิมัลชันจากสมการที่ 10 ดังนี้

$$EAI\ (m^2/g) = \frac{(2\times 2.3.3A) \times DF}{I\O C} \qquad \text{(สมการที่ 10)}$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร
DF = ค่าระดับการเจือจาง (100 เท่า)
I = ความกว้างของคิวเวตต์ (เมตร)
Ø = สัดส่วนของน้ำมันโดยปริมาตร (0.25)
C = ความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ (กรัม/ลูกบาศก์เมตร)

วิเคราะห์ค่าความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability index; ESI) ดัดแปลงจากวิธีของ Tirgar *et al*. (2017) ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 2.0 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 30 มิลลิลิตร ปรับค่า pH เป็น 7 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.2 โมลาร์ เติมน้ำมันถั่วเหลืองปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath) (Memmert, wnb 22, Germany) และตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปฮอโมจีไนซ์ด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้มา 100 ไมโครลิตร เจือจางด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตเข้มข้นร้อยละ 0.1 (pH 7) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร คำนวณหาค่าความคงตัวของอิมัลชัน จากสมการที่ 11 ดังนี้

$$ESI\ (m^2/g) = \frac{AT_{RT} - EAI_{80\ ^\circ C}}{EAT_{RT}} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 11)}$$

เมื่อ EAT_{RT} = EAI ที่ตรวจวัดก่อนให้ความร้อน

$EAI_{80\ ^\circ C}$ = EAI ที่ตรวจวัดหลังจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

1.3.4.4 วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity; WHC) ของโปรตีนไอโซเลตจาก เห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ตามวิธีของ Zhao *et al*. (2016) โดยชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้อง 10 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทสารละลายส่วนใสออก จากนั้นใช้กระดาษซับน้ำที่ติดบริเวณหลอดออกและคำนวณปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับในโปรตีนจากสมการที่ 12 ดังนี้

$$WHC\ (ml/g) = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนที่ดูดซับน้ำ (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \qquad \text{(สมการที่ 12)}$$

1.3.4.5 วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน

วิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (oil holding capacity; OHC) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่า สีทองที่สกัดด้วยวิธีการต่าง ๆ ตามวิธีของ Zhao *et al*. (2016) โดยชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม เติมน้ำมันพืช 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) 10 นาที หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์ที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทน้ำมันส่วนบนออก จากนั้นใช้กระดาษซับน้ำมันที่ติดบริเวณหลอดออกและคำนวณปริมาณน้ำมันที่ถูกดูดซับในโปรตีนจากสมการที่ 13 ดังนี้

$$OHC\ (ml/g) = \frac{\text{น้ำหนักตะกอนที่ดูดซับน้ำมัน (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (กรัม)}} \qquad \text{(สมการที่ 13)}$$

1.3.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1.3.5.1 วิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic contents) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยวิธี Folin Ciocalteau colorimetric ตามวิธีของ Kosasu *et al*. (2015) ชั่งผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 5 มิลลิกรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 จำนวน 4 มิลลิลิตร แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาให้นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ใช้เมทานอล (CH_3OH) เป็นสารละลาย Blank และใช้กรดแกลลิกเป็นสารละลายมาตราฐาน (standard solution) โดยใช้ Gallic equivalent (GAE) ที่ระดับความเข้มข้น 0 25 50 100 200 และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร แล้วรายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยของ mg GAE/g sample

1.3.5.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Prasad *et al*. (2009) ตัวอย่างสารละลายผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 1.25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ (sodium nitrite) เข้มข้นร้อยละ 5 น้ำหนัก/ปริมาตร จำนวน 75 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 775 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นสารละลาย Blank และเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Quercetin Equivalent (QE) ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 50 100 200 300 และ 400 ไมโครโมลาร์ แล้วรายงานผลในหน่วยของ g QE/g sample

1.3.5.3 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

1.3.5.3.1 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH•

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH• ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยวิธี (DPPH radical scavenging activity) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Wu *et al*. (2003) ปิเปตสารละลายผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง 1.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH (2,2-

diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ใน เมทานอลเข้มข้น 95 ปริมาตร/ปริมาตร จำนวน 1.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ระดับความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นสารละลาย Blank และเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox equivalent (TE) ความเข้มข้นร้อยละ 10 20 30 40 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ แล้วรายงานค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ในหน่วยของ µmol TE/g sample

1.3.5.3.2 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยวิธี (ABTS radical scavenging activity) โดยดัดแปลงตามวิธีของ Binsan *et al*. (2008) ปิเปตสารละลายโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ หรือ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) จำนวน 2,850 ไมโครลิตร นำไปตั้งทิ้งไว้ในที่มืดในอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร การเตรียม $ABTS^{\bullet+}$ Stock Solution โดยนำสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ เข้มข้น 7.4 มิลลิโมลลาร์ และสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) เข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ ผสมกันในอัตรา 1:1 แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการเจือจางสารละลายโดยผสม Stock Solution ของสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ในปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยผสมกับเมทานอล 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตเมิเตอร์ที่ระดับความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 1.1 และการเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox equivalent (TE) ที่ระดับความเข้มข้น 10 20 30 40 50 และ 60 ไมโครโมลาร์ รายงานค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ในหน่วย µmol TE/g sample

1.3.5.3.3 วิเคราะห์ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

วิเคราะห์ค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ferric reducing antioxidant power; FRAP) วิเคราะห์ตามวิธี Benzie and Strain (1996) นำสารละลายผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Working Solution จำนวน 2,850 ไมโครลิตร ซึ่งเตรียมจากสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริก คลอไรด์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดในอุณหภูมิห้องเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร การเตรียม Stock Solution ของอะซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (pH 3.6) โดยเติมสารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridly-

s-trazine) ปริมาตร 10 มิลลิโมลาร์ ร่วมกับสารละลายกรดไฮโดรคลอลิกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และสารละลายเฟอร์ริก คลอไรด์ ($FeCl_3 \bullet 6H_2O$) ปริมาตร 20 มิลลิโมลาร์ การเตรียมกราฟมาตรฐานของ Trolox equivalent (TE) ที่ระดับความเข้มข้น 50 100 200 300 400 500 และ 600 ไมโครโมลาร์ โดยรายงานค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกในหน่วย µmol TE/g sample

1.3.5.3.4 วิเคราะห์ค่าความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน

วิเคราะห์ค่าสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (metal chelating activity on ferrous ion (Fe^{2+})) ตามวิธีของ Thiansilakul *et al*. (2007) ปิเปตสารสารละลายผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองปริมาตร 2.35 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี $FeCl_2$ เข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์โรซีน (ferrozine) เข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นสารละลาย Blank การเตรียมกราฟมาตรฐานโดย EDTA equivalent (EDTA eqi) ที่ระดับความเข้มข้น 0 10 20 30 40 และ 50 ไมโครโมลาร์ แล้วรายงานค่าความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนในหน่วย µmol EDTA eqi/g sample

1.3.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อน

1.3.6.1 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อน

วิเคราะห์สมบัติความร้อนของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี โดยการสแกนแบบดิฟเฟอเรนเชียล (Differential scanning calorimetry; DSC) ซึ่งวัดความแตกต่างระหว่างการถ่ายเทความร้อนของถาดที่บรรจุตัวอย่าง (sample pan) จำนวน 10 มิลลิกรัม เปรียบเทียบกับถาดอ้างอิง (reference pan) ด้วยเครื่อง Differential scanning calorimetry device (X-DSC7000, SII Nano Technology Inc., Japan) ที่อุณหภูมิ 20-150 องศาเซลเซียส อัตราความเร็ว 5 องศา/นาที

1.3.7 คุณสมบัติเชิงโครงสร้าง

1.3.7.1 วิเคราะห์รูปแบบของโปรตีนโดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

วิเคราะห์รูปแบบโปรตีนของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี ภายใต้สภาวะ Non-reducing และ Reducing ด้วยเทคนิค SDS-PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) โดยเตรียมผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ 1

กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมลอริลซัลเฟต (sodium lauryl sulphate; SDS) เข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จำนวน 10 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปเซนตริฟิวจ์จะทำให้ได้สารละลายส่วนใส จากนั้นนำมาผสมกับบัฟเฟอร์ตัวอย่าง (sample buffer) ในอัตราส่วน 1:1 ซึ่งบัฟเฟอร์ตัวอย่างประกอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ Tris-HCl เข้มข้นร้อยละ 0.6 โมลลาร์ (pH 6.8) โบรโมฟีนอลบลูเข้มข้นร้อยละ 0.025 (น้ำหนัก/ปริมาตร) เบต้า-เมอร์แคปโทเอทานอล (bata mercaptoethanol; BME) ความเข้มข้นละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) กลีเซอรอลเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 นาที แล้วทิ้งไว้ให้เย็น เตรียม Stracking gel โดยใช้โพลีอะคลิลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) เข้มข้นร้อยละ 4 และ Separating gel เข้มข้นร้อยละ 15 โดยใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 220 โวลต์ ที่มีกระแสไฟฟ้าที่ 15 มิลลิแอมแปร์ ด้วยเครื่อง Mini-PROTEAN Tetra Cell (BioRad Laboratories, Inc., Richmond, CA., U.S.A) นาน 45 นาที แล้วย้อมสีเจลด้วยสารละลาย Coomassie blue R-250 ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่ผสมร่วมกับกรดอะซิติกระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็นระยะเวลา 1 คืน แล้วล้างสีย้อมด้วยสารละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 30 (ปริมาตร/ปริมาตร) ที่มีกรดอะซิติกระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตร/ปริมาตร) จนแผ่นเจลมีสีใสแล้ววิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนของสารสกัดโปรตีนจากเห็ดถังเช่าสีทองเปรียบเทียบกับโปรตีนมาตราฐานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 37-250 กิโลดัลตัน คำนวณระยะทางการเคลื่อนที่ของแถบโปรตีนมาตรฐานจากจุดเริ่มต้นต่อระยะทางของการเคลื่อนที่ Tracking dry จากจุดเริ่มต้นแล้วนำมาคำนวณหาการเคลื่อนที่สัมพันธ์ (relative mobility; R_f) จากสมการที่ 14 ดังนี้

$$R_f = \frac{\text{ระยะเวลาการเคลื่อนที่ของโปรตีนจากจุดเริ่มต้น (มิลลิเมตร)}}{\text{ระยะทางของการเคลื่อนที่ Tracking dry จากจุดเริ่มต้น (มิลลิเมตร)}} \quad \text{(สมการที่ 14)}$$

เขียนกราฟมาตรฐานโดยแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า R_f กับค่า log ของน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนมาตราฐาน โดยนำค่า R_f ที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตราฐานเพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทั้ง 3 วิธี

1.3.7.2 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน (fourier transform infrared spectroscopic analysis; FT-IR) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี โดยดัดแปลงจากวิธีของ

Benjakul *et al*. (2017) โดยใช้เครื่องสเปกโตรมิเตอร์ FT-IR (EQUINOX 55, Bruker, Ettlingen, Germany) ในช่วงเลขคลื่น 4000-400 cm^{-1}

1.3.7.3 วิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาค

วิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัด 3 วิธี ดัดแปลงเล็กน้อยตามวิธีของ Torres-Giner *et al*. (2017) นำตัวอย่างมาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy; SEM) (JSM-5410LV, JEOL Ltd., Tokyo, Japan) หลังจากเคลือบทองแล้ว ซึ่งพื้นผิวของตัวอย่างจะถูกตรวจจับด้วยโหมดอิเล็กตรอนทุติยภูมิโดยแรงดันไฟฟ้า 5 กิโลโวลต์ ที่กำลังขยาย 300 เท่า

1.3.8 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองอย่างน้อยตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) ด้วยวิธีของ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 28.0 (statistical package for the social science for windows version 28.0) (SPSS Inc., Chicago, USA)

1.3.9 เกณฑ์การคัดเลือก

คัดเลือกโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยพิจารณาคุณสมบัติเบื้องต้นด้วยร้อยละผลผลิต และปริมาณโปรตีนที่สูง รวมถึงมีคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติทางความร้อน และคุณสมบัติเชิงโครงสร้างที่เหมาะสม เป็นต้น

ตอนที่ 2 การศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.1 ศึกษาผลของชนิดของสารห่อหุ้มต่อคุณลักษณะ และประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เตรียมสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน (MD) เบต้า-ไซโคลเดกซ์ (Beta-CD) และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ (MD:Beta-CD) ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) (ตารางที่ 11) ดัดแปลงจาก Takeungwongtrakul and Benjakul (2017) ละลายสารห่อหุ้มในอัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 22.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก่อนนำมากวนให้เป็นสารละลายห่อหุ้มด้วยเครื่องกวนแบบใบกวน โดยใช้ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในสารละลายห่อหุ้ม โดยใช้อัตราส่วน 1:4 จากนั้นปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 นาที จะได้สารละลายสารห่อหุ้มร่วมกับโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองออกมา จากนั้นนำสารละลายข้างต้นจำนวน 500 มิลลิลิตร ไปเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Lab Plant SD-06A, Lab Plant Ltd., Huddersfield, UK) โดยตัวอย่างจะผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อัตราการป้อน 8.08 มิลลิลิตร/นาที ที่อัตราเร็วลมร้อน 4.3 เมตร/วินาที และอุณหภูมิขาเข้า 180 ± 2 องศาเซลเซียส จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ เพื่อนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ ร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูล

ตารางที่ 10 ชนิด และอัตราส่วนของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ตัวอย่าง	ชนิด และอัตราส่วนในการห่อหุ้ม	
	มอลโทเดกซ์ทริน (MD)	เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (Beta-CD)
MD	1	0
Beta-CD	0	1
MD1:Beta-CD1	1	1
MD1:Beta-CD2	1	2
MD2:Beta-CD1	2	1

2.1.1 การตรวจสอบคุณลักษณะไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.1.1.1 คุณลักษณะทางกายภาพ

2.1.1.1.1 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ทำการถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.1

2.1.1.1.2 วิเคราะห์ร้อยละผลผลิต

การคำนวณร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.2

2.1.1.1.3 วิเคราะห์หาประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดก่อนกระบวนการห่อหุ้ม (TPC) ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ด้วยใช้วิธีไบยูเร็ต (Robinsonand Hogden, 1940)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนบนพื้นผิวหลังจากการห่อหุ้ม (SPC) ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ดัดแปลงตามวิธีของ Maqsoudlou *et al*. (2020) นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง จำนวน 100 มิลลิกรัม ผสมกับบัฟเฟอร์โพแทสเซียมฟอสเฟตเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 8) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำไปปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 13,500 รอบ/นาที เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเร็ต (Robinsonand Hogden, 1940) คำนวณหาประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน (Encapsulation efficiency; EE) จากสมการที่ 15 ดังนี้

$$\text{Encapsulation efficiency (\%EE)} = \left[\frac{\text{TPC} - \text{SPC}}{\text{TPC}}\right] \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 15)}$$

เมื่อ TPC = ปริมาณโปรตีนทั้งหมดก่อนกระบวนการห่อหุ้ม (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

SPC = ปริมาณโปรตีนบนพื้นผิวหลังจากการห่อหุ้ม (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)

2.1.1.1.4 วิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิดและอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ด้วยวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.3

2.1.1.1.5 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ด้วยวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.4

2.1.1.1.6 วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ (solubility) ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ตามวิธีของ Loksuwan (2007) นำของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันจำนวน 0.05 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วผสมให้ด้วยเครื่องเขย่าสาร (Orbital Shaker) (MIULAB, U.S.A) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เพื่อกรองแยกสารละลายส่วนใส แล้วปิเปตสารละลายส่วนใสที่ได้ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซนตริฟิวจ์โดยใช้ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำละลายส่วนใสไปอบที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักหลังการอบแห้ง โดยคำนวณหาความสามารถในการละลายน้ำจากสมการที่ 16 ดังนี้

$$\%\text{Solubility} = \frac{\text{น้ำหนักหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักผงเอนแคปซูล (กรัม)}} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 16)}$$

2.1.1.2 คุณลักษณะทางเคมี

2.1.1.2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าร้อยละปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดวิเคราะห์เช่นเดียวข้อ 1.1.1

2.1.1.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2.1.1.3.1 วิเคราะห์ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.1

2.1.3.3.2 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH$^{\bullet}$ ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ด้วยวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.1

2.1.3.3.3 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS$^{\bullet+}$ ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารห่อหุ้มต่าง ๆ ด้วยวิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.2

2.2 ศึกษาผลของระดับอัตราส่วนระหว่างโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ต่อคุณสมบัติของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เลือกสารห่อหุ้มไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากข้อ 2.1 มาศึกษาอัตราส่วนระหว่างโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (PICM:WM) ได้แก่ 1:2 (PICM1:WM2) 1:3 (PICM1:WM3) 1:4 (PICM1:WM4) และ 1:5 (PICM1:WM5) (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากนั้นละลายสารห่อหุ้มในอัตราส่วนต่าง ๆ ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 22.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก่อนนำมากวนให้เป็นสารละลายห่อหุ้มด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวนโดยใช้ความเร็ว 500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในสารละลายห่อหุ้มโดยใช้อัตราส่วน 1:4 (ปริมาตร/ปริมาตร) แล้วปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 นาที จะได้สารละลายผสมสารห่อหุ้มร่วมกับโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง นำสารละลายจำนวน 500 มิลลิลิตร ไปทำผงด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยตัวอย่างจะผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อัตราการป้อน 8.08 มิลลิลิตร/นาที ที่อัตราเร็วลมร้อน 4.3 เมตร/วินาที และ

อุณหภูมิขาเข้า 180 ± 2 องศาเซลเซียส จะได้ผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ สำหรับนำไปวิเคราะห์คุณลักษณะ และคุณสมบัติต่อไป

2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้ระดับอัตราส่วนสารห่อหุ้มต่าง ๆ

2.3.1 วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ

2.3.1.1 วิเคราะห์ร้อยละผลผลิต

คำนวณร้อยละผลผลิตของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ใช้วิธีการคำนวณเช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.1

2.3.1.2 วิเคราะห์หาประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน

วิเคราะห์หาประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน ตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.1.1.5

2.3.1.2 วิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.2

2.3.1.3 วิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำอิสระ

วิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระของตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.3

2.3.1.4 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโคร เอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้การถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล

2.3.1.5 วิเคราะห์ความหนาแน่นรวม

วิเคราะห์หาความหนาแน่นรวม (bulk density) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ตามวิธีของ Crowley *et al*. (2014) นำตัวอย่างจำนวน 2 กรัม ใส่ลงกระบอกตวงปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักของตัวอย่างและคำนวณหาค่าความหนาแน่นรวม จากสมการที่ 17 ดังนี้

$$\% \text{ Bulk density} = \frac{\text{น้ำหนักผงตัวอย่าง (กรัม)}}{\text{ปริมาตรที่อ่านได้ (มิลลิลิตร)}} \times 100 \qquad \text{(สมการที่ 17)}$$

2.3.1.5 วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ มาวิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำเช่นเดียวข้อ 2.1.1.1.6

2.3.2 การวิเคราะห์ลักษณะทางเคมี

2.3.2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ค่าร้อยละปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมันและปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดวิเคราะห์เช่นเดียวข้อ 1.1.1

2.3.3 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2.3.3.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่างๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.1

2.3.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

นำตัวอย่างผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.1.5.2

2.3.3.3 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH$^{\bullet}$ ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.1

2.3.3.4 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS$^{\bullet+}$ ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.2

2.3.3.5 วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.3

2.3.3.6 วิเคราะห์ความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน

วิเคราะห์ความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.4

2.3.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางความร้อน

2.3.4.1 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อน

วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ ข้อ 1.3.6.1

2.3.5 คุณสมบัติเชิงโครงสร้าง

2.3.5.1 โครงสร้างทางจุลภาค

วิเคราะห์โครงสร้างทางจุลภาคของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ด้วยเครื่องจุลทรรศน์แบบส่องกราดเช่นเดียวกับข้อ 1.3.7.2

2.3.5.2 วิเคราะห์โครงสร้างทางผลึก

วิเคราะห์โครงสร้างทางผลึก (X-ray diffraction analysis; XRD) ของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ วิเคราะห์ตามวิธีของ Benjakul *et al*. (2017) ด้วยเครื่อง X-ray Diffractometer (X' Pert MPD, PHILIPS, Eindhoven, the Netherlands; XRD) ใช้รังสี Coper radiation K-α ในช่วง 10-80 องศาเซลเซียส ด้วยอัตราเร็ว 3 องศา/นาที ที่มุม 2 θ

2.3.5.3 วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน

วิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันด้วยอัตราส่วนตัวอย่างต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับ ข้อ 1.3.7.3

2.3.6 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองอย่างน้อยตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและวิเคราะห์ความแปรปรวน(Analysis of variance; ANOVA) ด้วยวิธีของ Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 28.0 (statistical package for the social science for windows version 28.0) (SPSS Inc., Chicago, USA)

2.3.7 เกณฑ์การคัดเลือก

คัดเลือกไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยพิจารณาคุณสมบัติเบื้องต้นด้วยร้อยละผลผลิต และปริมาณโปรตีนที่สูง รวมถึงมีคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณสมบัติทางความร้อน และคุณสมบัติเชิงโครงสร้างที่เหมาะสม

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3.1 การเตรียมผงข้าวกล้องงอก

การเตรียมผงข้าวกล้องงอก (ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ) ดัดแปลงจากวิธีของ Rodboon *et al.* (2020) ข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ จากหน่วยความเป็นเลิศทางวิจัย และพัฒนาการปรับปรุงพันธุ์ข้าว มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ มาล้างทำความสะอาดแล้วแช่ในน้ำประปาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ มาทำให้เกิดกระบวนการงอก โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยให้มีความยาวงอกประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร ซึ่งจะมีอัตราการงอกอยู่ที่ร้อยละ 82 จากนั้นนำข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ มาหุงด้วยหม้อหุงข้าวเพื่อยับยั้งการงอกของข้าว และทำแห้งด้วยการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อให้มีค่ากิจกรรมน้ำอิสระน้อยกว่า 0.4 จากนั้นนำมาบดผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดความเร็วสูง จากนั้นนำมาร่อนผ่านตะแกรงมาตรฐานขนาด 60 เมช (mesh) จะได้ผงข้าวกล้องงอกที่มีขนาดอนุภาคน้อยกว่า 250 ไมโครเมตร นำผงเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ได้มาบรรจุลงถุงอลูมิเนียมฟรอยด์ ขนาดบรรจุถุงละ 100 กรัม นำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปเป็นส่วนผสมของเครื่องดื่ม

3.2 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่งอกชนิดผงสำเร็จรูป

การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสม โดยแผนการทดลองแบบผสม (mixture design) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Minitab 16 ซึ่งกำหนดช่วงการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ผงข้าวไรซ์เบอร์รี่งอกที่ร้อยละ 30-50 ร่วมกับน้ำตาลหล่อฮั่งก๊วยที่ร้อยละ 10-20 และผงนมที่ระดับ 30-40 โดยกำหนดให้ทุกสูตรมีส่วนผสมของอินูลินที่ร้อยละ 19.97 และสารให้ความคงตัว plasgaard ® recmilk ที่ร้อยละ 0.3 จะได้ค่ารหัสและค่าจริงของสูตรเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ทั้งหมดจำนวน 10 สูตรดังตารางที่ 11 จากนั้นนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 11 ค่ารหัสและค่าจริงของส่วนผสมเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอชนิดผงสำเร็จรูป

ค่ารหัส (ร้อยละ)			
สูตรที่	**ผงข้าวกล้องงอก**	**น้ำตาลหล่อฮั่งก๊วย**	**นมผง**
1	0.40	0.10	0.50
2	0.10	0.40	0.50
3	0.10	0.10	0.80
4	0.25	0.25	0.50
5	0.25	0.10	0.65
6	0.10	0.25	0.65
7	0.20	0.20	0.60
8	0.30	0.15	0.55
9	0.15	0.30	0.55
10	0.15	0.15	0.70
ค่าจริง (ร้อยละ)			
สูตรที่	**ผงข้าวกล้องงอก**	**น้ำตาลหล่อฮั่งก๊วย**	**นมผง**
1	32	8	40
2	8	32	40
3	8	8	64
4	20	20	40
5	20	8	52
6	8	20	52
7	16	16	48
8	24	12	44
9	12	24	44
10	12	12	56

**หมายเหตุ ทุกสูตรเติมอินูลินร้อยละ 19.97 และสารให้ความคงตัว plasgaard ® recmilk ร้อยละ 0.3

3.2.1 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

นำเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปจำนวน 20 กรัม ต่อน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส จำนวน 100 มิลลิลิตร มาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยให้คะแนนระดับความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ได้แก่ 1 คะแนน = ไม่ชอบมากที่สุด 2 คะแนน = ไม่ชอบมาก 3 คะแนน = ไม่ชอบปานกลาง 4 คะแนน = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 คะแนน = เฉย ๆ 6 คะแนน = ชอบเล็กน้อย 7 คะแนน = ชอบปานกลาง 8 คะแนน = ชอบมาก และ 9 คะแนน = ชอบมากที่สุด โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝนในแต่ละสูตรจำนวนสูตรละ 50 คน มีช่วงอายุ 18-50 ปี และไม่เป็นกลุ่มตัวอย่างเดียวกันในแต่ละสูตร และเข้าร่วมวิจัยด้วยความเต็มใจปราศจากอคติหรือการบังคับ รวมถึงผู้วิจัยทำการสอบถามผู้เข้าร่วมวิจัยย้ำอีกครั้งว่าไม่เป็นผู้ที่ไม่มีอาการแพ้สารสกัดดังกล่าว ในระหว่างการทดสอบทางประสาทสัมผัสฯ หากผู้เข้าร่วมวิจัยมีความรู้สึกอยากจะถอนตัวออกจากโครงการวิจัยสามารถถอนตัวออกได้เลยโดยไม่มีผลกระทบต่อการเรียน/การทำงาน และภายหลังจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสฯ หากผู้เข้าร่วมวิจัยมีการอาการไม่พึงประสงค์ขณะทำการทดสอบ ผู้วิจัยจะให้ผู้ร่วมวิจัยหยุดทำการทดสอบทันทีหรือผู้เข้าร่วมวิจัยมีการอาการไม่พึงประสงค์ภายหลังทำการทดสอบ ผู้วิจัยจะนำส่งโรงพยาบาลที่ใกล้เคียงที่สุดทันที โดยผู้วิจัยจะทำการรับผิดชอบในส่วนของค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลทั้งหมด รวมถึงหากผู้เข้าร่วมวิจัยมีข้อคิดเห็นขัดข้องใจ หรือคำถามเกี่ยวกับการวิจัยนี้ โดยในงานวิจัยนี้ได้รับการรับรองการวิจัยในมนุษย์จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ประเทศไทย รหัสโครงการ MJUIRB ST009/66

3.3 การพัฒนาสูตรเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

นำเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ จากสูตรที่ได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูงที่สุดในข้อ 3.2 มาเติมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ระดับร้อยละ 0 3 5 และ 7 จากนั้นนำตัวอย่างในแต่ละสูตรมาบรรจุลงในถุงอลูมิเนียมจำนวน 20 กรัม แล้วนำไปวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เคมี กลุ่มของสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงการทดสอบทางประสาทสัมผัสต่อไป

3.3.1 วิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพ

3.3.1.1 วิเคราะห์ค่าสี

วิเคราะห์ค่าสีของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.2

3.3.1.2 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ โดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.3

3.3.1.3 ลักษณะปรากฏ

ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้การถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัลเช่นเดียวกับข้อ 1.3.1.4

2.4.3.4 วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำ

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 2.3.1.5

2.4.3.5 ทดสอบระยะเวลาในการคืนตัว

ทดสอบระยะเวลาในการคืนตัว (rehydration time) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามวิธีของ Goula *et al*. (2004) ชั่งตัวอย่าง 20 กรัม นำมาผสมน้ำที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ในปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วกวนด้วย Magnetic bar สังเกตุจนเกิดการคืนตัวอย่างสมบูรณ์นั้นคือผงตัวอย่างละลาย จากนั้นบันทึกเวลา

2.4.3.6 วิเคราะห์ค่าความหนืด

วิเคราะห์ค่าความหนืด (Viscosity) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามวิธีของ Shahnawaz *et al*. (2011) ด้วยเครื่อง Brookfield viscometer (DV2T Viscometer, Brookfield Amptek, USA)

2.4.3.7 วิเคราะห์ค่าร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

วิเคราะห์ค่าร้อยละของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid; °Brix) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสี

ทองด้วยเครื่องมือ Hand refractometer (N-1E, Atago, Japan) แล้วรายงานค่าปริมาณร้อยละของแข็งที่ละลายได้ในหน่วย บริกซ์ (°Brix)

2.4.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมี

2.4.4.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดวิเคราะห์ตามข้อ 1.1.1

2.4.4.2 วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วิเคราะห์ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยนำตัวอย่าง 20 กรัม ผสมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปวัดความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH Metter) (FiveEasy Plus, MERRIER TOLEDO, Switzerland)

2.4.5 กลุ่มของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.4.5.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.1

2.4.5.2 วิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

นำตัวอย่างของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.1.5.2

2.4.5.3 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH$^{\bullet}$ ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.1

2.4.5.4 วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.2

2.4.5.5 วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก

วิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.3

2.4.5.6 วิเคราะห์ความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน

วิเคราะห์ความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้วิธีวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 1.3.5.3.4

2.4.6 การทดสอบทางจุลินทรีย์

2.4.6.1 การทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

การทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามวิธี AOAC (2000)

2.4.6.2 การทดสอบปริมาณยีสต์ รา

การทดสอบปริมาณยีสต์ รา (yeast and mold count) ของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองตามวิธี AOAC (2000)

2.4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่งอกชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 3.2.1

2.4.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองอย่างน้อยตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ส่วนการทดสอบทางประสาทจะใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) แล้วนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธีของ Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS 28.0 (statistical package for the social science for windows version 28.0) (SPSS Inc., Chicago, USA)

2.4.7 เกณฑ์การคัดเลือก

คัดเลือกเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยพิจารณาคุณสมบัติเบื้องต้นด้วยร้อยละผลผลิต ปริมาณโปรตีนในปริมาณและคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่สูง รวมถึงมีคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสม

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารย์ผลการทดลอง

ตอนที่ 1 ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดโปรตีนที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณลักษณะ และสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. คุณลักษณะทางกายภาพ

1.1 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนสกัดด้วยวิธีการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 17) พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งเริ่มต้นมีสีเหลืองเข้ม ส่วนผงโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลมีสีเหลืองอ่อนกว่าผงโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และการตกตะกอนโดยการปรับค่าพีเอช (pH) เข้าสู่จุดไอโซอิเล็กทริก (pI) จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับค่าสี *L** *a** และ *b** (ตารางที่ 13) ของโปรตีนไอโซเลต ซึ่งในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะทำให้ได้โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีลักษณะเป็นผงสีเหลืองที่มีผงโปรตีนขนาดใหญ่ จึงต้องมีขั้นตอนในการบดและร่อนแยกขนาดให้ได้ขนาดอนุภาคผงโปรตีนที่ 250 ไมโครเมตร เพื่อให้ได้ผงโปรตีนไอโซเลตที่เล็กละเอียด และมีขนาดของผงโปรตีนที่ใกล้เคียงกัน (Shen *et al*., 2021)

ผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ตกตะกอนด้วยเอทานอล การปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI

ภาพที่ 17 ลักษณะปรากฏทางกายภาพของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

1.2 ร้อยละผลผลิต

การศึกษาร้อยละผลผลิตของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง โดยใช้การสกัดด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ การตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดร้อยละ 20.21 เนื่องจากการใช้เกลือความเข้มข้นอิ่มตัวสูงส่งผลทำให้โปรตีนส่วนใหญ่ตกตะกอนลงมาได้

รองลงมาเป็นโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI ที่มีร้อยละผลผลิตร้อยละ 18.74 ส่วนการตกตะกอนด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีร้อยละผลผลิตต่ำสุดร้อยละ 16.44 (ตารางที่ 12) โดยการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ จะเป็นการเพิ่มแรงอิออน (ionic strength) ของเกลือที่ไปล้อมรอบโมเลกุลของโปรตีน ส่งผลให้แรงอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับน้ำลดลง จึงทำให้โปรตีนจับตัวกัน และตกตะกอนลงมา (Cheng *et al*., 2010) ส่วนการตกตะกอนโปรตีนด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์โปรตีนจะไปลดค่ากิจกรรมของน้ำที่มีผลต่อค่าคงที่ไดอิเลคตริค (dielectric constant) ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของโปรตีนลดลง อีกทั้งการเพิ่มความเข้มข้นของตัวทำละลายอินทรีย์ที่สูงขึ้น จนถึงจุดที่พลังงานไฟฟ้าสถิตย์บนโมเลกุลของโปรตีนมีแรงอันตรกิริยาที่สูงกว่าแรงแรงอันตรกิริยาระหว่างโปรตีนกับน้ำทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการจับรวมตัวกันเองจึงเกิดการตกตะกอนลงมา (Barta *et al*., 2008) และการตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI โดยโปรตีนแต่ละชนิดจะมีค่าจุด pI ที่ต่างกัน เมื่อทำการปรับค่า pH ของสารละลายโปรตีนให้เท่ากับจุด pI ของโปรตีนจะทำให้โมเลกุลของโปรตีนมีประจุสุทธิเท่ากับศูนย์ จึงไม่มีแรงผลักดันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนด้วยกันเอง โปรตีนจึงเข้าใกล้เกิดการรวมตัวกัน และตกตะกอนลงมา (Novák and Havlíček, 2016) จากผลการทดลองขั้นต้นมีความสอดคล้องกับรายงานวิจัยการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่ความเข้มข้นอิ่มตัวร้อยละ 64 (น้ำหนัก/ปริมาตร) การตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI และการตกตะกอนด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (ปริมาตร/ปริมาตร) มีร้อยละผลิตที่ร้อยละ 19.2 16.0 และ 7.6 ตามลำดับ (Stone *et al*., 2015) นอกจากนี้ Fang *et al*. (2023) ศึกษากระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกัญชงด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เปรียบเทียบกับวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่ามีร้อยละผลิตร้อยละ 44.5 และ 32.55 ตามลำดับ Akyüz *et al*. (2021) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตที่สกัดจากหัวชูการ์บีท (sugar beet) ด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ความเข้มข้นอิ่มตัวร้อยละ 85 (น้ำหนัก/ปริมาตร) การตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI และการตกตะกอนเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ร่วมกับการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีร้อยละผลผลิตที่ร้อยละ 30.71 26.73 และ 34.55 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการโปรตีนด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนจากเห็ดจะได้ปริมาณร้อยละผลผลิตที่ต่ำกว่าพืชตระกลูถั่ว เนื่องจากเห็ดมีผนังเซลล์เป็นไคติน (chitin) กลูแคน (Glucan) ซึ่งจะสกัดโปรตีนออกมาได้ยากกว่าพืชตระกลูถั่วที่มีผนังเซลล์เป็นเซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (emicellulose) (Kim *et al*., 2017; Perović *et al*., 2020)

ตารางที่ 12 ร้อยละผลผลิตของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

วิธีการสกัด	ร้อยละผลผลิต (ร้อยละ)
ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง	-
ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	$20.21\pm0.23^{*a**}$
ตกตะกอนด้วยเอทานอล	16.44 ± 0.41^{c}
วิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI	18.74 ± 0.27^{b}

หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq0.05$)

1.3 ค่าสี

ค่าสีของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนสกัดด้วยวิธีการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี (ตารางที่ 13) โดยค่า L^* คือค่าความสว่างที่มีค่าตั้งแต่ 0-100 เมื่อค่า L^* เข้าใกล้ 100 จะมีความสว่างมากหรือใกล้เคียงกับสีขาว แต่หากค่า L^* เข้าใกล้ 0 ก็จะมีความสว่างน้อยหรือใกล้เคียงกับสีดำ ค่า a^* คือค่าความเป็นสีแดง-เขียว เมื่อค่า a^* เป็นบวกจะหมายถึงตัวอย่างมีค่าเป็นสีแดง แต่หากค่า a^* เป็นลบจะหมายถึงตัวอย่างมีค่าเป็นสีเขียว ส่วนค่า b^* คือค่าความเป็นสีเหลือง-น้ำเงิน เมื่อค่า b^* เป็นบวกจะหมายถึงตัวอย่างมีค่าเป็นสีเหลือง แต่หากค่า b^* เป็นลบจะหมายถึงตัวอย่างมีค่าเป็นสีน้ำเงิน และค่า ΔE^* คือค่าความต่างสี พบว่าค่า L^* ของโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ อยู่ในช่วง 51.45-67.12 โดยโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเอทานอลมีค่าค่า L^* (67.12) สูงที่สุด ($p\leq0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Böcker *et al*. (2021) ที่รายงานการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากสาหร่ายด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอลผสมกับอะซิโตนในอัตราส่วน 1:1 (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่ามีค่า L^* อยู่ในช่วง 95.9-98.42 ส่วนค่า a^* อยู่ในช่วง 10.89-18.74 ค่า b^* อยู่ในช่วง 37.71-38.04 และค่า ΔE^* อยู่ในช่วง 47.56-60.28 ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 13 ค่าสีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

วิธีการสกัด	*L**	*a**	*b**	Δ*E**
ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง	63.36±0.03^{*b**}	10.80±0.06^{c}	39.16±0.04^{b}	50.59±0.04^{c}
ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	51.45±0.01^{c}	17.64±0.06^{b}	37.71±0.02^{c}	59.31±0.03^{b}
ตกตะกอนด้วยเอทานอล	67.12±0.03^{a}	10.89±0.01^{c}	38.04±0.02^{b}	47.56±0.01^{c}
วิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI	54.64±0.04^{b}	18.74±0.01^{a}	41.93±0.07^{a}	60.28±0.03^{a}

หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

1.4 กิจกรรมน้ำอิสระ

ค่ากิจกรรมน้ำอิสระของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ (ตารางที่ 14) พบว่าโปรตีนไอโซเลตทุกการทดลองมีค่ากิจกรรมของน้ำอิสระที่สัมพันธ์กับค่าร้อยละปริมาณความชื้นซึ่งจะส่งผลต่อความคงตัวของโปรตีน อายุการเก็บรักษา และคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน โดยค่ากิจกรรมน้ำอิสระที่ต่ำกว่า 0.6 จะจัดอยู่ในกลุ่มอาหารแห้งจึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารได้ เนื่องจากมีกิจกรรมของน้ำอิสระที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งทางสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ และอุตสาหกรรมได้กำหนดปริมาณน้ำอิสระของเห็ดหลินจือผงสำเร็จรูป (มผช. 862/2556) ต้องน้อยกว่า 0.6 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556) อย่างไรก็ตามโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี มีกิจกรรมของน้ำอิสระในปริมาณที่ต่ำอยู่ในช่วงร้อยละ 0.22-0.25 และไม่แตกต่างกัน (P≥0.05) นอกจากนี้ในขั้นตอนการทำแห้งด้วยกระบวนการทำแห้งแบบระเหิด (freeze dry) ส่งผลทำให้โครงสร้างของโปรตีนมีรูพรุนสูงทำให้มีปริมาณน้ำอิสระต่ำ ส่งผลต่อความสามารถในการคืนตัวที่สูงตาม (Darniadi *et al*., 2018) ส่วน Correia *et al*. (2017) พบว่าปริมาณปริมาณโปรตีนที่สูงในโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองที่สูง จะทำให้มีปริมาณความชื้น และกิจกรรมของน้ำอิสระสูง เนื่องจากโปรตีนมีความสามารถในการจับน้ำ (water holding capacity)

ตารางที่ 14 ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

วิธีการสกัด	ปริมาณน้ำอิสระ
ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง	0.33±0.01[*a**]
ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	0.23±0.02[b]
ตกตะกอนด้วยเอทานอล	0.22±0.02[b]
วิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI	0.25±0.01[b]

หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2. คุณลักษณะทางเคมี

2.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีการตกตะกอน 3 วิธี (ตางรางที่ 15) พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งก่อนนำมาสกัดโปรตีนมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 30.26 แต่เมื่อนำมาสกัดโปรตีนไอโซเลตด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 67.92 รองลงมาเป็นวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI ร้อยละ 59.45 และตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 50.91 จะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดโปรตีนที่ต่างกันมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยการตกตะกอนโปรตีนไอโซเลตด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับอิ่มตัว ส่งผลทำให้สามารถการตกตะกอนโปรตีนส่วนใหญ่ออกมาได้ทั้งหมดโดยหลักการ Salting out ที่ไม่ทำให้เกิดความร้อนสูงในระหว่างกระบวนการสกัดจึงสามารถป้องกันโปรตีนเสียสภาพจากธรรมชาติได้ ทำให้มีปริมาณร้อยละโปรตีนสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีการอื่น ๆ (Duong *et al*., 2014) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tirgar *et al*. (2017) ที่การสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดแฟลกซ์ด้วยการใช้เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีปริมาณความชื้นร้อยละ 0.86 และ 4.41 ส่วนปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 86.80 และ 51.05 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.33 และ 39.95 ปริมาณไขมันร้อยละ 0.36 และ 0.10 ปริมาณเถ้าร้อยละ 4.63 และ 4.47 ตามลำดับ นอกจากนี้ Stone *et al*. (2015) ศึกษาการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ KCl เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่ามีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 83.3 76.1 และ 87.8 ตามลำดับ ปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 9.49 8.51 และ 8.17 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เห็ดถั่งเช่าสีทองมีความชื้นมากที่สุดร้อยละ 1.46 ส่วนโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกชุดการทดลองมีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.49-0.66 ซึ่งตามประกาศกระทรวง

สาธารณสุขฉบับที่ 345/2556 เรื่องนมปรุงแต่ง โดยกำหนดให้มีปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์นมผงซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มของอาหารแห้งต้องไม่เกินร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2556) ปริมาณไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี อยู่ในช่วงร้อยละ 2.30-3.43 2.17-6.76 และ 26.69-58.10 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 15 องค์ประกอบทางเคมีของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่างๆ

วิธีการสกัด	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยฐานเปียก)				
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต
ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง	1.46±0.08^{*a**}	30.26±0.08^{d}	3.43±0.11^{a}	6.76±0.04^{a}	58.10±0.03^{a}
ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	0.66±0.04^{b}	78.90±0.08^{a}	2.56±0.05^{c}	2.17±0.02^{c}	15.71±0.02^{d}
ตกตะกอนด้วยเอทานอล	0.49±0.01^{d}	57.41±0.07^{c}	2.69±0.02^{b}	3.64±0.04^{b}	35.77±0.13^{b}
วิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI	0.62±0.01^{c}	69.06±0.03^{b}	2.30±0.05^{d}	3.55±0.03^{d}	24.47±0.01^{c}

หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2 องค์ประกอบของกรดอะมิโน

ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ (ตารางที่ 16) พบว่าโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ อุดมไปด้วยกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) ในปริมาณที่สูง ได้แก่ ทรีโอนีน ลิวซีน วาลีน และไลซีน 2.15 2.53 1.78 และ 1.82 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีกรดอะมิโนทั้งหมด ในปริมาณ 20.53 และ 33.36 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ โดยแบ่งออกเป็นกรดอะมิโนจำเป็นจำนวน 6.78 และ 33.36 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนกรดอะมิโนไม่จำเป็น (non-essential amino acid) เท่ากับ 13.75 และ 20.16 กรัม/100 กรัม ($p \leq 0.05$) ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นใกล้เคียงกับที่ร่างกายควรได้รับต่อวันตามคำแนะนำขององค์การอาหาร และการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization: FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) สำหรับผู้ใหญ่ในปี 2007 (ตารางที่ 16) การสกัดโปรตีนไอโซเลตด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีปริมาณกรดอะมิโนสูงกว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งที่ไม่ผ่านการสกัดโปรตีน

นอกจากนี้กระบวนการในการการสกัด สายพันธุ์ และวิธีการเพาะปลูกของเห็ดถั่งเช่าสีทองเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อองค์ประกอบกรดอะมิโนในโปรตีนไอโซเลต (Shen *et al*., 2021) Lee *et al*. (2019) มีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยวุ้นที่มีส่วนผสมของยีสต์มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นชนิด ลิวซีน วาลี ไอโซลิวซีนในปริมาณ 4.92 4.16 และ 3.45 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วน Wang *et al*. (2015) รายงานว่าเห็ดถั่งเช่าทิเบตจากธรรมชาติมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นสูงที่สุด ได้แก่ ลิวซีน วาลีน และไอโซลิวซีนในปริมาณ 22.56 16.87 และ 15.08 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนเห็ดถั่งเช่าจากการเพาะเลี้ยงด้วยอาหารวุ้นมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นชนิด ลิวซีน วาลีน และไอโซลิวซีนในปริมาณ 12.65 15.15 และ 8.92 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ Stone *et al*. (2015) ตกตะกอนโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาด้วยเกลือ KCl เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ KCl มีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นสูงที่สุด ได้แก่ ลิวซีน ไลซีน และฟีนิลอะลานีน ในปริมาณร้อยละ 7.2 5.8 และ 4.6 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ทรีโอนีนมีคุณสมบัติในการเพิ่มภูมิคุ้มกัน การดูดซึมสารอาหาร รวมถึงย่อยในการย่อยอาหารของร่างกาย ส่วนลิวซีน ช่วยในการควบคุมการทำงานของสมอง และระบบประสาท วาลีนช่วยในระบบสารสื่อประสาทที่ทำงานร่วมกันกับกล้ามเนื้อ และไลซีนช่วยในการซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของกล้ามเนื้อ เพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมแคลเซียมที่สามารถช่วยในการป้องกันการเกิดโรคกระดูกพรุนได้ เป็นต้น (Tymchak, 2010)

ตารางที่ 16 ปริมาณกรดอะมิโนชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$

กรดอะมิโน (กรัม/100 กรัม)	ผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง	โปรตีนไอโซเลตตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	WHO/FAO (2007) (กรัม/100 กรัม)
Essential amino acid			
Threonine	1.29±0.01^{*b**}	2.15±0.02^{a}	0.9
Valine	0.88±0.01^{b}	1.78±0.04^{a}	1.3
Methionine	0.20±0.01^{b}	0.58±0.01^{a}	1.7
Isoleucine	0.48±0.00^{b}	1.30±0.03^{a}	1.3
Leucine	1.36±0.00^{b}	2.53±0.01^{a}	1.9
Phenylalanine	0.76±0.00^{b}	1.63±0.02^{a}	1.9
Histidine	0.41±0.00^{b}	0.96±0.02^{a}	1.6
Lysine	1.02±0.01^{b}	1.82±0.03^{a}	1.6
Tryptophan	0.37±0.04^{b}	0.45±0.03^{a}	0.5
Total Essential	6.78±1.03^{b}	13.20±0.70^{a}	
Non-Essential amino acid			
Aspartic acid	2.01±0.01^{b}	3.92±0.02^{a}	
Arginine	0.98±0.02^{b}	2.20±0.03^{a}	
Serine	1.27±0.01^{b}	2.10±0.01^{a}	
Glutamic acid	3.63±0.03^{b}	3.87±0.03^{a}	
Proline	1.17±0.01^{b}	1.77±0.01^{a}	
Glycine	0.80±0.02^{b}	1.86±0.01^{a}	
Alanine	1.28±0.00^{b}	2.22±0.01^{a}	
Cystine	0.17±0.00^{b}	0.37±0.01^{a}	
Tyrosine	2.45±0.01^{a}	1.86±0.03^{b}	
Total Non-Essential	13.75±0.42^{b}	20.16±1.09^{a}	
Total amino acid	20.53±0.19^{b}	33.36±0.29^{a}	

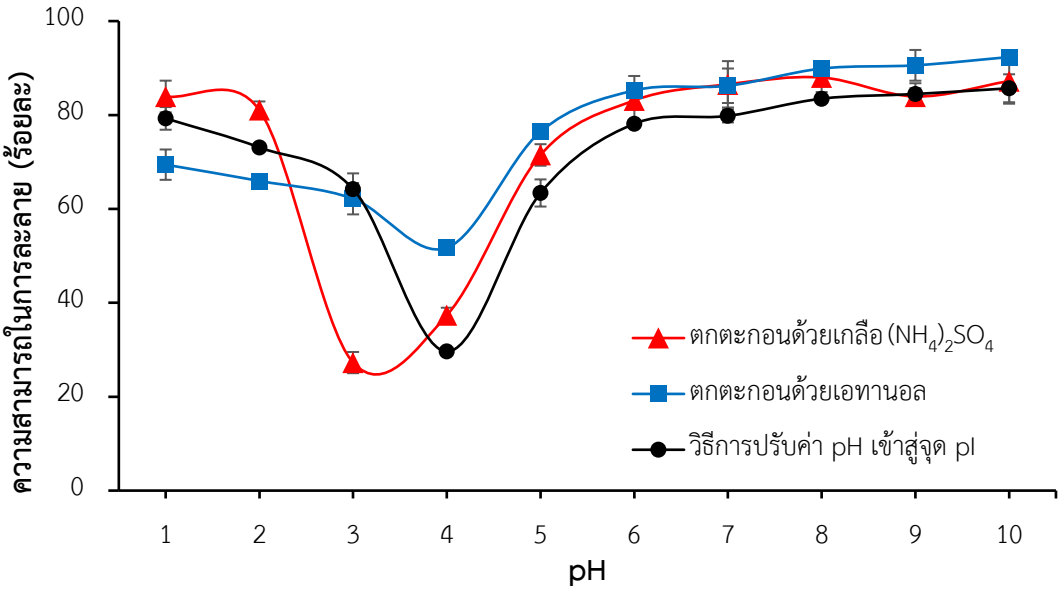
หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3. สมบัติเชิงหน้าที่

3.1 ความสามารถในการละลาย

ความสามารถในการละลายจัดว่าเป็นสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่สำคัญอันดับแรก โดยมีผลต่อคุณสมบัติในด้านอื่น ๆ เช่น ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน การเกิดโฟม การอุ้มน้ำและน้ำมัน การเกิดเจล และความสามารถในการดูดซึมโปรตีนของร่างกาย เป็นต้น (Fathollahy *et al*., 2021) ความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดโปรตีนด้วยการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี ในช่วง pH ที่ 1-10 (ภาพที่ 18) พบว่าความสามารถในการละลายของโปรตีนเพิ่มขึ้นซึ่งแปรผกผันกับค่า pH ที่ลดลงจากค่า pH 4-1 และแปรผันตรงกับค่าpHที่เพิ่มขึ้นจาก pH 4-10 โดยโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ มีความสามารถในการละลายต่ำที่สุดที่ pH 3 ส่วนโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่าการละลายต่ำที่สุดที่ pH 4 เนื่องจากค่า pH ใกล้กับจุด PI ของโปรตีน จึงส่งผลให้โปรตีนไม่ละลาย รวมถึงในโมเลกุลของโปรตีนมีส่วนที่ไม่มีขั้ว (hydrophobicity) เป็นองค์ประกอบจึงนำไปสู่การเกิดปฏิกิริยาของส่วนที่ไม่มีขั้วกับพื้นผิวที่ไม่มีประจุเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งการที่โปรตีนมีประจุบวก และลบเท่ากันทำให้ประจุสุทธิเท่ากับศูนย์เกิดแรงดึงดูดกันเพิ่มขึ้นทำให้โมเลกุลของโปรตีนเกิดการรวมตัวกัน ทำให้โปรตีนตกตะกอนลงมา ขณะที่ค่า pH ที่น้อยกว่า หรือมากกว่า pH 3-4 จะทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนสูงขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนมีประจุสุทธิเป็นบวก และลบมากขึ้นตามลำดับ ส่งผลต่อแรงผลักกันระหว่างโมเลกุลของโปรตีนที่มากขึ้น จึงทำให้โปรตีนเกิดการละลายได้มากขึ้นตาม (Kaur and Singh, 2007; Lawal *et al*., 2005) โปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่าความสามารถในการละลายสูงที่สุดถึงที่ pH 10 ร้อยละ 87.23 92.34 และ 85.69 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Waglay *et al*. (2014) ที่รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตจากมันฝรั่งที่สกัดด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ความเข้มข้นอิ่มตัวร้อยละ 80 มีค่าการละลายได้ต่ำที่สุดที่ pH 3 (ร้อยละ 36.4) และมีค่าการละลายสูงสุดที่ pH 9 (ร้อยละ 67.0) ส่วนโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยการตกตะกอนด้วยเอทานอล มีความสามารถในการละลายได้ต่ำที่สุดที่ pH 4 (ร้อยละ 17.1) และละลายสูงสุดที่ค่า pH 9 (ร้อยละ 57.0) อย่างไรก็ตามกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก็มีส่วนในการส่งเสริมความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลตได้ เนื่องจากในระหว่างกระบวนการทำแห้งจะกำจัดน้ำออกจากตัวอย่างด้วยหลักการระเหิดของไอน้ำ ทำให้โครงสร้างโปรตีนเกิดรูพรุนที่สามารถละลายน้ำได้ดี แต่ไม่ทำให้โครงสร้างของโปรตีนเสียสภาพตามธรรมชาติเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการทำแห้งโดยใช้ความร้อน เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย และการทำแห้งแบบสุญญากาศ เป็นต้น (Gong *et al*., 2016; Shen *et al*., 2021)

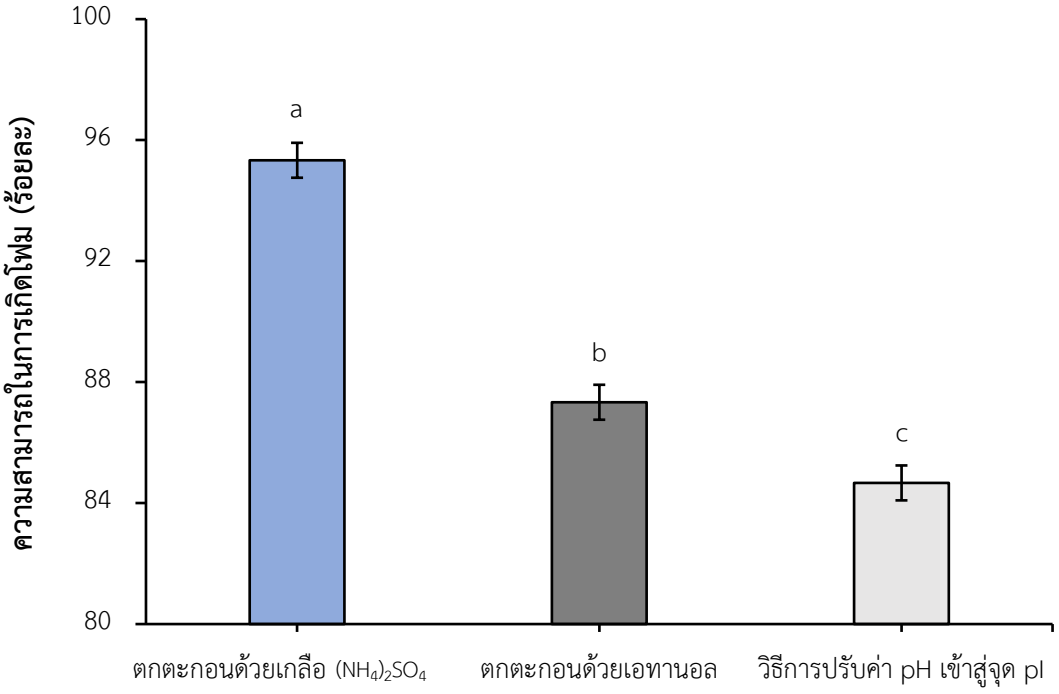


ภาพที่ 18 ความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ ในช่วงค่า pH 1-10

3.2 ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟม

การเกิดโฟมเป็นคุณสมบัติในการอุ้มน้ำ และการกักเก็บอากาศของโปรตีนในบนพื้นผิว ส่งผลให้เกิดความคงตัวของฟิล์มบนผิวหน้าของโปรตีน โดยความสามารถในการเกิดโฟมจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารประกอบของโปรตีนที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำ (Chen *et al*., 2019) ความสามารถในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 19) พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีความสามารถเกิดโฟมแตกต่างกันโดยมีค่าร้อยละ 95.33 87.33 และ 84.67 ตามลำดับ ส่วนความคงตัวของโฟมเมื่อเวลาผ่านไป 90 นาที โปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI จะมีความสามารถในการคงตัวของโฟมที่ร้อยละ 87.00 65.32 และ 65.29 ตามลำดับ Stone *et al*. (2015) สกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีความสามารถในการเกิดโฟมสูงถึงร้อยละ 183.3 133.3 และ 258.3 ตามลำดับ ส่วนความคงตัวของโฟมเมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที อยู่ที่ร้อยละ 68.0 77.8 และ 48.9 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วน Yu *et al*. (2021) พบว่าโปรตีนกลูเตลิน (glutelin) จากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีความสามรถในการเกิดโฟมสูงที่สุดร้อยละ 151 ตามด้วยโปรตีนโกลบูลิน (globulin) ร้อยละ 101.33 และอัลบูมิน (albumin) มีความสามารถในการเกิดโฟมได้ต่ำที่สุดที่ร้อยละ 50 ซึ่งโปรตีนที่มีความสามารถละลายได้ดีจะช่วยเพิ่มความหนืดของสารละลายโปรตีน ส่งผลทำให้โมเลกุลของโปรตีนเชื่อมประสานกันได้ดี การที่จะเกิด

โฟมได้ดีก็ขึ้นกับส่วนที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน (surface hydrophobicity) โดยโปรตีนต้องมีความสามารถในการเกิดเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ ได้รวมถึงมีความแข็งแรงของฟิล์มที่สามารถกักเก็บอากาศไว้ได้ดี และต้องเป็นโปรตีนที่มีโครงสร้างที่สามารถยืดหยุนได้สูง เป็นต้น อีกทั้งขนาดอนุภาคของโปรตีนที่มีขนาดเล็ก ส่งผลต่อการการเกิดโฟมได้ดีกว่าโปรตีนที่มีอนุภาคขนาดใหญ่ (Wilde and Clark., 1996) นอกจากนี้ความสามารถในการคงตัวของโฟมโปรตีนมักจะขึ้นกับการเตรียมวัตถุดิบก่อนการตกตะกอนโปรตีน ได้แก่ การสกัดไขมันออกจากวัตถุดิบ รวมถึงการเติมสารหมู่อะซิทิล (C_2H_3O) ซึ่งจะทำให้โครงสร้างของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลง เป็นต้น (Jain *et al*., 2015) ซึ่งมีรายงานว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ผ่านการไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการเกิดฟองได้ดีกว่าโปรตีนไอโซเลตจากควินัว (Elsohaimy *et al*., 2015)



ภาพที่ 19 ความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 17 ความคงตัวของโฟมของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

วิธีการสกัด	เวลา (นาที)		
	30	60	90
ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$	94.40±0.62^{*a**}	91.11±0.10^{a}	87.00±1.27^{a}
ตกตะกอนด้วยเอทานอล	85.88±0.57^{b}	76.89±0.77^{b}	65.32±0.35^{b}
วิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI	83.86±0.74^{c}	79.82±0.58^{c}	65.29±1.23^{b}

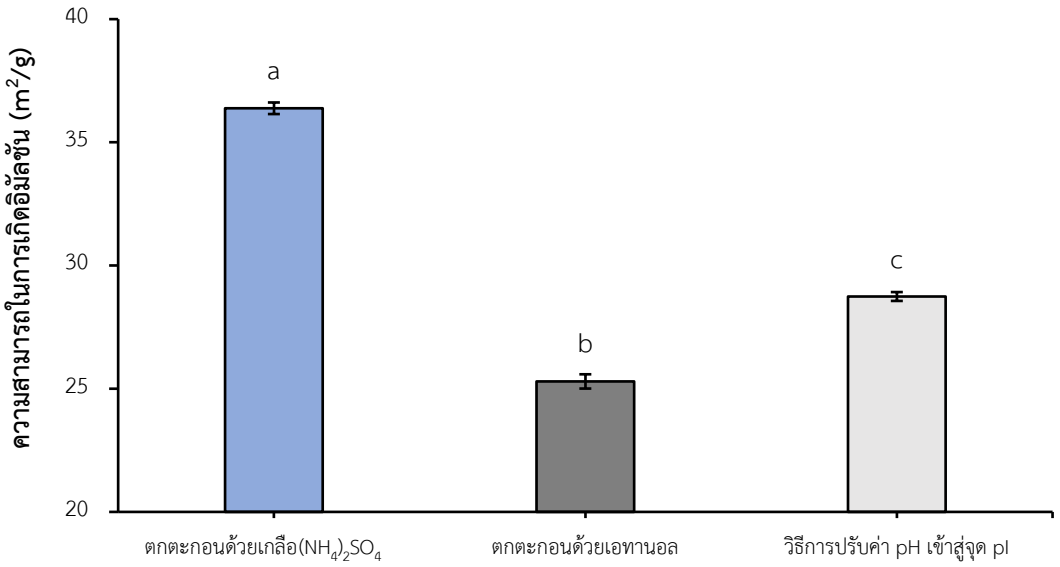
หมายเหตุ : * แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.3 ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชัน

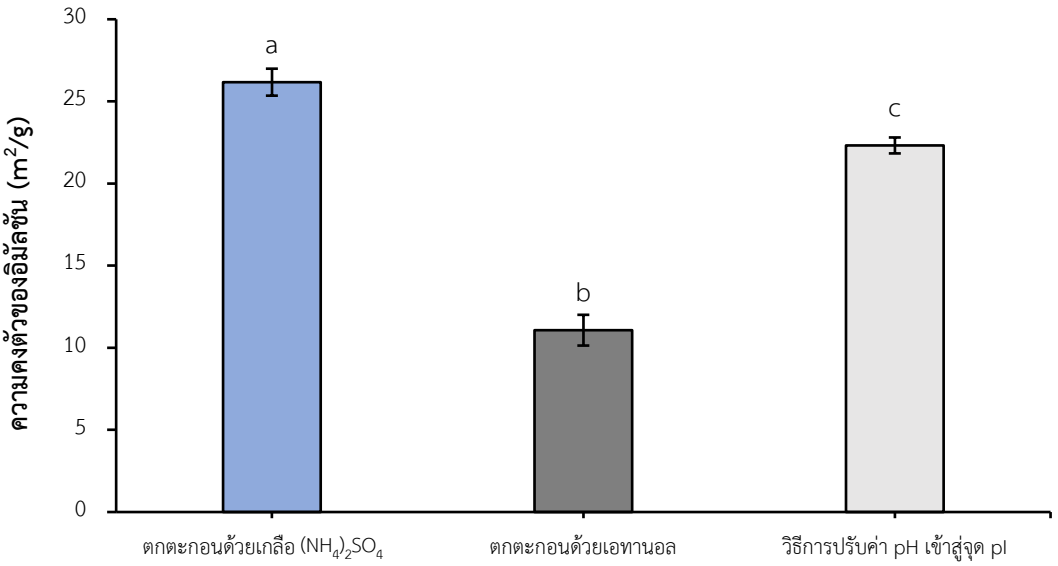
ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 20 และ 21) พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด PI มีความสามารถในการเกิดอิมัลชันที่ 363.83 287.43 และ 252.96 ตารางเมตร/กรัม ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) จากผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับค่าความสามารถในการละลายของโปรตีนไอโซเลต (ภาพที่ 18) เนื่องจากค่า pH ของโปรตีนที่สูงขึ้นทำให้ค่าการละลายสูงขึ้นตาม เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนเกิดการคลายตัวของหมู่ซัลไฟดริล (sulfhydryl group) และหมู่ไฮโดรโฟบิก จึงทำให้ดูดซับผิวสัมผัสระหว่างน้ำ และอากาศได้อย่างรวดเร็ว (Jiang *et al*., 2018) ส่วนความคงตัวของอิมัลชัน พบว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่าความคงตัวของอิมัลชัน 137.51 86.00 และ 55.06 ตารางเมตร/กรัม ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งโมเลกุลของโปรตีนจะประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่มีขั้ว และไม่มีขั้ว มักจะส่งผลต่อคุณสมบัติการชอบน้ำและน้ำมัน ทำให้มีผลต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันตามมา (Ulloa *et al*., 2017) Stone *et al*. (2015) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตจากถั่วลันเตาที่ปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันสูงที่สุดที่ 193.7 และ 97.6 ตารางเมตร/กรัม ตามลำดับ Tirgar *et al*. (2017) เปรียบเทียบคุณสมบัติของอิมัลชันโปรตีนที่สกัดจากเมล็ดแฟลกซ์ที่ผ่านกระบวนการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI และตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 95 พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวอิมัลชันสูงที่สุดเท่ากับ 87.1 และ 12.8 ตารางเมตร/กรัม ตามลำดับ ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน และความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนมีความสำคัญต่อความคงตัวของอาหารที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบเป็นอย่างมาก ซึ่งอิมัลชันเกิดจากโปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำ

ระหว่างเฟสของน้ำ และน้ำมันโดยจะหันส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เข้าหาส่วนที่ชอบน้ำมันจะหันส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) เข้าหาเฟสของน้ำ ทำให้เกิดการกระจายตัวของอนุภาคของน้ำ และน้ำมันได้ดี มักจะพบได้ในผลิตภัณฑ์น้ำสลัด และไส้กรอก เป็นต้น โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณสมบัติการเป็นอิมัลชัน ได้แก่ ความสามารถในการละลาย และการสูญเสียสภาพของโปรตีน เป็นต้น (Amagliani *et al*., 2017)



ภาพที่ 20 ความสามารถในการเกิดอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



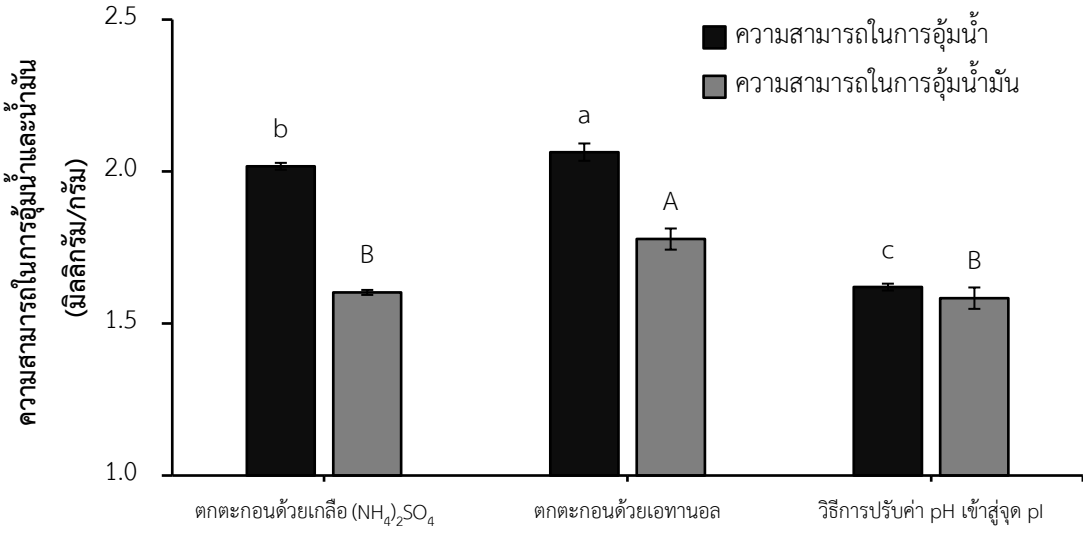
ภาพที่ 21 ความคงตัวของอิมัลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่างๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.4 ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมัน

ความสามารถในการอุ้มน้ำ และน้ำมันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 22) พบว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 2.02 2.06 และ 1.62 มิลลิลิตร/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนความสามารถในการอุ้มน้ำมัน พบว่าการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI เท่ากับ 1.60 1.78 และ 1.58 มิลลิลิตร/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากโปรตีนมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงเกิดจากพันธะไฮโดรเจนระหว่างโปรตีน และโมเลกุลของน้ำที่ทำหน้าที่ในการป้องกันการสูญเสียความชื้นออกจากโปรตีน ส่วนโปรตีนที่มีหมู่ไฮโดรโฟบิกสูงก็จะทำให้มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้น้อย (Gorissen *et al*., 2018) Stone *et al*. (2015) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตถั่วลันเตาที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงถึงร้อยละ 3.5 และความสามารถในการอุ้มน้ำมันสูงถึงร้อยละ 3.6 ส่วน Deng *et al*. (2019) สกัดโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดมะตูม (Quince) ด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุดPI พบว่ามีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงถึง 4.64 กรัม/กรัม และความสามารถในการอุ้มน้ำมันสูงถึง 10.77 กรัม/กรัม ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความสามารถในการอุ้มน้ำมันของโปรตีนเกิดจากโมเลกุลของโปรตีนมีหมู่ที่ชอบน้ำ และไม่ชอบน้ำซึ่งจะส่งผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีความชุ่มฉ่ำ นุ่ม ไม่แห้งแข็ง มักจะช่วยในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทไส้กรอก และซาลามี่ เป็นต้น (Li

et al., 2022; Liu *et al*., 2018) รวมถึงความสามารถในการซึมผ่านของน้ำ และน้ำมันในโปรตีน ความสามารถในการดูดซับน้ำเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของโปรตีนในอาหารที่มีความหนืด เช่น ซุป แป้ง โด คัสตาร์ด และผลิตภัณฑ์ขนมอบ เนื่องจากอาหารเหล่านี้ควรจะดูดซับน้ำโดยไม่ทำให้โปรตีนเกิดการละลาย ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีเนื้อสัมผัสที่ข้นหนืดมากขึ้น นอกจากนี้ความสามารถในการอุ้มน้ำ และน้ำมันเป็นพารามิเตอร์ในการกำหนดคุณสมบัติการพองตัว ความสามารถในการละลาย และคุณสมบัติการเกิด เจลของโปรตีน เป็นต้น (Foegeding and Davis, 2011)



ภาพที่ 22 ความสามารถในการอุ้มน้ำ และน้ำมันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

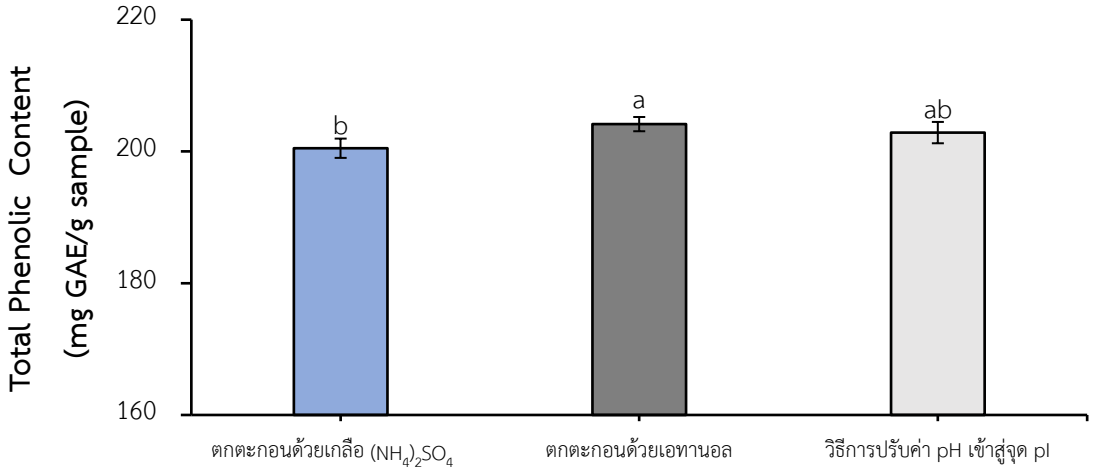
หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรตัวพิมพ์เล็ก หรือพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4. กลุ่มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ

4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านสกัดด้วยกระบวนการทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 23) พบว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 200.49 204.15 และ 202.86 mg Gallic equivalent (GAE)/g sample ตามลำดับ ซึ่งโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนด้วยเอทานอลนั้นมีปริมาณฟินอลลิกทั้งหมดสูงที่สุด เนื่องจากสารประกอบ ฟีนอล โดยทั่วไปมีอยู่ในกรดอิสระที่ละลายได้ รูปแบบพันธะที่ละลายได้และไม่ละลายน้ำ เมื่อทำการตกตะกอนโปรตีนจึงส่งผลให้ได้สารประกอบเหล่านี้ออกมาด้วย เพราะ

จากเอทานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว และไม่มีขั้ว (Bei *et al*., 2017) โดยทั่วไป สารประกอบฟีนอลิกสามารถพบได้ในเครื่องเทศ ธัญพืช สมุนไพร รวมถึงผัก และผลไม้ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยมีโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่ประกอบด้วยอนุพันธ์ของวงเบนซิน และมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ ที่รวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส รวมถึงกรดอินทรีย์ที่อยู่ในโมเลกุลของโปรตีน เทอร์โมฟีนอยด์ และแอลคาลอยด์ เป็นต้น (Barros *et al*., 2008; Khaskheli *et al*., 2015) Hadnađev *et al*. (2018) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตจากเมล็ดกัญชงที่สกัดด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 101.28 mg GAE/100 g sample Xiao *et al*. (2017) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่เพาะเลี้ยงด้วยถั่วแดง และสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่ต่างชนิดกันได้แก่ เมทานอล เอทานอล และอะซิโตน เป็นต้น พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 2,731.90 2,372.38 และ 2,948.57 µg GAE/g dry weight ตามลำดับ



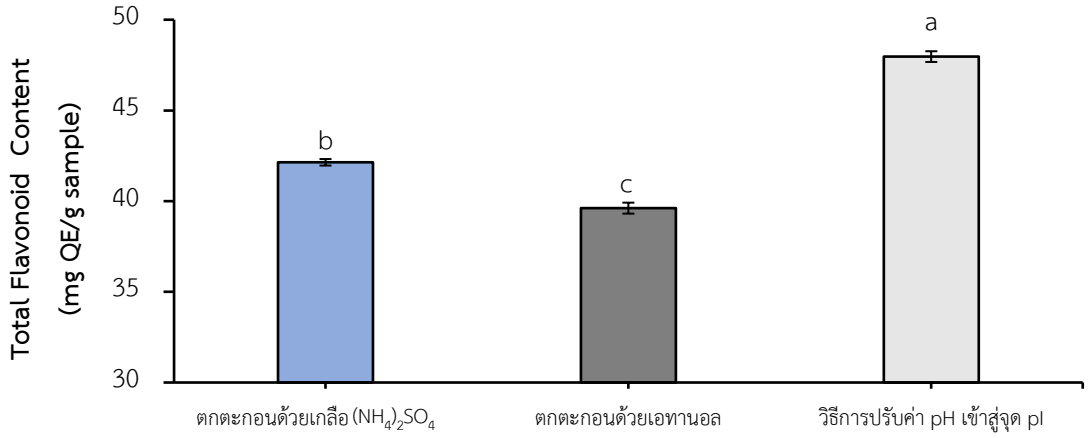
ภาพที่ 23 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 24) พบว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีปริมาณ

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 42.14 39.61 และ 47.97 mg Quercetin equivalent (QE)/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Dai *et al*. (2021) ที่พัฒนาเครื่องดื่มโปรตีนเวย์จากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดวิธีการตกตะกอนด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 80 (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 6.98 mg Rutin equivalent (RE)/g sample และนอกจากนี้ Sahni *et al*. (2020) ทำการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่วแอลแฟลฟา (alfalfa) ที่ผ่านกระบวนตกตะกอนด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 6.48 mg QE/g sample ซึ่งสารประกอบฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่ในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ ซึ่งตามธรรมชาติสารประกอบ ฟลาโวนอยด์มีมากถึง 4,000 ชนิด ส่วนมากจะพบในรูปแบบของฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) มักจะเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคส อะราบิโนส ไซโรส และแรมโนส เป็นต้น โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (phenyl benzopyrones) ที่ประกอบด้วยหมู่คาร์บอนจำนวน 15 ตัว (C_6-C_3-C_6) ที่จัดเรียงกันด้วย Benzene ring และ Heterocyclic pyran ring สามารถพบได้ในผัก และผลไม้ ได้แก่ ถั่วเหลือง ใบชา กระชายดำ องุ่น และลูกยอ เป็นต้น (Narikawa *et al*., 2000)



ภาพที่ 24 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.3 กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ

กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการทั้ง 3 วิธี (ภาพที่ 25) ซึ่งการศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ เป็นการทดสอบหาความสามารถใน

การจำจัดอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร ซึ่งอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่อยู่ในรูปของที่สารละลายเริ่มต้นเป็นสีม่วง เมื่อถูกเหนี่ยวนำเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อได้รับไฮโดรเจนอะตอมจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ซึ่งระดับของกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถวัดการดูดกลืนแสดงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Hou *et al*., 2001) กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI (ภาพที่ 25 (A)) พบว่ามีกิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ เท่ากับ 965.63 903.81 และ 956.11 μM Trolox equivalent (TE)/g samples ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) โปรตีนและอนุพันธ์จะมีประกอบไปด้วยหมู่อะมิโน (NH_2) และหมู่คาบอกซิลิก (COOH) เป็นองค์ประกอบทำให้มีความสามารถในการรับส่งอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลอิสระได้สูง (Chi *et al*., 2014) การตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ และเอทานอลช่วยในการเพิ่มความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ได้ดีขึ้น เนื่องจากโครงสร้างของโปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงทำให้ส่วนที่ไม่ชอบน้ำน้อยลง รวมถึงปริมาณกรดอะมิโนสามารถทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้การที่โปรตีนมีหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (Sulfhydryl group; -SH) ในปริมาณที่สูงก็จะส่งเสริมให้มีกิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ สูงตาม (Arranz *et al*., 2019)

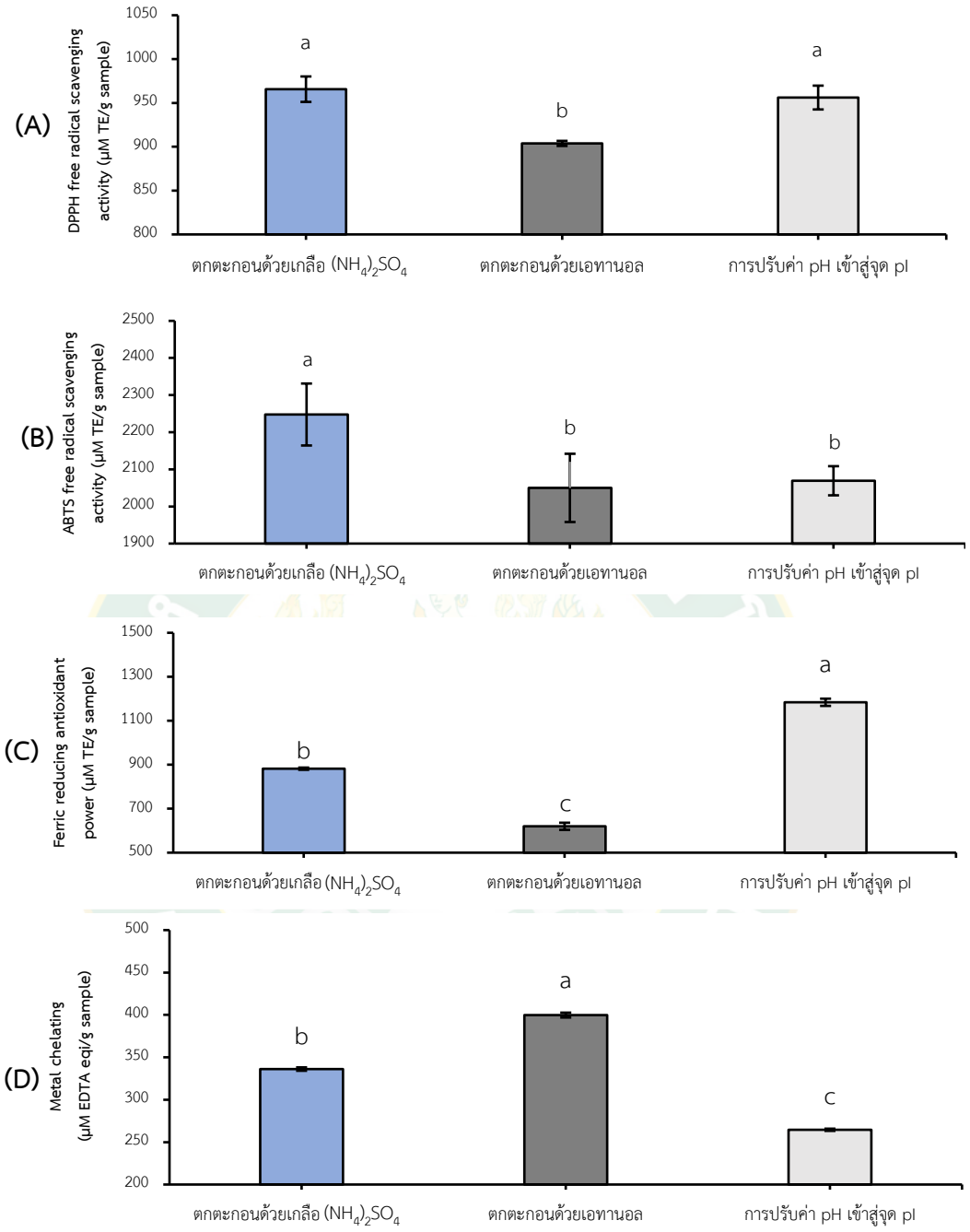
กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ เป็นการวัดหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระทางอ้อมโดยใช้สาร 2, 2-azino-bis ซึ่งจะทำให้เป็นอนุมูลอิสระโดยการออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำ เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก็จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีฟ้า-เขียวแล้วจางลงจนใส่ไม่มีสี และนำไปวัดการดูดกลืนแสดงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (Re *et al*., 1999) กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI (ภาพที่ 25 (B)) พบว่ากิจรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ เท่ากับ 2,247.69 2,050.00 และ 2,069.23 μM TE/g samples ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) กิจรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีความสัมพันธ์กับปัจจัยต่าง ๆ การเพาะเลี้ยง เช่น การสกัด สารอาหาร ปริมาณแสง และอุณหภูมิ เป็นต้น Zhang *et al*. (2020) เพาะเลี้ยงเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยถั่วซิกพี พบว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ สูงถึงร้อยละ 84 นอกจากนี้กรดอะมิโนชนิด ไกลซีน อะลานีน และกรดแอสปาร์ติกจะช่วยทำให้เปปไทด์ และไขมันทำงานร่วมกันที่ส่งผลต่อความเสเถียรของอินุมูลอิสระได้ (Tsopmo *et al*., 2009) นอกจากนี้กรดอะมิโน และเปปไทด์ที่มีความแตกต่างกันในโซ่ข้าง (R-groups) โดยกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนได้แก่ ไทโรซีน ทริปโตเฟน และซิสตีอีน ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl; -OH) กลุ่มอินโดล (indole group; -NH) และหมู่ซัลฟ์ไฮดริล (Sulfhydryl group; -SH) ตามลำดับ สามารถทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียร และอยู่ประจำที่ (delocalization) ซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยสลายปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิเดชันได้ (Zamorano-

Apodaca *et al*., 2020) อย่างไรก็ตามลำดับและชนิดของกรดอะมิโนในสายเปปไทด์ และชนิดของกรดอะมิโนส่งผลต่อกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (Aondona *et al*., 2021) อีกทั้งกระบวนการสกัดโปรตีนเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนทำให้มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Tian *et al*., 2020) Wang and Wang (2015) สกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ได้มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ร้อยละ 5.4 เมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (alcalase) ที่มีระดับการย่อยที่เนื่องจากการปรับค่า pH ให้ห่างจากจุด PI จะเพิ่มการให้อิเล็กตรอน และไฮโดรเจนอะตอมของโปรตีนไอโซเลตส่งผลต่อความเสถียรของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มมากขึ้น (Sbroggio *et al*., 2016)

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) เป็นการทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของสารต้านออกซิเดชัน ซึ่งทดสอบโดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก (เฟอร์ริก) ที่ถูกรีดิวซ์โดยสารต้านออกซิเดชัน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็กเฟอร์รัสที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีที่จางลง สามารถวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร (Benzie and Strain, 1996) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI (ภาพที่ 25 (C)) มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเท่ากับ 881.96 620.00 และ 1,183.92 µM TE/g samples ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกที่เพิ่มขึ้นเป็นผลมาจากการแตกตัวของโมเลกุลโปรตีนไอโซเลตหลังจากการสกัดด้วยเอทานอลทำให้โมเลกุลโปรตีนมีขนาดเล็ก ส่งผลต่อสมบัติการไม่ชอบน้ำที่พื้นผิวนอกจากนี้กรดอะมิโนกลุ่มที่มี R-groups เป็นสารประกอบอะโรมาติก (aromatic) (Arranz *et al*., 2019) Khushairay *et al*. (2023) รายงานกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไอโซเลตจากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกส์ มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเท่ากับ 0.017 µM TE /g samples ซึ่งการใช้คลื่นอัลตราโซนิกส์ช่วยในการสกัดโปรตีนทำให้ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกเพิ่มสูงขึ้น (Fadimu *et al*., 2022; Tian *et al*., 2020)

กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) เป็นการวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ เนื่องจากโลหะไอออนเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาส่งผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปของเฟอร์รัส หรือ Fe^{2+} เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนเป็นสารอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ แอนไอออน (superoxide anion radical; O_2^-) ที่เป็นอนุมูลอิสระเริ่มต้นที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ ต่อไป เมื่อมีการเติมสาร Ferrozine โดยสารนี้จะไปจับกับ Fe^{2+} ทำให้อยู่ในรูปของ Ferrozine Fe^{2+} complex เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระก็จะทำให้เกิดการเปลี่ยนสีจากแดงเป็นจางลง ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร

(Dinis *et al*., 1994) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI (ภาพที่ 25 (D)) พบว่ามีกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 336.13 399.79 และ 264.55 µM EDTA equivalent (EDTA eqi)/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) โดยการตกตะกอนด้วยเอทานอลมีปริมาณกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุด เนื่องจากเอทานอลส่งผลต่อค่าความเป็นด่างของโปรตีนที่สูง ทำให้สามารถจับกับเฟอรัสได้ดีโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่ในรูปของเฟอรัสที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการตกตะกอนวิธีการอื่น ๆ (Nikolaidis *et al*., 2017) นอกจากนี้ Feng *et al*. (2022) สกัดเวย์โปรตีนไอโซเลตที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเอทานอลร้อยละ 40 จนได้โปรตีนไอโซเลตที่มีความเข้มข้นของโปรตีน 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร พบว่ามีกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนที่ร้อยละ 55.26 34.51 และ 55.26 µM EDTA eqi/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วน Sahni *et al*. (2020) รายงานว่าโปรตีนไอโซเลตจากถั่วอัลฟาฟ่าด้วยกระบวนการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI พบว่ามีกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนเท่ากับ 33.02 µmol EDTA eqi/g sample และความสามารถในการจับโลหะเท่ากับ 4.27 mmol EDTA eqi/g sample นอกจากนี้ Li *et al*. (2018) ทำการสกัดโปรตีนไอโซเลตชนิดอัลบูมิน โกลบูลิน และโปรลามินจากมะพร้าว พบว่ามีกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนเท่ากับร้อยละ 5.13 89.14 และ 80.38 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)



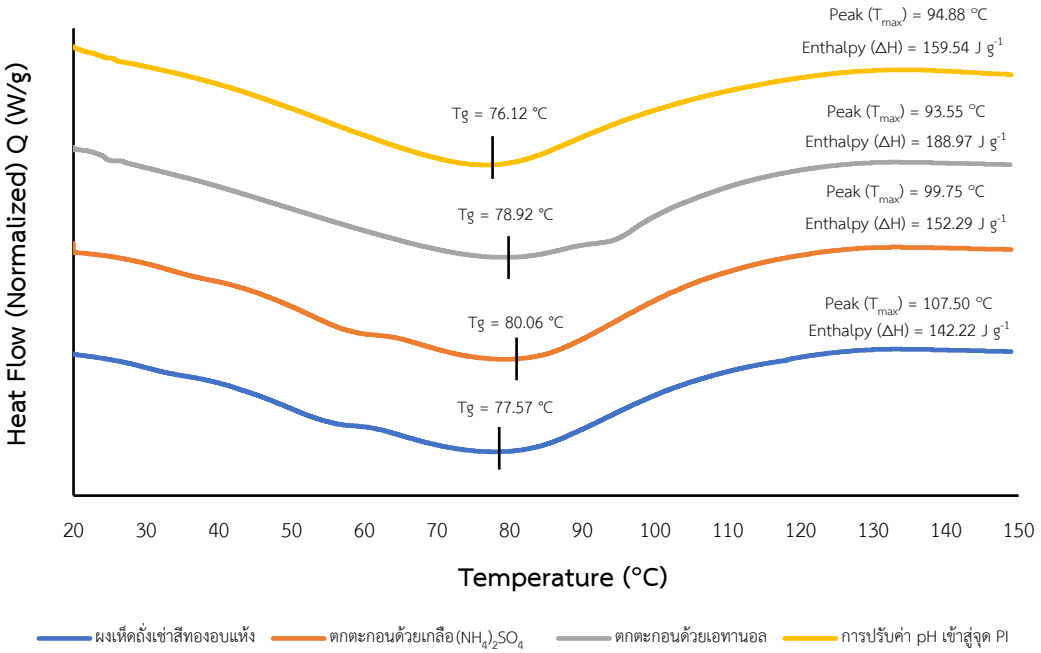
ภาพที่ 25 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (A) จกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (B) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

5. คุณสมบัติทางความร้อน

5.1 สมบัติทางความร้อน

สมบัติทางความร้อนของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนทั้ง 3 วิธี ด้วยเทคนิคดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิงแคลอริมิเตอร์ที่อุณหภูมิ 20-150 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 26) พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียม เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่าอุณหภูมิที่มีการสลายตัวสูงสุด (T_{max}) เท่ากับ 94.88 93.55 99.73 และ 107.50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่ง Differential scanning calorimeter หรือ DSC เป็นวิธีการวัดความแตกต่างระหว่างการถ่ายเทความร้อน (heat flow) ของถาดที่บรรจุตัวอย่าง (sample pan) โดยเปรียบเทียบกับถาดอ้างอิง (reference pan) ซึ่งสามารถบอกค่าของอุณหภูมิที่ทำให้โปรตีนเสียสภาพ นอกจากนี้ผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่าพื้นที่ใต้กราฟ Enthalpy (Δ_H) หรือปริมาณความร้อนในการเปลี่ยนแปลงพลังงานที่ต้องการเท่ากับ 142.22 152.29 188.97 และ 159.54 จูล/กรัม ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนค่า Glass transition temperature หรืออุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (T_g) ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่า T_g เท่ากับ 77.57 80.06 78.92 และ 76.12 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งค่า T_g เป็นตัวแปรที่สำคัญที่สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพ ความคงตัวในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร อีกทั้งในการเก็บรักษาโปรตีนไอโซเลตที่อุณหภูมิต่ำกว่าค่า T_g จะช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาที่นานขึ้น และไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมีของโครงสร้าง เป็นต้น (Nemzer *et al*., 2018; Wang *et al*., 2020, Ruiz *et al*., 2016) ศึกษาค่า T_g ของโปรตีนไอโซเลตจากควินัวที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI ที่ค่า pH 8 9 และ 10 พบว่าที่ค่า pH 8 และ 10 โปรตีนมีค่า T_g สูงสุดเท่ากับอุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส ส่วนที่ pH 9 มีค่า T_g ที่ 99 องศาเซลเซียส เนื่องจากปฏิกิริยาไฮโดรโฟบิกและพันธะไดซัลไฟด์ที่เหลืออยู่เป็นจำนวนมากในขั้นตอนการปรับค่า pH ที่มีค่าเป็นด่างเพื่อให้โปรตีนเกิดการละลาย จึงทำให้วิธีการสกัดส่งผลต่ออุณหภูมิการเสียสภาพของโปรตีนได้ Zhang *et al*. (2017) เปรียบเทียบการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากมันฝรั่งด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีค่า T_g สูงสุดที่อุณหภูมิ 68.04 และ 65.55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)



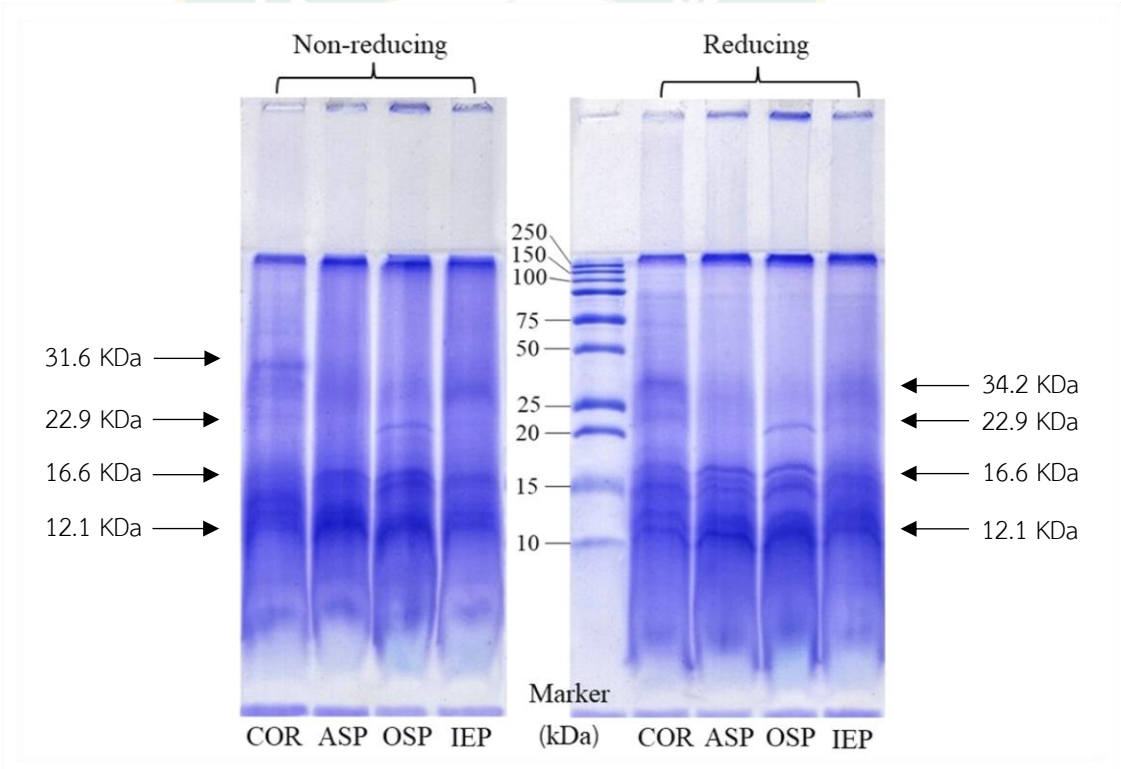
ภาพที่ 26 สมบัติทางความร้อนของเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

6. คุณสมบัติเชิงโครงสร้าง

6.1 รูปแบบของโปรตีนโดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (SDS-PAGE)

การศึกษารูปแบบของโปรตีนโดยวิธีโดยวิธีโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต-โพลีอะคริลาไมด์เจลอิเล็กโทรโฟรีซิส (SDS-PAGE) ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดทั้ง 3 วิธี ภายใต้สภาวะ Non-reducing และ Reducing (ภาพที่ 27) จากการตรวจสอบน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนภายใต้สภาวะ Non-reducing พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนสกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเท่ากับ 12.1 16.6 22.9 และ 31.6 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ภายใต้สภาวะ Reducing พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุดPIมีน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนเท่ากับ 12.1 16.6 22.9 และ 34.2 กิโลดาลตัน Yu *et al*. (2021) รายงานว่ารูปแบบโปรตีนของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่วิเคราะห์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE พบว่าแถบโปรตีนอัลบูมิน (albumin) และโปรตีนโกลบูลิน (globulin) อยู่ในช่วง 10-50 กิโลดาลตัน ซึ่งโปรตีนอัลบูมินมีแถบโปรตีนสีเข้มของน้ำหนักโมเลกุลอยู่

ที่ 11.1 13.8 และ 17.9 กิโลดาลตัน ตามลำดับ ส่วนโปรตีนโกลบูลินมีแถบสีเข้มอยู่ที่ 10.7 12.5 และ 17.3 กิโลดาลตัน ตามลำดับ และโปรตีนกูลเตลิน (glutelin) นั้นไม่สามารถระบุน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนออกมาได้เนื่องจากมีน้ำหนักโมเลกุลที่มากกว่า 180 กิโลดาลตัน อีกทั้งในกระบวนการทำแห้งโปรตีนไอโซเลตมีผลต่อการแตกตัวของพันธะไดซัลไฟด์ที่อยู่ภายในโมเลกุลของโปรตีน มีผลทำให้ความเข้มของแถบน้ำหนักโมเลกุลลดลง (Timilsena *et al*., 2016) ซึ่ง Park *et al*. (2009) พบว่าโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีน้ำหนักโมเลกุล 18 กิโลดาลตัน มีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้ Yang *et al*. (2021) พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 15 และ 30 กิโลดาลตัน สามารถช่วยในการเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย ป้องกันการเกิดเนื้องอกที่ส่งต่อความเสี่ยงเป็นมะเร็งเต้านมของผู้หญิงได้

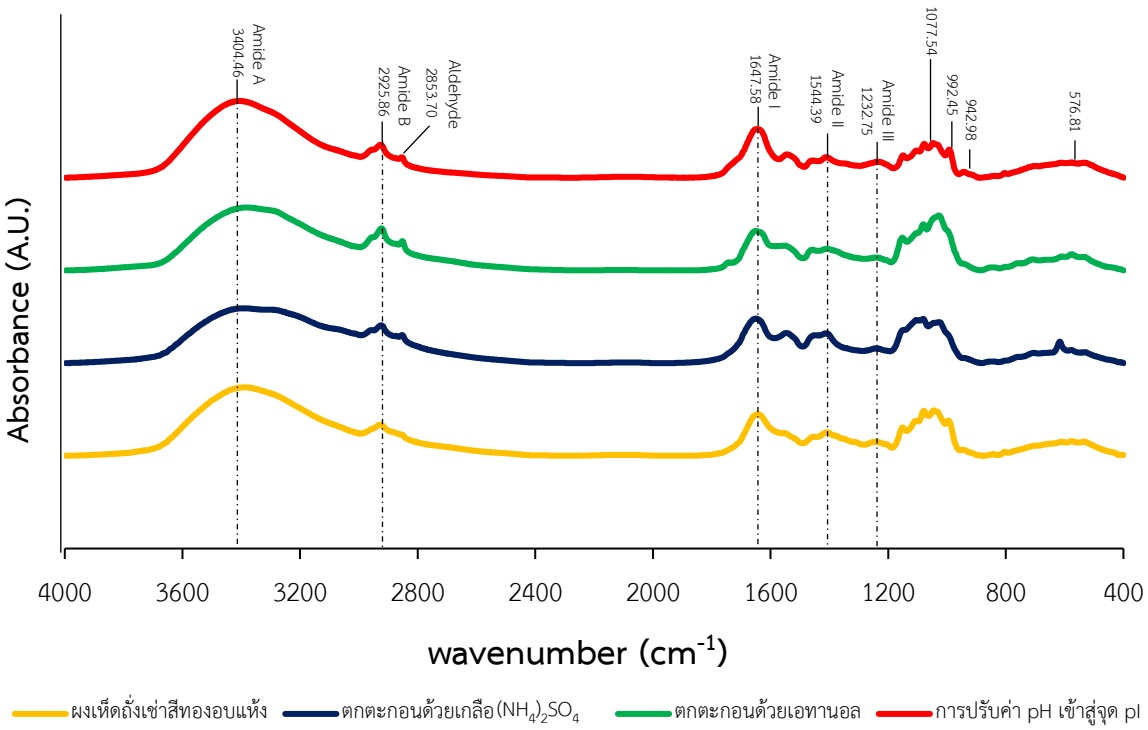


ภาพที่ 27 รูปแบบโปรตีนด้วยเทคนิค SDS-PAGE ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

หมายเหตุ : COR หมายถึง ผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง ASP หมายถึง การตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ OSP หมายถึง การตกตะกอนด้วยเอทานอล และ IEP หมายถึง การตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI

6.2 การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค FTIR

การศึกษาหมู่ฟังก์ชันของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้ง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการทั้ง 3 วิธี ด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) (ภาพที่ 28) พบว่าหมู่ฟังก์ชันที่เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างโปรตีนของเห็ดถั่งเช่าสีทองประกอบด้วยหมู่ Amide I ที่เลขคลื่น 1,600-1,700 cm^{-1} หมู่ Amide II ที่เลขคลื่น 1,600-1,500 cm^{-1} และหมู่ Amide III ที่เลขคลื่น1,400-1,200 cm^{-1} (Surewicz *et al*., 1993) จากผลการทดลองพบว่า หมู่ Amide I ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 1,643.15 1,649.75 1,650.84 และ 1647.58 cm^{-1} ตามลำดับ โดยหมู่ Amide I เกี่ยวข้องกับโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีนที่เกิดจากการสั่นสะเทือนของการยืดตัวหมู่คาร์บอนิลในเปปไทด์ (C=O) ซึ่งบ่งชี้ถึงการงอตัวที่ตำแหน่ง N-H และการยืดตัวของตำแหน่ง C-N (Carbonaro and Nucara, 2010) หมู่ Amide II ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 1,409.46 1,547.35 1,457.07 และ 1,544.39 cm^{-1} ตามลำดับ ที่เกี่ยวข้องกับการงอตัวที่ตำแหน่ง N-H และ C-O รวมถึงการยืดตัวของตำแหน่ง C-N N-C และ C-C ส่วนหมู่ Amide III ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 1,243.37 1,411.81 1,407.49 และ 1,457.23 cm^{-1} ตามลำดับ ซึ่งหมู่ Amide III จะเกี่ยวข้องกับการงอตัวที่ตำแหน่ง N-H และ C-O รวมถึงการยืดตัวของตำแหน่ง C-N และ C-C (Kudre *et al*., 2013; Zeng *et al*., 2011) นอกจากนี้หมู่ Amide A มีเลขคลื่นที่ 3,300-3,400 cm^{-1} เกี่ยวข้องกับพันธะอิสระที่ตำแหน่ง N-H และพันธะไฮโดรเจนของผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 3,390.51 3,391.35 3,380.72 และ 3,404.46 cm^{-1} ตามลำดับ (Carbonaro and Nucara, 2010) ในส่วนของ Amide B มีเลขคลื่นที่ 2,926 cm^{-1} พบว่าผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วย $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 2,926.43 2,923.81 2,922.69 และ 2925.86 cm^{-1} ตามลำดับ แสดงการยืดตัวของ $-CH_2$ และ $N-H^{3+}$ (Kudre *et al*., 2013; Zeng *et al*., 2011) ในส่วนของหมู่ Aldehyde พบว่าโปรตีนที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ เอทานอล และวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีเลขคลื่นที่ 2859.15 2864.53 และ 2853.70 ตามลำดับ ส่วนผงเห็ดถั่งเช่าสีทองอบแห้งไม่พบหมู่ Aldehyde

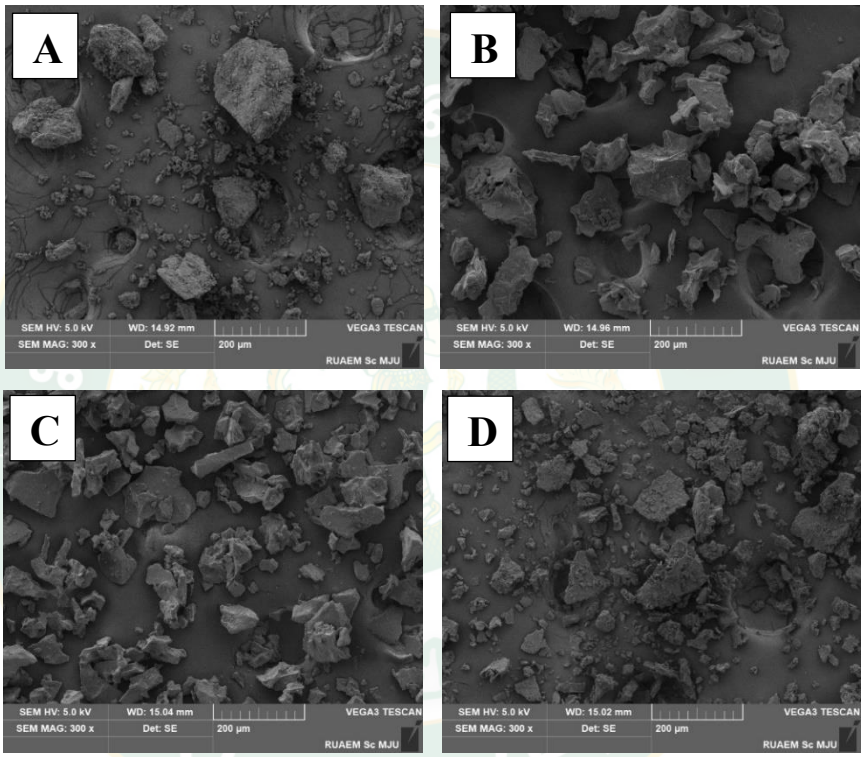


ภาพที่ 28 FTIR spectrum ของผงเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ

6.3 โครงสร้างทางจุลภาค

ในการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีการทั้ง 3 วิธี ด้วยเทคนิคการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM) ที่ 5 กิโลโวลท์ กำลังขยาย 300 เท่า (ภาพที่ 29) พบว่าโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วยวิธีการตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ และเอทานอลมีลักษณะที่ค่อนข้างสม่ำเสมอ มีพื้นผิวที่เรียบเนียน และกระจายตัวได้ดี โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 20-90 และ 10-80 ไมโครเมตร ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามผงเห็ดถั่งเช่าสีทองและโปรตีนไอโซเลตที่สกัดด้วยวิธีการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI มีลักษณะของพื้นผิวที่ไม่สม่ำเสมอ มีพื้นผิวที่ขรุขระ มีขนาดขนาดอยู่ในช่วง 5-150 และ 5-120 ไมโครเมตร ตามลำดับ โดยพื้นผิวที่ไม่สม่ำเสมอเกิดจากโมเลกุลของโปรตีนที่มีความหนาแน่นสูง ซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสามารถในการละลาย และการกระจายตัวของโปรตีนได้ (Wang *et al*., 2019) วิธีการสกัด และกระบวนการทำแห้งมีผลอย่างมากต่อลักษณะของโครงสร้างทางจุลภาค โดยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะส่งผลทำให้พื้นผิวของโปรตีนเรียบ มีอนุภาคที่สม่ำเสมอ และมีขนาดที่ใกล้เคียงกัน (Gong *et al*., 2016) Yan and Zhou (2021) สกัดโปรตีนไอโซเลตจากถั่ววอลนัทที่ตกตะกอนด้วยโซเดียมไตรเมตาฟอสเฟต

พบว่าลักษณะของโครงสร้างทางจุลภาคมีพื้นผิวที่ขรุขระ และมีรูเว้าขนาดเล็กอยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งอาจจะเกิดจากกระบวนการตกตะกอนที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาฟอสโฟรีเลชั่นของโปรตีนเป็นจำนวนมาก ส่วน Zhao *et al*. (2022) เติมโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต และโซเดียมเมทาฟอสเฟตเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตที่สกัดจากใบงาเพริลา (perilla) ส่งผลทำให้ลักษณะโครงทางจุลภาคของโปรตีนมีผิวที่เรียบเนียน อีกทั้งยังมีความหนาแน่นของพื้นผิวสูง ในทางตรงกันข้าวตัวอย่างที่ไม่มีการเติมสารดังกล่าวมีพื้นผิวที่หยาบ และมีขนาดของอนุภาคที่ไม่สม่ำเสมอ



ภาพที่ 29 โครงสร้างทางจุลภาคด้วยเทคนิค SEM ของเห็ดถั่งเช่าสีทอง และโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สกัดด้วยวิธีการสกัดต่าง ๆ ที่กำลังขยาย 300 เท่า

หมายเหตุ : A หมายถึง เห็ดถั่งเช่าสีทอง B หมายถึง การตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ C หมายถึง การตกตะกอนด้วยเอทานอล และ D หมายถึง การตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI

ตอนที่ 2 การศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2.1 ศึกษาผลของชนิดของสารห่อหุ้มต่อคุณลักษณะ และประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การทดลองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในกระบวนการไมโครเอนแคปซูลเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากกระบวนการตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ (ตอนที่ 1) โดยศึกษาสัดส่วนที่เหมาะสมของชนิดสารห่อหุ้ม (wall material) ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (beta-cyclodextrins) ซึ่งมอลโทเดกซ์ทริน เป็นสารที่เป็นอนุพันธ์ของแป้งที่ผ่านกระบวนการย่อยบางส่วนให้ได้โพลีแซ็กคาร์ไรด์สายสั้น มีลักษณะเป็นผงสีขาวที่ไม่มีกลิ่นมีรสชาติหวานเล็กน้อย สามารถละลายน้ำได้ดี นิยมใช้ในกระบวนการเอนแคปซูเลชันเพื่อเพิ่มปริมาณของอาหาร (bulking agent) ห่อหุ้มและป้องกันสารสำคัญ (core material) ให้มีความคงตัวและไม่จับตัวกันเป็นก้อน (Sarabandi *et al*., 2017) ส่วนเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นอนุพันธ์ของแป้งเช่นกันมีคุณสมบัติทางโครงสร้างรอบนอกที่ชอบน้ำ (hydrophilic) แต่โครงสร้างด้านในจะเป็นโพรงของโครงสร้างวงแหวนจะมีคุณสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงมีคุณสมบัติเป็นสารห่อหุ้มสารสำคัญได้ดี อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความสามารถในการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้ดี เพิ่มความคงตัว และป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสำคัญ (Yang *et al*., 2012)

2.1.1 คุณลักษณะทางกายภาพ

2.1.1.1 ลักษณะปรากฏ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ (ภาพที่ 30) พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกชุดการทดลองมีลักษณะเป็นผงละเอียด สีเหลือง ไม่จับตัวกันเป็นก้อน เนื่องจากการเติมสารห่อหุ้มข้างต้นร่วมกับกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิสูงจึงทำให้ไมโครเอนแคปซูลที่มีความคงตัวเพิ่มมากขึ้น เกิดรูพรุนในโครงสร้างสูงทำให้ผงที่ได้มีความชื้น และปริมาณน้ำอิสระที่ต่ำ (Suyalek *et al*., 2020) เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากต้นทุนต่ำ ง่ายและทำให้ผลิตภัณฑ์ผงที่ได้มีคุณภาพสูง (Grgić *et al*., 2020) ปัจจุบันนิยมนำกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยมาประยุกต์วิธีผลิตไมโครเอนแคปซูลเพื่อเก็บรักษาคุณภาพโปรตีนมากขึ้น เช่น โปรตีนไอโซเลต โปรตีนไฮโดรไลเสต และสารสกัดจากเปปไทด์ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงคุณภาพที่ลดลงอย่างรวดเร็วในด้านคุณภาพทางกายภาพ-เคมี และการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในระหว่างการขนส่ง ตลอดจนการเก็บรักษา เป็นต้น (Jafari *et al*., 2019; Sarabandi *et al*., 2019)

ภาพที่ 30 ลักษณะปรากฏของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

หมายเหตุ : MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

2.1.1.2 ร้อยละผลผลิต

การศึกษาผลของชนิดของสารห่อหุ้มต่อร้อยละผลผลิตของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dry) โดยห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตให้เป็นไมโครเอนแคปซูลด้วยสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) (ตารางที่ 17) พบว่าโปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 65.51 68.57 และ 72.31-73.89 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนต่าง ๆ มีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดที่ 72.31-73.89 ซึ่งปริมาณร้อยละผลผลิตที่สูงขึ้นของอนุภาคขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นผงเกิดจากการรวมตัวกันอย่างรวดเร็วของเปลือกแห้งที่ผิวนอกของผงตัวอย่าง (drying crust) ทำให้ช่วยลดการเกาะติดของผงตัวอย่างที่ผนังตัวถังอบแห้ง (drying chamber) ของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ (Escobar-Avello *et al*., 2021) การเพิ่มปริมาณของสารห่อหุ้มที่เหมาะสมส่งผลต่อร้อยละผลผลิต และความสามารถในการผลิตผงไมโครเอนแคปซูล (Chong and Wong,

2015) อย่างไรก็ตาม หากปริมาณของสารสำคัญ และสารห่อหุ้มไม่อยู่ในระดับที่เหมาะสม รวมถึงมีปริมาณของสารแข็งที่ละลายได้ (total soluble solids) และความหนืดที่สูงมากเกินไป ส่งผลทำให้ปริมาณร้อยละการผลิตลดลง การที่สารละลายเริ่มต้นมีความเข้มข้นสูงอาจสร้างความสามารถในการรวมตัวของอิมัลชันในระหว่างกระบวนการทำให้เป็นละอองลดลง ซึ่งเกิดผลให้เกิดตัวอย่างของผงที่เหนียวติดกับหัวฉีดในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ (Burhan *et al*., 2019; Tonon *et al*., 2008) ในงานวิจัยของ Wong *et al*. (2018) และ Mishra *et al*. (2015) ทำการเพิ่มปริมาณของมอลโทเดกซ์ทรินที่ร้อยละ 10-30 เป็นร้อยละ 40-50 ส่งผลต่อค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงขึ้นถึง 42.12 Brix^{o} ทำให้ปริมาณร้อยละผลผลิตลดลง อันเป็นผลมาจากความหนืดของสารละลายที่เพิ่มขึ้น ทำให้ละอองฝอยที่ฉีดพ่นมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่ เกิดการเกาะติดกับตัวถังอบแห้งได้

ตารางที่ 18 ร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ร้อยละผลผลิต (ร้อยละ)
MD*	65.51±0.97**c***
Beta-CD	68.57±1.14[b]
MD1:Beta-CD1	72.31±1.24[a]
MD1:Beta-CD2	73.89±0.54[a]
MD2:Beta-CD1	72.48±0.74[a]

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.1.3 ประสิทธิภาพการเอนแคปซูลเลชัน

การศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองอยู่ในช่วงร้อยละ 86.52-89.44 (ตารางที่ 18) โดยโปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินอย่างเดียวมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงสุดที่ร้อยละ 89.44 ขณะที่มอลโทเดกซ์ทรินร่วมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 1:2 1:1 และ 2:1 มีค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มรองลงมาเท่ากับร้อยละ 88.20 88.17 และ 87.59 ตามลำดับ ส่วนการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงตัวเดียวมี

ประสิทธิภาพการห่อหุ้มต่ำที่สุดที่ร้อยละ 86.52 ($p \leq 0.05$) เนื่องจากเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีโครงสร้างเป็นรูปวงแหวนที่ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส 7 โมเลกุล ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ Alpha-1,4-glycosidic จัดเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่เกิดจากกระบวนการย่อยคาร์โบไฮเดรตด้วยเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานเฟอเรส (cyclodextrin glycosyltransferase) (Siva *et al*., 2020) มีคุณสมบัติในการกักเก็บสารสำคัญได้สูง โดยมีโครงสร้างภายในโมเลกุลที่ประกอบไปด้วยหมู่ไฮโดรเจน และกลูโคซิดิกออกซิเจนซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำจึงทำให้เกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลของสารอินทรีย์ (Quan *et al*., 2020) Dobroslavić *et al*. (2023) รายงานว่าการห่อหุ้มสารสกัดฟีนอลิกจากใบกระวาน (bay leaf) ด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในอัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยใช้เทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส พบว่ามีร้อยละผลผลิตที่สัมพันธ์กับค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงถึงร้อยละ 78.96 และ 74.41 ตามลำดับ นอกจากนี้ Escobar-Avello *et al*. (2021) ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารละลายที่สกัดจากต้นองุ่นในเอทานอลที่อัตราส่วน 30:70 (ปริมาตร/ปริมาตร) ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินร่วมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนร้อยละ 2.2 และ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ พบว่ามีร้อยละผลผลิตสูงถึงร้อยละ 83.80 ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการห่อหุ้มถึง 2 เท่า และมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงถึงร้อยละ 80.50

ตารางที่ 19 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (ร้อยละ)
MD*	86.52±0.22**d***
Beta-CD	89.44±0.25[a]
MD1:Beta-CD1	88.17±0.10[b]
MD1:Beta-CD2	88.20±0.13[b]
MD2:Beta-CD1	87.59±0.46[c]

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.1.4 ค่าสี

ค่าสีเป็นคุณสมบัติทางที่สำคัญของผลิตภัณฑ์อาหารชนิดผงที่ส่งผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสที่สำคัญของผู้บริโภค ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ (ตารางที่ 19) พบว่ามอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่า *L** อยู่ในช่วง 74.74-79.20 ค่า *a** อยู่ในช่วง 7.32-8.65 ส่วนค่า *b** อยู่ในช่วง 35.59-41.52 และค่า ΔE^* อยู่ในช่วง 38.94-46.21 โดยการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวมีค่าสูงที่สุด ($p \leq 0.05$) 79.20 แต่เมื่อนำมาผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 2:1 กลับมีค่า *L** ต่ำที่สุด 74.74 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ห่อหุ้มด้วยด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีสีแดง และสีเหลืองที่เข้มมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับมอลโทเดกซ์ทริน จากผลการทดลองข้างต้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharayei *et al*. (2020) ที่ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากใบกระวานด้วยการเพิ่มปริมาณของสารห่อหุ้มเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 10 ส่งผลทำให้ค่า *L** และ *b** ที่เพิ่มสูงขึ้นด้วย และการห่อหุ้มสารสกัดด้วยมอลโทเดกซ์ทรินจะส่งผลให้มีค่าความสว่าง และค่าความเป็นสีเหลืองสูงกว่าการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ส่วนค่า *a** ของผงไมโครเอนแคปซูลที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีค่าลดลง ปัจจัยที่สำคัญต่อค่า *L** ของผงไมโครเอนแคปซูลขึ้นอยู่กับอุณหภูมิขาเข้าระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย และปริมาณของมอลโทเดกซ์ทรินที่ใช้ในการห่อหุ้ม Zhang *et al*. (2018) พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการทำแห้งจากอุณหภูมิ 120 เป็น 200 องศาเซลเซียส ทำให้ค่าความสว่างของผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากซังข้าวโพดมีค่าต่ำลงจาก 98.06 เป็น 97.92 รวมถึงการเพิ่มปริมาณมอลโทเดกซ์ทรินในกระบวนการห่อหุ้มที่เพิ่มจากร้อยละ 6 เป็น 36 ทำให้ตัวอย่างมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นจากที่ 97.28 เป็น 98.11 ซึ่งอุณหภูมิขาเข้าที่สูงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด ที่เป็นปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นในระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์จึงทำให้สีของผงไมโครเอนแคปซูลมีสีที่เข้มข้น

ตารางที่ 20 ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ค่าสี			
	*L**	*a**	*b**	Δ*E**
MD*	79.20±0.01**a***	7.32±0.01^{e}	35.59±0.01^{e}	38.94±0.01^{e}
Beta-CD	75.61±0.03^{d}	7.57±0.02^{c}	41.27±0.01^{b}	45.51±0.02^{b}
MD1:Beta-CD1	76.96±0.02^{b}	8.65±0.01^{a}	38.29±0.01^{d}	42.27±0.02^{d}
MD1:Beta-CD2	75.92±0.01^{c}	8.65±0.01^{a}	40.67±0.01^{c}	45.07±0.01^{c}
MD2:Beta-CD1	74.74±0.01^{e}	8.25±0.01^{b}	41.52±0.01^{a}	46.21±0.01^{a}

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.1.5 กิจกรรมของน้ำอิสระ

ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ (ภาพที่ 20) พบว่ามอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมของน้ำอิสระอยู่ระหว่าง 0.21-0.25 โดยทุกตัวอย่างมีกิจกรรมของน้ำอิสระอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์เห็ดหลินจือผงสำเร็จรูปตามข้อกำหนด มผช. 862/2556 ที่กำหนดให้ต้องมีปริมาณน้ำอิสระต่ำกว่า 0.6 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556) ซึ่งตัวอย่างมีปริมาณน้ำอิสระต่ำกว่า 0.6 ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ รวมถึงไม่ส่งเสริมการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีได้ (Mahdi *et al*., 2020; Valková *et al*., 2022) นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวมีกิจกรรมของน้ำอิสระสูงที่สุด 0.25 ซึ่งในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยนั้น มีผลต่อการเกิดรูพรุนในโครงสร้างของผงไมโครเอนแคปซูลรวมถึงการถ่ายเทความร้อน และมวลจำเป็นต้องมีประสิทธิภาพมากขึ้นเพื่อเพิ่มอัตราการระเหยน้ำของตัวอย่าง แต่ ในกรณีที่ตัวอย่างมีส่วนผสมของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน การละลายเกิดขึ้นได้ดีกว่าที่มีมอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้ม (Flores and Caro, 2022; Pudziuvelyte *et al*., 2020)

ตารางที่ 21 ปริมาณน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำอิสระ
MD*	0.25±0.01**a***
Beta-CD	0.23±0.02ab
MD1:Beta-CD1	0.23±0.01ab
MD1:Beta-CD2	0.22±0.03b
MD2:Beta-CD1	0.21±0.02b

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.1.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ (ตารางที่ 21) พบว่าโปตีนไอโซเลตที่ใช้มอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นสารห่อหุ้มมีความสามารถในการละลายน้ำอยู่ในช่วงที่ร้อยละ 84.13-95.67 ขณะที่การห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวมีผลทำให้ไมโครเอนแคปซูลมีความสามารถในการละลายสูงที่สุดร้อยละ 95.67 ส่วนการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 1:2 2:1 และ 1:1 มีค่าความสามารถในการละลายรองลงมาเท่ากับ 93.88 92.75 และ 88.99 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวมีค่าการละลายต่ำที่สุดที่ร้อยละ 84.13 โดยความสามารถในการละลายเป็นคุณลักษณะที่สำคัญของสมบัติเชิงหน้าที่ของผงไมโครเอนแคปซูล ซึ่งกระบวนการเตรียมวัตถุดิบ ขั้นตอนและอุณหภูมิในการทำแห้ง รวมถึงเครื่องมือที่ใช้ในการทำแห้งล้วนเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อความสามารถในการละลายของผงไมโครเอนแคปซูล (Shishir and Chen, 2017) นอกจากนี้ตัวอย่างที่มีอนุภาคขนาดเล็กที่ละเอียด กระจายตัวได้ดี และมีปริมาณความชื้นต่ำ ส่งผลทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสของผงตัวอย่างที่มากพอทำให้มีความสามารถในการดูดซับน้ำได้เร็วและดีตาม (Barbosa-Cánovas *et al*., 2005) Villela-Castrejón *et al*. (2017) รายงานว่ากระบวนการผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดข้าวโพดจากของเสีย

ในโรงงาน (corn wastewater; nejayote) โดยใช้เทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้ได้อนุภาคของผงขนาดเล็ก มีลักษณะเป็นทรงกลมที่มีการกระจายของขนาดอนุภาคของผงแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารห่อหุ้มที่ใช้ โดยลักษณะของผงไมโครเอนแคปซูลที่ใช้เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในการห่อหุ้มมีขนาดอนุภาคเล็กผิวหน้าเรียบ และมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันส่วนการใช้มอลโทเดกซ์ทรินในการห่อหุ้มทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มมากขึ้น จึงมีค่าความสามารถในการละลายสูงถึงร้อยละ 78.1-80.0

ตารางที่ 22 ความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ความสามารถในการละลายน้ำ (ร้อยละ)
MD*	84.13±0.68**e***
Beta-CD	95.67±0.75[a]
MD1:Beta-CD1	88.99±0.41[d]
MD1:Beta-CD2	93.88±0.72[b]
MD2:Beta-CD1	92.75±0.33[c]

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.2 คุณลักษณะทางเคมี

2.1.2.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ร้อยละปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ (ตารางที่ 22) พบว่าไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตที่ใช้มอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 2.19-2.41 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์นมผง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 345/2556 ที่กำหนดให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2556) ปริมาณความชื้นมีความสำคัญอย่างยิ่งในอาหารชนิดผง เนื่องจากประกอบไปด้วยน้ำในอาหารที่อยู่ในรูปของน้ำที่แทรกตัวระหว่างช่องว่างในอาหาร และน้ำ

อิสระที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาทางเคมีที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านเคมี และกายภาพของอาหารผงในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งความคงตัวของอาหารชนิดผงมีความสัมพันธ์โดยตรงกับกิจกรรมของน้ำอิสระในอาหารชนิดผง หรือความสมดุลของความชื้นในอาหารผงนั้นเอง (Myhara *et al*., 1998) ตัวอย่างที่มีปริมาณความชื้นสูงจะทำให้เกิดการเกาะตัวกันเป็นกลุ่มก้อนได้ง่าย อีกทั้งความชื้นยังมีโอกาสเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) กับกรดอะมิโน (amino acid) ที่ทำให้ความสามารถในการละลายลดลง (Liu *et al*., 2010) และความสามารถในการละลาย อาจขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผงไมโครเอนแคปซูลอันได้แก่ ร้อยละปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต ที่ไปขัดขวางสมบัติการดูดซับน้ำ (wettability) ในบริเวณของผิวหน้าของอาหาร (Fowle, 2005) อย่างไรก็ตาม ร้อยละปริมาณไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองอยู่ที่ร้อยละ 0.58-0.72 0.15-0.45 และ 82.51-86.26 ตามลำดับ ส่วนร้อยละปริมาณโปรตีนอยู่ที่ร้อยละ 10.59-14.42 โดยการการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 มีร้อยละปริมาณโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 16.75

ตารางที่ 23 องค์ประกอบทางเคมีของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

ตัวอย่าง	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)				
	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต
MD*	2.41±0.06^{**a***}	12.31±0.36^{d}	0.69±0.03^{a}	0.19±0.02^{c}	84.55±0.39^{a}
Beta-CD	2.26±0.01^{bc}	13.78±0.26^{c}	0.58±0.06^{b}	0.32±0.03^{b}	83.03±0.27^{b}
MD1:Beta-CD1	2.30±0.02^{b}	15.60±0.30^{b}	0.56±0.01^{b}	0.21±0.04^{c}	81.35±0.31^{c}
MD1:Beta-CD2	2.23±0.02^{cd}	16.75±0.43^{a}	0.70±0.03^{a}	0.15±0.04^{c}	80.17±0.41^{d}
MD2:Beta-CD1	2.19±0.03^{d}	15.46±0.17^{b}	0.72±0.07^{a}	0.45±0.05^{a}	81.18±0.29^{c}

หมายเหตุ : * MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

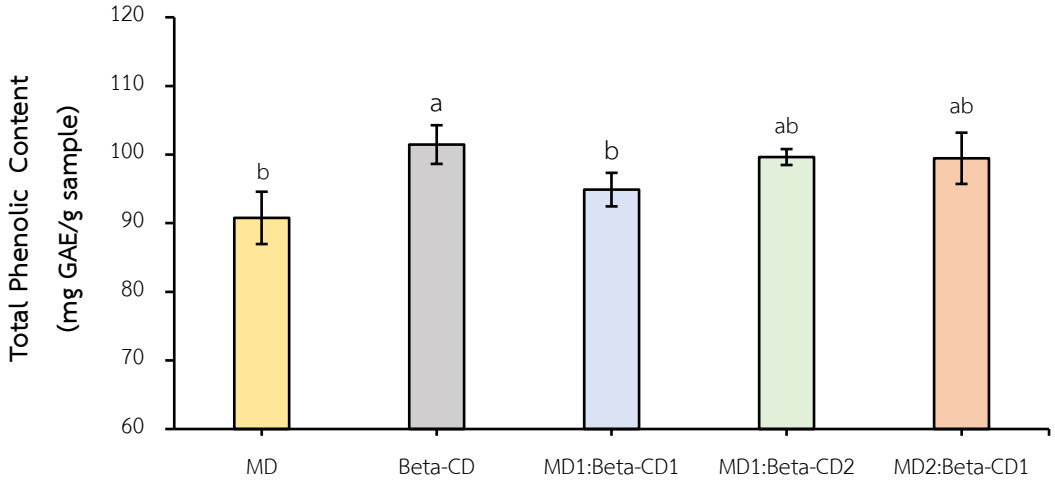
** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.1.3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2.1.3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้สารห่อหุ้มชนิด และอัตราส่วนต่าง ๆ (ภาพที่ 31) พบว่าชุดการทดลองที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 90.77-101.45 mg GAE/g sample โดยการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงตัวเดียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 101.45 mg GAE/g แต่ไม่แตกต่างจากการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 และ 2:1 ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 99.64 และ 99.45 mg GAE/g sample ตามลำดับ ($p \geq 0.05$) Sharayei *et al*. (2020) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากเปลือกทับทิม (pomegranate peel) ที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ใช้อัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:5 และห่อหุ้มด้วยเทคนิคการแห้งแบบฟรีซดราย มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 23.75 และ 51.58 mg GA/g sample ตามลำดับ ส่วนการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ เท่ากับ 54.96 และ 58.78 mg GA/g sample ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ของสารสกัดไมโครเอนแคปซูลจากเปลือกทับทิมลดลงจากสารสกัดเริ่มต้น 60.19 mg GA/g sample ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงอาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น อัตราส่วนของสารห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้น สารประกอบฟีนอลิกทำปฏิกิริยากันเอง การเกิดเป็นสารเชิงซ้อน หรือการปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับน้ำตาลทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนเช่นเดียวกันจึงส่งผลให้ปริมาณพอลีฟีนอลทั้งหมดลดลง รวมถึงอาจเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันร่วมด้วย นอกจากนี้ผงไมโครเอนแคปซูลสัมผัสกับอากาศ ซึ่งจะส่งผลให้สารประกอบพอฟีนอลิกสูญเสียอะตอมไฮโดรเจน และทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงตาม (Tiwari *et al*., 2013)



ภาพที่ 31 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

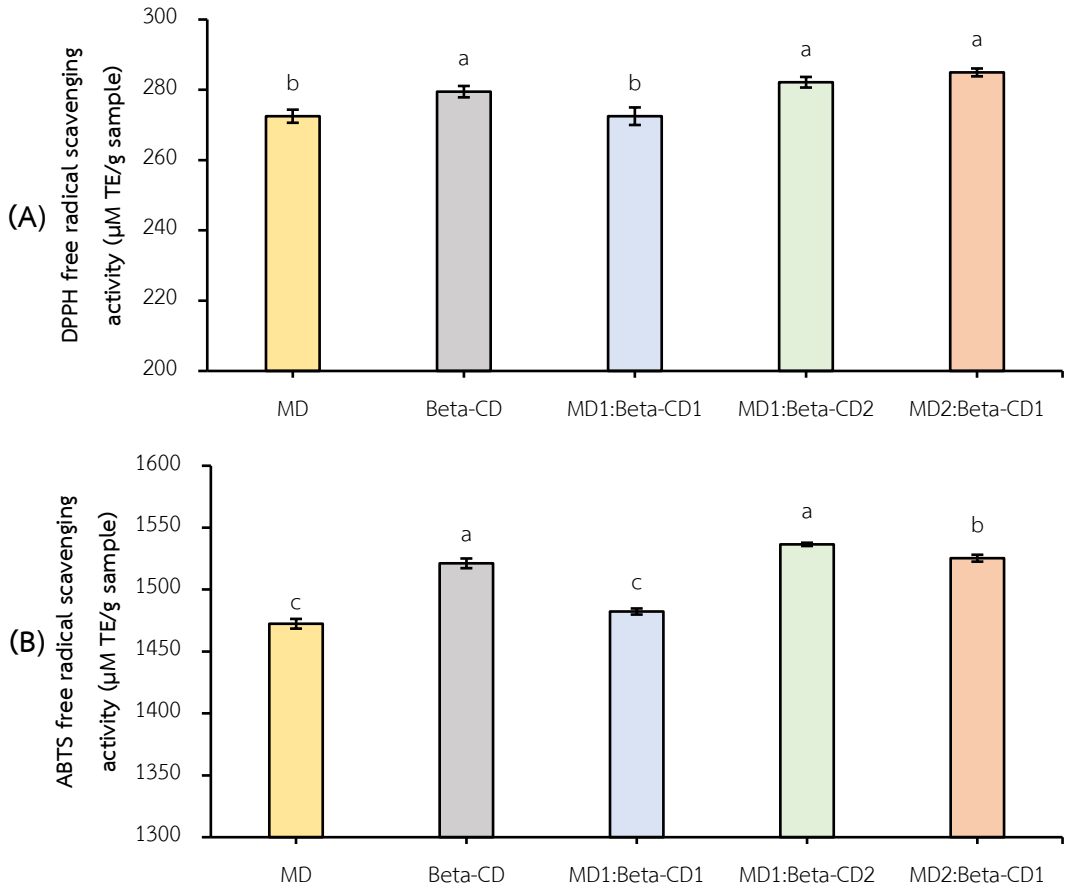
หมายเหตุ : - ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

- MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมร่วมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

2.1.3.2 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ที่ใช้สารห่อหุ้มชนิด และอัตราส่วนต่าง ๆ (ภาพที่ 32) พบว่าค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ (ภาพ 32 (A)) และ ABTS$^{\bullet+}$ (ภาพ 32 (B)) อยู่ในช่วง 272.49-284.95 และ 1,472.38-1,536.49 µM TE/g sample ตามลำดับ การห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยสารผสมระหว่างมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินแสดงกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ และ ABTS$^{\bullet+}$ ได้สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้มเพียงชนิดเดียว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้อัตราส่วนในการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อันตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ และ ABTS$^{\bullet+}$ สูงที่สุดเท่ากับ 282.16 และ 1,536.49 µM TE/g sample ตามลำดับ ส่วน Dobroslavić *et al*. (2023) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลสารสกัดฟีนอลิกจากใบกระวานห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ เท่ากับ 162.18 และ 201.43 µM TE/g sample ตามลำดับ นอกจากนี้ Ćujić Nikolić *et al*. (2023) ได้ศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการเอนแคปซูเลชันสารสกัดฟีนอลิกจากของเสียในการแปรรูป

ข้าวโพดสีน้ำเงิน (Blue Popping Maize By-Product) โดยใช้สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนร้อยละ 15:15 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ ลดลงเล็กน้อยเท่ากับ 58.37 µM TE/g sample เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดฟีนอลิกที่ไม่ผ่านการห่อหุ้ม ซึ่งมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet}$ เท่ากับ 69.14 µM TE/g sample



ภาพที่ 32 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (A) และ $ABTS^{\bullet+}$ (B) ของไมโครเอนแคปซูลสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้ชนิด และอัตราส่วนของสารต่าง ๆ

หมายเหตุ : - ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

- MD หมายถึง มอลโทเดกซ์ทริน Beta-CD หมายถึง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ MD1:Beta-CD1 MD1:Beta-CD2 และ MD2:Beta-CD1 หมายถึง มอลโทเดกซ์ทรินผสมร่วมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 ตามลำดับ

2.2 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ต่อคุณสมบัติของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

การศึกษาอัตราส่วนระหว่างโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ที่มีผลต่อคุณสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ถูกกักเก็บด้วยกระบวนการห่อหุ้ม ด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน โดยทำการคัดเลือกสารห่อหุ้มด้วยอัตราส่วนของมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน 1:2 (ตอนที่ 2.1) เนื่องจากเป็นสารห่อหุ้มที่เหมาะสมที่สุด เพราะทำให้ได้มาซึ่งไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด นำมาศึกษาต่อในอัตราส่วนระหว่างโปรตีนไอโซเลต (protein isolate from *Cordyceps militaris*; PICM) และสารห่อหุ้ม (wall materials; WM) ที่ระดับต่าง ๆ (PICM:WM) ได้แก่ 1:2 (PICM1:WM2) 1:3 (PICM1:WM3) 1:4 (PICM1:WM4) และ 1:5 (PICM1:WM5) (น้ำหนัก/น้ำหนัก)

2.2.1 คุณลักษณะทางกายภาพ

2.2.1.1 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 33) พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลทุกชุดการทดลองมีอนุภาคของผงไมโครเอนแคปซูลที่เนียนละเอียด ไม่จับตัวกันเป็นก้อน และมีสีเหลืองอ่อนเนื่องจากขั้นตอนการเตรียมสารละลายผสมระหว่างโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มเริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในปริมาณที่เหมาะสม มีน้ำในระบบน้อย และถูกแทนที่ด้วยของแข็ง เมื่อนำมาผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อาศัยการทำงานของอุปกรณ์สำหรับพ่นละอองฝอย หรืออะตอมไมเซชัน ในการควบคุมอัตราการไหล และขนาดของหยดที่ฉีดพ่นทำให้มีอนุภาคของผงที่มีขนาดเล็กที่ใกล้เคียงกัน และไม่จับตัวกันเป็นก้อน (Saikia *et al*., 2015) นอกจากนี้อัตราส่วนของสารห่อหุ้ม มีผลต่อคุณภาพสีของผงไมโครเอนแคปซูลโดยการห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มในอัตราส่วนที่ 1:2 พบว่ามีสีเหลืองที่เข้มกว่าอัตราส่วนในการห่อหุ้มอื่น ๆ เนื่องจากปริมาณโปรตีนเริ่มต้นของโปรตีนไอโซเลตก่อนนำมาห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีปริมาณที่สูงถึงร้อยละ 78.90 อีกทั้งยังมีการใช้อุณหภูมิขาเข้าที่สูงในกระบวนการทำแห้งที่สูงถึง 180 องศาเซลเซียส จึงเป็นปัจจัยในการเร่งให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ส่งผลต่อความเข้มของสีเพิ่มขึ้น (Ahmad *et al*., 2017; Patras *et al*., 2010)

PICM1:WM2 PICM1:WM3 PICM1:WM4 PICM1:WM5

ภาพที่ 33 ลักษณะปรากฏทางกายภาพของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

2.2.1.2 ร้อยละผลผลิต

ร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 23) พบว่ามีร้อยละผลผลิตอยู่ในช่วงร้อยละ 61.14-70.11 โปรตีนไอโซเลตและสารห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:4 มีร้อยละผลผลิตสูงที่สุด ร้อยละ 70.11 ส่วนการห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 และ 1:5 มีร้อยละผลผลิตต่ำที่สุดร้อยละ 62.93 และ 61.14 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตและสารห่อหุ้มไม่สมดุล หรือไม่เหมาะสมต่อกันในกระบวนการเตรียมสารละลายผสม และวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย ก็เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อปริมาณร้อยละผลผลิตเป็นอย่างมาก นอกจากนี้หากสารละลายตัวอย่างมีปริมาณของแข็งที่ไม่ละลายรวมถึงมีความหนืดที่ไม่เหมาะสม จะส่งผลต่อขั้นตอนการทำแห้งทำให้เกิดละอองในการพ่นฝอยมีการหยดขนาดใหญ่ เกิดการเกาะติดของผงที่หัวฉีด และผนังถังอบแห้ง (Ng *et al*., 2014; Teo *et al*., 2021) จากผลการทดลองข้างต้น สอดคล้องกับงานวิจัย Nasri *et al*. (2020) ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากปลาปลาซาร์ดีนที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 54.65 66.70 75.00 และ 83.30 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ Escobar-Avello *et al*. (2021) ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารประกอบฟีนอลิกจากต้นองุ่นที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินร้อยละ 2.2 (โดยน้ำหนักสารสกัด) ผสมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่ามีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 83.80 ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการห่อหุ้มถึง 2 เท่า และมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงถึงร้อยละ 80.50

ตารางที่ 24 ร้อยละผลผลิตของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:สารห่อหุ้ม	ร้อยละผลผลิต (ร้อยละ)
PICM*1:WM2	62.93±1.08**b***
PICM1:WM3	69.69±1.61[a]
PICM1:WM4	70.11±1.59[a]
PICM1:WM5	61.14±0.81[b]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.1.3 ประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน

ค่าประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน (%EE) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 24) การใช้โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันที่ร้อยละ 91.96 92.74 90.86 และ 89.97 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:3 มีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันสูงที่สุด (ร้อยละ 92.72) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผงไมโครเอนแคปซูลทุกชุดการทดลองมีค่าประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันที่สูงมากกว่าร้อยละ 89.97 เนื่องจากมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน เป็นโพลีแซ็กคาร์ไรด์ได้จากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ชให้เป็นสายพอลิเมอร์ที่สั้นลง เมื่อนำมาห่อหุ้มสารสำคัญที่เป็นโปรตีนไอโซเลตจึงทำให้เกิดการเชื่อมโมเลกุลกันระหว่างโปรตีน และสายพอลิเมอร์ของโพลีแซ็กคาร์ไรด์ด้วยพันธะโควาเลนต์และพันธะไฮโดรเจนทำให้เกิดการก่อตัวของโครงข่ายพอลิเมอร์ที่แข็งแรง ห่อหุ้มโมเลกุลของโปรตีน จึงทำให้สามารถส่งผลต่อการห่อหุ้มสารแกนไว้ได้ดี จึงส่งผลทำให้โปรตีนไอโซเลตที่ถูกห่อหุ้มมีความคงตัวสูง ส่งผลทำให้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันได้ดี (Partanen *et al*., 2002; Tonon *et al*., 2008) นอกจากนี้ปริมาณของสารห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และกระบวนการทำแห้งก็มีผลต่อประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันเช่นกัน (Ng *et al*., 2014) มีกระบวนการใช้อัตราของสารห่อหุ้มชนิดมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับกัมอราบิกในอัตราส่วน 1:1 ก่อนนำมาห่อหุ้มสารสกัดแอนโทไซยานินจากบาร์เบอร์รี (barberry) ที่อัตราส่วนร้อยละ 25 35 และ 50 มีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันสูงถึงร้อยละ 96.22 94.39

และ 89.09 ตามลำดับ (Mahdavi *et al*., 2016) Dobroslavić *et al*. (2023) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากใบกระวานห่อหุ้มด้วย มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:1 1:2 และ 1:3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันที่ร้อยละ 70.07 80.43 และ 70.14 ตามลำดับ ($p \geq 0.05$) ซึ่งการใช้มอลโทเดกซ์ทรินในกระบวนการห่อหุ้มผงไมโครเอนแคปซูเลชันที่มีค่าสมมูลเดกซ์โทรส (DE) ที่ต่ำจะส่งผลทำให้เกิดความหนืดเพิ่มขึ้น ทำให้สามารถในการห่อหุ้มสารสำคัญได้ดีมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับมอลโทเดกซ์ทรินที่มีค่า DE สูง (Sanchez *et al*., 2013)

ตารางที่ 25 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:สารห่อหุ้ม	ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (ร้อยละ)
PICM1*:WM2	91.96±0.71**ab***
PICM1:WM3	92.74±1.01[a]
PICM1:WM4	90.86±0.49[bc]
PICM1:WM5	89.97±0.27[c]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.1.4 ค่าสี

ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 25) พบว่าค่าความสว่าง (L^*) อยู่ในช่วง 64.93-77.27 ส่วนค่าความเป็นสีแดง (a^*) อยู่ในช่วง 7.19-12.24 ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) อยู่ในช่วง 36.04-44.06 และค่าความต่างสี (ΔE^*) อยู่ในช่วง 40.08-53.91 ซึ่งอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:5 มีค่า L^* สูงที่สุด 77.27 แต่มีค่า a^* b^* และ ΔE^* มีค่าต่ำที่สุด 7.19 36.04 และ 40.08 ตามลำดับ ซึ่งมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีลักษณะเป็นผงสีขาวเมื่อละลายและถูกนำมาห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนโปรตีนต่อสารห่อหุ้มในปริมาณที่สูงจะส่งผลทำให้ผงไมโครเอนแคปซูลจากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ได้มีค่า L^* สูงขึ้นตาม นอกจากนี้ปริมาณความชื้นก็มีผลต่อปริมาณค่า L^* เนื่องจากความชื้นเป็นตัวเร่งให้เกิดปฏิกิริยาสี

น้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ (non enzymatic browning reaction) ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Huang and Hsieh, 2005; Wang and Hartel, 2021) นอกจากนี้ก๊าซออกซิเจนเป็นตัวเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก รวมถึงการเกิดปฏิกิริยาการสลายตัวของสารประกอบฟลาโวนอยด์ และการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอร์ไรเซชัน ส่งผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีสีน้ำตาลคล้ำเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มอุณหภูมิที่สูงขึ้นทุก ๆ 10 องศาเซลเซียส จะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ถึง 2-3 เท่า (Azeez *et al*., 2017; Lavelli and Scarafoni, 2012) ส่วนค่า *a** เกิดจากการใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยซึ่งจะไปเร่งการสลายตัว และส่งผลให้เกิดสารประกอบใหม่ที่เป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาสีน้ำตาลทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีคล้ำ (Patras *et al*., 2010) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นที่เกี่ยวข้องกับค่าสีของผลิตภัณฑ์อาหารชนิดผง ได้แก่ ส่วนประกอบของอาหาร ค่า pH กิจกรรมของน้ำอิสระ ปริมาณออกซิเจน โปรตีน และน้ำตาล ที่เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าสีของผลิตภัณฑ์อาหารได้ Wong and Tan (2017) ศึกษาไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตสารสกัดเซลลูโลสจากขนุนที่ห่อหุ้มด้วยมอลโมเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 10 15 20 25 และ 30 พบว่ามีค่า *L** มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเท่ากับ 85.11 85.98 86.49 85.59 และ 86.02 ตามลำดับ นอกจากนี้การเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากมะเกี๋ยงที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินมีปริมาณร้อยละที่สูงขึ้นร้อยละ 10 20 และ 30 พบว่ามีค่า *L** สูงขึ้นด้วยเช่นกัน ที่ร้อยละ 48.57 46.69 และ 52.67 ตามลำดับ ดังนั้นการใช้สารห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีค่า *L** เพิ่มขึ้นตาม (Marcillo-Parra *et al*., 2021)

ตารางที่ 26 ค่าสีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:	**ค่าสี**			
สารห่อหุ้ม	***L****	***a****	***b****	**Δ*E****
PICM*1:WM2	64.93±0.06**d***	12.24±0.02[a]	44.06±0.17[a]	53.91±0.14[a]
PICM1:WM3	71.12±0.02[c]	10.58±0.05[b]	43.09±0.14[b]	49.51±0.14[b]
PICM1:WM4	73.25±0.01[b]	9.66±0.00[c]	41.47±0.01[c]	47.09±0.01[c]
PICM1:WM5	77.27±0.04[a]	7.19±0.03[d]	36.04±0.08[d]	40.08±0.10[d]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.1.5 กิจกรรมของน้ำอิสระ

กิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 26) พบว่าค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เท่ากับ 0.41 0.32 0.12 และ 0.08 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระเป็นอัตราส่วนของความดันไอน้ำในอาหารต่อความดันไอน้ำบริสุทธิ์ที่อุณหภูมิเดียวกัน กิจกรรมของน้ำอิสระจะสัมพันธ์กับความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ หรืออัตราการเคลื่อนที่ของไอน้ำ หากกิจกรรมของน้ำอิสระน้อยจะช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์อาหาร ส่งผลทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีอายุการเก็บรักษาที่นานมากขึ้น (Fellows, 2000) โดยตัวอย่างผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกชุดการทดลองมีค่ากิจกรรมของน้ำอิสระที่ต่ำกว่า 0.6 จัดอยู่ในกลุ่มของอาหารแห้ง (dry food) ซึ่งจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ทำให้สามารถช่วยยืดอายุในการเก็บรักษาผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ มีรายงานว่าค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของเห็ดหลินจือผงสำเร็จรูปตามมาตราฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 862/2556) ต้องน้อยกว่า 0.6 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556) โดยกระบวนการเอนแคปซูเลชันสารสำคัญด้วยการห่อหุ้มจะเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยทำให้มีความคงตัวมากขึ้น เนื่องจากเกิดรูพรุนภายในโครงสร้างจึงทำให้ระเหยน้ำออกได้ดี ทำให้มีค่ากิจกรรมของน้ำอิสระน้อยลงตาม (Cai and Corke, 2000) นอกจากนี้การใช้มอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้มในปริมาณสูงจะช่วยลดปริมาณความชื้น รวมถึงเป็นสารใช้เพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายทั้งหมดจึงทำให้ตัวอย่างแห้งได้เร็ว (Porrarud and Pranee, 2010) จากผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Wichit *et al*. (2021) ศึกษาการเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากมะเกี๋ยงที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่ร้อยละ 10 20 และ 30 พบว่ามีกิจกรรมของน้ำอิสระเท่ากับ 0.31 0.28 และ 0.25 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) และสัมพันธ์กับปริมาณความชื้นที่ลดลงเหลือร้อยละ 5.17 4.63 และ 4.27 ตามลำดับ นอกจากนี้ Wong and Tan (2017) ศึกษาไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตสารสกัดเซลลูโลสจากขนุนที่ห่อหุ้มด้วยมอลโมเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 10 15 20 25 และ 30 พบว่ามีกิจกรรมของน้ำอิสระลดลงเช่นกันเท่ากับ 0.21 0.17 0.18 0.15 และ 0.16 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) อีกทั้งการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิสูงช่วยลดปริมาณความชื้น และค่ากิจกรรมในน้ำอิสระของผลิตภัณฑ์ให้มีปริมาณต่ำลง ทำให้เพิ่มแนวโน้มในการดูดความชื้นกลับได้ง่าย เนื่องจากความต่างของความชื้นในผลิตภัณฑ์ และสิ่งแวดล้อม (Mishra *et al*., 2015)

ตารางที่ 27 ปริมาณน้ำอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:สารห่อหุ้ม	ปริมาณน้ำอิสระ
PICM*1:WM2	0.41±0.02**a***
PICM1:WM2	0.32±0.02[b]
PICM1:WM3	0.12±0.02[d]
PICM1:WM4	0.08±0.03[c]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.1.6 ความหนาแน่นรวม และความหนาแน่นจำเพาะ

ความหนาแน่นของผลิตภัณฑ์จะขึ้นอยู่กับรูปร่าง ขนาด และพื้นผิวตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่มีอนุภาคที่เรียบ มีขนาดที่ใกล้เคียงกันจะส่งผลต่อปริมาณความหนาแน่นที่มากขึ้น และตัวอย่างที่มีขนาดเล็กจะมีพื้นที่ผิวสัมผัสสูง และมีพื้นที่ว่างระหว่างอนุภาคลดน้อยลงจึงมีค่าความหนาแน่นเพิ่มสูงขึ้น (Bhujbal *et al*., 2021; Tonon *et al*., 2008) ซึ่งจากตางรางที่ 27 แสดงค่าความหนาแน่นรวม (bulk density) และความหนาแน่นจำเพาะ (tapped density) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ พบว่าความหนาแน่นรวมของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 เท่ากับ 0.62 0.58 0.56 และ 0.53 g/cm^3 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งความหนาแน่นรวมเป็นสมบัติทางกายภาพที่แสดงถึงความหนาแน่นของวัสดุต่อปริมาตร ซึ่งรวมถึงช่องว่างในระหว่างอนุภาคของผงไมโครเอนแคปซูลด้วย ส่วนความหนาแน่นจำเพาะเป็นค่าความหนาแน่นของตัวอย่างที่มีการกดอัดซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.68 0.69 0.66 และ 0.65 g/cm^3 ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีอุณหภูมิสูงจะส่งผลทำให้ตัวอย่างไมโคร เอนแคปซูลมีความหนาแน่นที่ลดลง เนื่องจากการใช้ความร้อนสูงทำให้อัตราการระเหยของน้ำเกิดได้เร็วมากขึ้น อนุภาคของผงไมโครเอนแคปซูลเกิดการหดตัว มีความชื้นที่ลดลงทำให้มีความหนาแน่นที่ลดลงตาม (Mishra *et al*., 2015; Wong *et al*., 2018) Mahalakshmi *et al*. (2020) พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลเบต้า-แคโรทีนที่ห่อหุ้มด้วยเซอีน ในอัตราส่วนตัวอย่างต่อสารห่อหุ้ม เท่ากับ 1:10 1:50 และ 1:100 (ปริมาตร/ปริมาตร) มีความหนาแน่นรวม เท่ากับร้อยละ

102.7 69.0 และ 96.03 ตามลำดับ และความหนาแน่นจำเพาะ เท่ากับร้อยละ 222.0 143.6 และ 204.8 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วน Kautsar *et al*. (2023) ศึกษาการห่อหุ้มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดจากเมล็ดอะโวคาโดที่ห่อหุ้มด้วยกัมอราบิกที่อัตราส่วน 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 พบว่ามีความหนาแน่นที่ 1.06 1.09 1.12 และ 1.14 ตามลำดับ และมีปริมาณร้อยละผลผลิตที่ร้อยละ 40.11 50.21 45.37 และ 43.59 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 28 ความหนาแน่นรวม และความหนาแน่นจำเพาะของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:สารห่อหุ้ม	ความหนาแน่นรวม (g/cm^3)	ความหนาแน่นจำเพาะ (g/cm^3)
PICM1*:WM2	0.62±0.05**a***	0.68±0.04[a]
PICM1:WM3	0.58±0.03[ab]	0.69±0.04[a]
PICM1:WM4	0.56±0.03[b]	0.66±0.03[a]
PICM1:WM5	0.53±0.01[b]	0.65±0.02[a]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.1.7 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำเป็นปัจจัยสำคัญของผงไมโครเอนแคปซูล ในการคืนสภาพการใช้งาน และการนำไปเป็นส่วนประกอบของอาหาร ซึ่งความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 28) ซึ่งความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตสารห่อหุ้ม 1:2 และ 1:3 มีความสามารถในการละลายน้ำสูงที่สุดที่ 93.93 และ 93.30 ตามลำดับ ส่วนการห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:4 และ 1:5 มีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 91.94 และ 92.00 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการเกาะตัวเป็นก้อนของผงไมโครเอนแคปซูลทำให้พื้นผิวสัมผัสในการดูดซับน้ำ และความสามารถในการละลายลดลง (Oyinloye and Yoon, 2020) อีกทั้งการปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่ออาหารมีความชื้นสูง จะส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบเคมีของอาหารโดยเฉพาะความสามารถ

ในการละลายที่ลดลง (Gao *et al*., 2020) สารในกลุ่มของโปรตีน รวมถึงสารห่อหุ้มช่วยในการปรับปรุงความสามารถในการละลายได้ ในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายที่สูงขึ้น เนื่องจากการใช้อุณหภูมิสูงในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะทำให้ความชื้นต่ำและเพิ่มขนาดอนุภาคเฉลี่ยที่เท่ากันจึงทำให้ผงไมโครเอนแคปซูลละลายได้ง่าย (Wong *et al*., 2018) นอกจากนี้ความสามารถในการละลายยังมีความเกี่ยวข้องกับความสามารถในการกักเก็บน้ำของโปรตีน อันเป็นผลมาจากค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ และปริมาณความชื้น (Haque *et al*., 2010) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณความชื้น (ตารางที่ 20) และค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ (ตารางที่ 29) จากการทดลองก่อนหน้าที่พบว่าถ้าผงไมโครเอนแคปซูลมีปริมาณความชื้นต่ำจะส่งผลต่อค่าการละลายที่สูงขึ้น ไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากปลีกล้วยที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินในอัตรา 5:1 มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับกัมอราบิก และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเจลาตินในอัตราส่วน 4:1 มีความสามารถในการละลายน้ำที่สูงถึง 81.19 82.00 และ 81.61 ตามลำดับ (Suyalek *et al*., 2020)
Dobroslavić *et al*. (2023) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากใบกระวานห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ที่อัตราส่วน 1:1 1:2 และ 1:3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีความสามารถในการละลายน้ำที่ร้อยละ 49.47 48.66 และ 49.28 ตามลำดับ

ตารางที่ 29 ความสามารถในการละลายน้ำของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต:สารห่อหุ้ม	**ความสามารถในการละลายน้ำ (ร้อยละ)**
PICM*1:WM2	93.93±0.58*a**
PICM1:WM3	93.30±0.05[a]
PICM1:WM4	91.94±0.23[b]
PICM1:WM5	92.00±0.17[b]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.2 คุณสมบัติทางเคมี

2.2.2.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 29 พบว่าไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ มีปริมาณความชื้นเหลืออยู่ในช่วงร้อยละ 1.94-2.34 ซึ่งมตราฐานตามข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 345/2556 เรื่องนมปรุงแต่ง โดยกำหนดเกณฑ์ปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์นมผงต้องพบไม่เกินร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2556) ดังนั้นผงไมโครเอนแคปซูลข้างต้นจัดว่าอยู่ในกลุ่มอาหารที่มีปริมาณความชื้นต่ำ เนื่องจากในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิสูงจะทำให้น้ำอิสระ หรือความชื้นในอาหารระเหยออก และถูกแทนที่ด้วยปริมาณของแข็ง ทำให้ไมโครเอนแคปซูลมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในปริมาณที่สูง ดังนั้นจึงทำให้ผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองไม่จับตัวกันเป็นก้อน และมีอนุภาคที่ละเอียด (Partanen *et al*., 2002; Porrarud and Pranee, 2010) ซึ่งการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ใช้อุณหภูมิสูงจะช่วยในการเพิ่มประสิทธิภาพการระเหยน้ำออกจากผงไมโครเอนแคปซูล ซึ่งจะไปช่วยเพิ่มพลังงานความร้อนให้กับน้ำส่งผลทำให้พันธะไฮโดรเจนถูกทำลาย จนน้ำเปลี่ยนสถานะจากของเหลวกลายเป็นไอ ซึ่งส่งผลต่ออัตราการระเหยน้ำที่สูง (Quek *et al*., 2007; Shishir and Chen, 2017) ปริมาณโปรตีนของผงไมโครเอนแคปซูลทุกชุดการทดลองมีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 14.42-26.13 โดยไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อสารห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:2 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดร้อยละ 26.13 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่มีปริมาณโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองสูงที่สุด อย่างไรก็ตามอัตราส่วนที่ต่างกันของปริมาณโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วนสารห่อหุ้มเพิ่มขึ้นมีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน อีกทั้งยังส่งผลต่อการห่อหุ้มผิวของตัวอย่างได้อย่างรวดเร็ว ผนังของสารห่อหุ้มที่มีความแข็งแรงจะสามารถป้องกันสารสำคัญที่อยู่ภายในได้สูง และยังป้องกันการดูดความชื้นจากสภาวะแวดล้อมได้อย่างดี (Rajam *et al*., 2012) ส่วนปริมาณไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.35-0.75 0.24-0.87 และ 70.66-83.09 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากปลาที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 1:3 และ 1:4 พบว่าการใช้อัตราส่วนในการห่อหุ้มที่สูงขึ้นส่งผลทำให้ค่าความชื้นลดลงจาก 5.0 4.5 และ 4.5 ตามลำดับ (Nasri *et al*., 2020) นอกจากนี้ Wong and Tan (2017) ผลิตไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตสารสกัดเซลลูโลสจากขนุนที่ห่อหุ้มด้วยมอลโมเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 10 15 20 25 และ 30 พบว่ามีปริมาณความชื้นที่ร้อยละ 8.81 72.7 6.73 5.64 และ 5.72 กระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากหัวบีทรูทที่ห่อหุ้มด้วยมอลโท

เดกซ์ทรินที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อสารห่อหุ้มร้อยละ 0.5:1 และ 1:1 พบว่ามีปริมาณความชื้นร้อยละ 7.21 และ 7.06 ปริมาณเถ้าร้อยละ 1.02 และ 0.93 ปริมาณไขมันร้อยละ 3.37 และ 3.70 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 4.29 และ 4.05 ตามลำดับ (Kaur *et al*., 2021)

ตารางที่ 30 องค์ประกอบทางเคมีของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

โปรตีนไอโซเลต: สารห่อหุ้ม	**องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนักเปียก)**				
	ความชื้น	**โปรตีน**	**ไขมัน**	**เถ้า**	**คาร์โบไฮเดรต**
PICM*1:WM2	2.34±0.02**a***	30.36±0.13[a]	0.35±0.06[b]	0.87±0.06[a]	66.44±0.12[d]
PICM1:WM3	2.24±0.01[b]	24.72±0.05[b]	0.43±0.01[b]	0.57±0.07[b]	72.48±0.06[c]
PICM1:WM4	1.94±0.04[d]	19.24±0.08[c]	0.75±0.06[a]	0.24±0.04[d]	75.58±0.08[b]
PICM1:WM5	2.14±0.01[c]	16.75±0.10[d]	0.69±0.04[a]	0.35±0.03[c]	80.76±0.13[a]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

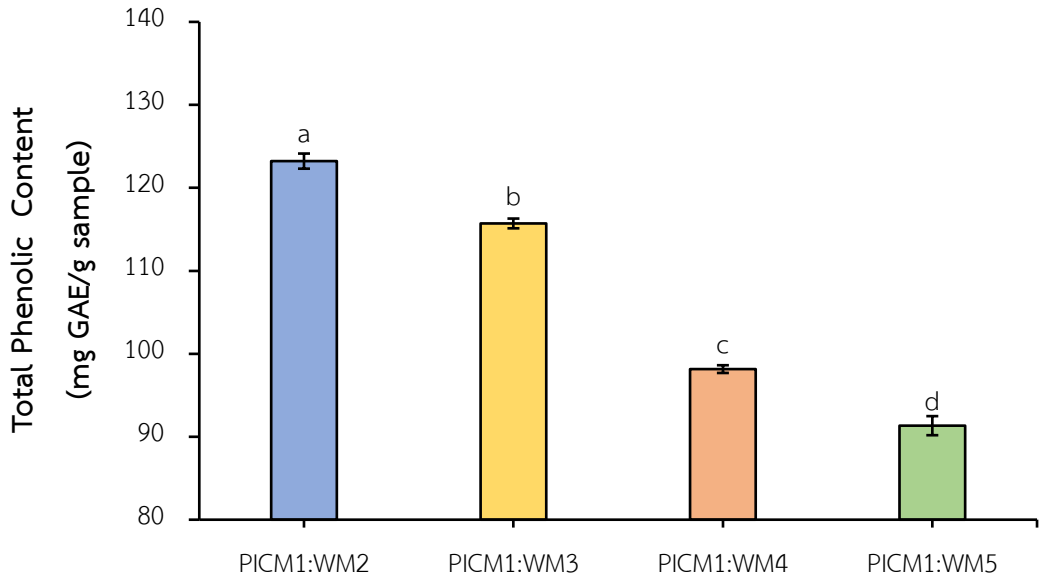
*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2.2.3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 34) พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีค่า 123.22 115.71 98.15 และ 91.33 mg GAE/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการใช้อัตราส่วนของปริมาณสารห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลมีแนวโน้มลดลง ($p \leq 0.05$) มีรายงานว่าการไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากระเจี๊ยบแดงที่ห่อหุ้มด้วยกัมอราบิกที่ระดับร้อยละ 1 2 3 4 และ 5 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 3.84 3.65 3.58 3.38 และ 3.29 g GAE/g sample ตามลำดับ นอกจากนี้ Ochoa-Velasco *et al*. (2017) ศึกษาการเตรียมผงไมโครเอนแคปซูลสารสกัดแคโรทีนที่ห่อหุ้มด้วยสารสกัดต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:5 พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.34 mg GAE/ml sample

(Ahmad *et al*., 2017) ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกมีหน้าที่เป็นสารที่สามารถให้อิเล็กตรอน หรือไฮโดรเจนได้ และยังลดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ นำไปสู่คุณสมบัติที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Halliwell *et al*., 1987) โดยตัวอย่างที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงเช่นกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีลักษณะเป็น Free radical terminators ที่ประกอบด้วยโครงสร้างของวงอะโรมาติก (aromatic ring) แทนที่ด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) ที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระไว้ได้ (Abdel-Hameed, 2009; Pourmorad *et al*., 2006)



ภาพที่ 34 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

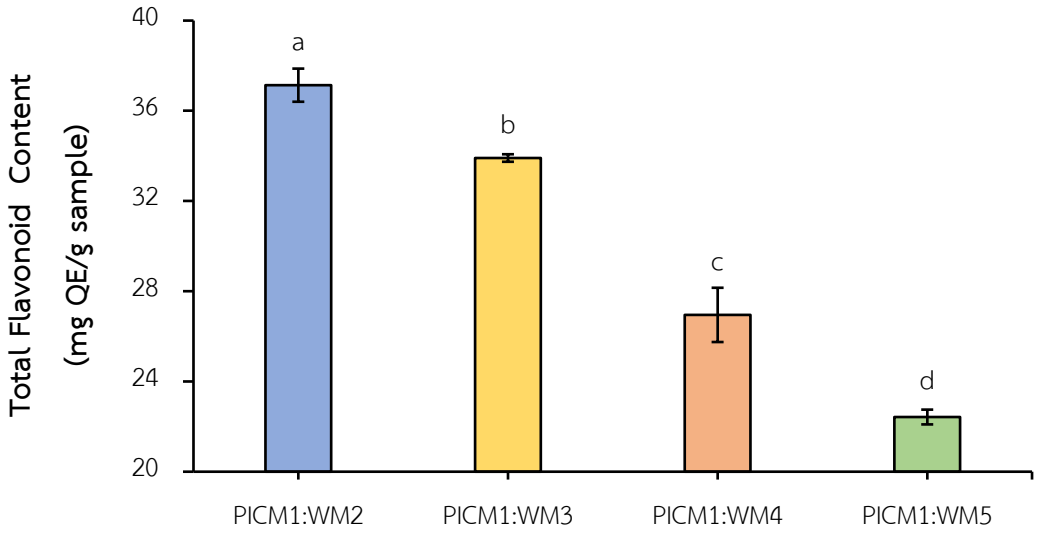
หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.3.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 35) ซึ่งการใช้โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้นที่ระดับ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 37.17 33.91 26.95 และ 22.42 mg QE/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) สังเกตุได้

ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณของสารห่อหุ้มที่สูงขึ้นมีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงซึ่งจะแปรผกผันกัน มีรายงานว่าไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากใบมะรุมที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนร้อยละ 10 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดที่ส่งผลต่อสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 42.36 mg GAE/g sample (Dadi *et al*., 2020) นอกจากนี้ไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากหัวบีทรูทที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 0.5:1 และ 1:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 3.04 และ 3.08 mg QE/g sample ตามลำดับ



ภาพที่ 35 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.3.3 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 36 (A)) พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกชุดการทดลองมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ในช่วง 242.12-385.32 µM TE/g samples โดยโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่อัตราการห่อหุ้มที่ 1:2 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ สูงที่สุด (385.32 µM TE/g samples) Dadi *et*

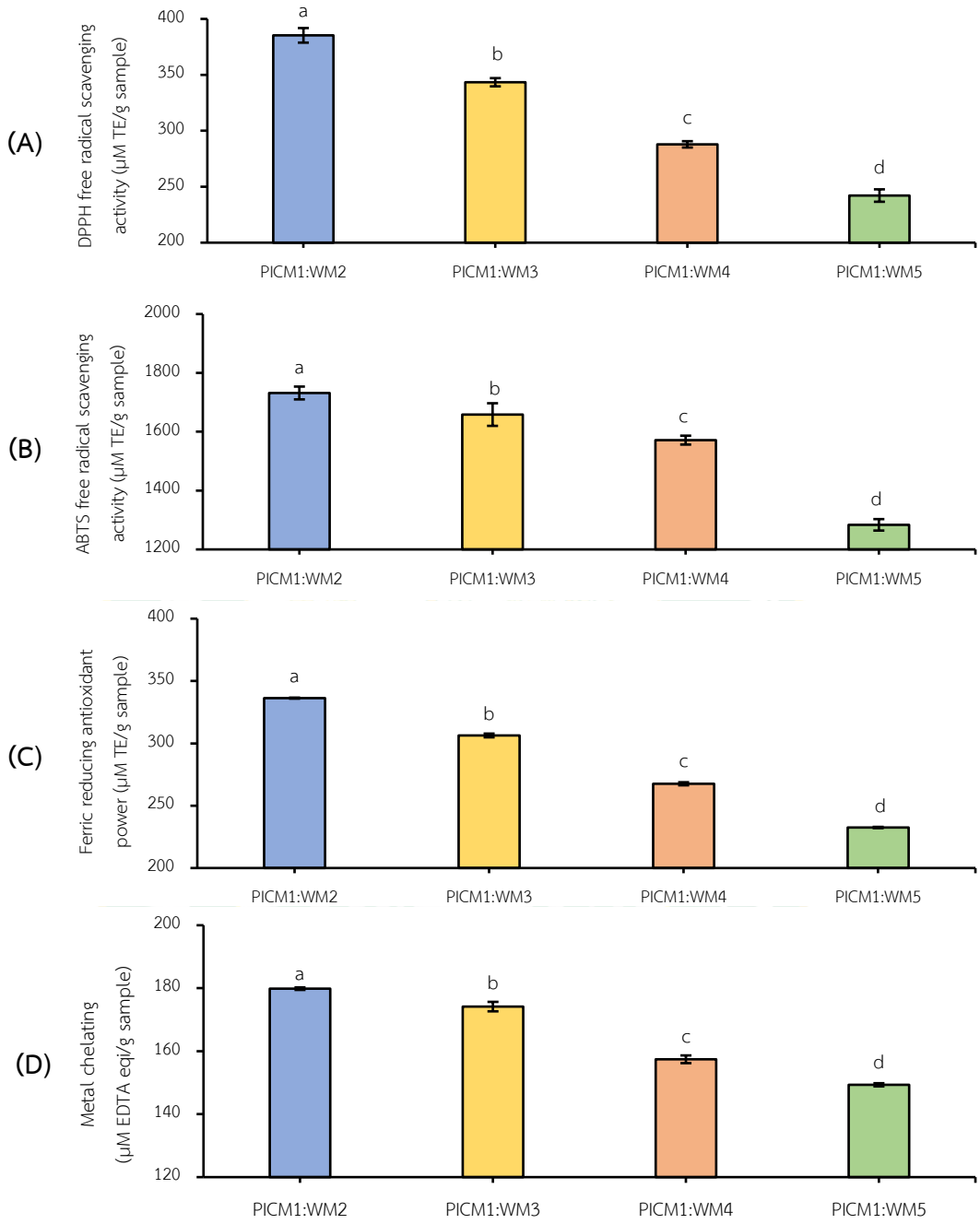
al. (2020) ศึกษากระบวนการไมโคเอนแคปซูเลขันสารสกัดจากใบมะรุมที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่ร้อยละ 10 พบว่ามีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ABTS$^{\bullet+}$ เท่ากับ 383.68 และ 562.44 mg EE/g sample ตามลำดับ Dobroslavić *et al*. (2023) รายงานอีกด้วยว่าไมโครเอนแคปซูลฟีนอลิกที่สกัดจากใบกระวานห่อหุ้มด้วย เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และกัมอราบิกผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ เท่ากับ 162.18 201.43 และ159.30 μmol TE/g sample ตามลำดับ

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 36 (B)) พบว่าผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองทุกชุดการทดลองมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ อยู่ในช่วง 1283.54-1731.69 μM TE/g sample โดยอัตราการห่อหุ้มที่ 1:2 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ สูงที่สุด เท่ากับ 1731.69 μM TE/g sample เนื่องจากการเติมปริมาณโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในปริมาณที่สูงส่งผลต่อค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ สูงตาม

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกซ์ (FRAP) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 36 (C)) มีค่า FRAP อยู่ในช่วง 232.51-336.27 μM TE/g samples โดยโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มที่อัตราการห่อหุ้มที่ 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่า FRAP สูงสุดเท่ากับ 336.27 μM TE/g samples ไมโคเอนแคปซูเลขันสารสกัดจากใบมะรุมที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ททรินที่ระดับร้อยละ 10 พบว่ามีค่า FRAP เท่ากับ 280.30 mM TE/g samples และ ซึ่ง FRAP เป็นการวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ อีกทั้งชนิดของสารห่อหุ้มที่ต่างกันส่งผลต่อค่า FRAP ต่างกันตาม (Dadi *et al*., 2020) ไมโครเอนแคปซูลฟีนอลิกที่สกัดจากใบกระวานห่อหุ้มด้วย เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และกัมอราบิกผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่า FRAP ระดับ 210.00 267.18 และ 196.15 μmol TE/g samples ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณสารห่อหุ้มในระดับที่สูงขึ้นจะส่งผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง นอกจากนี้ Wichit *et al*., 2021 ศึกษาการเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากมะเกี๋ยงที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่ระดับร้อยละ 10 20 และ 30 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 87.81 83.35 และ 81.10 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) (Dobroslavić *et al*., 2023)

กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) เป็นการวัดความสามารถในการแย่งจับกับโลหะ ซึ่งผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ มีค่ากิจกรรมการจับโลหะ (ภาพที่ 36 (D)) อยู่ในช่วง 149.33-179.87 μM EDTA eqi/g sample โดยอัตราส่วน

โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ 1:2 มีกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุด เนื่องจากโปรตีนไอโซเลตมีกิจกรรมการจับโลหะสูงเมื่อนำมาห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในระดับบที่มากขึ้นจะส่งผลต่อกิจกรรมการจับโลหะที่ลดลง Auppasuk *et al*., 2022 ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารออกฤทธิ์จากว่านหางจระเข้ที่ห่อหุ้มด้วยกัมอราบิกที่อัตราส่วน 1:7.5 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ 231.43 mg TEAC/g sample นอกจากนี้การใช้อุณหภูมิในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่สูงขึ้นจะส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bernstein and Noreña (2015) ศึกษากระบวนการไมโคเอนแคปซูเลชันสารสกัดแอนโทไซยานินจากกะหล่ำสีแดงที่ห่อหุ้มด้วยกัมอราบิกในอันตราส่วนร้อยละ 10 และ 15 โดยใช้อุณหภูมิขาเข้าที่ 160 องศาเซลเซียส พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 21.72 และ 14.42 μM EDTA eqi/g sample ตามลำดับ ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 36 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH• (A) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS• (B) ความสามารถในการรีดิวซ์ (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

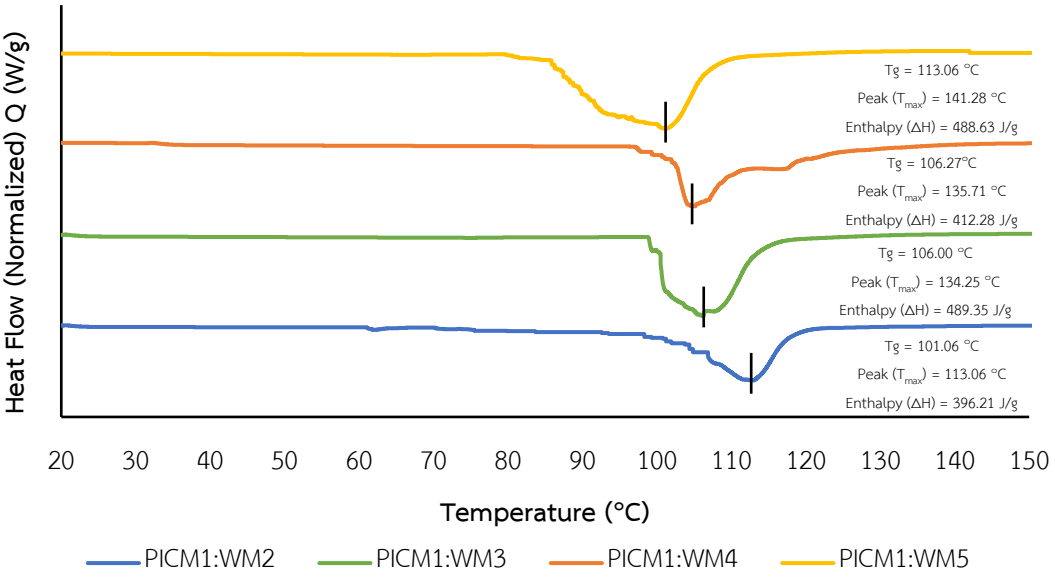
หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่ต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2.2.4 คุณสมบัติทางความร้อน

2.2.4.1 สมบัติทางความร้อน

สมบัติทางความร้อนของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิงแคลอริมิเตอร์ ช่วงอุณหภูมิ 20-150 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 37) พบว่ามีค่า T_g ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มระดับ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีค่า T_g เท่ากับ 101.06 106.00 106.27 และ 113.06 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ค่า T_{max} เท่ากับ 113.06 134.25 135.71 และ 141.28 องศาเซลเซียส ตามลำดับ และมีค่า Enthalpy (Δ_H) หรือปริมาณความร้อนในการเปลี่ยนแปลงพลังงานที่ต้องการเท่ากับ 396.21 489.35 412.28 และ 488.63 J/g ตามลำดับ การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อน ด้วยเครื่องดิฟเฟอเรนเชียลสแกนนิงแคลอริมิเตอร์ (differential scanning colorimeter; DSC) จะนิยมนำมาวิเคราะห์หาสมบัติทางความร้อนของผลิตภัณฑ์ยา อาหาร พลาสติก และยานยนต์ เพื่อหาจุลหลอมเหลว และจลนพลศาสตร์ของปฏิกิริยาอุณหภูมิการเปลี่ยนแปลงสถานะคลายแก้ว Glass Transition Temperature; T_g เป็นต้น โดยให้พลังงานความร้อนที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของเอนทัลปี (Enthalpy) แก่ตัวอย่าง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนถึง 3 ลักษณะ โดยที่ Glass Transition และ melting เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบดูดพลังงาน (Endothermic) ในขณะที่ crystallization เป็นการเปลี่ยนแปลงแบบคายพลังงาน (exothermic) (Gharanjig *et al*., 2020; Zaidul *et al*., 2008) นอกจากนี้อุณหภูมิคล้ายแก้ว (glass transition temperature; T_g) สามารถบ่งบอกถึงความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่ขึ้นกับองค์ประกอบหลักของวัตถุดิบ ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน เป็นต้น ซึ่งน้ำตาลจะส่งผลทำให้ค่า T_g ต่ำ ปริมาณความชื้นต่ำจะส่งผลต่อค่า T_g ที่สูงขึ้น รวมถึงคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน จะเป็นตัวพาที่ทำให้ค่า T_g สูงขึ้น (Eroğlu *et al*., 2018) โดยค่า T_g ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มระดับ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีค่า T_g เท่ากับ 132.11 134.25 135.71 และ 141.28 องศาเซลเซียส Wang *et al*. 2011 รายงานว่าค่า T_g ของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีค่า Tg เท่ากับ 195 องศาเซลเซียส ส่วนค่า T_g ของมอลโทเดกซ์ทรินเท่ากับ 180 องศาเซลเซียส (Nurhadi *et al*., 2016) ซึ่งเมื่อนำมาห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตในอัตราส่วนการห่อหุ้มที่สูงขึ้นจึงส่งผลให้มีค่า T_g ที่สูงขึ้นตาม Li *et al*. (2016) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลสารสกัดอาร์บลูตินที่ห่อหุ้มด้วยไฮดรอกซี เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 พบว่าค่า T_{max} เท่ากับ 200 องศาเซลเซียส ไมโครเอนแคปซูลเลซิตินจากถั่วเหลืองที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนเลซิตินต่อสารห่อหุ้ม 1:2 พบว่าเลซิตินจากถั่วเหลืองที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีค่า T_{max} เท่ากับ 98 องศาเซลเซียส ซึ่งสูงกว่าเลซิตินกากถั่วเหลือง (ชุดควบคุม) ที่ 80 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 37 สมบัติทางความร้อนของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

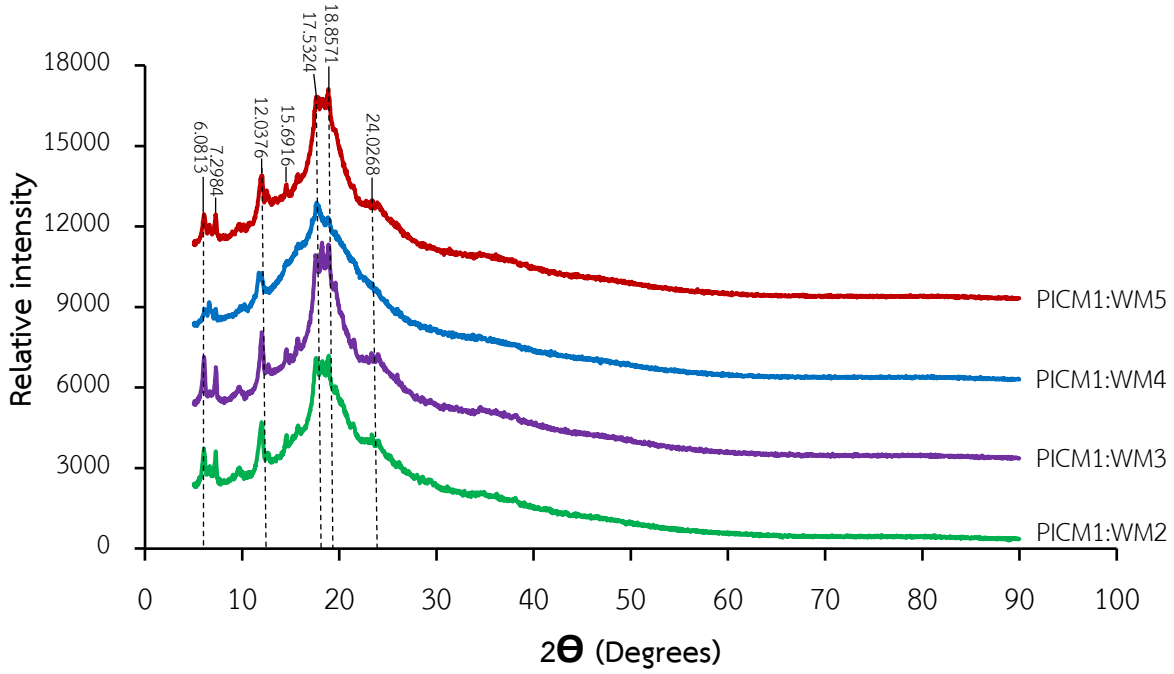
หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

2.2.5 คุณสมบัติเชิงโครงสร้าง

2.2.5.1 โครงสร้างทางผลึก

โครงสร้างทางผลึกโดยใช้เทคนิคการเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ (X-ray powder diffraction; XRD) เป็นการศึกษาโครงสร้างของผลึก และลักษณะของการจัดเรียงตัวกันของอะตอม รวมถึงองค์ประกอบต่าง ๆ ภายในโครงสร้างผลึกของสาร ซึ่งการเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ที่ปรากฏจะมีความจำเพาะที่สามารถระบุอัตลักษณ์ของผลึกของสารแต่ละชนิดได้ (Chauhan and Chauhan, 2014; Thamaphat *et al*., 2008) โครงสร้างทางผลึกของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 38) ผงโปรตีนไอโซเลตที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้ม 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีมุมกระเจิงของรังสีเอกซ์ที่ตำแหน่ง 6.1311 7.3011 12.0851 14.6331 17.5191 18.7671 และ 23.4991 2θ ตามลำดับ อีกทั้งผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้อัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลต และสารห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีร้อยละความเป็นผลึก (crystallinity) เท่ากับร้อยละ 21.97 26.10 13.84 และ 24.75 ตามลำดับ ซึ่งโครงสร้างทางผลึกของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีมุมกระเจิงของรังสีเอกซ์ที่ตำแหน่งสูงสุด 12.0 และ 18.2 2θ (Kayaci *et al*., 2014) ส่วน Zhang *et al*. (2018) รายงานว่ามอลโทเดกซ์ทรินมีมุมกระเจิงของรังสีเอกซ์ที่ตำแหน่ง

17.3 2Θ ซึ่งโครงสร้างทางผลึกของไมโครเอนแคปซูลน้ำมันวอลนัทที่ห่อหุ้มด้วยโปรตีนไอโซเลต และมอลโทเดกซ์ทริน พบว่ามีมุงกระเจิงที่ตำแหน่งสูงสุด 17.9 และ 19.8 2Θ (Zhou *et al*., 2017) ไมโครเอนแคปซูลเลซิตินจากถั่วเหลืองที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 พบว่ามีมุมกระเจิงที่ตำแหน่ง 9.1 12.8 23.1 7.1 และ 34.9 ตามลำดับ (Wang *et al*., 2014)



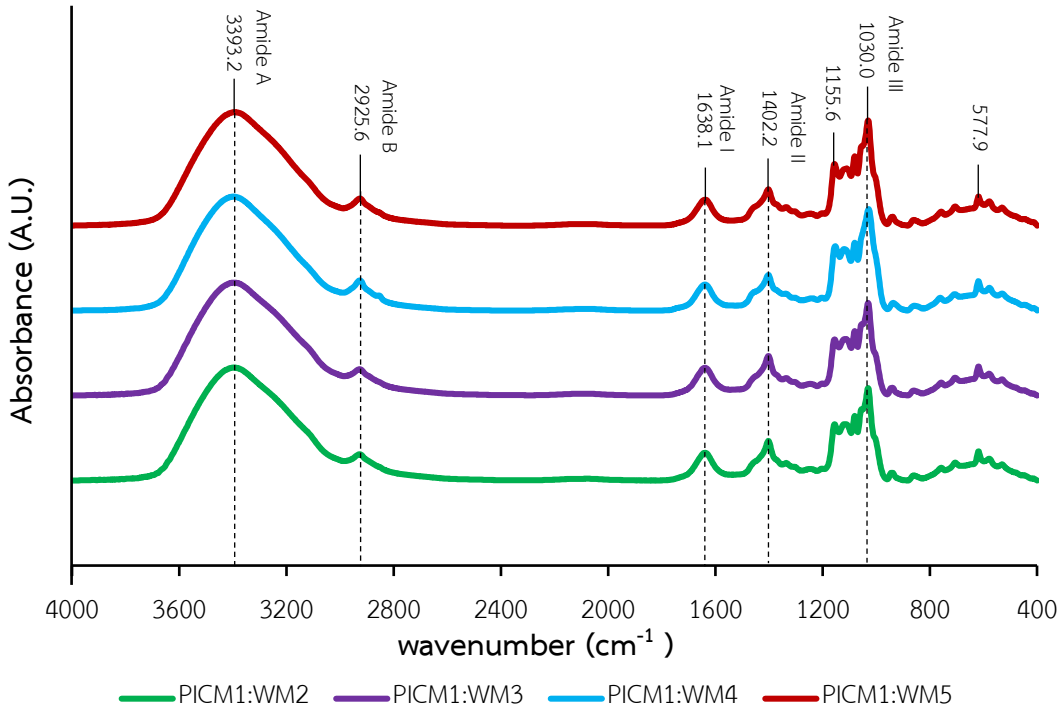
ภาพที่ 38 การเลี้ยวเบนของรังสีเอกซ์ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

2.2.5.2 หมู่ฟังก์ชัน

การศึกษาหมู่ฟังก์ชันด้วยเทคนิค Fourier Transform Infrared Spectrophotometer (FTIR) ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 39) พบว่า หมู่ Amide I ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 มีเลขคลื่นที่ 1637.0 1637.5 1638.7 และ 1638.1 cm^{-1} ตามลำดับ หมู่ Amide II 1401.8 1401.8 1402.1 และ 1402.2 cm^{-1} ตามลำดับ ส่วนหมู่ Amide III 1304.9 1305.7 1304.2 และ 1305.0 cm^{-1} ตามลำดับ นอกจากนี้หมู่ Amide A มีเลขคลื่นที่ 3393.0 3395.5 3398.1 และ 3393.2 cm^{-1}

และ Amide B มีเลขคลื่นที่ 2927.1 2926.7 2925.9 และ 2925.6 cm^{-1} ตามลำดับ โดยสารห่อหุ้มชนิดมอลโทเดกซ์ทรินมีหมู่ Amide I Amide II Amide III Amide A และ Amide B มีเลขคลื่นเท่ากับ 1635 1581 1028 3300 และ 2905 cm^{-1} ตามลำดับ (Sritham *et al*., 2017) ส่วนเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีหมู่ Amide I Amide II Amide III Amide A และ Amide B มีเลขคลื่นเท่ากับ 1819 1645 1157 3385 และ 2925 cm^{-1} (Zeng *et al*., 2012) ไมโครเอนแคปซูลเลซิตินจากถั่วเหลืองที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 1:2 มีหมู่ Amide I หมู่ Amide II Amide III Amide A และ Amide B มีเลขคลื่นเท่ากับ 1463 1234 1066 2924 และ 1748 cm^{-1} ตามลำดับ (Wang *et al*., 2014)



ภาพที่ 39 FTIR spectrum ของรังสีเอกซ์ของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

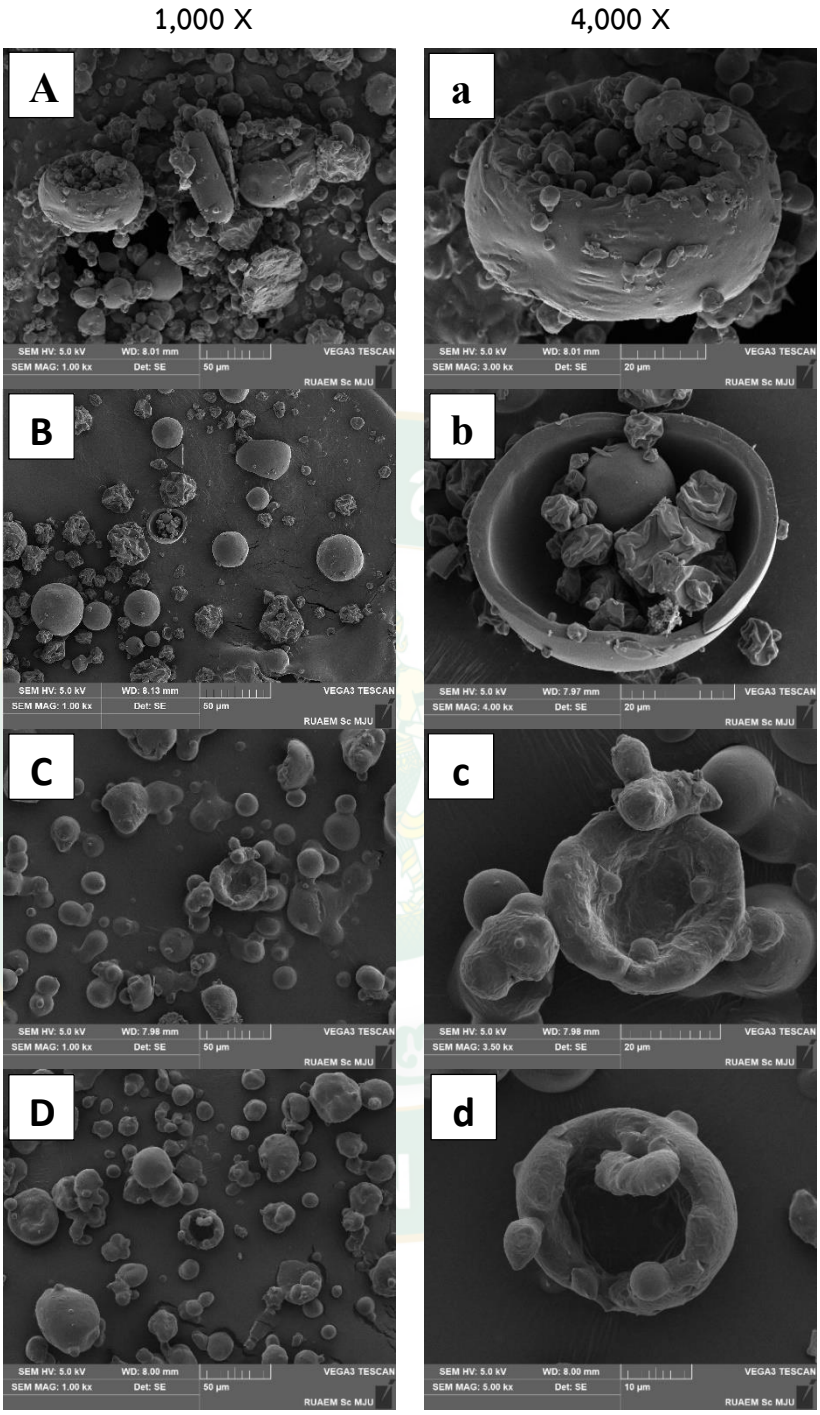
หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง WM หมายถึง สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2

2.2.5.3 โครงสร้างทางจุลภาค

ในการศึกษาโครงสร้างทางจุลภาคของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนของโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่ระดับต่าง ๆ วิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า (ภาพที่ 40 (A-

D)) และ 4,000 เท่า (ภาพที่ 40 (a-d)) พบว่าที่กำลังขยาย 1,000 เท่า ลักษณะโครงสร้างของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มในอัตราส่วน 1:2 (ภาพที่ 40 (A)) มีขนาดอนุภาคที่แตกต่างกันหลายขนาด ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ในช่วงที่ 10-120 ไมโครเมตร มีลักษณะของพื้นผิวที่ขรุขระ และมีรอยแตกบนผิวอนุภาคทรงกลม และมีการเกาะตัวกันของอนุภาคที่แน่นส่งผลทำให้อนุภาคของไมโคร เอนแคปซูลที่กระจายตัวได้ไม่ดี รวมถึงมีขนาดของอนุภาคที่แตกต่างกัน ที่กำลังขยาย 4,000 เท่า (ภาพที่ 40 (a)) จะเห็นว่าสารห่อหุ้มมีประสิทธิภาพห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตได้สูง ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันที่ร้อยละ 91.96 (ตารางที่ 24) ส่วนอัตราการห่อหุ้ม 1:3 (ภาพที่ 40 (B)) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคอยู่ในช่วง 10-100 ไมโครเมตร มีลักษณะอนุภาคทรงกลมพื้นผิวเรียบปนกับอนุภาคผิวที่ขรุขระปะปนกัน มีการยุบตัว หรือหดตัวของอนุภาค รวมถึงการกระจายตัวได้ดี ที่กำลังขยาย 4,000 (ภาพที่ 40 (b)) พบว่าในอัตราส่วนการห่อหุ้มที่ 1:3 สารห่อหุ้มสามารถห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตได้ดี มีผนังของสารห่อหุ้มที่หนาเท่ากัน ซึ่งจะช่วยให้สามารถรักษาคุณภาพของโปรตีนไอโซเลตที่มีสารสำคัญได้สูง และมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันสูงถึงร้อยละ 92.74 ที่อัตราส่วนในการห่อหุ้ม 1:4 (ภาพที่ 40 (C)) มีขนาดอนุภาคอยู่ในช่วงที่ 20-80 ไมโครเมตร อนุภาคมีพื้นผิวค่อนข้างเรียบ ขนาดใกล้เคียงกัน ไม่มีการยุบตัว หรือหดตัว มีความแข็งแรงของอนุภาค และมีการกระจายตัวของอนุภาคได้ไม่ดี เนื่องจากมีการเกาะตัวกันของอนุภาคเล็กน้อยขณะที่ตัวอย่างเดียวกัน แต่ที่กำลังขยาย 3,500 เท่า (ภาพที่ 40 (c)) จะเห็นว่าผงไมโครเอนแคปซูลมีอัตราการห่อหุ้มสารสำคัญได้เล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับค่าประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชัน (ตารางที่ 24) ที่ร้อยละ 90.86 และอัตราส่วนในการห่อหุ้ม 1:5 (ภาพที่ 40 (D)) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาคที่ 10-100 ไมโครเมตร โดยมีพื้นผิวของอนุภาคที่ค่อนข้างเรียบ และขรุขระเล็กน้อย ไม่มีการยุบตัว หรือหดตัว มีความแข็งแรงของอนุภาค กระจายตัวได้ดี มีขนาดที่ใกล้เคียงกัน และมีรอยบุบในโครงสร้างของผงไมโครเอนแคปซูลที่อาจจะเกิดจากตัวอย่างมีสารกลุ่มโพลิแซ็กคาไรด์ในปริมาณที่สูง (Choi *et al*., 2010) ซึ่งจะส่งผลต่อโครงสร้างไมโครเอนแคปซูลที่คงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ และความชื้นภายนอกได้ดี นำไปสู่การป้องกันการสูญเสียคุณสมบัติทางเคมี-กายภาพ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองได้ ที่กำลังขยาย 3,000 เท่า (ภาพที่ 40 (d)) จะเห็นว่ามีอัตราการห่อหุ้มสารสำคัญได้น้อย ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชันที่ต่ำที่สุดเพียงร้อยละ 89.97 ในระยะแรกของกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยจะทำให้ได้ลักษณะโครงสร้างของผงไมโครเอนแคปซูลที่ไม่สม่ำเสมอ เนื่องจากความหนืดของตัวอย่าง และมีการแข็งตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดรอบย่นบนพื้นผิวของโครงสร้าง การทำแห้งที่อุณหภูมิสูงจะทำให้โครงสร้างแข็งอย่างรวดเร็ว เกิดรอยยับและรอยนูน (Malik, 2021; Piñón-Balderrama *et al*., 2020) อีกทั้งที่อนุภาคของผงไมโครเอนแคปซูลมีลักษณะที่หดตัว ขนาดไม่สม่ำเสมอ เกิดจากกลไลการทำแห้งแบบพ่นฝอยในระยะแรก เพราะผงไมโค

รเอนแคปซูลมีการสูญเสียปริมาณน้ำอย่างช้า ๆ จึงทำให้อนุภาคหดตัวสูงกว่าการสูญเสียน้ำอย่างรวดเร็ว นอกจากนี้สารละลายเริ่มต้นที่มีปริมาณน้ำสูง หรือปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่ำ จะมีลักษณะของอนุภาคที่หดตัวสูงตาม ทำให้เกิดการหดตัวที่ไม่สม่ำเสมอ ส่วนที่แข็งกว่าจะหดตัวเล็กน้อย และส่วนที่อ่อนกว่าก็จะมีลักษณะของอนุภาคที่เว้า รูปร่างบิดเบี้ยว เป็นต้น รวมถึงการขยายตัวของฟองอากาศที่สูงทำให้อนุภาคเกิดการยุบตัว หรือมีรอยบุบ (Mohammed *et al*., 2020; Zhou *et al*., 2017) อุณหภูมิสูงส่งผลต่อลักษณะโครงสร้างที่แตกหัก และเปลือกที่แตกหัก เนื่องจากอุณหภูมิขาเข้าจะทำให้ตัวทำละลายระเหยอย่างรวดเร็ว (Yang *et al*., 2012) และลักษณะพื้นผิวของอนุภาคที่มีพื้นผิวขรุขระ และแตกราวที่ส่งผลต่อการเสื่อมฤทธิ์และการสลายตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ (Jafari *et al*., 2023; Mehta *et al*., 2022)



ภาพที่ 40 ลักษณะปรากฏของไมโครเอนแคปซูลสารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ต่อโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้อัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้ม (MD1:Beta-CD2) ที่ระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 (A) 1:3 (B) 1:4 (C) และ 1:5 (D) ที่กำลังขยาย 1,000 เท่า
: โปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:2 (a) 1:3 (b) 1:4 (c) และ 1:5 (d) ที่กำลังขยาย 4,000 เท่า

ตอนที่ 3 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

3.1 การพัฒนาสูตรน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูป

การพัฒนาสูตรน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเพื่อหาอัตราส่วนผสมของผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกที่เหมาะสมโดยใช้การออกแบบการทดลองแบบผสม (mixture design) และแบบเชฟเฟ่ซิมเพล็กซ์เซนทรอยด์ (scheffe' simplex-centroid) ซึ่งกำหนดปัจจัยการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ผงข้าวกล้องงอกที่ร้อยละ 30-50 น้ำตาลหล่อฮั่งก๊วยที่ร้อยละ 10-20 และนมผงที่ร้อยละ 30-40 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยกำหนดให้ทุกสูตรมีส่วนผสมของอินูลินที่ร้อยละ 19.97 และสารให้ความคงตัว (plasgssrd ® recmilk) ที่ร้อยละ 0.3 ซึ่งจากการออกแบบสูตรโดยใช้โปรแกรมข้างต้นจะได้สูตรน้ำข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปทั้งหมด 10 สูตร โดยนำน้ำนมข้าวกล้องงอกทุกสูตรไปทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้วยวิธีการทดลองความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) เพื่อหาให้ได้สูตรต้นแบบที่เหมาะสมที่สุด จากการประเมินคะแนนความชอบผลิตภัณฑ์ในส่วนต่าง ๆ ที่ดีที่สุด

3.1.1 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผงข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูป โดยใช้ผู้ทดสอบจำนวน 50 คน ด้วยวิธีการให้คะแนนระดับความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม (ตารางที่ 30) พบว่าน้ำนมข้าวกล้องงอกชนิดผงชงดื่มสูตรที่ 8 ซึ่งมีส่วนประกอบของผงข้าวงอก ร้อยละ 24 น้ำตาลหล่อฮั่งก๊วยร้อยละ 12 และ นมผงร้อยละ 44 ซึ่งเป็นสูตรที่ได้คะแนนความชอบสูงที่สุดด้านได้แก่ กลิ่น สี เนื้อสัมผัส ความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.28 7.04 7.28 และ 7.30 ตามลำดับ มีคะแนนในด้านลักษณะปรากฏเท่ากับ 7.08 คะแนน น้อยกว่าสูตรที่ 3 ที่มีคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏน้อยกว่าสูตรที่ 3 ที่มีคะแนน ความชอบเท่ากับ 7.12 แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) และมีคะแนนความชอบด้านรสชาติเท่ากับ 6.70 คะแนน ซึ่งน้อยกว่าสูตรที่ 6 (6.90 คะแนน) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกน้ำนมข้าวกล้องงอกชนิดผงชงดื่ม สูตรที่ 8 เป็นสูตรต้นแบบเพื่อนำไปพัฒนาสูตรเครื่องดื่มข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง และศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์ รวมถึงการพัฒนาต้นแบบจากบรรจุภัณฑ์ต่อไป

ตารางที่ 31 คะแนนการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูป

สูตรที่	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
1	6.00±1.99^{*c**}	6.76±1.48^{abc}	6.12±1.89^{c}	5.94±1.68^{b}	6.58±1.54^{abc}	6.72±1.25^{ab}
2	6.34±1.61^{bc}	6.24±1.53^{c}	6.02±1.53^{c}	6.26±1.70^{ab}	6.66±1.76^{abc}	6.80±1.59^{ab}
3	7.12±1.21^{a}	6.50±1.56^{bc}	6.94±1.15^{a}	6.10±1.89^{b}	6.64±1.35^{abc}	6.54±1.58^{bc}
4	6.30±1.69^{bc}	7.00±1.31^{ab}	6.50±1.69^{abc}	6.10±1.79^{b}	6.04±1.89^{c}	6.04±1.70^{c}
5	6.92±1.44^{ab}	6.94±1.62^{ab}	6.84±1.28^{ab}	6.30±1.75^{ab}	6.50±1.73^{bc}	6.84±1.53^{ab}
6	6.56±1.66^{abc}	6.48±1.49^{bc}	6.14±1.54^{c}	6.90±1.67^{a}	6.86±1.37^{ab}	6.88±1.48^{ab}
7	6.80±1.37^{ab}	6.48±1.39^{bc}	6.46±1.40^{abc}	6.24±1.35^{ab}	6.14±1.53^{c}	6.64±1.24^{b}
8	7.08±1.24^{a}	7.28±1.41^{a}	7.04±1.41^{a}	6.70±1.34^{ab}	7.28±1.34^{a}	7.30±1.15^{a}
9	6.62±1.32^{abc}	6.90±1.36^{ab}	6.48±1.64^{abc}	6.28±1.50^{ab}	6.90±1.43^{ab}	7.08±0.94^{ab}
10	6.84±1.09^{ab}	6.68±1.39^{abc}	6.26±1.32^{bc}	6.04±1.56^{b}	6.72±1.44^{abc}	6.82±0.94^{ab}

หมายเหตุ : ** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.2 การพัฒนาสูตรน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

พัฒนาสูตรน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองชนิดผงสำเร็จรูปที่รพดับต่าง ๆ โดยนำผงน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมแม่โจ้ 1 เอ ที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 3.1 (สูตรที่ 8) นำมาเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกไม่เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (ชุดควบคุม) เพื่อศึกษาคุณภาพเคมี-กายภาพ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ การทดสอบทางคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส และออกแบบฉลากบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อไป

3.2.1 ลักษณะปรากฏทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏทางกายภาพของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 41) จากภาพแสดงให้เห็นว่าผงเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกเสริมโปรตีนไอโซเลตทุกชุดการทดลองมีลักษณะเป็นผงเนียนละเอียด ไม่จับตัวกันเป็นก้อน เมื่อนำมาเติมน้ำร้อน และกวนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน ทำให้ได้เครื่องดื่มที่มีลักษณะเป็นสีม่วงอ่อนที่มาจากสีธรรมชาติของข้าวเจ้าก่ำ และมีความข่น โดยความเข้มข้นของสีผลิตภัณฑ์จะแตกต่างกันตามปริมาณโปรตีนที่เติม มีรายงานว่าเกณฑ์มาตรฐานด้านคุณลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโพดผงสำเร็จรูปตามข้อกำหนด มผช. 1529/2562 กำหนดให้ผลิตภัณฑ์ต้องมีลักษณะเป็นผงแห้ง ไม่จับตัวกันเป็นก้อน รวมถึงไม่มีสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช้ส่วนประกอบได้แก่ ดิน ทราย และเส้นผม เป็นต้น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2562) นอกจากนี้ผงเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกชนิดชงดื่มสำเร็จรูปเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสีน้ำตาล เนื่องจากขั้นตอนการพรีเจลาติไนซ์ข้าวเจ้าก่ำโดยการนำไปทำให้สุก แล้วนำไปอบแห้งจึงทำให้เกิดสีน้ำตาลจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดโดยข้าวมีส่วนประกอบของน้ำตาลรีดิวซ์ กรดอะมิโน โปรตีน รวมถึงสารประกอบไนโตรเจนจึงส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผงข้าวที่มีสีเข้มข้น (Martins *et al*., 2000)

ชุดควบคุม 3% PICM 5% PICM 7% PICM

ภาพที่ 41 ลักษณะปรากฏของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - 3% 5% และ 7% PICM หมายถึง การเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 ตามลำดับ

3.2.1.2 ค่าสี

ค่าสีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 31) พบว่าน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกชุดควบคุมมีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* เท่ากับ 78.15 2.54 5.85 และ 17.04 ตามลำดับ ส่วนการเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 3 มีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* เท่ากับ 78.09 2.23 6.82 และ 17.26 ตามลำดับ การเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 5 มีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* เท่ากับ 77.62 2.18 7.26 และ 17.45 ตามลำดับ และการเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 7 มีค่า L^* a^* b^* และ ΔE^* เท่ากับ 77.41 2.13 7.91 และ 17.94 ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) จากการสังเกตุพบว่าเมื่อเพิ่มระดับปริมาณโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองให้สูงขึ้นจะส่งผลต่อค่าความสว่าง (L^*) และ ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ของผงเครื่องดื่มลดลงขณะที่ค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) และค่าความต่างสี ΔE^* ของผงเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกเพิ่มขึ้นจะเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 32 ค่าสีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก	ค่าสี			
+ PICM*	*L**	*a**	*b**	Δ*E**
ชุดควบคุม	78.15±0.18**a***	2.54±0.11[a]	5.85±0.07[d]	17.04±0.16[d]
3% PICM	78.09±0.21[a]	2.23±0.03[b]	6.82±0.05[c]	17.26±0.18[c]
5% PICM	77.62±0.13[b]	2.18±0.03[c]	7.26±0.04[b]	17.45±0.17[b]
7% PICM	77.41±0.17[c]	2.13±0.03[c]	7.91±0.11[a]	17.94±0.12[a]

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.2.1.3 กิจกรรมของน้ำอิสระ

ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 32) ซึ่งเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกชนิดผงเสริมโปรตีนร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณน้ำอิสระเท่ากับ 0.33 0.32 0.32 และ 0.31 ตามลำดับ ซึ่งการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถังเช่าสีทองจะส่งผลต่อค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกที่ลดลง เนื่องจากในกระบวนการทำแห้งโปรตีนไอโซเลตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลให้ปริมาณกิจกรรมน้ำอิสระต่ำ มีรายงานว่าเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโพดผงสำเร็จรูปตามข้อกำหนด มผช. 1529/2562 ที่กำหนดให้ต้องมีปริมาณน้ำอิสระต่ำกว่า 0.6 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2562)

ตารางที่ 33 กิจกรรมของน้ำอิสระของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ปริมาณน้ำอิสระ
ชุดควบคุม	0.33±0.002**a***
3% PICM	0.32±0.003b
5% PICM	0.32±0.004b
7% PICM	0.31±0.002c

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

1.4 ระยะเวลาในการคืนตัว

ระยะเวลาในการคืนตัวของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 33) ซึ่งเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตที่ร้อยละ 0 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีระยะเวลาในการคืนตัวที่ 1.27 1.30 1.28 และ 1.32 นาที ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างทุกชุดการทดลองมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \geq 0.05$) อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการคืนตัวสังเกตจากการเติมน้ำร้อนจนกระทั้งเครื่องดื่มผงเกิดการละลายได้อย่างสมบูรณ์ นอกจากนี้ส่วนประกอบอื่น ๆ ของเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง จะส่งผลต่อระยะเวลาในการคืนตัวเช่นกัน โดยเฉพาะอย่างยิ่งนมผงซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มีความหนาแน่นที่ต่ำ หรือมีโพรงอากาศมากจึงทำให้น้ำดูดซึมเข้าสู่อนุภาคได้เร็ว (Aliakbarian *et al*., 2017) โดย Onwulata *et al*. (2005) พบว่าระยะเวลาในการคืนตัวของอาหารผงเป็นคุณสมบัติที่มีความซับซ้อนมักจะขึ้นอยู่กับหลาย ๆ ปัจจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่งความชื้นสูงจะส่งผลต่อระยะเวลาในการคืนตัวของอาหารผงที่นานขึ้น ในกรณีที่อาหารผงมีอนุภาคขนาดเล็กมีปริมาณไขมันและน้ำตาลที่สูง เมื่อเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิไม่เหมาะสม (อุณหภูมิสูง) จะทำให้อนุภาคของตัวอย่างผงจับตัวกันได้ง่าย เกาะจับกันแน่น มีความหนาแน่นที่เพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการกระจายตัวในสารละลายลดลง จึงมีระยะเวลาในการคืนตัวที่นานขึ้นตาม

ตารางที่ 34 ระยะเวลาในการคืนตัวของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ระยะเวลาในการคืนตัว (นาที)
Control	1.27±0.06**a***
3% PICM	1.30±0.12 a
5% PICM	1.28±0.07 a
7% PICM	1.32±0.07 a

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

1.5 ค่าความหนืด

ค่าความหนืดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 34) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่าความหนืดเท่ากับ 8.37 8.60 9.41 และ 9.94 cP ตามลำดับ โดยการเพิ่มปริมาณโปรตีนไอโซเลตในระดับที่สูงขึ้นส่งผลต่อค่าความหนืดของเครื่องดื่มเพิ่มขึ้นตาม อีกทั้งความหนืดในเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองเกิดขึ้นจากกระบวนการเจลาติไนซ์ (gelatinization) เมื่อเติมน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงภายในโมเลกุลของเม็ดแป้ง โดยเฉพาะพันธะไฮโดรเจน รวมถึงสายพอลิเมอร์ของอะไมโลส (amylose) และอะไมโลเพกทิน (amylopectin) ที่อัดแน่นในเม็ดแป้งคลายตัวผสมรวมกับน้ำที่ล้อมรอบ ส่งผลต่อลักษณะปรากฏที่มีความหนืดเพิ่มสูงขึ้น อีกทั้งในส่วนประกอบอื่น ๆ ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกก็ส่งผลต่อความความหนืด ได้แก่ โปรตีน อินูลิน และนมผง เป็นต้น (Pillai *et al*., 2021; Zobel, 1984)

ตารางที่ 35 ค่าความหนืดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ค่าความหนืด (cP)
ชุดควบคุม	8.37±0.13**b***
3% PICM	8.60±0.43b
5% PICM	9.41±0.39a
7% PICM	9.94±0.23a

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

1.6 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 35) ซึ่งเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในเครื่องดื่มข้าวกล้องงอกที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 16.33 15.83 15.47 และ 16.27 °Brix ตามลำดับ

ตารางที่ 36 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)
ชุดควบคุม	16.33±0.12**a***
3% PICM	15.83±0.31ab
5% PICM	15.47±0.12b
7% PICM	16.27±0.12a

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

2. คุณลักษณะทางเคมี

2.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 36) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1.44-1.52 ซึ่งเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์นมผง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 345/2556 เรื่องนมปรุงแต่ง ที่กำหนดให้มีความชื้นไม่เกินร้อยละ 5 (โดยน้ำหนัก) (กระทรวงสาธารณสุข, 2556) ผงน้ำนมข้าวกล้องงอกมีปริมาณไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตอยู่ที่ร้อยละ 1.12-1.29 1.92-2.31 และ 73.52-80.70 ตามลำดับ ส่วนปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 14.59-21.56 โดยเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกที่เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองร้อยละ 7 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดที่ร้อยละ 25.04 อย่างไรก็ตามเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอก ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีส่วนประกอบของอินูลิน (Inulin) ซึ่งให้รสหวานโดยเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีโครงสร้างโมเลกุลแบบฟรักแทน (fructan) เนื่องจากมีลักษณะเป็นสายพอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรักโทส (fructose) เรียงต่อกัน 10-60 โมเลกุล มีแคลอรี่ต่ำโดยให้แคลอรี่เพียง 1.5 kcal/g ช่วยในการควบคุมความยากอาหาร (Sungsoo and Samuel, 2009; Wichienchot *et al*., 2011) น้ำตาลหล่อฮังก๊วยเป็นน้ำตาลจากธรรมชาติที่มีสารสำคัญชื่อโมโกรไซด์ (mogrosides) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มไตรเตอร์ปีน ไกลโคไซด์ (triterpene glycosides) ที่มีรสหวาน ช่วยทำให้เพิ่มความสามารถในการละลายของเครื่องดื่มผง ทนต่อความเป็นกรด-ด่างสูง อีกทั้งยังมีผลดีต่อสุขภาพโดยไม่มีผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด (Chen *et al*., 2007; Liu *et al*., 2018) จุฑามาศ และเฉลิมพล (2558) รายงานว่าเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากข้าวหอมนิลโดยใช้สารให้ความหวานจากน้ำเชื่อมซูโครส พบว่ามีปริมาณร้อยละโปรตีน ไขมัน และใยอาหาร เท่ากับ 0.23 0.05 และ 0.83 ตามลำดับ มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ 6.71 $^{\circ}$Brix

ตารางที่ 37 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก	องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยฐานเปียก)				
+ PICM*	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต
Control	1.49±0.02**ab***	17.95±0.06^{d}	1.29±0.04^{a}	1.92±0.02^{d}	77.35±0.10 ^{a}
3% PICM	1.46±0.01^{bc}	19.31±1.03^{c}	1.27±0.06^{a}	2.10±0.03^{c}	75.86±1.04^{b}
5% PICM	1.52±0.03^{ab}	22.86±0.84^{b}	1.12±0.04^{b}	2.19±0.02^{b}	72.31±0.85^{c}
7% PICM	1.44±0.01^{c}	25.04±0.27^{a}	1.18±0.03^{b}	2.31±0.01^{a}	70.03±0.28^{d}

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

2.2 ความเป็นกรด-ด่าง

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 37) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่า pH เท่ากับ 6.81 6.76 6.73 และ 6.87 ตามลำดับ

ตารางที่ 38 ความเป็นกรด-ด่างของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ความเป็นกรด-ด่าง
ชุดควบคุม	6.81±0.01**a***
3% PICM	6.76±0.02^{b}
5% PICM	6.73±0.01^{c}
7% PICM	6.87±0.01^{a}

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p≤0.05)

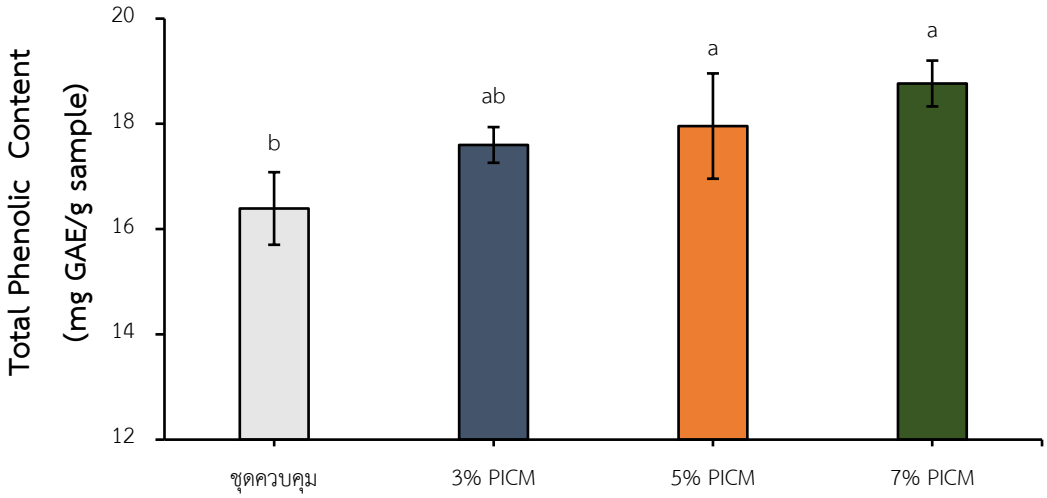
3. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

3.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 42) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 16.39 17.60 17.96 และ 18.77 mg GAE/g sample ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการเสริมโปรตีนในระดับที่สูงขึ้นส่งผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟินอลลิกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพิ่มขึ้นตาม มีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารประกอบฟินอลลิกในปริมาณที่สูง เห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดประมาณ 8.27 mg GAE/g sample (Prommaban *et al*., 2022) เช่นเดียวกับ Zhu *et al*. (2013) พบว่าในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) (Khoddami *et al*., 2013) นอกจากนี้ จุฑามาศ และเฉลิมพล (2558) พัฒนาเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากข้าวหอมนิลโดยใช้กลูโคสไซรัปเป็นสารให้ความหวาน พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.24 mg GAE/g sample ขณะที่ วรรณิภา (2557) ศึกษาการพัฒนาเครื่องดื่มผงข้าวก่ำสำเร็จรูป โดยมีส่วนประกอบของผงข้าวก่ำร้อยละ 47 น้ำตาลไอซิ่งร้อยละ 18.8 นมผงขาดมันเนยร้อยละ 28.2 โปรตีนถั่วเหลืองร้อยละ 4 และกลิ่นวนิลาร้อยละ 2 พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 31.09 mg GAE/g sample

3.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

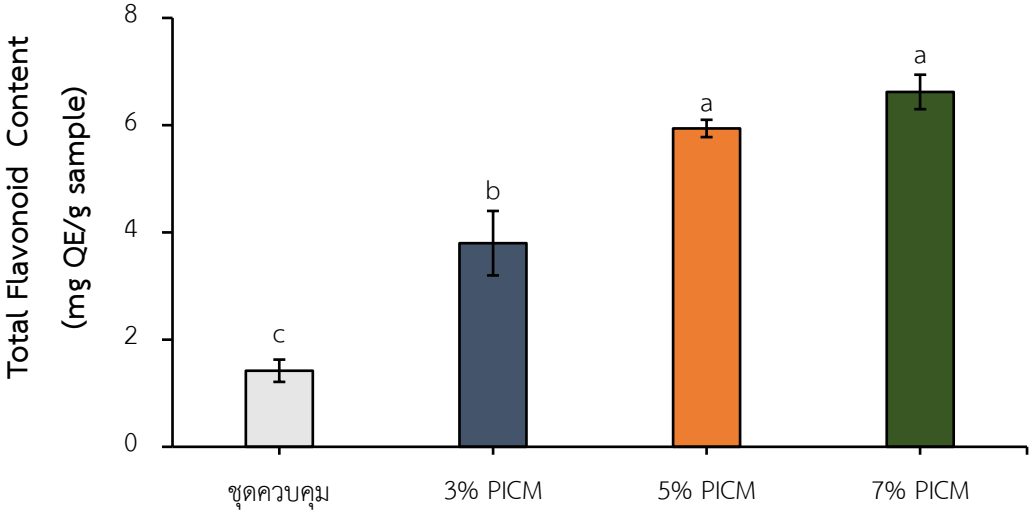
ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 43) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกที่ไม่เสริม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1.42 3.80 5.94 และ 6.62 mg QE/g sample ตามลำดับ ซึ่งการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่สูงขึ้นในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจะส่งผลทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงขึ้นตาม มีรายงานว่าในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงถึง 12.2-1.5 mg QE/g sample (Prommaban *et al*., 2022) นอกจากนี้ Zhu *et al*. (2013) รายงานอีกว่าในเห็ดถั่งเช่าสีทองมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 16.34±1.23 mg RE/g sample



ภาพที่ 42 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 43 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

3.3 ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินทั้งหมด

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 44) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกที่ไม่เสริม (ชุดควบคุม) และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 10.49 10.81 10.92 และ 10.94 mg cyanidin3-glucoside equivalents/g sample ตามลำดับ โดยตัวอย่างทุกชุดการทดลองมีปริมาณแอนโทไซยานินไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง จะมีความคงตัวภายใต้สภาวะสุญญากาศ หรือบรรยากาศของไนโตรเจนมากกว่าในสภาวะที่มีออกซิเจน (Skrede และ Wrolstad, 2002) โดยมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยแอนโทไซยานิดิน หรืออะไกลโคนกับน้ำตาลและแอซิล (acyl group) ซึ่งแอนโทไซยานิดินประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกมาต่อกัน หรืออาจจะมีหมู่เมทอซิล และไฮดรอกซิลมาต่ออีก 1 วง เมื่อมีหมู่น้ำตาลมาสร้างพันธะกับแอนโทไซยานิดินที่ตำแหน่ง 3 และ 5 จะเรียกโครงสร้างนี้ว่า แอนโทไซยานิน ข้าวสีม่วงแดงมักจะอุดมไปด้วยธาตุหล็กไนอะซีน (niacin) วิตามินบี 2 รวมถึงสารออกฤทธิ์ต่าง ๆ โดยเฉพาะสารประกอบแอนโทไซยานิน ที่อยู่ในรูปของสารประกอบกลูโคไซด์ของไซยานิดิน (cyanidin-3-glucoside) และพิโอนิดิน (peonidin-3- glucoside) (Kongkachuichai *et al*., 2013; Prangthip *et al*., 2013) Sompong *et al*. (2011) รายงานว่าข้าวกลุ่มที่มีสีดำส่วนใหญ่ในประเทศไทยมีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดที่ 256 mg cyanidin3-glucoside equivalents/100g sample ซึ่งจะสูงกว่าข้าวกลุ่มที่มีสีแดงซึ่งจะมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเพียง 1.4 มิลลิกรัม/100กรัมตัวอย่าง

3.4 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

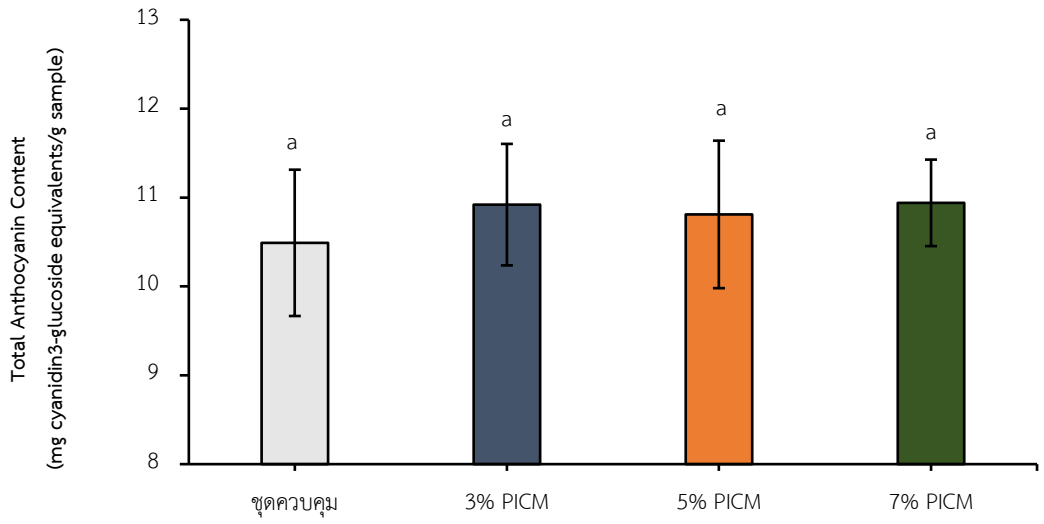
กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ แสดงดังภาพที่ 45 (A) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกที่ไม่เสริมโปรตีนไอโซเลต (ชุดควบคุม) และเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ อยู่ในช่วง 110.86-146.75 µmol TE/g sample นิอร และคณะ (2559) ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่เสริมงานดำ พบว่ามีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ ที่ร้อยละ 39.96 ส่วนพิมพ์ชนกและคณะ (2556) พัฒนาเครื่องดื่มน้ำข้าวกล้องงอกโดยใช้น้ำผึ้งในการให้ความหวาน พบว่ามีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH$^{\bullet}$ เท่ากับร้อยละ 56.19

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS$^{\bullet+}$ ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 45 (B)) พบว่า

เครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ อยู่ในช่วง 168.94-221.62 µmol TE/g sample ตามลำดับ

ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (FRAP) ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 45 (C)) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกที่ไม่เสริม (ชุดควบคุม) และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่า FRAP ในช่วง 52.82-55.76 µM TE/g samples

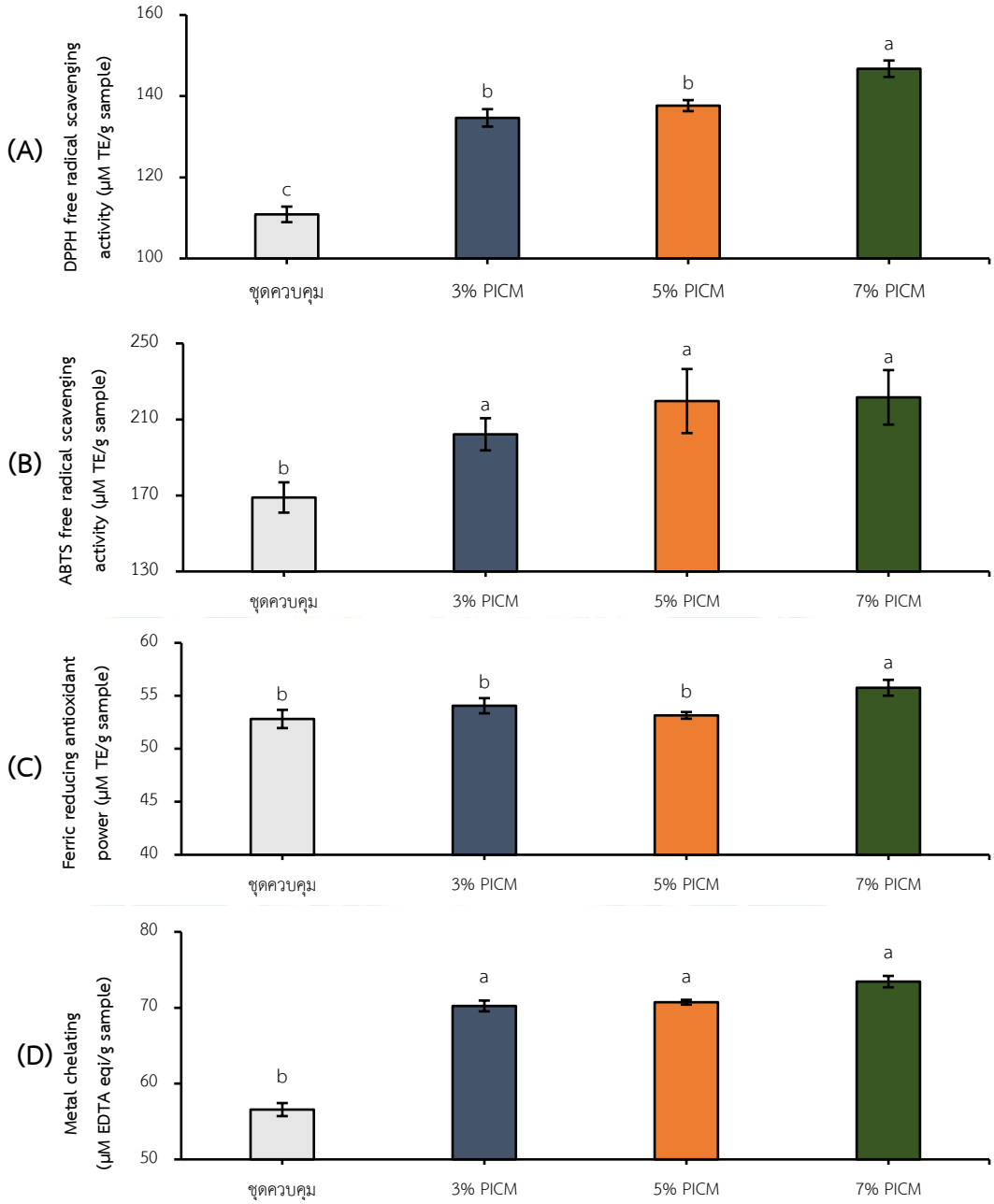
กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ภาพที่ 45 (D)) พบว่าเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีค่ากิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนอยู่ในช่วง 56.56-73.44 µM EDTA eqi/g sample โดยการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 7 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และ $ABTS^{\bullet+}$ FRAP และกิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนสูงที่สุด



ภาพที่ 44 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



ภาพที่ 45 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ (A) ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ (B) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (C) กิจกรรมการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (D) ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

หมายเหตุ : - PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

- ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4. คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

คุณภาพทางจุลินทรีย์ได้แก่ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และปริมาณยีสต์และรา ของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 38) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกทุกชุดการทดลองไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด รวมถึงยีสต์ และรา ซึ่งข้อกำหนดตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโพดผงสำเร็จรูป มผช. 1529/2562 กำหนดให้ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 10,000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม และยีสต์ รา ต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2562)

ตารางที่ 39 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และราของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด	ปริมาณยีสต์และรา
ชุดควบคุม	ไม่พบ	ไม่พบ
3% PICM	ไม่พบ	ไม่พบ
5% PICM	ไม่พบ	ไม่พบ
7% PICM	ไม่พบ	ไม่พบ

5. คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ (ตารางที่ 39) โดยเครื่องดื่มผงน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุม และการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกชนิดผงสำเร็จรูปทางการค้าทดสอบด้วยวิธีการให้คะแนนระดับความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าการเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีคะแนนในด้านลักษณะปรากฏ รสชาติ และคะแนนรวมสูงที่สุดเท่ากับ 7.84 6.87 และ 74.41 คะแนน ตามลำดับ ในขณะที่การเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีคะแนนความชอบด้านกลิ่น และเนื้อสัมผัสสูงที่สุดที่ 7.25 และ 7.32 ตามลำดับ นอกจากนี้การเสริมโปรตีนที่ร้อยละ 5 มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุดที่ 7.65 และเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกชุดควบคุมมีคะแนนความชอบด้านค่าสีสูงที่สุดที่ 7.24 ซึ่งเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกงอก แม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในทุกด้านที่สูงกว่าเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่งอกชนิดผงสำเร็จรูปทางการค้า ในการพัฒนา

ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่เสริมโปรตีนจากถั่วเหลืองที่อัตราส่วนร้อยละ 3 5 และ 7 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่าการเสริมโปรตีนที่อัตราส่วนร้อยละ 5 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ได้รับคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ความชอบ 5 ระดับ (5-point hedonic scale) สูงที่สุดในด้านลักษณะปรากฏ สี รสชาติ ความหนืด ความเนียนนุ่ม และความชอบโดยรวมเท่ากับ 3.93 3.80 3.03 3.23 3.40 และ 3.17 ตามลำดับ (สิรินดา, 2560)

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY

ตารางที่ 40 คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในระดับต่าง ๆ

น้ำนมข้าวกล้องงอก + PICM*	ลักษณะปรากฏ	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
ชุดควบคุม	6.56±1.21^{**c***}	7.05±1.14^{b}	7.24±1.25^{a}	5.22±1.12^{d}	7.25±1.27^{b}	7.40±1.47^{c}
3% PICM	6.28±1.53^{d}	7.25±1.63^{a}	7.14±1.31^{ab}	5.35±1.50^{b}	7.32±1.96^{a}	7.54±1.41^{b}
5% PICM	7.26±1.62^{b}	6.97±1.74^{b}	7.05±1.44^{b}	5.23±1.81^{d}	7.12±1.35^{c}	7.65±1.35^{a}
7% PICM	7.84±1.40^{a}	7.15±1.19^{ab}	6.97±1.72^{b}	6.87±1.62^{a}	7.24±1.87^{b}	7.34±1.29^{d}
ทางการค้า	7.93±1.42^{a}	6.59±1.25^{c}	6.53±1.19^{c}	5.60±1.24^{b}	7.15±1.55^{c}	7.24±1.27^{e}

หมายเหตุ : * PICM หมายถึง โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

** แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

*** ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

สรุปผลการวิจัย

1. กระบวนการตกตะกอนโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ความเข้มข้นอิ่มตัวร้อยละ 80 เป็นกระบวนการตกตะกอนโปรตีนที่ส่งผลต่อร้อยละผลผลิตสูง มีคุณลักษณะทางเคมี-กายภาพ สมบัติเชิงหน้าที่ ฤทธิ์ทางชีวภาพ และคุณสมบัติเชิงโครงสร้างที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เสริมผลิตภัณฑ์อาหาร และเครื่องดื่มได้

2. กระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอัตราส่วนโปรตีนไอโซเลตต่อสารห่อหุ้มที่อัตราส่วน 1:3 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยใช้สารห่อหุ้มชนิดมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้าไซโคลเดกซ์ทรินที่อัตราส่วน 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีร้อยละผลผลิต และประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่สูง อีกทั้งยังมีคุณลักษณะทางเคมี-กายภาพ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ สมบัติทางความร้อน และสมบัติเชิงโครงสร้างที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบของอาหารเชิงฟังก์ชันได้

3. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง พบว่าการเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองส่งผลต่อคุณลักษณะทางเคมี-กายภาพที่ดีขึ้น อีกทั้งยังเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถเป็นแนวทางในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีมูลค่าสูงได้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาวิจัยต่อยอดในมนุษย์ (clinical trial) ฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทองใน Clinical trial เช่น การเป็นพิษต่อเซลล์ การดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และรักษาโรคในผู้ป่วย เป็นต้น

2. ควรศึกษาอายุการเก็บรักษาผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลทจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3. ควรศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง รวมถึงการวางแผนทางด้านการตลาดของโปรตีนทางเลือกจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในอนาคต

บรรณานุกรม

Ahlborn, J., Stephan, A., Meckel, T., Maheshwari, G., Rühl, M. & Zorn, H. 2019. Upcycling of food industry side streams by basidiomycetes for production of a vegan protein source. **International Journal of Recycling of Organic Waste in Agriculture**, 8(1), 447-455.

Akama, K., Akter, N., Endo, H., Kanesaki, M., Endo, M. & Toki, S. 2020. An in vivo targeted deletion of the calmodulin-binding domain from rice glutamate decarboxylase 3 (OsGAD3) increases γ-aminobutyric acid content in grains. **Rice**, 13(1), 1-12.

Akbarbaglu, Z., Jafari, S. M., Sarabandi, K., Mohammadi, M., Heshmati, M. K. & Pezeshki, A. 2019. Influence of spray drying encapsulation on the retention of antioxidant properties and microstructure of flaxseed protein hydrolysates. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, 178, 421-429.

Akyüz, A. & Ersus, S. 2021. Optimization of enzyme assisted extraction of protein from the sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves for alternative plant protein concentrate production. **Food Chemistry**, 335, 127673.

Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A. L. & Mahony, J. A. 2017. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. **Trends in Food Science and Technology**, 64, 1-12.

Amagliani, L., O'Regan, J., Kelly, A. L. & O'Mahony, J. A. 2017. The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review. **Trends in Food Science and Technology**, 64, 1-12.

Angelini, P., Venanzoni, R., Angeles Flores, G., Tirillini, B., Orlando, G., Recinella, L., Chiavaroli, A., Brunetti, L., Leone, S. & Di Simone, S. C. 2020. Evaluation of antioxidant, antimicrobial and tyrosinase inhibitory activities of extracts from *Tricholosporum goniospermum*, an edible wild mushroom. **Antibiotics**, 9(8), 513.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC international. Gaithersburg, MD.

Aondona, M. M., Ikya, J. K., Ukeyima, M. T., Gborigo, T. w. J., Aluko, R. E. & Girgih, A. T.

2021. *In vitro* antioxidant and antihypertensive properties of sesame seed enzymatic protein hydrolysate and ultrafiltration peptide fractions. **Journal of Food Biochemistry**, 45(1), e13587.

Arranz, E., Corrochano, A., Shanahan, C., Villalva, M., Jaime, L., Santoyo, S., Callanan, M., Murphy, E. & Giblin, L. 2019. Antioxidant activity and characterization of whey protein-based beverages: Effect of shelf life and gastrointestinal transit on bioactivity. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 57, 102209.

Ashraf, S. A., Elkhalifa, A. E. O., Siddiqui, A. J., Patel, M., Awadelkareem, A. M., Snoussi, M., Ashraf, M. S., Adnan, M. & Hadi, S. 2020. Cordycepin for health and wellbeing: A potent bioactive metabolite of an entomopathogenic medicinal fungus *Cordyceps* with its nutraceutical and therapeutic potential. **Molecules**, 25(12), 2735.

Auppasuk, A., Ponklang, W., Lueachan, R., Ploypetchara, T., Butseekhot, S., Siricoon S., & Sorndech, W. 2022. Encapsulation Properties and Digestibility of Encapsulated Aloe vera Bioactive Polysaccharides. **Thai Journal of Science and Technology**, 10(6), 15-27.

Ayogu, R. N., Nnam, N. M. & Mbah, M. 2016. Evaluation of two local cowpea species for nutrient, antinutrient, and phytochemical compositions and organoleptic attributes of their wheat-based cookies. **Food and Nutrition Research**, 60(1), 29600.

Azeez, L., Oyedeji, A. O., Adebisi, S. A., Adejumo, A. L. & Tijani, K. O. 2017. Chemical components retention and modelling of antioxidant activity using neural networks in oven dried tomato slices with and without osmotic dehydration pre-treatment. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 11, 2247-2258.

Bai, K.-C. & Sheu, F. 2018. A novel protein from edible fungi *Cordyceps militaris* that induces apoptosis. **Journal of Food and Drug Analysis**, 26(1), 21-30.

Barber, T. M., Kabisch, S., Pfeiffer, A. F. & Weickert, M. O. 2020. The health benefits of dietary fibre. **Nutrients**, 12(10), 3209.

Barbosa-Cánovas, G. V., Ortega-Rivas, E., Juliano, P. & Yan, H. 2005. Food powders: physical properties, processing, and functionality. **Kluwer Academic/Plenum**

Publishers, 86, 76-75.

Barido, F. H. & Lee, S. K. 2021. Tenderness-related index and proteolytic enzyme response to the marination of spent hen breast by a protease extracted from *Cordyceps militaris* mushroom. **Animal Bioscience**, 34(11), 1859.

Barros, L., Falcão, S., Baptista, P., Freire, C., Vilas-Boas, M. & Ferreira, I. C. 2008. Antioxidant activity of Agaricus sp. mushrooms by chemical, biochemical and electrochemical assays. **Food Chemistry**, 111(1), 61-66.

Barta, J., HEŘMANOVÁ, V. & DIVIŠ, J. 2008. Effect of low-molecular additives on precipitation of potato fruit juice proteins under different temperature regimes. **Journal of Food Process Engineering**, 31(4), 533-547.

Bashi, Z., McCullough, R., Ong, L. & Ramirez, M. 2019. Alternative proteins: The race for market share is on. **McKinsey and Company: Denver, CO, USA**, 1-11.

Bei, Q., Liu, Y., Wang, L., Chen, G. & Wu, Z. 2017. Improving free, conjugated, and bound phenolic fractions in fermented oats (*Avena sativa* L.) with Monascus anka and their antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, 32, 185-194.

Benjakul, S., Mad-Ali, S., Senphan, T. & Sookchoo, P. 2017. Biocalcium powder from precooked skipjack tuna bone: Production and its characteristics. **Journal of Food Biochemistry**, 41(6), e12412.

Benjakul, S., Visessanguan, W., Thongkaew, C. & Tanaka, M. 2005. Effect of frozen storage on chemical and gel-forming properties of fish commonly used for surimi production in Thailand. **Food Hydrocolloids**, 19(2), 197-207.

Benzie, I. F. & Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239(1), 70-76.

Benzie, I. F. & Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239(1), 70-76.

Bernstein, A. & Noreña, C. P. Z. 2015. Encapsulation of red cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata* L.) anthocyanins by spray drying using different encapsulating agents. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 58, 944-952.

Bhujbal, S. V., Mitra, B., Jain, U., Gong, Y., Agrawal, A., Karki, S., Taylor, L. S., Kumar, S. & Zhou, Q. T. 2021. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, 11(8), 2505-2536.

Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M. & Kishimura, H. 2008. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste, from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). **Food Chemistry**, 106(1), 185-193.

Boureghda, Y., Satha, H., & Bendebane, F. 2021. Chitin–Glucan Complex from Pleurotus ostreatus Mushroom: Physicochemical Characterization and Comparison of Extraction Methods. **Waste and Biomass Valorization**, 12(11), 6139-6153.

Böcker, L., Bertsch, P., Wenner, D., Teixeira, S., Bergfreund, J., Eder, S., Fischer, P. & Mathys, A. 2021. Effect of Arthrospira platensis microalgae protein purification on emulsification mechanism and efficiency. **Journal of Colloid and Interface Science**, 584, 344-353.

Boye, J., Zare, F. & Pletch, A. 2010. Pulse proteins: Processing, characterization, functional properties and applications in food and feed. **Food Research International**, 43(2), 414-431.

Brand Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 28(1), 25-30.

Broucke, K., Van Poucke, C., Duquenne, B., De Witte, B., Baune, M.-C., Lammers, V., Terjung, N., Ebert, S., Gibis, M. & Weiss, J. 2022. Ability of (extruded) pea protein products to partially replace pork meat in emulsified cooked sausages. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 78, 102992.

Burhan, A. M., Abdel Hamid, S. M., Soliman, M. E. & Sammour, O. A. 2019. Optimisation of the microencapsulation of lavender oil by spray drying. **Journal of Microencapsulation**, 36(3), 250-266.

Cai, Y.-Z. & Corke, H. 2000. Production and properties of spray-dried Amaranthus betacyanin pigments. **Journal of Food Science**, 65(7), 1248-1252.

Cano-Higuita, D. M., Vélez, H. A. V. & Telis, V. R. N. 2015. Microencapsulation of *turmeric oleoresin* in binary and ternary blends of gum Arabic, maltodextrin and

modified starch. **Ciencia Agrotecnologia**, 39, 173-182.

Carbonaro, M. & Nucara, A. 2010. Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid-infrared region. **Amino Acids**, 38, 679-690.

Carrasco-Castilla, J., Hernández-Álvarez, A. J., Jiménez-Martínez, C., Jacinto-Hernández, C., Alaiz, M., Girón-Calle, J., Vioque, J. & Dávila-Ortiz, G. 2012. Antioxidant and metal chelating activities of peptide fractions from phaseolin and bean protein hydrolysates. **Food Chemistry**, 135(3), 1789-1795.

Castanho, A., Pereira, C., Lageiro, M., Oliveira, J. C., Cunha, L. M. & Brites, C. 2023. Improving γ-Oryzanol and γ-Aminobutyric Acid Contents in Rice Beverage Amazake Produced with Brown, Milled and Germinated Rices. **Foods**, 12(7), 1476.

Castro, N., Durrieu, V., Raynaud, C. & Rouilly, A. 2016. Influence of DE-value on the physicochemical properties of maltodextrin for melt extrusion processes. **Carbohydrate Polymers**, 144, 464-473.

Chan, J. S. L., Barseghyan, G. S., Asatiani, M. D. & Wasser, S. P. 2015. Chemical composition and medicinal value of fruiting bodies and submerged cultured mycelia of caterpillar medicinal fungus *Cordyceps militaris* CBS-132098 (Ascomycetes). **International Journal of Medicinal Mushrooms**, 17(7), 425-437.

Chang, H. T., Lin, C. Y., Hsu, L. S. & Chang, S. T. 2021. Thermal degradation of linalool-chemotype Cinnamomum osmophloeum leaf essential oil and its stabilization by microencapsulation with β-cyclodextrin. **Molecules**, 26(2), 409.

Chauhan, A. & Chauhan, P. 2014. Powder XRD technique and its applications in science and technology. **Journal of Analytical & Bioanalytical Techniques**, 5(5), 1-5.

Chen, W., Wang, J., Qi, X. & Xie, B. 2007. The antioxidant activities of natural sweeteners, mogrosides, from fruits of Siraitia grosvenori. **International journal of food sciences and nutrition**, 58(7), 548-556.

Chen, Y., Chen, J., Chang, C., Chen, J., Cao, F., Zhao, J., Zheng, Y. & Zhu, J. 2019. Physicochemical and functional properties of proteins extracted from three

microalgal species. **Food Hydrocolloids**, 96, 510-517.

Chen, Y., Chen, J., Chang, C., Chen, J., Cao, F., Zhao, J., Zheng, Y. & Zhu, J. 2019. Physicochemical and functional properties of proteins extracted from three microalgal species. **Food Hydrocolloids**, 96, 510-517.

Cheng, Y., Xiong, Y. L. & Chen, J. 2010. Antioxidant and emulsifying properties of potato protein hydrolysate in soybean oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**, 120(1), 101-108.

Cherta-Murillo, A. & Frost, G. S. 2022. The association of mycoprotein-based food consumption with diet quality, energy intake and non-communicable diseases' risk in the UK adult population using the National Diet and Nutrition Survey (NDNS) years 2008/2009–2016/2017: a cross-sectional study. **British Journal of Nutrition**, 127(11), 1685-1694.

Chi, C. F., Cao, Z. H., Wang, B., Hu, F. Y., Li, Z. R. & Zhang, B. 2014. Antioxidant and functional properties of collagen hydrolysates from Spanish mackerel skin as influenced by average molecular weight. **Molecules**, 19(8), 11211-11230.

Choi, K. O., Ryu, J., Kwak, H. S. & Ko, S. 2010. Spray-dried conjugated linoleic acid encapsulated with Maillard reaction products of whey proteins and maltodextrin. **Food Science and Biotechnology**, 19, 957-965.

Chong, S. Y. & Wong, C. W. 2015. Production of spray dried sapodilla (*M anilkara zapota*) powder from enzyme aided liquefied puree. **Journal of Food Processing and Preservation**, 39(6), 2604-2611.

Chungcharoen, T., Sansiribhanb, S., Munsin, R., Thuwapanichayanan, R., Palamanit, A., Sukkeaw, P. & Phetpan, K. 2023. Influence of Germinated Brown Rice Production by Water Spraying Method on Its Qualities. **Current Applied Science**, 12(8), 2121-2134.

Clemmons, E. A., Alfson, K. J. & Dutton III, J. W. 2021. Transboundary animal diseases, an overview of 17 diseases with potential for global spread and serious consequences. **Animals**, 11(7), 2039.

Coelho, M. O., Monteyne, A. J., Dunlop, M. V., Harris, H. C., Morrison, D. J., Stephens, F. B. & Wall, B. T. 2020. Mycoprotein as a possible alternative source of dietary protein to support muscle and metabolic health. **Nutrition Reviews**, 78(6), 486-

497.

Correia, R., Grace, M. H., Esposito, D. & Lila, M. A. 2017. Wild blueberry polyphenol-protein food ingredients produced by three drying methods: Comparative physico-chemical properties, phytochemical content, and stability during storage. **Food Chemistry**, 235, 76-85.

Crowley, S. V., Gazi, I., Kelly, A. L., Huppertz, T. & O'Mahony, J. A. 2014. Influence of protein concentration on the physical characteristics and flow properties of milk protein concentrate powders. **Journal of Food Engineering**, 135(31-38.

Cruz-Solorio, A., Villanueva-Arce, R., Garín-Aguilar, M. E., Leal-Lara, H. & Valencia-del Toro, G. 2018. Functional properties of flours and protein concentrates of 3 strains of the edible mushroom *Pleurotus ostreatus*. **Journal of Food Science and Technology**, 55(10), 3892-3901.

Cui, J. D. 2015. Biotechnological production and applications of Cordyceps militaris, a valued traditional Chinese medicine. **Critical Reviews in Biotechnology**, 35(4), 475-484.

Daba, G. 2020. The endless nutritional and pharmaceutical benefits of the Himalayan gold, Cordyceps; Current knowledge and prospective potentials. **Asian Journal of Natural Product Biochemistry**, 18(2), 354-368.

Dadi, D. W., Emire, S. A., Hagos, A. D. & Eun, J. B. 2020. Physical and functional properties, digestibility, and storage stability of spray and freeze dried microencapsulated bioactive products from Moringa stenopetala leaves extract. **Industrial Crops and Products**, 156, 112891.

Dai, Y., Zhou, J., Wang, L., Dong, M. & Xia, X. 2021. Biotransformation of soy whey into a novel functional beverage by Cordyceps militaris SN-18. **Food Production, Processing and Nutrition**, 3(1), 1-11.

Darniadi, S., Ho, P. & Murray, B. S. 2018. Comparison of blueberry powder produced via foam-mat freeze-drying versus spray-drying: evaluation of foam and powder properties. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 98(5), 2002-2010.

Das, S. K., Masuda, M., Sakurai, A. & Sakakibara, M. 2010. Medicinal uses of the mushroom *Cordyceps militaris*: current state and prospects. **Fitoterapia**, 81(8), 961-968.

Deepa, P., Sowndhararajan, K. & Park, S. 2020. Polyphenolic contents and antioxidant activity of *brassicaceae sprouts* cultivated in the plant factory system. **Journal of Agricultural, Life and Environmental Sciences**, 321-331.

Deng, Y., Huang, L., Zhang, C., Xie, P., Cheng, J., Wang, X. & Li, S. 2019. Physicochemical and functional properties of Chinese quince seed protein isolate. **Food Chemistry**, 283, 539-548.

Denny, A., Aisbitt, B. & Lunn, J. 2008. Mycoprotein and health. **Nutrition Bulletin**, 33(4), 298-310.

Derbyshire, E. J. & Delange, J. 2021. Fungal protein–what is it and what is the health evidence? A systematic review focusing on mycoprotein. **Frontiers in Sustainable Food Systems**, 5, 581682.

Dinis, T. C., Madeira, V. M. & Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5 -aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 315(1), 161-169.

Dinis, T. C., Madeira, V. M. & Almeida, L. M. 1994. Action of phenolic derivatives (acetaminophen, salicylate, and 5 -aminosalicylate) as inhibitors of membrane lipid peroxidation and as peroxyl radical scavengers. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, 315(1), 161-169.

Dobroslavić, E., Elez Garofulić, I., Zorić, Z., Pedisić, S., Roje, M. & Dragović-Uzelac, V. 2023. Physicochemical properties, antioxidant capacity, and bioavailability of *Laurus nobilis* L. leaf polyphenolic extracts microencapsulated by spray drying. **Foods**, 12(9), 1923.

Dong, H., Liu, J., Zeng, X., Bai, W. & Yu, L. 2020. Enzymatic hydrolysis pretreatment for enhancing the protein solubility and physicochemical quality of *Cordyceps militaris* chicken soup. **Food Science and Nutrition**, 8(5), 2436-2444.

Dong, Y., Jing, T., Meng, Q., Liu, C., Hu, S., Ma, Y., Liu, Y., Lu, J., Cheng, Y. & Wang, D. 2014. Studies on the antidiabetic activities of *Cordyceps militaris* extract in diet-streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats. **BioMed Research International**, 2014(

Droguett Ossa, D. A., Kemmerling Weis, U. & Schmeda Hirschmann, G. 2014.

Determinación del efecto quimiopreventivo de Quercetin a en un modelo de carcinogénesis oral en ratones CF-1 expuestos a 4 -nitroquinolina 1 - **oxido.** Universidad De Talca (Chile). Facultad De Ciencias De la Salud.

Edris, A. E., Kalemba, D., Adamiec, J. & Piatkowski, M. 2016. Microencapsulation of *Nigella sativa* oleoresin by spray drying for food and nutraceutical applications. **Food Chemistry**, 204, 326-333.

Elkhateeb, W. A., Daba, G. M., Thomas, P. W. & Wen, T.-C. 2019. Medicinal mushrooms as a new source of natural therapeutic bioactive compounds. **Egyptian Pharmaceutical Journal**, 18(2), 88-101.

Elsorady, M. e. 2020. Characterization and functional properties of proteins isolated from flaxseed cake and sesame cake. **Croatian Journal of Food Science and Technology**, 12(1), 77-83.

Eroğlu, E., Tontul, İ. & Topuz, A. 2018. Optimization of aqueous extraction and spray drying conditions for efficient processing of hibiscus blended rosehip tea powder. **Journal of Food Processing and Preservation**, 42(6), e13643.

Ersus, S. & Akyüz, A. 2023. Enzyme assisted extraction of protein from mallow leaf (*Malva sylvestris* L.) for production of alternative protein concentrate. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 1-12.

Escobar-Avello, D., Avendaño-Godoy, J., Santos, J., Lozano Castellón, J., Mardones, C., von Baer, D., Luengo, J., Lamuela-Raventós, R. M., Vallverdú-Queralt, A. & Gómez-Gaete, C. 2021. Encapsulation of phenolic compounds from a grape cane pilot-plant extract in hydroxypropyl beta-cyclodextrin and maltodextrin by spray drying. **Antioxidants**, 10(7), 1130.

Fadimu, G. J., Gill, H., Farahnaky, A. & Truong, T. 2022. Improving the enzymolysis efficiency of lupin protein by ultrasound pretreatment: Effect on antihypertensive, antidiabetic and antioxidant activities of the hydrolysates. **Food Chemistry**, 383, 132457.

Fang, B., Chang, L., Ohm, J. B., Chen, B. & Rao, J. 2023. Structural, functional properties, and volatile profile of hemp protein isolate as affected by extraction method: Alkaline extraction–isoelectric precipitation vs salt extraction. **Food Chemistry**, 405, 135001.

Fathollahy, I., Farmani, J., Kasaai, M. R. & Hamishehkar, H. 2021. Characteristics and functional properties of Persian lime (*Citrus latifolia*) seed protein isolate and enzymatic hydrolysates. **Lebensmittel Wissenschaft and Technologie**, 140, 110765.

Fellows, P. 2000. Principles and practice. **Food Processing & Packaging**, 369-380.

Feng, Y., Yuan, D., Kong, B., Sun, F., Wang, M., Wang, H. & Liu, Q. 2022. Structural changes and exposed amino acids of ethanol-modified whey proteins isolates promote its antioxidant potential. **Current Research in Food Science**, 5, 1386-1394.

Ferreira, I. C., Heleno, S. A., Reis, F. S., Stojkovic, D., Queiroz, M. J. R., Vasconcelos, M. H. & Sokovic, M. 2015. Chemical features of *Ganoderma* polysaccharides with antioxidant, antitumor and antimicrobial activities. **Phytochemistry**, 114, 38-55.

Fetzer, A., Hintermayr, C., Schmid, M., Stäbler, A. & Eisner, P. 2021. Effect of acylation of rapeseed proteins with lauroyl and oleoyl chloride on solubility and film-forming properties. **Waste and Biomass Valorization**, 12(2), 745-755.

Finnigan, T., Needham, L. & Abbott, C. (2017). Mycoprotein: a healthy new protein with a low environmental impact. In **Sustainable Protein Sources** 2(8),. 305-325.

Flores, F. & Caro, M. 2022. Microencapsulated with β-cyclodextrin. **Food Research International**, 6, 283-288.

Foegeding, E. A. & Davis, J. P. 2011. Food protein functionality: A comprehensive approach. **Food Hydrocolloids**, 25(8), 1853-1864.

Fowle, J. 2005. Developments in barrier films for packaging. **Pira International,** 231.

Gao, D., Helikh, A., Duan, Z., Liu, Y. & Shang, F. 2022. Study on application of pumpkin seed protein isolate in sausage production process. **Technology Audit and Production Reserves**, 2(3), 31-35.

Gao, W., Chen, F., Wang, X. & Meng, Q. 2020. Recent advances in processing food powders by using superfine grinding techniques: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 19(4), 2222-2255.

Gao, Z., Shen, P., Lan, Y., Cui, L., Ohm, J. B., Chen, B. & Rao, J. 2020. Effect of alkaline extraction pH on structure properties, solubility, and beany flavor of yellow pea

protein isolate. **Food Research International**, 131, 109045.

Gharanjig, H., Gharanjig, K., Hosseinnezhad, M. & Jafari, S. M. (2020). Differential scanning calorimetry (DSC) of nanoencapsulated food ingredients. In **Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients**,. 295-346.

Gong, K. J., Shi, A. M., Liu, H. Z., Liu, L., Hu, H., Adhikari, B. & Wang, Q. 2016. Emulsifying properties and structure changes of spray and freeze-dried peanut protein isolate. **Journal of Food Engineering**, 170, 33-40.

González, A., Nobre, C., Simões, L. S., Cruz, M., Loredo, A., Rodríguez-Jasso, R. M., Contreras, J., Texeira, J. & Belmares, R. 2021. Evaluation of functional and nutritional potential of a protein concentrate from *Pleurotus ostreatus* mushroom. **Food Chemistry**, 346, 128884.

Gorissen, S. H., Crombag, J. J., Senden, J. M., Waterval, W. H., Bierau, J., Verdijk, L. B. & van Loon, L. J. 2018. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. **Amino Acids**, 50, 1685-1695.

Goula, A. M., Adamopoulos, K. G. & Kazakis, N. A. 2004. Influence of spray drying conditions on tomato powder properties. **Drying Technology**, 22(5), 1129-1151.

Grgić, J., Šelo, G., Planinić, M., Tišma, M. & Bucić-Kojić, A. 2020. Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. **Antioxidants**, 9(10), 923.

Griesbach, R. 2010. Biochemistry and genetics of flower color. **Plant Breeding Reviews**, 25, 89-114.

Grossmann, L., Ebert, S., Hinrichs, J. & Weiss, J. 2018. Effect of precipitation, lyophilization, and organic solvent extraction on preparation of protein-rich powders from the microalgae Chlorella protothecoides. **Algal Research**, 29, 266-276.

Guntero, V. A., Peralta, M., Noriega, P., Kneeteman, M. N. & Ferretti, C. A. 2020. One-pot selective functionalization of polysaccharides with urea. **Chemistry Proceedings**, 3(1), 74.

Guo, M., Guo, S., Huaijun, Y., Bu, N. & Dong, C. 2016. Comparison of major bioactive compounds of the caterpillar medicinal mushroom, *Cordyceps militaris*

(Ascomycetes), fruiting bodies cultured on wheat substrate and pupae. **International Journal of Medicinal Mushrooms**, 18(4).

Gupta, S., Khan, S., Muzafar, M., Kushwaha, M., Yadav, A. K. & Gupta, A. P. (2016). Encapsulation: Entrapping essential oil/flavors/aromas in food. In **Nanotechnology in the Agri-Food Industry** 3(2), 229-268.

Hadnađev, M., Dapčević Hadnađev, T., Lazaridou, A., Moschakis, T., Michaelidou, A. M., Popović, S. & Biliaderis, C. G. 2018. Hempseed meal protein isolates prepared by different isolation techniques. Part I. physicochemical properties. **Food Hydrocolloids**, 79, 526-533.

Halliwell, B., Gutteridge, J. M. & Aruoma, O. I. 1987. The deoxyribose method: a simple "test-tube" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. **Analytical Biochemistry**, 165(1), 215-219.

Haque, E., Bhandari, B. R., Gidley, M. J., Deeth, H. C., Moller, S. M. & Whittaker, A. K. 2010. Protein conformational modifications and kinetics of water protein interactions in milk protein concentrate powder upon aging: effect on solubility. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 58(13), 7748-7755.

Hassan, M. A., Xavier, M., Gupta, S., Nayak, B. B. & Balange, A. K. 2019. Antioxidant properties and instrumental quality characteristics of spray dried *Pangasius* visceral protein hydrolysate prepared by chemical and enzymatic methods. **Environmental Science and Pollution Research**, 26(9), 8875-8884.

Hou, W. C., Lee, M. H., Chen, H. J., Liang, W. L., Han, C. H., Liu, Y. W. & Lin, Y. H. 2001. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (Dioscorea batatas Decne) tuber. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 49(10), 4956-4960.

Huang, X. & Hsieh, F. H. 2005. Physical properties, sensory attributes, and consumer preference of pear fruit leather. **Journal of Food Science**, 70(3), 177-186.

Hur, H. 2008. Chemical ingredients of *Cordyceps militaris*. **Mycobiology**, 36(4), 233-235.

Imathiu, S. 2020. Benefits and food safety concerns associated with consumption of edible insects. **Official Journal of the Society of Nutrition and Food Science**, 18, 1-11.

Iwashina, T. 2013. Flavonoid properties of five families newly incorporated into the

order *Caryophyllales*. **Bulletin of the National Science Museum, Series B (Botany)**, 39, 25-51.

Jabeen, R., Hussain, S. Z., Jan, N., Fatima, T., Naik, H. R. & Jabeen, A. 2023. Comparative study of brown rice and germinated brown rice for nutritional composition, in vitro starch digestibility, bioactive compounds, antioxidant activity and microstructural properties. **Cereal Chemistry**, 100(2), 434-444.

Jafari, S. M., Vakili, S. & Dehnad, D. 2019. Production of a functional yogurt powder fortified with nanoliposomal vitamin D through spray drying. **Food and Bioprocess Technology**, 12(7), 1220-1231.

Jafari, S. M., Vakili, S. & Dehnad, D. 2019. Production of a functional yogurt powder fortified with nanoliposomal vitamin D through spray drying. **Food and Bioprocess Technology**, 12, 1220-1231.

Jafari, S., Jafari, S. M., Ebrahimi, M., Kijpatanasilp, I. & Assatarakul, K. 2023. A decade overview and prospect of spray drying encapsulation of bioactives from fruit products: characterization, food application and in vitro gastrointestinal digestion. **Food Hydrocolloids**, 134, 108068.

Jain, A., Prakash, M. & Radha, C. 2015. Extraction and evaluation of functional properties of groundnut protein concentrate. **Journal of Food Science and Technology**, 52, 6655-6662.

Jayasundera, M., Adhikari, B., Howes, T. & Aldred, P. 2011. Surface protein coverage and its implications on spray-drying of model sugar-rich foods: Solubility, powder production and characterisation. **Food Chemistry**, 128(4), 1003-1016.

Jeyakumari, A., Zynudheen, A. & Parvathy, U. 2016. Microencapsulation of bioactive food ingredients and controlled release-A review. **Food Processing and Technology**, 2(6), 00059.

Jiang, S., Cheng, J., Jiang, Z., Geng, H., Sun, Y., Sun, C. & Hou, J. 2018. Effect of heat treatment on physicochemical and emulsifying properties of polymerized whey protein concentrate and polymerized whey protein isolate. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie**, 98, 134-140.

Jiapeng, T., Yiting, L. & Li, Z. 2014. Optimization of fermentation conditions and purification of cordycepin from Cordyceps militaris. **Preparative Biochemistry**

and Biotechnology, 44(1), 90-106.

Jideani, A., Silungwe, H., Takalani, T., Anyasi, T. A., Udeh, H. & Omolola, A. 2014. Antioxidant-rich natural grain products and human health. **Antioxidant-Antidiabetic Agents and Human Health**, 167-187.

Jo, W. S., Choi, Y. J., Mm, H. J., Lee, J. Y., Nam, B. H., Lee, J. D., Lee, S. W., Seo, S. Y. & Jeong, M. H. 2010. The anti-inflammatory effects of water extract from *Cordyceps militaris* in murine macrophage. **Mycobiology**, 38(1), 46-51.

Kang, N., Lee, H. H., Park, I. & Seo, Y. S. 2017. Development of high cordycepin-producing *Cordyceps militaris* strains. **Mycobiology**, 45(1), 31-38.

Karathanos, V. T., Mourtzinos, I., Yannakopoulou, K. & Andrikopoulos, N. K. 2007. Study of the solubility, antioxidant activity and structure of inclusion complex of vanillin with β-cyclodextrin. **Food Chemistry**, 101(2), 652-658.

Kaur, M. & Singh, N. 2007. Characterization of protein isolates from different Indian chickpea (*Cicer arietinum* L.) cultivars. **Food Chemistry**, 102(1), 366-374.

Kaur, N., Kaur, A., Sridhar, K., Sharma, M., Singh, T. P. & Kumar, S. 2021. Development and quality characteristics of functional Kulfi fortified with microencapsulated betalains. **International Journal of Food Science & Technology**, 56(10), 5362-5370.

Kautsar, D. B., Rois, M. F., Faizah, N., Widiyastuti, W., Nurtono, T. & Setyawan, H. 2023. Antioxidant and antimicrobial agents from avocado (*Persea Americana*) seed extract encapsulated in gum arabic through spray drying method. **Periodica Polytechnica Chemical Engineering**, 67(1), 161-171.

Khaskheli, S. G., Zheng, W., Sheikh, S. A., Khaskheli, A. A., Liu, Y., Soomro, A. H., Feng, X., Sauer, M. B., Wang, Y. F. & Huang, W. 2015. Characterization of Auricularia auricula polysaccharides and its antioxidant properties in fresh and pickled product. **International Journal of Biological Macromolecules**, 81, 387-395.

Khoddami, A., Wilkes, M. A. & Roberts, T. H. 2013. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, 18(2), 2328-2375.

Khunthawad A., and Sripui J., 2021. Effects of encapsulattion by Spray drying on physical properties of mamao (*Antidesma thwaitesianum*) Powder. **Food Research International**, 10(3), 15-27

Khushairay, E. S. I., Ghani, M. a. A., Babji, A. S. & Yusop, S. M. 2023. The Nutritional and Functional Properties of Protein Isolates from Defatted Chia Flour Using Different Extraction pH. **Foods**, 12(16), 3046.

Kim, H., Kang, S., Li, K., Jung, D., Park, K., & Lee, J. 2021. Preparation and characterization of various chitin-glucan complexes derived from white button mushroom using a deep eutectic solvent-based ecofriendly method. **International Journal of Biological Macromolecules**, 169, 122-129.

Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N. & Kimura, T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. **Journal of Food Engineering**, 78(2), 556-560.

Kongkachuichai, R., Prangthip, P., Surasiang, R., Posuwan, J., Charoensiri, R., Kettawan, A. & Vanavichit, A. 2013. Effect of Riceberry oil (deep purple oil; Oryza sativa Indica) supplementation on hyperglycemia and change in lipid profile in Streptozotocin (STZ)-induced diabetic rats fed a high fat diet. **International Food Research Journal**, 20(2), 2243-2254

Kosasu, T., Wongklom, A. & Moonsin, P. 2015. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of fresh water macroalgae from Ubon Ratchathani, Thailand. **Journal of Food Science and Agricultural Technology**, 1, 207-210.

Kourimská, L., and Anna Adámková. 2015. Nutritional and sensory quality of edible insects. **Official Journal of the Society of Nutrition and Food Science**, 4, 22-26.

Kudre, T. G., Benjakul, S. & Kishimura, H. 2013. Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean, black bean and bambara groundnut. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(10), 2429-2436.

Kudre, T. G., Benjakul, S. & Kishimura, H. 2013. Comparative study on chemical compositions and properties of protein isolates from mung bean, black bean and bambara groundnut. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 93(10), 2429-2436.

Kumar, M., Tomar, M., Potkule, J., Punia, S., Dhakane-Lad, J., Singh, S., Dhumal, S., Pradhan, P. C., Bhushan, B. & Anitha, T. 2022. Functional characterization of

plant-based protein to determine its quality for food applications. **Food Hydrocolloids**, 123, 106986.

Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature**, 2(5), 680-685.

Lao, Y., Zhang, M., Li, Z. & Bhandari, B. 2020. A novel combination of enzymatic hydrolysis and fermentation: Effects on the flavor and nutritional quality of fermented *Cordyceps militaris* beverage. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie-Food Science and Technology**, 1(1), 189-214.

Laura, A., Moreno-Escamilla, J. O., Rodrigo-García, J. & Alvarez-Parrilla, E. (2019). Phenolic compounds. In **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**, 3(2), 253-271.

Lavelli, V. & Scarafoni, A. 2012. Effect of water activity on lycopene and flavonoid degradation in dehydrated tomato skins fortified with green tea extract. **Journal of Food Engineering**, 110(2), 225-231.

Lawal, O., Adebowale, K., Ogunsanwo, B., Sosanwo, O. & Bankole, S. 2005. On the functional properties of globulin and albumin protein fractions and flours of African locust bean (*Parkia biglobossa*). **Food Chemistry**, 92(4), 681-691.

Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S. & Wanavijitr, A. 2011. Chemopreventive properties of the bran extracted from a newly-developed Thai rice: The Riceberry. **Food Chemistry**, 125(3), 978-985.

Lee, H. H., Lee, S., Lee, K., Shin, Y. S., Kang, H. & Cho, H. 2015. Anti-cancer effect of *Cordyceps militaris* in human colorectal carcinoma RKO cells via cell cycle arrest and mitochondrial apoptosis. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, 23(1), 1-8.

Lee, S. K., Lee, J. H., Kim, H. R., Chun, Y., Lee, J. H., Yoo, H. Y., ... & Kim, S. W. 2019. Improved cordycepin production by Cordyceps militaris KYL05 using casein hydrolysate in submerged conditions. **Biomolecules**, 9(9), 461.

Lee, X., Tan, J. & Cheng, L. 2022. Gamma aminobutyric acid (GABA) enrichment in plant-based food–A mini review. **Food Reviews International**, 1-22.

Li, J., Fu, J., Ma, Y., He, Y., Fu, R., Qayum, A., Jiang, Z. & Wang, L. 2022. Low

temperature extrusion promotes transglutaminase cross-linking of whey protein isolate and enhances its emulsifying properties and water holding capacity. **Food Hydrocolloids**, 125, 107410.

Li, J., Fu, J., Ma, Y., He, Y., Fu, R., Qayum, A., Jiang, Z. & Wang, L. 2022. Low temperature extrusion promotes transglutaminase cross-linking of whey protein isolate and enhances its emulsifying properties and water holding capacity. **Food Hydrocolloids**, 125, 107410.

Li, M., Wen, X., Peng, Y., Wang, Y., Wang, K. & Ni, Y. 2018. Functional properties of protein isolates from bell pepper (Capsicum annuum L. var. annuum) seeds. **Food Reviews International**, 97, 802-810.

Li, Y., Li, F., Cai, H., Chen, X., Sun, W. & Shen, W. 2016. Structural characterization of inclusion complex of arbutin and hydroxypropyl-β-cyclodextrin. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, 15(10), 2227-2233.

Li, Y., Zheng, Y., Zhang, Y., Xu, J. & Gao, G. 2018. Antioxidant activity of coconut (*Cocos nucifera* L.) protein fractions. **Molecules**, 23(3), 707.

Lin, L. T., Lai, Y. J., Wu, S. C., Hsu, W. H. & Tai, C. J. 2018. Optimal conditions for cordycepin production in surface liquid-cultured *Cordyceps militaris* treated with porcine liver extracts for suppression of oral cancer. **Journal of Food and Drug Analysis**, 26(1), 135-144.

Liu, C. M., Peng, Q., Zhong, J. Z., Liu, W., Zhong, Y. J . & Wang, F. 2018. Molecular and functional properties of protein fractions and isolate from cashew nut (*Anacardium occidentale* L.). **Molecules**, 23(2), 393.

Liu, C., Dai, L., Liu, Y., Dou, D., Sun, Y. & Ma, L. 2018. Pharmacological activities of mogrosides. **Future Science**, 10, 845-850.

Liu, C.-m., Peng, Q., Zhong, J.-z., Liu, W., Zhong, Y.-j. & Wang, F. 2018. Molecular and functional properties of protein fractions and isolate from cashew nut (Anacardium occidentale L.). **Molecules**, 23(2), 393.

Liu, F., Cao, X., Wang, H. & Liao, X. 2010. Changes of tomato powder qualities during storage. **Powder Technology**, 204(1), 159-166.

Liu, F., Zhu, Z.-Y., Sun, X., Gao, H. & Zhang, Y.-M. 2017. The preparation of three selenium-containing *Cordyceps militaris* polysaccharides: Characterization and

anti-tumor activities. **International Journal of Biological Macromolecules**, 99, 196-204.

Liu, Y., Zhao, G., Ren, J., Zhao, M. & Yang, B. 2011. Effect of denaturation during sampleion on the conformational and functional properties of peanut protein isolate. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 12(3), 375-380.

Loksuwan, J. 2007. Characteristics of microencapsulated β-carotene formed by spray drying with modified tapioca starch, native tapioca starch and maltodextrin. **Food Hydrocolloids**, 21(5-6), 928-935.

Long, H., Qiu, X., Cao, L. & Han, R. 2021. Discovery of the signal pathways and major bioactive compounds responsible for the anti-hypoxia effect of Chinese *cordyceps*. **Journal of Ethnopharmacology**, 277, 114215.

Luerdara, K., Kulsarin, J., Buranapanichpan, S. & Tapingkae, T. 2016. Growth of gold *cordyceps* (*Cordyceps militaris*) on pupae of Nanglai Thai native silkworm and eri silkworm. **Journal of Agriculture**, 95-102.

Luo, W., Han, M. & Zhang, W. 2020. Development of a functional milk beverage with cultured *Cordyceps militaris* residues. **China Dairy Industry**, 48(3), 60-64.

Luo, X., Duan, Y., Yang, W., Zhang, H., Li, C. & Zhang, J. 2017. Structural elucidation and immunostimulatory activity of polysaccharide isolated by subcritical water extraction from *Cordyceps militaris*. **Carbohydrate Polymers**, 157, 794-802.

Ma, L., Zhang, S. & Du, M. 2015. Cordycepin from *Cordyceps militaris* prevents hyperglycemia in alloxan-induced diabetic mice. **Nutrition Research**, 35(5), 431-439.

Machado, M. H., da Rosa Almeida, A., Maciel, M. V. d. O. B., Vitorino, V. B., Bazzo, G. C., da Rosa, C. G., Sganzerla, W. G., Mendes, C. & Barreto, P. L. M. 2022. Microencapsulation by spray drying of red cabbage anthocyanin-rich extract for the production of a natural food colorant. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 39, 102287.

Mahalakshmi, L., Leena, M. M., Moses, J. & Anandharamakrishnan, C. 2020. Micro and nano encapsulation of β-carotene in zein protein: Size-dependent release and absorption behavior. **Food & Function**, 11(2), 1647-1660.

Mahdavi, S. A., Jafari, S. M., Assadpoor, E. & Dehnad, D. 2016. Microencapsulation

optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin. **International Journal of Biological Macromolecules**, 85, 379-385.

Mahdi, A. A., Mohammed, J. K., Al Ansi, W., Ghaleb, A. D., Al Maqtari, Q. A., Ma, M., Ahmed, M. I. & Wang, H. 2020. Microencapsulation of fingered citron extract with gum arabic, modified starch, whey protein, and maltodextrin using spray drying. **International Journal of Biological Macromolecules**, 152, 1125-1134.

Malik, D. J. 2021. Bacteriophage encapsulation using spray drying for phage therapy. **Current Issues in Molecular Biology**, 40(1), 303-316.

Malomo, S. A. & Aluko, R. E. 2015. A comparative study of the structural and functional properties of isolated hemp seed (*Cannabis sativ*a L.) albumin and globulin fractions. **Food Hydrocolloids**, 43, 743-752.

Malomo, S. A., He, R. & Aluko, R. E. 2014. Structural and functional properties of hemp seed protein products. **Journal of Food Science**, 79(8), 1512-1521.

Maqsoudlou, A., Mahoonak, A. S., Mohebodini, H. & Koushki, V. 2020. Stability and structural properties of bee pollen protein hydrolysate microencapsulated using maltodextrin and whey protein concentrate. **Heliyon**, 6(5), 03731.

Marcillo-Parra, V., Tupuna-Yerovi, D. S., González, Z. & Ruales, J. 2021. Encapsulation of bioactive compounds from fruit and vegetable by products for food application A review. **Trends in Food Science & Technology**, 116, 11-23.

Martins, S. I., Jongen, W. M. & Van Boekel, M. A. 2000. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modelling. **Trends in Food Science & Technology**, 11(9-10), 364-373.

Mehta, N., Kumar, P., Verma, A. K., Umaraw, P., Kumar, Y., Malav, O. P., Sazili, A. Q., Domínguez, R. & Lorenzo, J. M. 2022. Microencapsulation as a noble technique for the application of bioactive compounds in the food industry: A comprehensive review. **Applied Sciences**, 12(3), 1424.

Mishra, P., Rai, G. K. & Mahanta, C. L. 2015. Process standardization for development of spray-dried lemon juice powder and optimization of amla-lemon based RTS (ready-to-serve) drink using response surface methodology. **Journal of Food Processing and Preservation**, 39(6), 1216-1228.

Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Muhialdin, B. J. & Hussin, A. S. M. 2020.

Spray drying for the encapsulation of oils A review. **Molecules**, 25(17), 3873.

Mohammed, N. K., Tan, C. P., Manap, Y. A., Muhialdin, B. J. & Hussin, A. S. M. 2020. Spray drying for the encapsulation of oils-A review. **Molecules**, 25(17), 3873.

Monteiro, M., Santos, R., Iglesias, P., Couto, A., Serra, C., Gouvinhas, I., Barros, A., Oliva-Teles, A., Enes, P. & Díaz-Rosales, P. 2020. Effect of extraction method and solvent system on the phenolic content and antioxidant activity of selected macro-and microalgae extracts. **Journal of Applied Phycology**, 32(1), 349-362.

Mudgil, P., Omar, L. S., Kamal, H., Kilari, B. P. & Maqsood, S. 2019. Multi-functional bioactive properties of intact and enzymatically hydrolysed quinoa and amaranth proteins. **Food Reviews International**, 110, 207-213.

Murthy, L. N., Phadke, G. G., Mohan, C. O., Chandra, M. V., Annamalai, J., Visnuvinayagam, S., Unnikrishnan, P. & Ravishankar, C. N. 2017. Characterization of spray-dried hydrolyzed proteins from pink perch meat added with Maltodextrin and gum Arabic. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, 26(8), 913-928.

Myhara, R., Sablani, S., Al-Alawi, S. & Taylor, M. 1998. Water sorption isotherms of dates: modeling using GAB equation and artificial neural network approaches. **Lebensmittel Wissenschaft & Technologie**, 31(7-8), 699-706.

Narikawa, T., Shinoyama, H. & Fujii, T. 2000. A β-rutinosidase from Penicillium rugulosum IFO 7242 that is a peculiar flavonoid glycosidase. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, 64(6), 1317-1319.

Nasri, R., Taktak, W., Hamdi, M., Amor, N. B., Kabadou, A., Li, S. & Nasri, M. 2020. Sardinelle protein isolate as a novel material for oil microencapsulation: Novel alternative for fish by products valorisation. **Materials Science and Engineering: C**, 116(111164.

Negrão-Murakami, A. N., Nunes, G. L., Pinto, S. S., Murakami, F. S., Amante, E. R., Petrus, J. C. C., Prudêncio, E. S. & Amboni, R. D. 2017. Influence of DE-value of maltodextrin on the physicochemical properties, antioxidant activity, and storage stability of spray dried concentrated mate. **Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie-Food Science and Technology**, 79, 561-567.

Nemzer, B., Vargas, L., Xia, X., Sintara, M. & Feng, H. 2018. Phytochemical and physical properties of blueberries, tart cherries, strawberries, and cranberries as affected by different drying methods. **Food Chemistry**, 262, 242-250.

Ng, S. K., Choong, Y. H., Tan, C. P., Long, K. & Nyam, K. L. 2014. Effect of total solids content in feed emulsion on the physical properties and oxidative stability of microencapsulated kenaf seed oil. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 58(2), 627-632.

Nguyen, P. T. N. 2022. Instant Tea Formulation from *Cordyceps militaris* Extract via Convection Drying. **Egyptian Journal of Chemistry**, 65(7), 5-3.

Nikolaidis, A., Andreadis, M. & Moschakis, T. 2017. Effect of heat, pH, ultrasonication and ethanol on the denaturation of whey protein isolate using a newly developed approach in the analysis of difference-UV spectra. **Food chemistry**, 232, 425-433.

Novák, P. & Havlíček, V. (2016). Protein extraction and precipitation. In **Proteomic Profiling and Analytical Chemistry**, 51-62.

Ochoa Velasco, C., Salazar González, C., Cid Ortega, S. & Guerrero Beltrán, J. 2017. Antioxidant characteristics of extracts of *Hibiscus sabdariffa* calyces encapsulated with mesquite gum. **Journal of Food Science and Technology**, 54, 1747-1756.

Onwulata, C. 2005. Encapsulated and powdered foods. **Routledge & CRC Press Our Products**, 12(8), 1124-1135.

Oyinloye, T. M. & Yoon, W. B. 2020. Effect of freeze-drying on quality and grinding process of food produce: A review. **Processes**, 8(3), 1-23.

Panche, A. N., Diwan, A. D. & Chandra, S. R. 2016. Flavonoids: an overview. **Journal of Nutritional Science**, 47(5), 1-15.

Pandey, A. & Chauhan, O. 2019. Monk fruit (*Siraitia grosvenorii*)-health aspects and food applications. **Pantnagar Research Journal**, 17, 191-198.

Park, B. T., Na, K. H., Jung, E. C., Park, J. W. & Kim, H. H. 2009. Antifungal and anticancer activities of a protein from the mushroom *Cordyceps militaris*. **The Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, 13(1), 49-54.

Park, B. T., Na, K. H., Jung, E. C., Park, J. W. & Kim, H. H. 2009. Antifungal and

anticancer activities of a protein from the mushroom *Cordyceps militaris*. **The Korean Journal of Physiology and Pharmacology**, 13(1), 49-54.

Partanen, R., Ahro, M., Hakala, M., Kallio, H. & Forssell, P. 2002. Microencapsulation of caraway extract in β-cyclodextrin and modified starches. **European Food Research and Technology**, 214, 242-247.

Patras, A., Brunton, N. P., O'Donnell, C. & Tiwari, B. K. 2010. Effect of thermal processing on anthocyanin stability in foods; mechanisms and kinetics of degradation. **Trends in Food Science & Technology**, 21(1), 3-11.

Perović, M. N., Jugović, Z. D. K., & Antov, M. G. 2020. Improved recovery of protein from soy grit by enzyme-assisted alkaline extraction. **Journal of Food Engineering**, 276 (2), 109894.

Pillai, S. R., Venkatachalapathy, N., Kumar, K. S. & Pare, A. 2021. Effect of roasting and cooking on physiochemical properties of black rice soluble extract. **International Journal of Chemical Studies**, 9(1), 2848-2852.

Piñón Balderrama, C. I., Leyva Porras, C., Terán Figueroa, Y., Espinosa Solís, V., Álvarez Salas, C. & Saavedra-Leos, M. Z. 2020. Encapsulation of active ingredients in food industry by spray drying and nano spray-drying technologies. **Processes**, 8(8), 1-27.

Piornos, J. A., Burgos-Díaz, C., Morales, E., Rubilar, M. & Acevedo, F. 2017. Highly efficient encapsulation of linseed oil into alginate/lupin protein beads: Optimization of the emulsion formulation. **Food Hydrocolloids**, 63(139-148.

Porrarud, S. & Pranee, A. 2010. Microencapsulation of Zn-chlorophyll pigment from Pandan leaf by spray drying and its characteristic. **International Food Research Journal**, 17(4), 1031-1041.

Pourmorad, F., Hosseinimehr, S. & Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. **African Journal of Biotechnology**, 5(11), 1142-1145.

Prangthip, P., Surasiang, R., Charoensiri, R., Leardkamolkarn, V., Komindr, S., Yamborisut, U., Vanavichit, A. & Kongkachuichai, R. 2013. Amelioration of hyperglycemia, hyperlipidemia, oxidative stress and inflammation in steptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet by riceberry supplement. **Journal of Functional**

Foods, 5(1), 195-203.

Prasad, K. N., Yang, B., Dong, X., Jiang, G., Zhang, H., Xie, H. & Jiang, Y. 2009. Flavonoid contents and antioxidant activities from *Cinnamomum* species. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, 10(4), 627-632.

Prommaban, A., Sriyab, S., Marsup, P., Neimkhum, W., Sirithunyalug, J., Anuchapreeda, S., To-Anun, C. & Chaiyana, W. 2022. Comparison of chemical profiles, antioxidation, inhibition of skin extracellular matrix degradation, and anti-tyrosinase activity between mycelium and fruiting body of Cordyceps militaris and Isaria tenuipes. **Pharmaceutical Biology**, 60(1), 225-234.

Pudziuvelyte, L., Marksa, M., Sosnowska, K., Winnicka, K., Morkuniene, R. & Bernatoniene, J. 2020. Freeze-drying technique for microencapsulation of Elsholtzia ciliata ethanolic extract using different coating materials. **Molecules**, 25(9), 2237-2263.

Qiu, Z., Zheng, Z., Zhang, B., Sun-Waterhouse, D. & Qiao, X. 2020. Formation, nutritional value, and enhancement of characteristic components in black garlic: A review for maximizing the goodness to humans. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 19(2), 801-834.

Quan, W., He, W., Qie, X., Chen, Y., Zeng, M., Qin, F., Chen, J. & He, Z. 2020. Effects of β-cyclodextrin, whey protein, and soy protein on the thermal and storage stability of anthocyanins obtained from purple fleshed sweet potatoes. **Food Chemistry**, 320, 126655.

Queiroz Santos, V., Nascimento, C., Schmidt, C., Mantovani, D., Dekker, R. H., & da Cunha, MAA. 2018. Solid-state fermentation of soybean okara: Isoflavones biotransformation, antioxidant activity and enhancement of nutritional quality, **Lebensmittel Wissenschaft and Technologie**, 92, 509-515.

Quek, S. Y., Chok, N. K. & Swedlund, P. 2007. The physicochemical properties of spray dried watermelon powders. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, 46(5), 386-392.

Rajam, R., Karthik, P., Parthasarathi, S., Joseph, G. & Anandharamakrishnan, C. 2012. Effect of whey protein alginate wall systems on survival of microencapsulated Lactobacillus plantarum in simulated gastrointestinal conditions. **Journal of**

Functional Foods, 4(4), 891-898.

Rakhee, S. N., Bhargava, K., Misra, K. & Singh, V. 2016. Phytochemical and proteomic analysis of a high altitude medicinal mushroom *Cordyceps sinensis*. **Journal of Proteins And Proteomics**, 7(3), 187-197.

Rattanapanon, N. 2014. **Food Chemistry**. Bangkok: O.S. Printing House.

Rawdkuen, S., D'Amico, S. & Schoenlechner, R. 2022. Physicochemical, Functional, and In Vitro Digestibility of Protein Isolates from Thai and Peru Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) Oil Press-Cakes. **Foods**, 11(13), 1869.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26(9-10), 1231-1237.

Reis, F. S., Barros, L., Calhelha, R. C., Ćirić, A., Van Griensven, L. J., Soković, M. & Ferreira, I. C. 2013. The methanolic extract of *Cordyceps militaris* (L.) Link fruiting body shows antioxidant, antibacterial, antifungal and antihuman tumor cell lines properties. **Food and Chemical Toxicology**, 62, 91-98.

Ren, Y., Sun, P., Li, H. & Zhu, Z. 2020. Effects of Na2SeO3 on growth, metabolism, antioxidase and enzymes involved in polysaccharide synthesis of *Cordyceps militaris*. **Process Biochemistry**, 97, 64-71.

Robinson, H. W. & Hogden, C. G. 1940. The biuret reaction in the determination of serum proteins. 1. A study of the conditions necessary for the production of a stable color which bears a quantitative relationship to the protein concentration. **Journal of Biological Chemistry**, 135, 707-725.

Rodboon, T., Okada, S. & Suwannalert, P. 2020. Germinated riceberry rice enhanced protocatechuic acid and vanillic acid to suppress melanogenesis through cellular oxidant-related tyrosinase activity in B16 cells. **Antioxidants**, 9(3), 247.

Rodsamran, P. & Sothornvit, R. 2018. Physicochemical and functional properties of protein concentrate from by-product of coconut processing. **Food Chemistry**, 241, 364-371.

Rubio, N. R., Xiang, N. & Kaplan, D. L. 2020. Plant-based and cell-based approaches to meat production. **Nature Communications**, 11(1), 1-11.

Ruiz, G. A., Xiao, W., van Boekel, M., Minor, M. & Stieger, M. 2016. Effect of extraction

pH on heat-induced aggregation, gelation and microstructure of protein isolate from quinoa (Chenopodium quinoa Willd). **Food Chemistry**, 209, 203-210.

Sahni, P., Sharma, S. & Surasani, V. K. R. 2020. Influence of processing and pH on amino acid profile, morphology, electrophoretic pattern, bioactive potential and functional characteristics of alfalfa protein isolates. **Food Chemistry**, 333, 127503.

Saikia, S., Mahnot, N. K. & Mahanta, C. L. 2015. Effect of spray drying of four fruit juices on physicochemical, phytochemical and antioxidant properties. **Journal of Food Processing and Preservation**, 39(6), 1656-1664.

Samanta, A., Das, G. & Das, S. K. 2011. Roles of flavonoids in plants. **Carbon**, 100(6), 12-35.

Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M. V., Zamora, M. C. & Chirife, J. 2013. Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. **Food and Bioprocess Technology**, 6, 1350-1354.

Sánchez-Vizcaíno, J. M., Mur, L. & Martínez-López, B. 2013. African swine fever (ASF): five years around Europe. **Veterinary Microbiology**, 165(1-2), 45-50.

Sarabandi, K., Gharehbeglou, P. & Jafari, S. M. 2020. Spray-drying encapsulation of protein hydrolysates and bioactive peptides: Opportunities and challenges. **Drying Technology**, 38(5-6), 577-595.

Sarabandi, K., Jafari, S. M., Mahoonak, A. S. & Mohammadi, A. 2019. Application of gum Arabic and maltodextrin for encapsulation of eggplant peel extract as a natural antioxidant and color source. **International Journal of Biological Macromolecules**, 140, 59-68.

Sarabandi, K., Peighambardoust, S. H., Mahoonak, A. S. & Samaei, S. P. 2017. Effect of carrier types and compositions on the production yield, microstructure and physical characteristics of spray dried sour cherry juice concentrate. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 11(4), 1602-1612.

Sarabandi, K., Peighambardoust, S. H., Mahoonak, A. S. & Samaei, S. P. 2017. Effect of carrier types and compositions on the production yield, microstructure and physical characteristics of spray dried sour cherry juice concentrate. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 11, 1602-1612.

Sari, Y. W., Mulder, W. J., Sanders, J. P. & Bruins, M. E. 2015. Towards plant protein refinery: review on protein extraction using alkali and potential enzymatic assistance. **Biotechnology Journal**, 10(8), 1138-1157.

Sati, P., Pandey, A., Rawat, S. & Rani, A. 2013. Phytochemicals and antioxidants in leaf extracts of *Ginkgo biloba* with reference to location, seasonal variation and solvent system. **Journal of Pharmacy Research**, 7(9), 804-809.

Sbroggio, M. F., Montilha, M. S., FIGUEIREDO, V. R. G. d., Georgetti, S. R. & Kurozawa, L. E. 2016. Influence of the degree of hydrolysis and type of enzyme on antioxidant activity of okara protein hydrolysates. **Food Science and Technology**, 36, 375-381.

Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P., Bader-Mittermaier, S. & Osen, R. 2020. Food proteins from plants and fungi. **Current Opinion in Food Science**, 32, 156-162.

Scopes, R. K. & Scopes, R. K. 1982. Separation by precipitation. **Protein Purification: Principles and Practice**, 39-66.

Shahnawaz, S., Siddiqui, A. W., Masroor, M. T. & Arora, V. 2011. Stability-indicating HPTLC method for determination of duloxetine hydrochloride in bulk drug and tablet formulation. **Chromatography Research International**, 11(2), 121-126.

Shaikh, B. A., Mandawad, G. G. & Konda, S. G. 2020. An efficient and green synthesis of pyrazole containing flavones using polyethylene glycol-400 as reaction solvent. **Indian Journal of Advances in Chemical Science**, 8(3), 81-84.

Sharma, R., & Sharma, B. M. 2018. Variability in protein content of different species of the genus Pleurotus collected from the North Western Himalayan Regions of India. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences**, 7(6), 3528-3534.

Shen, Y., Tang, X. & Li, Y. 2021. Drying methods affect physicochemical and functional properties of quinoa protein isolate. **Food Chemistry**, 339, 127823.

Shevkani, K., Kaur, A., Kumar, S. & Singh, N. 2015. Cowpea protein isolates: functional properties and application in gluten-free rice muffins. **Food Science and Technology**, 63(2), 927-933.

Shishir, M. R. I. & Chen, W. 2017. Trends of spray drying: A critical review on drying of fruit and vegetable juices. **Trends in Food Science & Technology**, 65, 49-67.

Shrestha, B., Zhang, W., Zhang, Y. & Liu, X. 2012. The medicinal fungus *Cordyceps militaris:* research and development. **Mycological Progress**, 11(3), 599-614.

Singpoonga, N., Chaiprasart, P. & Sangon, B. 2016. Effect of artificial culture media on *Cordyceps militaris* fruiting body formation and bioactive compound production. **Songklanakarin Journal of Plant Science**, 3, 34-46.

Siva, S., Li, C., Cui, H., Meenatchi, V. & Lin, L. 2020. Encapsulation of essential oil components with methyl-β-cyclodextrin using ultrasonication: Solubility, characterization, DPPH and antibacterial assay. **Ultrasonics Sonochemistry**, 64, 104997.

Smiderle, F. R., Baggio, C. H., Borato, D. G., Santana-Filho, A. P., Sassaki, G. L., Iacomini, M. & Van Griensven, L. J. 2014. Anti-inflammatory properties of the medicinal mushroom *Cordyceps militaris* might be related to its linear (1-3)-β-D-glucan. **PloS one**, 9(10), 110266.

Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. & Berghofer, E. 2011. Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. **Food Chemistry**, 124(1), 132-140.

Sorgentini, D. A. & Wagner, J. R. 2002. Comparative study of foaming properties of whey and isolate soybean proteins. **Food Research International**, 35(8), 721-729.

Stella, V. J., and Roger A. Rajewski. . 2020. Sulfobutylether-β-cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, 583, 119396.

Stoffel, F., de Oliveira Santana, W., Gregolon, J. G. N., Kist, T. B. L., Fontana, R. C. & Camassola, M. 2019. Production of edible mycoprotein using agroindustrial wastes: Influence on nutritional, chemical and biological properties. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, 58, 102227.

Stone, A. K., Karalash, A., Tyler, R. T., Warkentin, T. D. & Nickerson, M. T. 2015. Functional attributes of pea protein isolates prepared using different extraction methods and cultivars. **Food Research International**, 76, 31-38.

Sun, H., Yu, X., Li, T. & Zhu, Z. 2021. Structure and hypoglycemic activity of a novel exopolysaccharide of *Cordyceps militaris*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 166, 496-508.

Sung, G.-H., Hywel-Jones, N. L., Sung, J.-M., Luangsa-Ard, J. J., Shrestha, B. & Spatafora, J. W. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. **Studies in Mycology**, 57, 5-59.

Sungsoo, S. & Samuel, P. 2009. Fiber ingredients. food applications and health benefit. **Routledge & CRC Press Our Products**, 10(2), 514.

Surewicz, W. K., Mantsch, H. H. & Chapman, D. 1993. Determination of protein secondary structure by Fourier transform infrared spectroscopy: a critical assessment. **Biochemistry**, 32(2), 389-394.

Sutthilert, S. 2020. **Effect of defatting and ultrasonication on bioactive compounds and antioxidant activity of *Coryceps militaris* fruiting body extracts.** Master degree. maejo university.

Suyalek, S., Jaturonglumlert, S., Amornlerdpison, D., Narkprasom, N. & Narkprasom, K. 2020. Encapsulation of crude extracts from Banana (*Musa X paradisca*) flowers by Spray Drying. **Burapha Science Journal**, 448-463.

Sygusch, J. F. & Chevrier, D. 1998. **Travaux pratiques de biochimie, BCM** 1521. Librairie de l'Université de Montréal.

Szente, L. 1996. Analytical methods for cyclodextrins, cyclodextrin derivatives and cyclodextrin complexes. **Comprehensive Supramolecular Chemistry**, 3, 253-278.

Szkudelska, K. & Nogowski, L. 2007. Genistein-a dietary compound inducing hormonal and metabolic changes. **The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, 105(5), 37-45.

Takahashi, A. & Ohnishi, T. 2004. The significance of the study about the biological effects of solar ultraviolet radiation using the exposed facility on the international space station. **Biological Sciences in Space**, 18(4), 255-260.

Takeungwongtrakul, S. & Benjakul, S. 2017. Effect of glucose syrup and fish gelatin on physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried micro-encapsulated shrimp oil. **Journal of Food Processing and Preservation**, 41(3), 12876.

Tehrani, M. H. H., Fakhrehoseini, E., Nejad, M. K., Mehregan, H. & Hakemi-Vala, M. 2012.

Search for proteins in the liquid extract of edible mushroom, agaricusbisporus, and studying their antibacterial effects. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research: IJPR**, 11(1), 145.

Teo, A., Lam, Y., Lee, S. J. & Goh, K. K. 2021. Spray drying of whey protein stabilized nanoemulsions containing different wall materials maltodextrin or trehalose. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 136, 110344.

Thamaphat, K., Limsuwan, P. & Ngotawornchai, B. 2008. Phase characterization of TiO2 powder by XRD and TEM. **Agriculture and Natural Resources**, 42(5), 357-361.

Thavamani, A., Sferra, T. J. & Sankararaman, S. 2020. Meet the meat alternatives: The value of alternative protein sources. **Current Nutrition Reports**, 9(4), 346-355.

Thiansilakul, Y., Benjakul, S. & Shahidi, F. 2007. Compositions, functional properties and antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from round scad (*Decapterus maruadsi*). **Food Chemistry**, 103(4), 1385-1394.

Thiranusornkij, L., Thamnarathip, P., Chandrachai, A., Kuakpetoon, D. & Adisakwattana, S. 2019. Comparative studies on physicochemical properties, starch hydrolysis, predicted glycemic index of Hom Mali rice and Riceberry rice flour and their applications in bread. **Food Chemistry**, 283, 224-231.

Tian, R., Feng, J., Huang, G., Tian, B., Zhang, Y., Jiang, L. & Sui, X. 2020. Ultrasound driven conformational and physicochemical changes of soy protein hydrolysates. **Ultrasonics Sonochemistry**, 68, 105202.

Tirgar, M., Silcock, P., Carne, A. & Birch, E. J. 2017. Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. **Food Chemistry**, 215, 417-424.

Tirgar, M., Silcock, P., Carne, A. & Birch, E. J. 2017. Effect of extraction method on functional properties of flaxseed protein concentrates. **Food Chemistry**, 215, 417-424.

Tiwari, B., Brunton, N. P. & Brennan, C. S. 2013. Plant food phytochemicals. **Handbook of Plant Food Phytochemicals: Sources, Stability and Extraction**, 1-4.

Tonon, R. V., Brabet, C. & Hubinger, M. D. 2008. Influence of process conditions on

the physicochemical properties of açai (*Euterpe oleraceae Mart.*) powder produced by spray drying. **Journal of Food Engineering**, 88(3), 411-418.

Torres-Giner, S., Wilkanowicz, S., Melendez-Rodriguez, B. & Lagaron, J. M. 2017. Nanoencapsulation of Aloe vera in synthetic and naturally occurring polymers by electrohydrodynamic processing of interest in food technology and bioactive packaging. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 65(22), 4439-4448.

Tsopmo, A., Diehl-Jones, B. W., Aluko, R. E., Kitts, D. D., Elisia, I. & Friel, J. K. 2009. Tryptophan released from mother's milk has antioxidant properties. **Pediatric Research**, 66(6), 614-618.

Turner, N. D. & Lupton, J. R. 2011. Dietary fiber. **Advances in Nutrition**, 2(2), 151-152.

Tymchak, L. 2010. Amino acids and proteins. **Clinical Chemistry: Techniques, Principles, Correlations.** 6 th. **Philadelphia, USA: Lippincott Williams and Wilkins**, 223-265.

Ulloa, J. A., Villalobos Barbosa, M. C., Resendiz Vazquez, J. A., Rosas Ulloa, P., Ramírez Ramírez, J. C., Silva Carrillo, Y. & González Torres, L. 2017. Production, physico-chemical and functional characterization of a protein isolate from jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) seeds. **Journal of Food**, 15(4), 497-507.

Valková, V., Dúranová, H., Falcimaigne-Cordin, A., Rossi, C., Nadaud, F., Nesterenko, A., Moncada, M., Orel, M., Ivanišová, E. & Chlebová, Z. 2022. Impact of freeze and spray drying microencapsulation techniques on β-glucan powder biological activity: A comparative study. **Foods**, 11(15), 2267.

Veiga, R. D. S. D., Aparecida Da Silva-Buzanello, R., Corso, M. P. & Canan, C. 2019. Essential oils microencapsulated obtained by spray drying: a review. **Journal of Essential Oil Research**, 31(6), 457-473.

Verma, D. K. & Srivastav, P. P. 2022. Isolation, modification, and characterization of rice starch with emphasis on functional properties and industrial application: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 62(24), 6577-6604.

Voet, D., Voet, J. G. & Pratt, C. W. 2016. **Fundamentals of biochemistry: life at the molesarch level**. New York: John Wiley and Sons, 2(2), 212-212

Vuong Hoai, T., Nguyen Cao, P., Phan Le Thao, M., Do, T. D., Hoang Minh, N., Ha, H. K. P., Mai Thanh, P. & Nguyen Huu, H. 2020. Ultrasound-assisted enzymatic

extraction of adenosine from Vietnamese *Cordyceps militaris* and bioactivity analysis of the extract. **Journal of Chemistry**, 1-10.

Waglay, A., Karboune, S. & Alli, I. 2014. Potato protein isolates: Recovery and characterization of their properties. **Food Chemistry**, 142, 373-382.

Wang, H., Tong, X., Yuan, Y., Peng, X., Zhang, Q., Zhang, S., Xie, C., Zhang, X., Yan, S. & Xu, J. 2020. Effect of spray-drying and freeze-drying on the properties of soybean hydrolysates. **Journal of Chemistry**, 8, 2020-2028.

Wang, J., Kan, L., Nie, S., Chen, H., Cui, S. W., Phillips, A. O., ... & Xie, M. 2015. A comparison of chemical composition, bioactive components and antioxidant activity of natural and cultured Cordyceps sinensis. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 63(1), 2-7.

Wang, J.-S., Wang, A.-B., Zang, X.-P., Tan, L., Xu, B.-Y., Chen, H.-H., Jin, Z.-Q. & Ma, W.-H. 2019. Physicochemical, functional and emulsion properties of edible protein from avocado (Persea americana Mill.) oil processing by-products. **Food Chemistry**, 288, 146-153.

Wang, L., Liu, C. C., Wang, Y. Y., Xu, H., Su, H. & Cheng, X. 2016. Antibacterial activities of the novel silver nanoparticles biosynthesized using *Cordyceps militaris* extract. **Current Applied Physics**, 16(9), 969-973.

Wang, L., Xie, W., Chen, Y., Tang, W., Yang, J., Ye, R., Liu, L., Lin, Y., Xu, C. & Xiao, J. 2010. A dynamic gene expression atlas covering the entire life cycle of rice. **The Plant Journal**, 61(5), 752-766.

Wang, L., Xu, N., Zhang, J., Zhao, H., Lin, L., Jia, S. & Jia, L. 2015. Antihyperlipidemic and hepatoprotective activities of residue polysaccharide from *Cordyceps militaris* SU-12. **Carbohydrate Polymers**, 131, 355-362.

Wang, R. & Hartel, R. W. 2021. Understanding stickiness in sugar rich food systems: A review of mechanisms, analyses, and solutions of adhesion. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 20(6), 5901-5937.

Wang, R. & Hartel, R. W. 2022. Understanding stickiness in sugar-rich food systems: A review of mechanisms, analyses, and solutions of adhesion. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 20(6), 5901-5937.

Wang, S. & Marcone, M. F. 2011. The biochemistry and biological properties of the world's most expensive underground edible mushroom: Truffles. **Food Research International**, 44(9), 2567-2581.

Wang, X., Luo, Z. & Xiao, Z. 2014. Preparation, characterization, and thermal stability of β-cyclodextrin/soybean lecithin inclusion complex. **Carbohydrate Polymers**, 101, 1027-1032.

Wang, Y. & Wang, X. 2015. Binding, stability, and antioxidant activity of Quercetin with soy protein isolate particles. **Food Chemistry**, 188, 24-29.

Wang, Y. R., Yang, Q., Fan, J. L., Zhang, B. & Chen, H. Q. 2019. The effects of phosphorylation modification on the structure, interactions and rheological properties of rice glutelin during heat treatment. **Food Chemistry**, 297, 124978.

Waterman, P. G. & Mole, S. 1994. Analysis of phenolic plant metabolites. **Botanical Chemistry**, 1241.

Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A. & Ooraikul, B. 2011. Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand. **Songklanakarin Journal of Science & Technology**, 33(5), 1211-1226.

Wichit, N., Tanongkankit Y., Pankam1 .,J & Tintan, S. 2021 **Encapsulation of Crude Extracts from Makiang by Freeze Drying**. pp. 428-436. The 7th Conference on research and creative innovations: CRCI 2021.

Wilde, P. & Clark, D. 1996. Foam formation and stability. **Methods of Testing Protein Functionality**, 1, 110-152.

Winkler, D. 2008. Yartsa Gunbu (*Cordyceps sinensis*) and the fungal commodification of Tibet's rural economy. **Economic Botany**, 62(3), 291-305.

Wong, C. W. & Tan, H. H. 2017. Production of spray-dried honey jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) powder from enzymatic liquefied puree. **Journal of Food Science and Technology**, 54, 564-571.

Wong, C. W., Teoh, C. Y. & Putri, C. E. 2018. Effect of enzymatic processing, inlet temperature, and maltodextrin concentration on the rheological and physicochemical properties of spray dried banana (*Musa acuminata*) powder. **Journal of Food Processing and Preservation**, 42(2), e13451.

Wu, H. C., Chen, H. M. & Shiau, C. Y. 2003. Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). **Food Research International**, 36(9-10), 949-957.

Wu, X., Liu, A., Wang, W. & Ye, R. 2018. Improved mechanical properties and thermal-stability of collagen fiber based film by crosslinking with casein, keratin or SPI: Effect of crosslinking process and concentrations of proteins. **International Journal of Biological Macromolecules**, 109, 1319-1328.

Wu, Y., He, S., Pan, T., Miao, X., Xiang, J., Ye, Y., Cao, X. & Sun, H. 2023. Enhancement of γ-aminobutyric acid and relevant metabolites in brown glutinous rice (Oryza sativa L.) through salt stress and low-frequency ultrasound treatments at pre-germination stage. **Food Chemistry**, 410, 135362.

Xiao, Y., Zhang, B., Chen, Y., Miao, J., Zhang, Q., Rui, X. & Dong, M. 2017. Solid-State Bioprocessing with *Cordyceps militaris* Enhanced Antioxidant Activity and DNA Damage Protection of Red Beans (*Phaseolus angularis*). **Cereal Chemistry**, 94(2), 177-184.

Xin, X. d., Yin, J., Zhang, B., Li, Z. y., Zhao, S. & Gui, Z. z. 2019. Genome-wide analysis of DNA methylation in subcultured *Cordyceps militaris*. **Archives of Microbiology**, 201(3), 369-375.

Yan, C. & Zhou, Z. 2021. Solubility and emulsifying properties of phosphorylated walnut protein isolate extracted by sodium trimetaphosphate. **Lebensmittel Wissenschaft and Technologie**, 143, 111117.

Yang, Q., Jia, B., Liu, X., Fang, J., Zhao, L., Xu, L., Fang, M., Gong, Z. & Sun, H. 2021. Molecular Cloning, Expression and Macrophage Activation of an Immunoregulatory Protein from *Cordyceps militaris*. **Molecules**, 26(23), 7107.

Yang, S., Mao, X. Y., Li, F. F., Zhang, D., Leng, X. J., Ren, F. Z. & Teng, G. X. 2012. The improving effect of spray-drying encapsulation process on the bitter taste and stability of whey protein hydrolysate. **European Food Research and Technology**, 235(1), 91-97.

Yang, S., Mao, X.-Y., Li, F.-F., Zhang, D., Leng, X.-J., Ren, F.-Z. & Teng, G.-X. 2012. The improving effect of spray-drying encapsulation process on the bitter taste and

stability of whey protein hydrolysate. **European Food Research and Technology**, 235, 91-97.

Yu, H. M., Wang, B. S., Huang, S. C. & Duh, P. D. 2006. Comparison of protective effects between cultured *Cordyceps militaris* and natural *Cordyceps sinensis* against oxidative damage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54(8), 3132-3138.

Yu, X. Y., Zou, Y., Zheng, Q. W., Lu, F. X., Li, D. H., Guo, L. Q. & Lin, J. F. 2021. Physicochemical, functional and structural properties of the major protein fractions extracted from *Cordyceps militaris* fruit body. **Food Research International**, 142, 110211.

Yu, X. Y., Zou, Y., Zheng, Q. W., Lu, F. X., Li, D. H., Guo, L. Q. & Lin, J. F. 2021. Physicochemical, functional and structural properties of the major protein fractions extracted from *Cordyceps militaris* fruit body. **Food Research International**, 142, 110211.

Yuan, X., Jiang, W., Zhang, D., Liu, H. & Sun, B. 2021. Textural, Sensory and Volatile Compounds Analyses in Formulations of Sausages Analogue Elaborated with Edible Mushrooms and Soy Protein Isolate as Meat Substitute. **Foods**, 11(1), 52.

Zaidul, I., Absar, N., Kim, S.-J., Suzuki, T., Karim, A., Yamauchi, H. & Noda, T. 2008. DSC study of mixtures of wheat flour and potato, sweet potato, cassava, and yam starches. **Journal of Food Engineering**, 86(1), 68-73.

Zamorano Apodaca, J. C., García Sifuentes, C. O., Carvajal Millán, E., Vallejo Galland, B., Scheuren-Acevedo, S. M. & Lugo-Sánchez, M. E. 2020. Biological and functional properties of peptide fractions obtained from collagen hydrolysate derived from mixed by-products of different fish species. **Food Chemistry**, 331, 127350.

Zeng, H. Y., Cai, L. H., Cai, X. L., Wang, Y. J. & Li, Y. Q. 2011. Structure characterization of protein fractions from lotus (*Nelumbo nucifera*) seed. **Journal of Molecular Structure**, 1001(1-3), 139-144.

Zeng, Z., Fang, Y. & Ji, H. 2012. Side chain influencing the interaction between β-cyclodextrin and vanillin. **Flavour and Fragrance Journal**, 27(5), 378-385.

Zhang, D. q., Mu, T. h., Sun, H. n., Chen, J. w. & Zhang, M. 2017. Comparative study of

potato protein concentrates extracted using ammonium sulfate and isoelectric precipitation. **International Journal of Food Properties**, 20(9), 2113-2127.

Zhang, D. Q., Mu, T. H., Sun, H. N., Chen, J. W. & Zhang, M. 2017. Comparative study of potato protein concentrates extracted using ammonium sulfate and isoelectric precipitation. **International Journal of Food Properties**, 20(9), 2113-2127.

Zhang, Du, L., Shi, T., Xie, M., Liu, X. & Yu, M. 2022. Effects of pulsed light on germination and gamma-aminobutyric acid synthesis in brown rice. **Journal of Food Science**, 87(4), 1601-1609.

Zhang, L., Zeng, X., Fu, N., Tang, X., Sun, Y. & Lin, L. 2018. Maltodextrin: A consummate carrier for spray drying of xylooligosaccharides. **Food Research International**, 106, 383-393.

Zhang, M., Liu, H. & Wang, Q. 2022. Characterization of β-Glucan-Peanut Protein Isolate/Soy Protein Isolate Conjugates and Their Application on Low-Fat Sausage. **Molecules**, 27(9), 3037.

Zhang, Y., Zeng, Y., Cui, Y., Liu, H., Dong, C. & Sun, Y. 2020. Structural characterization, antioxidant and immunomodulatory activities of a neutral polysaccharide from *Cordyceps militaris* cultivated on hull-less barley. **Carbohydrate Polymers**, 235, 115969.

Zhao, J., Xie, J., Wang, L. & Li, S. 2014. Advanced development in chemical analysis of *Cordyceps*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, 87, 271-289.

Zhao, Q., Hong, X., Fan, L., Liu, Y. & Li, J. 2022. Solubility and emulsifying properties of perilla protein isolate: Improvement by phosphorylation in the presence of sodium tripolyphosphate and sodium trimetaphosphate. **Food Chemistry**, 382, 132252.

Zhao, Q., Xiong, H., Selomulya, C., Chen, X. D., Huang, S., Ruan, X., Zhou, Q. & Sun, W. 2013. Effects of spray drying and freeze drying on the properties of protein isolate from rice dreg protein. **Food and Bioprocess Technology**, 6, 1759-1769.

Zhao, X., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Johansson, D. P., Landberg, R. & Langton, M. 2016. Yellow mealworm protein for food purposes-extraction and functional properties. **PloS one**, 11(2), 0147791.

Zhou, D., Pan, Y., Ye, J., Jia, J., Ma, J. & Ge, F. 2017. Preparation of walnut oil microcapsules employing soybean protein isolate and maltodextrin with enhanced oxidation stability of walnut oil. **Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie**, 83, 292-297.

Zhu, C., Sanahuja, G., Yuan, D., Farre, G., Arjo, G., Berman, J., Zorrilla-López, U., Banakar, R., Bai, C. & Pérez-Massot, E. 2013. Biofortification of plants with altered antioxidant content and composition: genetic engineering strategies. **Plant Biotechnology Journal**, 11(2), 129-141.

Zhu, F. 2017. Encapsulation and delivery of food ingredients using starch based systems. **Food Chemistry**, 229, 542-552.

Zobel, H. F. 1984. Gelatinization of starch and mechanical properties of starch pastes. **Starch: Chemistry and Technology**, 285-309.

กระทรวงสาธารณสุข. 2556. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องนมวัว. [Online]. Available http://www.rapat.or.th/images/column_1344938304.pdf (1 กันยายน 2566).

จุฑามาศ ถิระสาโรช. 2558. **การพัฒนาเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากข้าวหอมนิล.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา.

น้ำทิพย์ เรืองดี. 2555. **การผลิตเครื่องดื่มผงชงดื่มเพื่อสุขภาพจากข้าวเหนียวก่ำกล้องงอกโดยเทคโนโลยีเอ็กซ์ทรูชัน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

นิอร ชุมศรี และ ศุภศิษฎ์ อรุณรุ่งสวสดิ์. 2559. การพัฒนาเครื่องดื่มจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เสริมงาดำ **วารสารมหาวิทยาลัยคริสเตียน**, 22(3), 340-351.

วรรณิภา สมผุด. 2557. **การผลิตและจลนพลศาสตร์การทำแห้งแบบโฟม-แมทของเครื่องดื่มน้ำข้าวก่ำผงสำเร็จรูป**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2556. **มาตรฐานสินค้าชุมชน เครื่องดื่มเห็ดหลินจือ หรือเห็ดหลินจือสำเร็จรูป**. [ระบบออนไลน์]. https://tcps. tisi.go.th/pub/ tcps0862_56 PDF. (1 กันยายน 2566).

สิรินดา เอกกิตติเสถียร. 2560. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวไรซ์เบอร์รี่เสริมโปรตีน**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

มหาวิทยาลัยแม่โจ้
MAEJO UNIVERSITY

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง
2. โถดูดความชื้น
3. ตู้อบลมร้อน
4. กระป๋องอะลูมิเนียม

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดสำหรับหาปริมาณความชื้นมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นนอน (W_1)

2. นำตัวอย่างที่บดละเอียดมาชั่งน้ำหนักที่แน่นนอนปริมาณ 1-2 กรัม (W_2) ใส่ลงในกระป๋องอะลูมิเนียม

3. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

4. เมื่อครบเวลาปิดฝากระป๋องอะลูมิเนียมแล้วนำออกมาใส่โถดูดความชื้น พักให้อุณหภูมิเย็นลงแล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นนอน (W_3)

5. นำเข้าตู้อบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อหาความชื้นที่คงที่ โดยต้องมีน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งไม่ควรเกิน 3 มิลลิกรัม

6. บันทึกข้อมูลและคำนวณหาปริมาณความชื้นดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1+W_2) - W_3}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดและน้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เตาเผา (muffle furnace)
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (crucible)

3. โถดูดความชื้น

4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

5. เตาไฟฟ้า (hot plate)

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบไปเผาด้วยเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเข้าโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้อุณหภูมิเย็นลง แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (W_1)

2. ชั่งน้ำหนักที่แน่นนอนของตัวอย่างที่บดละเอียดปริมาณ 1-2 กรัม (W_2) แล้วนำไปใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ผ่านการเผาแล้วและนำไปเผาบนเตาไฟฟ้าโดยให้ตัวอย่างไหม้เกรียมจนหมดควัน

3. นำไปเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง หรือจนตัวอย่างเป็นสีขาว จากนั้นพักให้อุณหภูมิเย็นลง แล้วนำเข้าโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นนอน (W_3)

4. นำเข้าเตาเผาอีกครั้งที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เพื่อหาความชื้นที่คงที่โดยต้องมีน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งไม่ควรเกิน 3 มิลลิกรัม

5. บันทึกข้อมูลและคำนวณหาปริมาณปริมาณเถ้าดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{W_3 - (W_1+W_2)}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและน้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

<u>สารเคมี</u>

1. เฮกเซน (hexane)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องวิเคราะห์ไขมัน Soxhlet apparatus

2. สำลี

3. กระดาษกรองเบอร์ 1

4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

5. โถดูดความชื้น

6. ตู้อบลมร้อน

7. Thimble

8. Extraction cup

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำ Extraction cup ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องสเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำเข้าโถดูดความชื้นแล้วทิ้งให้อุณหภูมิเย็นลง แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (W_1)

2. นำตัวอย่างที่ผ่านการบดละเอียดไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอนปริมาณ 1-3 กรัม (W_2) นำมาห่อด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และใส่ลงใน Thimble ปิดทับด้วยสำลีแล้วใส่ลงใน Extraction cup

3. เติมเฮกเซนปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงใน Extraction cup ที่มีตัวอย่าง

4. ต่อเข้าเครื่องวิเคราะห์ไขมัน Soxhlet apparatus

5. เมื่อสกัดไขมันเสร็จ ให้นำ Extraction cup ไปอบที่อุณหภูมิ 105 องสเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจากนั้นพักให้อุณหภูมิเย็นลง แล้วนำเข้าโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักที่แน่นนอน (W_3)

6. นำเข้าตู้อบอีกครั้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อหาน้ำหนักที่คงที่ โดยต้องมีน้ำหนักทั้ง 2 ครั้งไม่ควรเกิน 3 มิลลิกรัม

7. บันทึกข้อมูลและคำนวณหาปริมาณปริมาณไขมันดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{W_3 - (W_1+W_2)}{W_2} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนัก Extraction cup (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W_3 คือ น้ำหนัก Extraction cup และน้ำหนักไขมันหลังสกัด (กรัม)

4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

<u>สารเคมี</u>

1. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2. กรดซัลฟิวริกเข้มข้น

3. กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 (ปริมาตร/ปริมาตร)

4. อินดิเคเตอร์ผสม (เมทิลเรดผสมกับโบรโมครีซอลกรีนและเมธีลีนบลู)

5. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

6. ตัวเร่งปฏิกิริยาที่มีส่วนผสมของคอปเปอร์ซัลเฟต 0.8 กรัม และโพแทสเซียมซัลเฟต 7 กรัม

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องกลั่นโปรตีนหรือไนโตรเจนแบบอัตโนมัติ (auto distillation unit)
2. เครื่องย่อยสารแบบอัตโนมัติ (digestion unit)
3. เครื่องดูดกำจัดไอกรด (scrubber unit)
4. หลอดย่อยสาร
5. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร
6. บิวเรตขนาด 25 มิลลิลิตร
7. ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร
8. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ขั้นตอนย่อยโปรตีน

1.1 นำตัวอย่างที่บดละเอียดมาชั่งน้ำหนักที่แน่นนอนที่ปริมาณ 1-2 กรัม (W) ใส่ลงหลอดย่อยสารและตัวอย่างควบคุม (หลอดย่อยโปรตีนเปล่า)

1.2 เติมตัวเร่งปฏิกิริยา 7.8 กรัม และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ปริมาณ 3 มิลลิลิตร เพื่อลดการเดือด

1.3 เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาณ 15 มิลลิลิตร

1.4 นำไปย่อยตัวอย่างด้วยเครื่องย่อยสารแบบอัตโนมัติ แล้วปิดหลอดย่อยด้วยเครื่องดัดจับไอกรด

1.5 ย่อยตัวอย่างเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ถึงอุณหภูมิ 420 องศาเซลเซียส ย่อยตัวอย่างจนกระทั่งได้สารละลายสีเขียว

2. ขั้นตอนการกลั่นโปรตีน

2.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างที่ผ่านการย่อยใส่เข้าเครื่องกลั่นโปรตีน รองรับของเหลวที่กลั่นได้ด้วยขวดรูปชมพู่ที่บรรจุกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ที่ปริมาณ 25 มิลลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ผสม 2-3 หยด

2.2 เมื่อกลั่นเสร็จจะได้สารละลายสีฟ้าที่มีปริมาณ 125 มิลลิลิตร

3. ขั้นตอนการไทเทรต

3.1 นำสารละลายที่ได้มาไทเทรตกับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนได้สารละลายเป็นสีชมพูอ่อน

3.2 บันทึกข้อมูลและคำนวณหาปริมาณปริมาณโปรตีนดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times N \times 1.4007 \times F}{W} \times 100$$

เมื่อ W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

A คือ ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไทเทรตกับตัวอย่างควบคุม (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มอล)

F คือ ค่าแฟคเตอร์ (6.25)

5. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธีไบยูเรต

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. สารละลายมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA) เข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ชั่ง Bovine serum albumin 100 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร

2. สารละลายไบยูเรตเข้มข้น 10 มิลลิลกรัม/มิลลิลิตร

ชั่งคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 5H_2O$) 1.5 กรัม และโซเดียมโพแทสเซียมไทเตรท จำนวน 6 กรัม เติมน้ำกลั่นจนครบ 500 มิลลิลิตร จากนั้นกวนให้เป็นเนื้อเดียวกันและเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร

วิธีการเตรียมตัวอย่าง

1. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด

2. นำตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร

4. นำไปแยกสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนต่อไป

วิธีการเตรียมกราฟมาตราฐาน

1. ดูสารละลาย BSA เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (แสดงดังตาราง)

2. เติมสารละลายไบยูเรต จำนวน 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 นาที

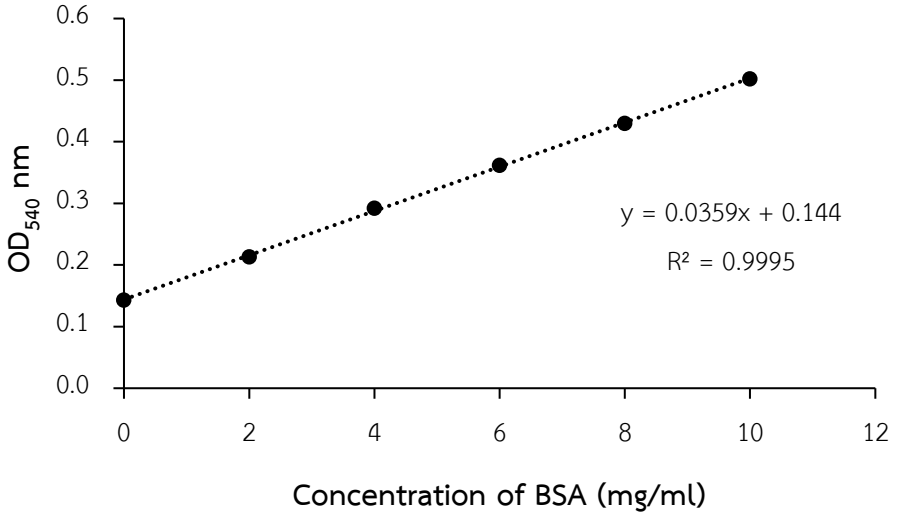
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

วิธีการวิเคราะห์

1. ดูดสารละลายโปรตีนปริมาตร 500 ไมโครลิตรใส่ในหลอดทดลอง

2. เติมสารละลายไบยูเรต 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้ววางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที

3. นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร จากนั้นนำไปเทียบกับกราฟมาตราฐาน Bovine serum albumin (BSA) แสดงดังภาพผนวกที่ 1



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA)

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

1. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• (DPPH radical scavenging activity)

<u>อุปกรณ์ และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมี และการเตรียมสาร</u>

1. เมทานอล (methanol) ความเข้มข้นร้อยละ 80 (ปริมาตร/ปริมาตร)

เตรียมโดยผสมเมทานอล และน้ำกลั่นในปริมาตร 80 ต่อ 20 (โดยปริมาตร)

2. DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.15 ไมโครโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง DPPH จำนวน 0.9750 มิลลิกรัม ผสมในเมทานอลร้อยละ 80 ที่ปริมาตร 10 มิลลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 25 มิลลิลิตร

3. Trolox ความเข้มข้น 1,000 ไมโครโมลาร์ (stock solution)

เตรียมโดยชั่ง Trolox จำนวน 0.0250 กรัม ละลายในเมทานอลร้อยละ 80 ที่ปริมาตร 900 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

4. สารมาตรฐาน Trolox ความเข้มข้น 10-60 ไมโครโมล (working solution)

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (stock solution) ความเข้มข้น 100 ไมโครโมล จำนวน 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 และ 0.6 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 20 30 40 50 และ 60 ไมโครโมลาร์

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด
2. นำตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร
4. นำไปแยกสารละลายส่วนใสด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• ต่อไป

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ปิเปตตัวอย่างจำนวน 1.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

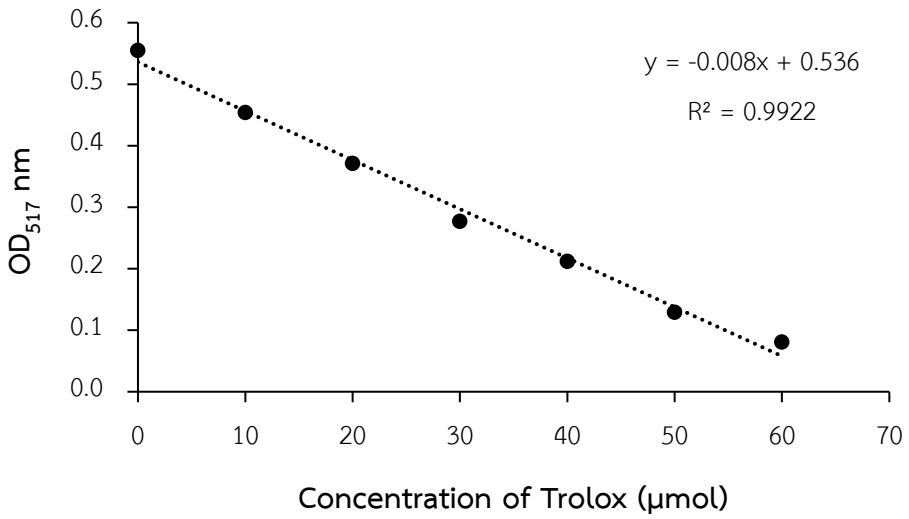
2. เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 ไมโครโมลาร์ จำนวน 1.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)

4. นำมาบ่มไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้ เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นตัวควบคุม

6. สร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox (ช่วงความเข้มข้น 0-60 ไมโครโมลาร์) ที่ได้ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวอย่าง แสดงดังภาพผนวกที่ 2



ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐาน DPPH radical scavenging activity

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + C และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox และ C คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ ในหน่วย µmol Trolox equivalents (TE)/ g sample

2. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS• (ABTS radical scavenging activity)

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS• โดยวิธี (ABTS radical scavenging activity) ตามวิธีของ Binsan *et al*. (2008)

<u>อุปกรณ์ และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมี และการเตรียมสาร</u>

1. สารละลาย ABTS (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) เข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งตัวอย่างสาร ABTS จำนวน 81.2 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 10 มิลลิลิตร

2. Potassium persulphate เข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง Potassium persulphate จำนวน 14.1 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 10 มิลลิลิตร

3. Stock solution ของสารละลาย ABTS เข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย Potassium persulphate เข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 (โดยปริมาตร) แล้วตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนใช้งานให้นำ Stock solution ABTS มาเจือจางกับเมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 50 มิลลิลิตร โดยนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ให้ได้ค่าเท่ากับ 1.1 จะได้ Working solution ของสารละลาย ABTS

3. Trolox เข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง Trolox จำนวน 0.0250 กรัม ละลายในเมทานอลร้อยละ 80 ที่ปริมาตร 900 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 1000 มิลลิลิตร

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด
2. นำตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร
3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย

4. นำไปแยกสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ต่อไป

<u>การเตรียมกราฟมาตราฐาน</u>

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox เข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ จำนวน 0.5 1 2 3 4 5 และ 6 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลาย เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50 100 200 300 400 500 และ 600 ไมโครโมลาร์

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

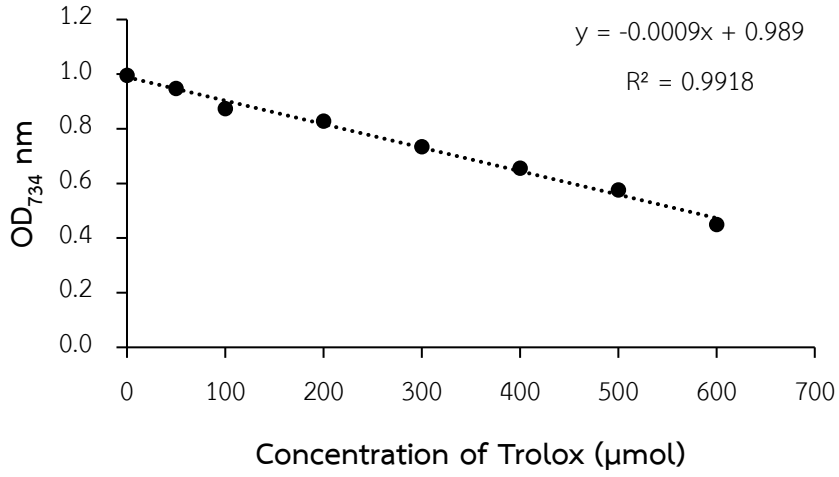
1. นำตัวอย่างจำนวน 150 ไมโครลิตร ผสมกับ Working solution ของสารละลาย ABTS ที่ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

2. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย

3. นำไปบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นตัวควบคุม

5. กราฟมาตรฐานของ Trolox (ช่วงความเข้มข้น 0-60 ไมโครโมล) แสดงดังภาพผนวกที่ 3



ภาพผนวกที่ 3 กราฟมาตรฐาน ABTS radical scavenging activity

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + b และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน

Trolox และ b คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS ในหน่วย μmol Trolox equivalents (TE)/ g sample

3. ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric Reducing Antioxidant Power; FRAP)

วิเคราะห์ค่าสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ferric reducing antioxidant power; FRAP) วิเคราะห์ตามวิธี Benzie and Strain (1996)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. อ่างควบคุมอุณหภูมิ

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ($FeCl_3\ H_2O$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ จำนวน .012 มิลลิกรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปริมาตร 80 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์จำนวน 0.0541 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรจนครบ 10 มิลลิลิตร

3. Trolox ความเข้มข้น 1000 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง Trolox จำนวน 0.0250 กรัม ละลายในเมทานอลร้อยละ 80 ที่ปริมาตร 900 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

4. สารละลายกรดไฮโดรคลอลิกเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยปิเปต ปริมาตร 0.3314 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

5. อะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 3.6 เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งโซเดียมอะซิเตตจำนวน 3.1 มิลลิกรัม และกรดอะซิติกปริมาตร 1.6 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่นจากนั้นปรับpHให้เท่ากับ 3.6 ด้วยกรดอะซิติกแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 มิลลิลิตร

6. สารละลาย Working solution

เตรียมโดยนำอะซิเตตบัฟเฟอร์ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย TPTZ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด

2. นำตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร

4. นำไปแยกสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป

<u>การเตรียมกราฟมาตรฐาน</u>

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox เข้มข้น 1000 ไมโครโมลาร์ จำนวน 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยสารละลาย เมทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 50, 100, 200, 300, 400, 500 และ 600 ไมโครโมลาร์

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

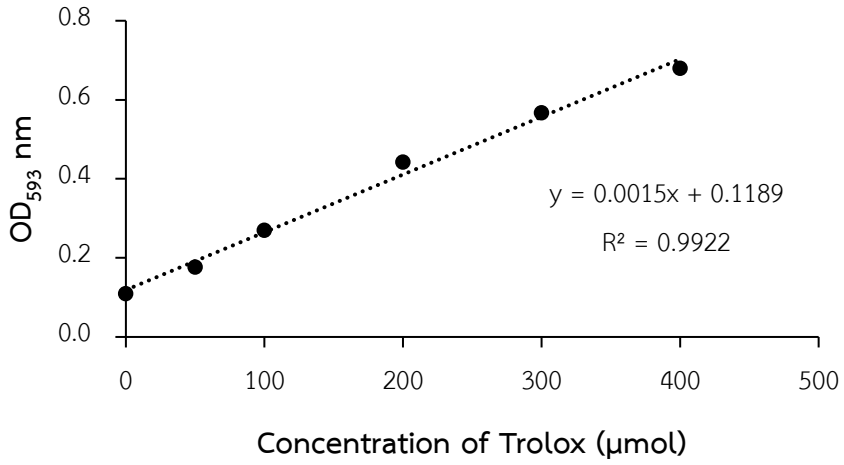
1. ปิเปตตัวอย่าง/สารละลายกราฟมาตรฐานปริมาตร 150 ไมโครลิตร นำมาผสมกับสารละลาย Working solution ปริมาตร 2850 ไมโครลิตร

2. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vertex

3. นำไปบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 ชั่วโมง

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้ เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 เป็นตัวควบคุม

5. สร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox (ช่วงความเข้มข้น 50-600 ไมโครโมลาร์) ที่ได้ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวอย่างซึ่งแสดงดังภาพที่ผนวกที่ 4



ภาพผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐาน Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + C และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Trolox และ C คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระในหน่วย µmol Trolox equivalents (TE)/g sample

4. ความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (Metal chelating activity on ferrous ion (Fe^{2+}))

วิเคราะห์ค่าสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออน (metal chelating activity on ferrous ion ($Fe2^{+}$)) ตามวิธีของ Thiansilakul *et al*. (2007)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. สารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งเฟอร์รัสคลอไรด์จำนวน 0.0025 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

2. สารละลายเฟอร์โรซีน (Ferrozine) ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่งเฟอร์โรซีนจำนวน 0.0616 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

3. EDTA ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์

เตรียมโดยชั่ง EDTA จำนวน 0.0073 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. นำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด

2. นำตัวอย่างมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร

4. นำไปแยกสารละลายด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที จากนั้นนำสารละลายส่วนใสไปวิเคราะห์หาความสามารถในการจับโลหะเฟอร์รัสไอออนต่อไป

<u>การเตรียมกราฟมาตรฐาน</u>

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน EDTA เข้มข้น 100 ไมโครโมลาร์ จำนวน 2.5 5 7.5 10 และ 12.5 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร

2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 10 20 30 40 และ 50 ไมโครโมลาร์

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 4.7 มิลลิลิตร ลงในหลอดลอง

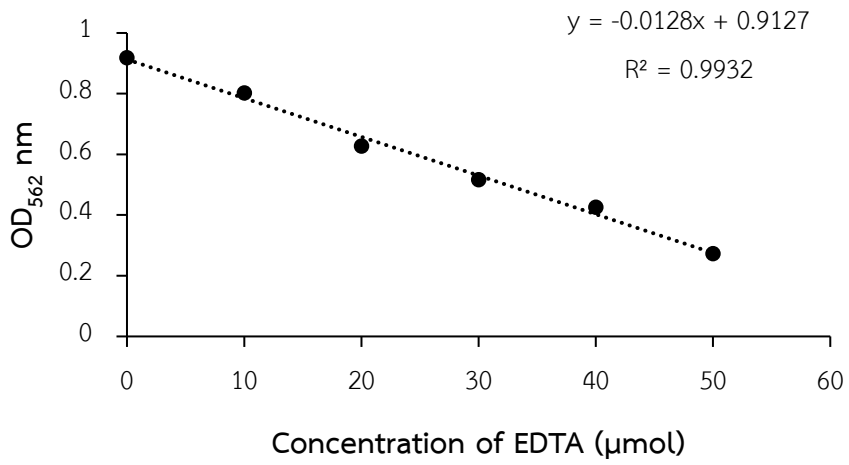
2. ผสมกับสารละลายเฟอร์รัสคลอไรด์ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์โรซีนความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร

3. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)

4. บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม

5. สร้างกราฟมาตรฐานของ EDTA (ช่วงความเข้มข้น 0-50 ไมโครโมลาร์) ที่ได้ทำปฏิกิริยาเช่นเดียวกับตัวอย่างซึ่งแสดงดังภาพที่ผนวกที่ 4



ภาพผนวกที่ 4 กราฟมาตรฐาน Metal Chelating Activity on Ferrous ion (Fe^{2+})

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + C และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน EDTA และ C คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระในหน่วย µmol EDTA equivalents (TE)/g sample

5. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีของ Kosasu *et al*. (2015)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิกจำนวน 0.0250 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 50 มิลลิลิตร

2. สารละลาย Folin-Ciocalteu เข้มข้นร้อยละ 10

เตรียมโดยปิเปตสารละลาย Folin-Ciocalteu จำนวน 10 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5

เตรียมโดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตจำนวน 7.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร

<u>การเตรียมกราฟมาตรฐาน</u>

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.5, 1, 1.5, 2 และ 2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ปิเปตน้ำกลั่นจำนวน 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 จำนวน 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

2. เติมตัวอย่าง/สารมาตราฐานจำนวน 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 นาที

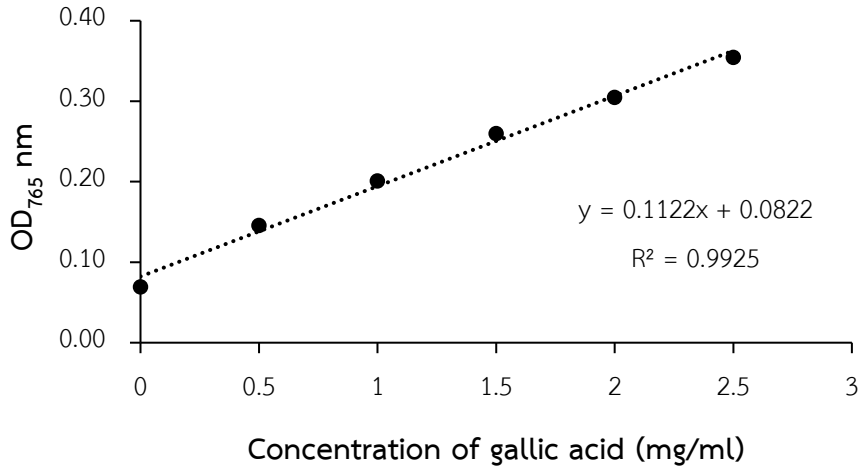
3. เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu เข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 250 ไมโครลิตร

4. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vertex

5. นำไปบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง

6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม

7. กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (ช่วงความเข้มข้น 0-2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) แสดงดังภาพผนวกที่ 6



ภาพผนวกที่ 6 กราฟมาตรฐานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + b และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Gallic acid และ b คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg gallic acid equivalents (GAE)/g sample

6. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid contents)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดตามวิธีการของ Prasad *et al*. (2009)

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (orbital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. สารละลายเควอซิทินที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เตรียมโดยชั่งเควอซิทินจำนวน 0.01 กรัม ละลายในเมทานอลร้อยละ 80 (ปริมาตร/ปริมาตร) แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 10 มิลลิลิตร

2. สารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10

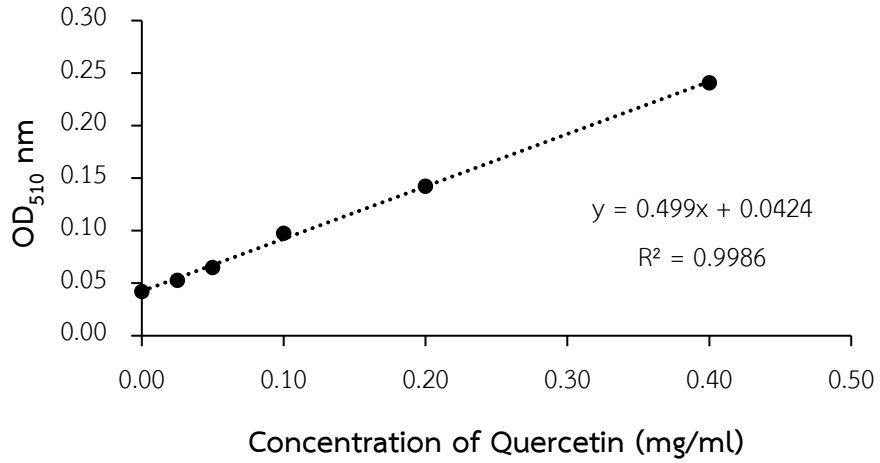
เตรียมโดยชั่งอะลูมิเนียมคลอไรด์จำนวน 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 20 มิลลิลิตร

<u>การเตรียมกราฟมาตรฐาน</u>

1. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเควอซิทินเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 0.25 0.5 1 2 และ 4 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 และ 0.4 มิลลิกรัม เควอซิทิน/มิลลิลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. ปิเปตตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย
3. เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร
4. เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร
5. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย
6. แล้วเติมน้ำกลั่น 2.2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
7. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม
8. กราฟมาตรฐานของเควอซิทิน (ช่วงความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) แสดงดังภาพผนวกที่ 7



ภาพผนวกที่ 7 กราฟมาตรฐานปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ในการหาสมการเชิงเส้น y = mx + C และ R^2 ของข้อมูลโดยที่ค่า y บ่งบอกถึงค่าความสามารถในการดูดกลืนแสง m คือค่าความชันของกราฟ x คือความเข้มข้นของสารมาตรฐาน Quercetin และ C คือจุดตัดแกน y โดยรายงานผลปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในหน่วย mg Quercetin Equivalents/g sample

7. ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin contents)

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยวิธี pH different ตามวิธีของ Wrolstad, 2000

<u>อุปกรณ์และเครื่องมือ</u>

1. เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
2. เครื่องผสมสารละลาย (vertex mixer)
3. เครื่องเขย่าสาร (obital shaker)
4. เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
3. หลอดทดลอง
4. ไมโครปิเปต
5. บีกเกอร์

<u>สารเคมีและการเตรียมสาร</u>

1. บัฟเฟอร์ pH 1

เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.186 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 58 มิลลิลิตร จากนั้นปรับpHด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 0.68 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร

2. บัฟเฟอร์ pH 4.5

เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 5.443 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 96 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ด้วยกรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 2 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร

<u>วิธีการวิเคราะห์</u>

1. นำสารสกัดตัวอย่างจำนวน 0.5 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลองจำนวน 2 หลอด

2. หลอดที่ 1 เติมบัฟเฟอร์ pH 1 จำนวน 4.5 มิลลิลิตร และหลอดที่ 2 เติมบัฟเฟอร์ pH 4.5 จำนวน 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมสารละลาย

3. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที

4. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร โดยอ่านค่าภายใน 15 นาที และใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม

5. บันทึกข้อมูลและคำนวณหาปริมาณปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดดังสมการนี้

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด} = \frac{(A \times MW \times DF)}{\varepsilon \times 1} \times 1000$$

เมื่อ A คือ $(OD_{510} - OD_{700})$ ของpH 1 - $(OD_{510} - OD_{700})$ ของpH 4.5

MW คือ มวลโมเลกุลของ Cyanidin3-glucosids (449.2)

DF คือ ค่าการเจือจาง (ตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผสมด้วยบัพเฟอร์จนมีปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยค่า DF จะเท่ากับ 10)

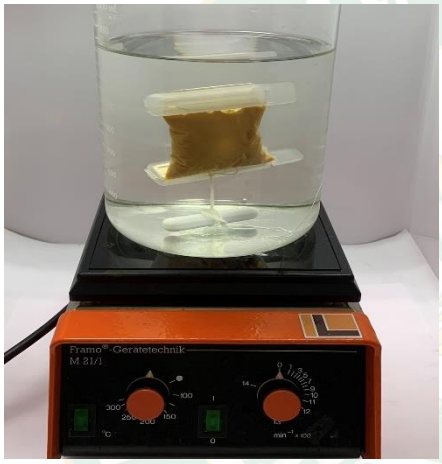
ε คือ Molar extinction coefficient of cyanidin-3-glucoside (29600)

โดยรายงานผลปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในหน่วยของ mg cyanidin-3-glucosid equivalents/100 g

ภาคผนวก ค
กระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

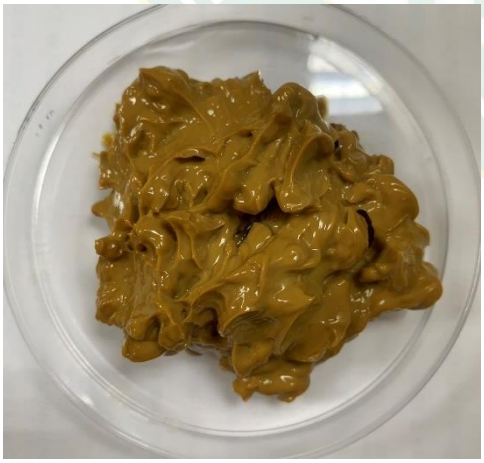
1. เห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. ผงเห็ดถั่งเช่าสีทอง



3. กระบวนการ Dialysis

4. สารละลายโปรตีนไอโซเลต ที่ตกตะกอนด้วยเกลือ $(NH_4)_2SO_4$



5. สารละลายโปรตีนไอโซเลต ที่ตกตะกอนด้วยเอทานอล

6. สารละลายโปรตีนไอโซเลต ที่ตกตะกอนด้วยการปรับค่า pH เข้าสู่จุด pI

ภาพผนวกที่ 8 กระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ภาคผนวก ง

กระบวนไมโครเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. สารละลายไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

2. กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ภาพผนวกที่ 9 กระบวนการผลิตไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ภาคผนวก จ

กระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

1. การแช่ข้าว

2. การบ่มข้าว

3. ข้าวกล้องงอก

4. ผงข้าวกล้องงอก

ภาพผนวกที่ 10 กระบวนการเตรียมผงข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ

ภาพแสดงบรรจุภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง แสดงดังภาพผนวกที่ 11 แบบซองอลูมิเนียมฟอยล์ โดยบรรจุจำนวน 10 ซอง ขนาด 20 กรัม ใน 1 แพ็ค

ภาพผนวกที่ 11 ผลิตภัณฑ์ต้นแบบเครื่องดื่มน้ำนมข้าวกล้องงอกจากข้าวเจ้าก่ำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงสำเร็จรูปเสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ภาคผนวก ฉ

การรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

COA No. ST007/66 MJUIRB No. ST009/66

หนังสือรับรองการพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย

(Certificate of Approval)

ชื่อโครงการ: โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (Cordyceps miliaris): การสกัด คุณลักษณะ และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

Project Title: Protein isolate from Cordyceps miliaris: extraction, characterization and application in instant healthy beverage products

ผู้วิจัยหลัก: นายณัฐพงษ์ มุงเมือง

Principal Investigator: Mr. Natthaphong Mungmuang

สังกัดหน่วยงาน: คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

Affiliation: Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

ผู้ร่วมวิจัย: -

Co-Investigator: -

สังกัดหน่วยงาน: -

Affiliation: -

วิธีการทบทวน (Reviewed Method): การพิจารณาแบบเร่งด่วน (Expedited Review)

เอกสารรับรอง: เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย หนังสือแสดงความสมัครใจในการเข้าร่วมการวิจัยฯ และเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

Document Reviewed: Participant Information Sheet, Informed Consent Form, and Research Instrument

คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ขอรับรองว่าโครงการวิจัยดังกล่าวข้างต้นได้รับการรับรองการพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย ตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากล ได้แก่ ปฏิญญาเฮลซิงกิ แนวทางการปฏิบัติการวิจัยทางคลินิกที่ดี และรายงานเบลมองต์

This is to certify that Maejo University Institutional Review Board has reviewed and approved the above research protocol based on international guidelines for human research protection including the Declaration of Helsinki, International Conference on Harmonization in Good Clinical Practice (ICH-GCP) and The Belmont Report.

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิสุทธิ์ เนียมชารีพย์)
ประธานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยแม่โจ้
Chairperson Maejo University Institutional Review Board

วันที่รับรองการพิจารณาจริยธรรม: 25 สิงหาคม 2566
Date of Approval: 25th August 2023

วันหมดอายุ: 25 สิงหาคม 2567
Date of Expiration: 25th August 2024

ภาพผนวกที่ 12 หนังสือรับรองการพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย

แบบฟอร์ม AF 22-1.0

หนังสือแสดงความสมัครใจในการเข้าร่วมการวิจัยโดยได้รับการบอกกล่าว

(Informed Consent Form)

วันที่..... เดือน..... พ.ศ. .....

ข้าพเจ้า.....อายุ.....ปี
อาศัยอยู่บ้านเลขที่.....หมู่ที่.....ถนน.....ตำบล.....อำเภอ.....
จังหวัด.....รหัสไปรษณีย์.....โทรศัพท์.....อีเมล์.....

ขอแสดงความสมัครใจเข้าร่วมโครงการวิจัย เรื่องโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Codyceps miliaris*) : การสกัด คุณลักษณะ และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ โดยข้าพเจ้าได้รับทราบรายละเอียดเกี่ยวกับที่มาและจุดมุ่งหมายในการทำวิจัย รายละเอียดต่าง ๆ ในแบบสอบถาม/แบบสัมภาษณ์ ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย และความเสี่ยงที่อาจจะเกิดขึ้นจากการเข้าร่วมการวิจัย รวมทั้งแนวทางป้องกันและแก้ไข และสิ่งตอบแทนที่จะได้รับ โดยได้อ่าน/รับทราบข้อความที่มีรายละเอียดอยู่ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัยโดยตลอด อีกทั้งยังได้รับคำอธิบายและตอบข้อสงสัยจากหัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ที่ได้รับมอบหมายเป็นที่เรียบร้อยแล้ว

ข้าพเจ้าได้ทราบถึงสิทธิ ข้อมูล ทั้งประโยชน์และความเสี่ยงจากการเข้าร่วมการวิจัย และสามารถถอนตัวหรืองดเข้าร่วมการวิจัยได้ทุกเมื่อ โดยจะไม่มีผลกระทบใด ๆ ต่อข้าพเจ้าในอนาคต

ข้าพเจ้าอนุญาตให้ผู้วิจัยใช้ข้อมูลที่ได้รับจากข้าพเจ้า แต่จะไม่เผยแพร่ต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล โดยจะนำเสนอผลเป็นข้อมูลโดยรวมจากการวิจัยเท่านั้น

ข้าพเจ้าเข้าใจข้อความในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย และหนังสือแสดงความสมัครใจนี้โดยตลอดแล้ว และข้าพเจ้ามีสิทธิขอสำเนาเอกสารนี้จากนักวิจัยได้ จึงลงลายมือชื่อไว้

ลงชื่อ.....
(.....)
ผู้เข้าร่วมการวิจัย/ผู้ให้ข้อมูล/ผู้แทนโดยชอบธรรม
วันที่.....เดือน.....พ.ศ. .....

ลงชื่อ.....ณัฐพงษ์ มุงเมือง.....
(นายณัฐพงษ์ มุงเมือง)
ผู้วิจัย/ผู้ให้ข้อมูลและขอความยินยอม
วันที่ 15 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2566

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน Institutional Review Board
COA No. ST007/66
25 ส.ค. 2566

แบบฟอร์ม AF 18-1.0

เอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย

(Participant Information Sheet)

คำชี้แจง

เอกสารฉบับนี้จะให้ข้อมูลพื้นฐานของโครงการวิจัยที่ท่านควรศึกษาทำความเข้าใจ เพื่อช่วยในการตัดสินใจในการเข้าร่วมการวิจัย หากท่านอ่านเอกสารฉบับนี้และมีข้อสงสัยใด ๆ เกี่ยวกับโครงการวิจัย ท่านสามารถสอบถามหัวหน้าโครงการวิจัยหรือผู้แทนได้ ท่านสามารถนำเอกสารนี้กลับไปอ่านที่บ้านและสามารถหารือกับผู้ที่ท่านต้องการปรึกษาได้

ท่านมีอิสระเต็มที่ในการตัดสินใจว่าจะให้ความร่วมมือหรือไม่ หากท่านไม่เข้าร่วมการวิจัยนี้จะไม่มีผลต่อการเรียน หรือการทำงานของท่าน และเมื่อท่านตัดสินใจเข้าร่วมในโครงการวิจัย และหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัยหรือมีข้อคิดเห็น ขัดข้องใจ หรือคำถามเกี่ยวกับการวิจัยนี้ ท่านสามารถติดต่อนักวิจัยที่เบอร์โทรศัพท์ 093-2644400 ในช่วงเวลาราชการ (ยกเว้นกรณีฉุกเฉิน)

รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1. ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย): โปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Codyceps miliaris*) : การสกัด คุณลักษณะ และการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูปเพื่อสุขภาพ

(ภาษาอังกฤษ): Protein isolate from *Codyceps miliaris* : extraction, characterisation and application in instant healthy beverage products

2. หัวหน้าโครงการวิจัย/ผู้วิจัยหลัก

นายณัฐพงษ์ มุงเมือง นักศึกษาคณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่อยู่ บ้านเลขที่ 52 หมู่ที่ 1 ตำบลแม่เจดีย์ใหม่ อำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย 57260 หมายเลขโทรศัพท์ 093-2644400 อีเมล์ mju6403308001@mju.ac.th

3. ระยะเวลาโครงการ 1 ปี

4. แหล่งเงินทุน (ถ้ามี)

-

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน Institutional Review Board

COA No. ST007/66

25 ส.ค. 2566

5. สรุปที่มาของโครงการวิจัย

ปัจจุบันกระแสการบริโภคอาหารแห่งอนาคตที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเป็นอีกหนึ่งเทรนที่ผู้บริโภคกำลังสนใจเป็นอย่างมาก ส่งผลให้ตลาดของอาหารสุขภาพได้รับความนิยมมากขึ้น หนึ่งในอาหารสุขภาพที่ได้รับความสนใจอย่างยิ่ง คือผลิตภัณฑ์โปรตีนทางเลือก (alternative protein) สาเหตุของผู้บริโภคที่หันมารับประทานโปรตีนทางเลือกนั้น เนื่องจากมีความตระหนักในการบริโภคโปรตีนจากเนื้อสัตว์ที่อุดมไปด้วยไขมันและคลอเลสเตอรอลสูง เสี่ยงต่อการเกิดโรคอ้วน ไขมันอุดตันในเส้นเลือดและโรคหัวใจตามมา นอกจากนี้ในเนื้อสัตว์มีสารตกค้างต่าง ๆ เช่น ยาปฏิชีวนะ สารเร่งเนื้อแดง ฮอร์โมนและโลหะหนักที่จะส่งผลกระทบเชิงลบต่อสุขภาพ อีกทั้งการบริโภคเนื้อสัตว์ยังเป็นการเบียดเบียนและทรมานสัตว์ โดยโปรตีนทางเลือกที่ผู้บริโภคให้ความสนใจในปัจจุบันได้แก่ โปรตีนจากจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ รา เห็ดเยื่อไผ่ เห็ดหลินจือและเห็ดถั่งเช่าสีทอง เป็นต้น (Sari *et al*., 2015; Yu *et al*., 2021)

มีรายงานว่าเห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นเชื้อราที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสรรพคุณทางยาที่มักมีการใช้กันมายาวนานตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ส่วนใหญ่มักพบในประเทศแถบเอเชียตะวันออก เช่น จีน ญี่ปุ่นและเกาหลี เป็นต้น (Cui, 2015; Shrestha *et al*., 2012) มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยโพลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนสูงถึงร้อยละ 59.8 และ 29.1 ตามลำดับ ซึ่งการนำเห็ดถั่งเช่าสีทองมาศึกษากระบวนการสกัดโปรตีนเพื่อศึกษาคุณลักษณะและฤทธิ์ทางชีวภาพจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เนื่องจากอาจเป็นโปรตีนทางเลือกใหม่ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มได้ ซึ่งกระบวนการสกัดโปรตีนไอโซเลตที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน ได้แก่ การตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (ammonium sulfate precipitation) การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent precipitation) และการปรับค่าพีเอชเข้าสู่จุดไอโซอิเล็กตริก (pH-Shift process) เป็นกระบวนการ ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม สามารถทำได้ง่าย ส่งผลกระทบต่อการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนน้อยและมีค่าใช้จ่ายที่ต่ำในการสกัดโปรตีน ดังนั้นทางคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการสกัด คุณลักษณะและฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองก่อนนำไปประยุกต์ใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต้นแบบผลิตภัณฑ์ทางอาหารฟังก์ชันที่มีมูลค่าสูงและเป็นชนิดใหม่ที่อาจจะสามารถต่อยอดในการขายเชิงพาณิชย์ได้

6. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด คุณลักษณะและสมบัติของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง
2. เพื่อศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงเสริมสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

7. ประโยชน์ที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะได้รับ

องค์ความรู้ในกระบวนการสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง กระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันของโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง และการผลิตเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ ชนิดผงเสริมสารสกัดโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

8. ท่านได้รับเชิญให้เข้าร่วมการวิจัยนี้เพราะ

1. เป็นผู้ที่มีสุขภาพดี ร่างกายแข็งแรง
2. เป็นผู้ที่มีอายุ ระหว่าง 18–50 ปี
3. เป็นผู้ที่สามารถพูด ฟัง อ่าน เขียน และเข้าใจภาษาไทยได้เป็นอย่างดี
4. เป็นผู้ที่ไม่มีอาการแพ้สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองและข้าวเจ้ากำ

9. หากท่านตัดสินใจเข้าร่วมการวิจัยแล้ว ท่านจะถูกสัมภาษณ์ด้วยวิธี

แบบสอบถามโดยให้คะแนนความชอบในด้านต่าง ๆ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสฯ

10. ความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นเมื่อเข้าร่วมการวิจัย

1. ผู้ที่มีอาการแพ้สารสกัดจากเห็ดถั่งเช่าสีทองจะทำให้เกิดอาการจาม คัดจมูก ปวดศีรษะ และท้องร่วง

2. ผู้ที่มีอาการแพ้ข้าวเจ้ากำจะทำให้เกิดอาการอาเจียน ท้องเสีย และเกิดผื่นคัน

11. แนวทางการป้องกันความเสี่ยงของโครงการวิจัย

แนวทางการป้องกันความเสี่ยงที่อาจเกิดขึ้นกับผู้เข้าร่วมการวิจัยในก่อนที่จะเริ่มทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งผู้วิจัยทำการสอบถามผู้เข้าร่วมย้ำอีกครั้งว่าไม่เป็นผู้ที่ไม่มีอาการแพ้สารสกัดดังกล่าว ในระหว่างการทดสอบทางประสาทสัมผัสฯ หากผู้เข้าร่วมวิจัยมีความรู้สึกอยากจะถอนตัวออกจากโครงการวิจัยสามารถถอนตัวออกได้เลยโดยไม่มีผลกระทบต่อการเรียน/การทำงาน และภายหลังจากการทดสอบทางประสาทสัมผัสฯ หากผู้เข้าร่วมวิจัยมีการอาการไม่พึงประสงค์ขณะทำการทดสอบ ผู้วิจัยจะให้ผู้ร่วมวิจัยหยุดทำการทดสอบทันทีหรือผู้เข้าร่วมวิจัยมีการอาการไม่พึงประสงค์ภายหลังทำการทดสอบ ผู้วิจัยจะนำส่งโรงพยาบาลที่ใกล้เคียงที่สุดทันที โดยผู้วิจัยจะทำการรับผิดชอบในส่วนของค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลทั้งหมด รวมถึงหากผู้เข้าร่วมวิจัยมีข้อคิดเห็น ขัดข้องใจ หรือคำถามเกี่ยวกับการวิจัยนี้ ท่านสามารถติดต่อผู้วิจัยที่เบอร์โทรศัพท์ 093-2644400 ในช่วงเวลาราชการ (ยกเว้นกรณีฉุกเฉิน)

12. สิ่งตอบแทนที่จะได้รับ

☐ มี *(โปรดระบุ)*.....

☑ ไม่มี

13. ค่าใช้จ่ายที่ผู้เข้าร่วมการวิจัยจะต้องรับผิดชอบเอง

☐ มี *(โปรดระบุ)*.....

☑ ไม่มี

ข้อมูลส่วนตัวของผู้เข้าร่วมการวิจัยจะถูกเก็บรักษาไว้ ไม่เปิดเผยต่อสาธารณะเป็นรายบุคคล แต่จะรายงานผลการวิจัยเป็นข้อมูลส่วนรวม ข้อมูลของผู้เข้าร่วมการวิจัยเป็นรายบุคคลอาจมีคณะบุคคลบางกลุ่มเข้ามาตรวจสอบได้ เช่น ผู้ให้ทุนวิจัย สถาบัน หรือองค์กรของรัฐที่มีหน้าที่ตรวจสอบ คณะกรรมการจริยธรรม เป็นต้น หากมีข้อมูลเพิ่มเติมทั้งด้านประโยชน์และโทษที่เกี่ยวข้องกับการวิจัยนี้ ผู้วิจัยจะแจ้งให้ทราบโดยเร็วไม่ปิดบัง

ผู้เข้าร่วมการวิจัยมีสิทธิ์ถอนตัวออกจากโครงการวิจัยเมื่อใดก็ได้ โดยไม่ต้องแจ้งให้ทราบล่วงหน้าและการไม่เข้าร่วมการวิจัยหรือถอนตัวออกจากโครงการวิจัยนี้ จะไม่มีผลกระทบต่อผลต่อการเรียน หรือการทำงานที่จะสมควรได้รับแต่ประการใด

หากท่านได้รับการปฏิบัติไม่ตรงตามที่ระบุไว้ในเอกสารฉบับนี้ ท่านสามารถติดต่อคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้ที่ สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ชั้น 3 อาคารเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดา 63 หมู่ 4 ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290 และหมายเลขโทรศัพท์ 053-873437 (ในเวลาราชการ)

ลงชื่อ.....ณัฐพงษ์ มุงเมือง.....

(นายณัฐพงษ์ มุงเมือง)

หัวหน้าโครงการวิจัย

วันที่ 24 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2566

ชุดที่.....

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส
เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ

รหัสตัวอย่าง.....

ความถี่ของการดื่มเครื่องดื่มน้ำนมข้าว

☐ทุกวัน ☐ทุกสัปดาห์ ☐ทุกเดือน ☐แทบจะไม่ดื่ม ☐ไม่เคยดื่ม

คำแนะนำ กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้และทำเครื่องหมาย x ให้ตรงกับคะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ตรงกับความรู้สึกชอบของท่านมากที่สุด (กรุณาบ้วนปากด้วยน้ำที่เตรียมไว้ให้ก่อนการชิมตัวอย่างทุกครั้ง)

คะแนนความชอบ 1 = ไม่ชอบอย่างยิ่ง 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉย ๆ 6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนนความชอบ								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ลักษณะปรากฏ									
กลิ่น									
สี									
รสชาติ									
เนื้อสัมผัส									
ความชอบโดยรวม									

หมายเหตุ ความชอบโดยรวมพิจารณาจากลักษณะปรากฏ กลิ่น สี รสชาติและเนื้อสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY สำนักงานคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยแห่งชาติ Institutional Review Board

"ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ"

COA No. ST007/66
25 ส.ค. 2566

ชุดที่.....

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

เครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

รหัสตัวอย่าง.....

ความถี่ของการดื่มเครื่องดื่มน้ำนมข้าว

☐ ทุกวัน ☐ ทุกสัปดาห์ ☐ ทุกเดือน ☐ แทบจะไม่ดื่ม ☐ ไม่เคยดื่ม

คำแนะนำ กรุณาทดสอบชิมตัวอย่างที่เสนอให้และทำเครื่องหมาย x ให้ตรงกับคะแนนความชอบของตัวอย่างในแต่ละคุณลักษณะที่ตรงกับความรู้สึกชอบของท่านมากที่สุด (กรุณาบ้วนปากด้วยน้ำที่เตรียมไว้ให้ก่อนการชิมตัวอย่างทุกครั้ง

คะแนนความชอบ 1 = ไม่ชอบอย่างยิ่ง 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉย ๆ 6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนนความชอบ								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
ลักษณะปรากฏ									
กลิ่น									
สี									
รสชาติ									
เนื้อสัมผัส									
ความชอบโดยรวม									

หมายเหตุ ความชอบโดยรวมพิจารณาจากสี กลิ่น ลักษณะปรากฏ รสชาติและเนื้อสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำนมข้าวเจ้ากำหอมงอกแม่โจ้ 1 เอ เสริมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

"ขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ"

COA No. ST007/66
25 ส.ค. 2566

ภาคผนวก ช

การตีพิมพ์ผลงาน

วารสาร
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY MAHASARAKHAM UNIVERSITY
www.journal.msu.ac.th

อว 0605.1(9.4.1)/ 767

5 ตุลาคม 2566

เรื่อง ผลการพิจารณาบทความวิจัย/บทความวิชาการ เพื่อตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

เรียน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล เสนพันธุ์, คุณณัฐพงษ์ มุงเมือง, รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก, อาจารย์ ดร.จิตราพร งามพีระพงศ์, รองศาสตราจารย์ ดร.มงคล ถิรบุญยานนท์, อาจารย์ ดร.กิตติมา ลีละพงศ์วัฒนา และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิริมา สินธุสำราญ

ตามที่ท่านได้ส่งบทความวิจัย/บทความวิชาการ **เรื่อง "การคัดเลือกสารห่อหุ้มที่เหมาะสมในกระบวนการไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยมอลโทเดกซ์ทรินและเบต้า-ไซโครเดกซ์ทริน"** เพื่อขอรับการพิจารณาลงตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม นั้น กองบรรณาธิการได้รับบทความวิจัยฉบับปรับปรุงแก้ไขตามข้อเสนอแนะ และบทความนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิ 3 ท่านแล้ว กองบรรณาธิการมีความยินดีที่จะแจ้งให้ท่านทราบว่าบทความวิจัย/บทความวิชาการของท่านได้รับการตอบรับให้ลงตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ทั้งนี้บทความวิจัย/บทความวิชาการของท่านจะตีพิมพ์ใน **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ISSN : 1686-9664 (print) , 2586-9795 (online) ปีที่ 43 ฉบับที่ 6 เดือนพฤศจิกายน – เดือนธันวาคม พ.ศ. 2567** โดยกองบรรณาธิการจะส่งบทความวิจัย/บทความวิชาการเพื่อให้ท่านตรวจสอบความถูกต้องสุดท้ายก่อนลงตีพิมพ์

อนึ่ง กองบรรณาธิการอาจพิจารณาเปลี่ยนแปลงบทความวิจัยเรื่องดังกล่าวเพื่อตีพิมพ์ในฉบับถัดไปของวารสารตามความเหมาะสม

กองบรรณาธิการขอขอบคุณที่ท่านส่งบทความที่มีคุณค่าและมีประโยชน์ทางวิชาการ เพื่อลงตีพิมพ์ในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าท่านจะส่งบทความเพื่อให้วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม พิจารณาเพื่อลงตีพิมพ์ในโอกาสถัดไป

ขอแสดงความนับถือ

(ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ประเทพา)
บรรณาธิการวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

กองส่งเสริมการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150
E-mail : scjournal@msu.ac.th, เบอร์โทรศัพท์ : 043-719827

ภาพผนวกที่ 12 หนังสือตอบรับการตีพิมพ์บทความในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล ณัฐพงษ์ มุงเมือง

เกิดเมื่อ 18 ตุลาคม 2541

ประวัติการศึกษา ปี 2564 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัด เชียงใหม่

ปี 2559 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนแม่เจดีย์วิทยาคม จังหวัดเชียงราย

มหาวิทยาลัยแม่โจ้ MAEJO UNIVERSITY