



# รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

สมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน  
ไฮโดรไลเซทเห็ดนางฟ้าโดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสและน้ำร้อน  
(Physicochemical, antioxidant and functional properties of protein  
hydrolysate of oyster mushroom on hydrolysis  
with protease and hot water)

โดย

ผศ.ดร.วิจิตรา เหลี้ยวตระกูล

ดร.วชิรญา เหลี้ยวตระกูล และ นางสาวจิระประภา แสงอยู่

*คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร  
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ*

ทุนวิจัยเพื่อยกระดับปริญญาโทสู่งานวิจัย  
กองทุนส่งเสริมงานวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2564

สมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ดนางฟ้า  
โดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสและน้ำร้อน

บทคัดย่อ

การศึกษารูปแบบของสมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดด้วยเอนไซม์และความร้อน ศึกษาสมบัติทางเคมี กายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า จากการศึกษาผลของการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอส (5% และ 10%) และความร้อน (50 และ 95 องศาเซลเซียส) พบว่า เอนไซม์โปรติเอสและความร้อนมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า โดยเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณผลผลิต ปริมาณเกลือ ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณโปรตีนระดับการย่อย ค่าสี a\* ค่าสี b\* ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเวลาในการย่อยนานขึ้น มีแนวโน้มจะทำให้ค่าเหล่านี้สูงขึ้น ในขณะที่เมื่อใช้ความร้อนในการย่อยโดยใช้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 95 องศาเซลเซียส ทำให้ระดับการย่อย การละลายน้ำ และการอุ้มน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าไม่มีสมบัติในการเกิดโฟม

**คำสำคัญ:** การย่อย เห็ดนางฟ้า เอนไซม์โปรติเอส การต้านอนุมูลอิสระ สมบัติเชิงหน้าที่ โปรตีนไฮโดรไลเซท

# Physicochemical, antioxidant and functional properties of protein hydrolysate of oyster mushroom on hydrolysis with protease and hot water

## Abstract

The objective of the study of the effect of Physico-chemical, antioxidant and functional properties of protein hydrolysate from sarjor-caju mushroom (*Pleurotus sajor-caju*) was to study the optimum conditions for sarjor-caju mushroom protein hydrolyzate by enzyme and heat, to study the physicochemical properties of the mushroom protein hydrolyzate, to study the antioxidant activity of the mushroom protein hydrolyzate, and to study the functional properties of the mushroom protein hydrolyzate. The effects of protein hydrolyzate which hydrolysted from sarjor-caju mushroom were studied with protease (5% and 10%) and heat (50 and 95 ° C). It was found that protease and heat had effects on the physical-chemical properties of protein hydrolyzate from the sarjor-caju mushroom. An increased amount of protease resulted in a significantly increasing of the yield, salt content, total soluble solids, protein content, degree of hydrolysis, color value ( $a^*$  and  $b^*$ ), total phenolic content, and the DPPH antioxidant activity ( $p < 0.05$ ). A longer hydrolysis time tended to enhance these values. On the other hand, when the temperature was increased to 95 ° C, the degree of hydrolysis, solubility and water absorbtion of the mushroom protein hydrolyzate were significantly increased ( $p < 0.05$ ), and found that the foam property of the protein hydrolyzate from the mushroom **was** not observed.

**Keyword:** hydrolysis, oyster mushroom, protease, antioxidant, functional properties, protein hydrolysate

## สารบัญ

| เรื่อง                        | หน้า |
|-------------------------------|------|
| บทคัดย่อ                      | ก    |
| Abstract                      | ข    |
| สารบัญ                        | ค    |
| บทที่ 1 บทนำ                  | 1    |
| บทที่ 2 การตรวจเอกสาร         | 3    |
| บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย | 22   |
| บทที่ 4 ผลการทดลอง            | 25   |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง        | 40   |
| เอกสารอ้างอิง                 | 41   |
| ภาคผนวก                       | 43   |

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เห็ดเป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจและเป็นที่ยอมรับกันทั่วไป เนื่องจากเมื่อนำมาประกอบอาหารแล้วมีรสชาติดี และที่สำคัญมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีไขมันต่ำ ใยอาหารสูง (ร้อยละ 10.5-43.0) และมีกรดอะมิโนที่จำเป็น (essential amino acid) เช่น ลิวซีน (leucine) ไลซีน (lysine) เมทไธโอนีน (methionine) ซิสเทอีน (cystiene) ฟีนิลอะลานีน (phenylalanine) เป็นต้น โดยกรดอะมิโนที่พบมาก ได้แก่ ลิวซีนและไลซีน นอกจากนี้เห็ดยังมีสรรพคุณทางยารักษาโรค เช่น เห็ดหอมมีคุณสมบัติในการยับยั้งเซลล์เนื้องอก (Manzi and Pizzoferrato, 2000) และการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Cheung et al., 2003) เป็นต้น ประเทศไทยมีสภาพแวดล้อมที่เอื้ออำนวยต่อการเพาะเห็ดอย่างมาก เห็ดที่นิยมเพาะ ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ เห็ดหูหนู เห็ดแชมปิยอง และเห็ดหอม ประกอบกับต้นทุนในการผลิตเห็ดแต่ละชนิดค่อนข้างต่ำ แต่ในช่วงเกษตรกรประสบปัญหาสภาวะเห็ดล้นตลาด รวมทั้งเห็ดไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานจึงส่งผลกระทบต่อเกษตรกร ถึงแม้จะมีการนำเห็ดมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ เช่น การทำเห็ดหยอง เห็ดดองและ เห็ดกระป๋อง เป็นต้น แต่ยังไม่เป็นที่นิยม วิธีการเพิ่มมูลค่าของเห็ดอีกวิธีหนึ่งคือการนำเห็ดมาแปรรูปเป็นโปรตีนไฮโดรไลเซต (hydrolysate vegetable protein: HVP) เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารและเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ HVP ได้จากการย่อยสลายพืชที่มีโปรตีนสูง ได้แก่ ข้าวสาลี ถั่วเหลือง ถั่วเขียว เป็นต้น HVP ประกอบด้วยกรดอะมิโน เปปไทด์ และสารประกอบอื่นๆ เช่น เกลือ HVP มีคุณสมบัติในการปรับปรุงและเสริมกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของ HVP คล้ายคลึงกับสารประกอบที่เกิดขึ้นในระหว่างหุงต้ม จึงสามารถนำมาใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารที่ให้กลิ่นรสเนื้อสัตว์ในอุตสาหกรรมอาหารได้ หรือนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เช่น เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว เป็นการย่อยกากเขียวและกากถั่วเหลืองด้วยเอนไซม์ Neutrase แล้วเติมกรดซิตริก (Citric acid) และน้ำตาลเพื่อปรับปรุงรสชาติ (วารยา, 2539) จากการที่เห็ดมีโปรตีนสูง และมีกรดอะมิโนที่จำเป็นแล้ว เห็ดยังมีกรดกลูตามิก (Bernas et al., 2006) ซึ่งกรดอะมิโนชนิดนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสอาหารของลิ้นให้ไวกว่าปกติทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์และมีกลิ่นที่ชวนรับประทาน เห็ดจึงเหมาะในการนำมาทำเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส ซึ่งเห็ดที่นิยมบริโภค และปริมาณโปรตีนสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ในกระบวนการผลิต HVP จากเห็ดนางฟ้า และศึกษาสมบัติของ HVP จากเห็ดนางฟ้า เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ HVP จากเห็ดนางฟ้าในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆต่อไป

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดด้วยเอนไซม์และความร้อน
- 1.2.2 เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้า
- 1.2.3 เพื่อศึกษาการต้านอนุมูลอิสระของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้า
- 1.2.4 เพื่อศึกษาสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้า

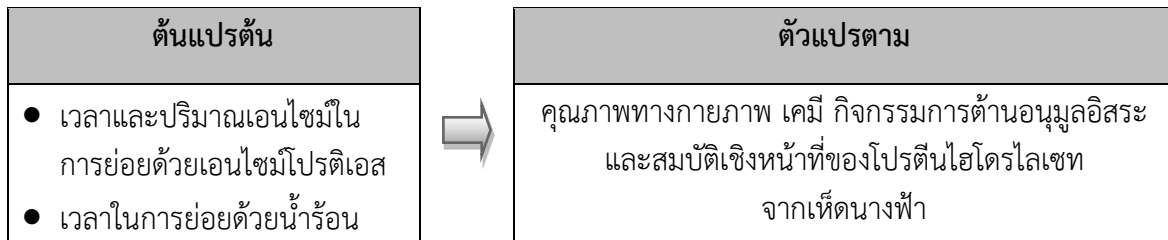
### 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 คำนวณข้อมูลวางแผนการทดลองและจัดหาวัสดุ

1.3.2 ใช้เอนไซม์ในการย่อยโปรตีนจากเห็ดและระยะเวลาในการย่อยสลาย 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

1.3.3 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตเข้มข้นที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สุด

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาใช้เอนไซม์โปรติเอสในการย่อยโปรตีนจากเห็ดนางฟ้าเทียบกับการย่อยด้วยน้ำร้อน และวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโปรตีนไฮโดรไลเซตเข้มข้นที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สุด



### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้าสามารถนำไปขยายผล โดยนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนานวัตกรรมอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารฟังก์ชัน และเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อิมัลชันที่เป็นทางเลือกในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากพืชทดแทนเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะผู้บริโภคที่รักสุขภาพ และกลุ่มผู้บริโภคที่แพ้เนื้อสัตว์ ไข่ และถั่ว

## บทที่ 2

### บทตรวจเอกสาร

#### 2.1 เห็ด

เห็ดอยู่ในอาณาจักรเห็ดราหรือฟังไจ (Kingdom Fungi) มีลักษณะเซลล์เป็น eukaryotic cell คือ มีเยื่อหุ้มนิวเคลียส โดยผนังเซลล์ของเห็ดเป็นสารไคติน กลูแคนและเซลลูโลส เห็ดไม่มีคลอโรพิลล์ทำให้สังเคราะห์อาหารเองไม่ได้ แต่สามารถกินอาหารโดยสร้างน้ำย่อย แล้วปล่อยออกมาย่อยสารอินทรีย์ได้ โมเลกุลเล็กและดูดเข้าเซลล์ (saprophyte) เห็ดจึงมีหน้าที่หลักคือ ช่วยย่อยสลายซากพืชและสัตว์ให้ผุพัง ดอกเห็ดส่วนใหญ่มีรูปร่างคล้ายร่มมีหลายขนาดตั้งแต่เท่าเข็มหมุดถึงเท่ากำจาน (Wikipedia, 2555) การเจริญเติบโตของเห็ดอาศัยการงอกของสปอร์จนได้เป็นกลุ่มของเส้นใยอัดแน่นจนเป็นก้อนกลมเจริญในแนวตั้งฉากกับพื้นที่ยกออกมาเป็นดอกเห็ด นักจุลชีววิทยาแบ่งกลุ่มเห็ดออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มแอสโคไมซีต (Ascomycete) เป็นกลุ่มเห็ดที่มีรูปร่างกลมแบน ไม่มีส่วนก้านหรือหมวกเห็ด ซึ่งตัวอย่างของเห็ดกลุ่มนี้ได้แก่ เห็ดหูหนู เห็ดกระบอง เห็ดถั่ว เห็ดทัพเพลิง เป็นต้น และกลุ่มเบสิดิโอไมซีต (Basidiomycete) เป็นเห็ดที่พบเห็นโดยทั่วไปมีส่วนของก้านและหมวกเห็ดตัวอย่างเห็ดในกลุ่มนี้ได้แก่ เห็ดโคน เห็ดฟาง เห็ดระโงกเห็ดนางรม เป็นต้น (สถาบันการสอนวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2548)

#### 2.2 การจำแนกเห็ด (Chang and Miles, 2004)

##### 2.2.1 เห็ดพิษ (poisonous mushroom)

ลักษณะของเห็ดพิษนั้นโดยส่วนใหญ่มีหมวกเห็ดที่สีสดใส มีวงแหวน (ring) ที่ก้านดอกและมีเกล็ด (scale) บนหมวกเห็ด เป็นต้น สารพิษที่มีในเห็ดนั้นมีหลายชนิดซึ่งแต่ละชนิดมีกลุ่มของสารพิษที่แตกต่างกัน ทำให้ลักษณะอาการหลังจากที่ได้รับพิษนั้นแตกต่างกัน เช่น กลุ่มที่สร้างสารพิษ cyclopeptides ได้แก่ อะมาท็อกซิน (amatoxins) และ ฟาโลท็อกซิน ( phallotoxins) พบได้ในเห็ดหลายชนิดในวงศ์ Amanita วงศ์ Galerina และ Lepiota เช่น เห็ด *Amanita virosa* เป็นสารพิษทำลายเซลล์ของตับ ไต ระบบทางเดินอาหาร ระบบเลือด ระบบหายใจ และระบบสมอง ทำให้ถึงแก่ความตาย ซึ่งเป็นสารพิษในเห็ดที่ร้ายแรงที่สุด ผู้ป่วยถึงแก่ชีวิตภายใน 4-10 ชั่วโมง หรือเห็ดกลุ่มที่สร้างสารพิษ psilocybin และ psilocin (กลุ่มเฝาระวังและสอบสวนโรค, 2548) เห็ดพิษที่มีสารกลุ่มนี้เมื่อรับประทานเข้าไปทำให้มีอาการทางประสาทหลอนหรือฝันและมึนเมา ซึ่งสารพิษกลุ่มนี้มีฤทธิ์แบบกัญชา ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายชนิด คือ *Copelandia cyanescens* (Berk. & Br.) Sing. เห็ดขี้ควาย หรือเรียกอีกอย่างว่าเห็ดโอสถลวงจิต เป็นต้น (กลุ่มเฝาระวังและสอบสวนโรค, 2548) (ภาพที่ 2.1)



*Amanita solitaria*



เห็ดสมองวัว (*Gyromitra esculenta*)



เห็ดหมึก (*Coprinus atramentarius*)



เห็ดหัวกรวดครีบเขียว (*Chlorophyllum molybdites*)



เห็ดซอนสีทองเกล็ดแดง (*Gyromorphus aeruginosus*)

ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างของเห็ดมีพิษ (<http://www.l3nr.org/posts/326045>)

### 2.2.2 เห็ดที่มีคุณประโยชน์ทางยา (medicinal mushroom)

เห็ดเป็นสมุนไพรค่อนข้างมีจำกัด อาจเป็นเห็ดที่กินได้และเป็นที่ยอมรับกันเป็นอย่างดี เช่น เห็ดหอม เห็ดหลินจือ เห็ดโคน และเห็ดหูหนู หรือเห็ดบางอย่างอาจยังไม่เป็นที่รู้จักและหายาก เช่น เห็ดหัวลิง (*Hericium erinaceus*) และเห็ดไมตาเกะ (*mitake*) นอกจากนี้เห็ดสมุนไพรยังได้จากเห็ดพิษบางชนิด เช่น เห็ดพิษเบือเมา (*Amanita phalloides*) เห็ดร่างแห และเห็ดอื่นๆ ที่ยังไม่มีการวิจัยและพัฒนาอีกหลายชนิด การที่เห็ดมีสรรพคุณทางยาเนื่องจากนักวิจัยพบสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive substances) เช่น พบสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ ซึ่งมีงานวิจัยต่างๆ มากมายเกี่ยวกับสรรพคุณทางยาของเห็ด เช่น ในเห็ดหอม (*Shiitake, Lentinus edode*) (Manzi and Pizzoferatto, 2000) เห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) (Miyazaki และ Nishijima, 1981) และเห็ดแชมปิญอง (*Agaricus bisporus*) (Mizuno et al., 1992) เป็นต้น พบสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ เช่น  $\beta$ -glucan ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเซลล์เนื้องอก คุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เช่น เห็ดหอม (*Lentinus edodes*) เห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) และเห็ดยานางิ (*A. aegerita*) เป็นต้น นอกจากนี้แล้วมีรายงานการศึกษาว่า ในเห็ดยานางิมี agrocycin ซึ่งเป็นเปปไทด์ (peptide) มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อรา (antifungal activity) (Ngai et al., 2005) นอกจากสรรพคุณข้างต้นแล้วเห็ดหลินจือ (*Ganoderma lucidum*) สามารถใช้รักษาโรคหัวใจ (coronary heart disease) โรคหลอดลมอักเสบเรื้อรัง (chronic bronchitis) และโรคความดันโลหิตสูง เป็นต้น เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) ช่วยป้องกันโรคกระดูกอ่อนและลดความเป็นกรดในกระเพาะอาหารรักษาโรคเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย เช่น มะเร็ง เอ็ดส์ ภูมิแพ้บางชนิด เห็ดหูหนู (*Auricularia*) รักษาโรคกระเพาะและริดสีดวง ช่วยลดความดันโลหิตและเร่งการสมานแผล และเห็ดฟาง (*Volvariella volvacea*) ช่วยลดความดันโลหิตและเร่งการสมานแผล (เพชร, 2546)

### 2.2.3 เห็ดกินได้ (edible mushroom)

เห็ดเป็นอาหารอีกชนิดหนึ่งที่คนนิยมบริโภค เนื่องจากหาง่าย ราคาไม่แพง และที่สำคัญเห็ดมีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างสูงซึ่งจัดเป็นอาหารที่มีคุณค่าเท่าเทียมผัก โดยเห็ดที่กินได้ส่วนมากมีเนื้ออ่อนนุ่มหรือกรอบนํากิน เห็ดมีคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างสูง เนื่องจากเห็ดมีกรดอะมิโน (amino acid) ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และยังมีวิตามินบี แป้ง และไขมันต่ำจึงเหมาะสำหรับผู้ที่มีปัญหาเกี่ยวกับไขมันในเลือดสูง และโรคหัวใจ เห็ดจัดว่าเป็นอาหารที่ย่อยยาก ผู้ที่เป็นโรคกระเพาะอาหารไม่ควรกินมาก ตัวอย่างของเห็ดที่กินได้ เช่น เห็ดฟาง เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม เห็ดหูหนู เห็ดโคน เห็ดยานางิ เห็ดมัสสีตาเกะ และเห็ดเข็มทอง เป็นต้น (วิภาวรรณ, 2550) ตัวอย่างของเห็ดกินได้ (ภาพที่ 2.2) จากตัวอย่างเห็ดกินได้และที่มีคุณประโยชน์ทางยานั้น เห็ดที่สำคัญและบริโภคได้มีประมาณ 10 ชนิดและสามารถจัดแบ่งกลุ่มเห็ดตามปริมาณโปรตีนออกเป็น 3 กลุ่ม

1. กลุ่มที่มีปริมาณโปรตีนสูงในช่วงร้อยละ 30-40 ของตัวอย่างแห้ง ได้แก่ เห็ดนางฟ้า เห็ดฟาง เห็ดโคน และเห็ดเสม็ด เป็นต้น
2. กลุ่มที่มีปริมาณโปรตีนระดับกลางในช่วงร้อยละ 20-30 ของตัวอย่างแห้ง ได้แก่ เห็ดหอม เห็ดนางรม เห็ดเข็มทอง เห็ดตับเต่า เห็ดขอนขาว เป็นต้น
3. กลุ่มที่มีปริมาณโปรตีนน้อยในช่วงร้อยละ 10-20 ของตัวอย่างแห้ง ได้แก่ เห็ดหูหนูดำ เห็ดเผาะ เป็นต้น



เห็ดหอม (*Lentinula edodes*)



เห็ดหูหนู (*Auricularia auricula*)



เห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* Fr.)



เห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*)

## ภาพที่ 2.2 ตัวอย่างของเห็ดที่รับประทานได้

(<http://www.sahavicha.com/?name=knowledge&file=readknowledge&id=2018>)

### 2.3 เห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้า ชื่อวิทยาศาสตร์: *Pleurotus sajorcaju* (Fr.) Singers ชื่อสามัญคือ เห็ดแขกมีลักษณะคล้ายคลึงกับเห็ดนางรม ลักษณะของดอกเห็ดนางฟ้ามีลักษณะคล้ายกับดอกเห็ดเป๋าฮื้อ เมื่อเปรียบเทียบกับเห็ดเป๋าฮื้อ ดอกเห็ดนางฟ้ามีสีขาวจนถึงสีน้ำตาลอ่อน หมวกดอกเนื้อแน่น สีก้านดอกเป็นสีขาว ขนาดยาวไม่มีวงแหวนล้อมรอบ ครีบดอกสีขาวอยู่ชิดติดกันมากกว่าครีบดอกเห็ดเป๋าฮื้อ เส้นใยค่อนข้างละเอียด เห็ดนางฟ้าสามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นานหลายวัน เช่นเดียวกับเห็ดเป๋าฮื้อ เนื่องจากเห็ดชนิดนี้ไม่มีการย่อยตัวเหมือนกับเห็ดนางรม ในอินเดียดอกเห็ดมีขนาดตั้งแต่ 5 - 14 เซนติเมตร และมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 30 - 120 กรัม เห็ดนางฟ้ามีรสอร่อย เวลานำไปปรุงอาหารมีกลิ่นชวนรับประทาน เห็ดชนิดนี้สามารถนำไปตากแห้ง เก็บไว้เป็นอาหารได้ เมื่อนำเห็ดมาปรุงอาหาร นำไปแช่น้ำเห็ดสามารถคืนรูปเดิมได้ (บุญสง, 2543) เห็ดนางฟ้าเจริญเติบโตได้ดีในช่วงหน้าร้อน ประมาณเดือนเมษายนเจริญเติบโตตามต่อไม้ผุๆ บริเวณที่อากาศชื้นและเย็นสรรพคุณทางยาช่วยป้องกันโรคมะเร็ง ลดไขมันในเส้นเลือด มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.38 ของตัวอย่างสด (ร้อยละ 34.74 ของตัวอย่างแห้ง)

#### 2.3.1 โครงสร้างของเห็ดโดยทั่วไป

มีส่วนประกอบหลัก 6 ส่วน ได้แก่ cap, scale, gills, ring, stipe, volva ดังภาพที่ 2.3

**2.3.1.1 หมวกเห็ด (cap หรือ pileus)** เป็นส่วนปลายสุดของดอกที่เจริญเติบโตขึ้นไปในอากาศ เมื่อดอกบานเต็มที่ก็จะกางออกมีลักษณะรูปทรงเหมือนร่มกาง ขอบดอกงุ้มลงหรือแบนราบหรือด้านบนอาจเรียบขรุขระ มีเกล็ดหรือขนปกคลุม ทั้งนี้จะแตกต่างกันแล้วแต่ชนิดของเห็ด เกล็ดหรือขนเป็นเนื้อเยื่อที่หลุดหรือฉีกขาดจากเนื้อเยื่อบาง ๆ ที่หุ้มดอกเห็ดในระยะที่เป็นเห็ดอ่อน หรือปริแตกออกจากกันเมื่อดอกเห็ดบาน เนื้อหมวกเห็ดหนาบางต่างกันอาจจะเหนียวหรือฉีกขาดได้ง่าย สีของเนื้อหมวกเห็ดภายในและภายนอกอาจเป็นสีเดียวกันหรือแตกต่างกันเมื่อเกิดบาดแผลหรือฉีกขาด เนื้อเยื่อของหมวกเห็ดบางชนิดอาจเปลี่ยนสีได้เมื่อถูกอากาศ

**2.3.1.2 ครีบ (gills หรือ lamellae)** หรือซี่หมวกเห็ดเรียงเป็นรัศมีรอบก้านดอก ซึ่งอยู่ด้านล่างของหมวกเห็ด เห็ดบางชนิดมีครีบหมวกด้านในยึดติดหรือไม่ยึดติดกับก้านดอก ด้านนอกเชื่อมติดกับขอบหมวกสองข้างของครีบหมวกเป็นที่เกิดสปอร์ของดอกเห็ด ครีบหมวกนี้อาจถูกย่อยให้ละลายเป็นของเหลวได้ในเห็ดบางชนิด เช่น เห็ดหิงห้อย เป็นต้น เห็ดแต่ละชนิดจะมีจำนวนครีบหมวกแตกต่างของเห็ดแต่ละชนิด

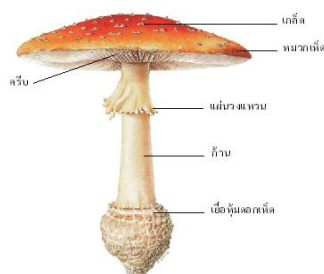
ด้วย โดยปกติมีสีขาว เหลือง ชมพู ม่วง น้ำตาล และดำ เห็ดบางสกุลไม่มีครีบแต่มีรู (pores) หรือมีฟันเลื่อย (teeth) แทน ครีบ สปอร์เกิดในรูหรือบนฟันเลื่อย บางชนิดสปอร์เกิดฝังอยู่ในก้อนวุ้น เช่น เห็ดหูหนู เป็นต้น หรือ สปอร์เกิดอยู่ในเปลือกหุ้มที่เป็นก้อนกลม เช่น เห็ดลูกฝุ่น เป็นต้น ซึ่งเมื่อแก่จะแตกให้สปอร์ฟุ้งกระจายออกมา

**2.3.1.3 ก้านดอก (stalk)** มีขนาดใหญ่และยาวแตกต่างกันส่วนมากเป็นรูปทรงกระบอก บางชนิดมีโคนหรือปลายเรียวเล็กตอนบนยึด ติดกับหมวกเห็ดหรือครีบหมวกด้านใน ตอนล่างของเห็ดบางชนิดอาจมีเส้นใยหยาบๆรวมกันเป็นก้อนหรือมีปลอกหุ้มโคนซึ่งมีลักษณะ คล้ายถ้วยชาหงายรองรับอยู่ เช่น ปลอกหุ้มโคนดอกเห็ดบัวหรือเห็ดฟาง เป็นต้น บนก้านดอกตอนบนของเห็ดบางชนิดจะมีวงแหวน หรือเยื่อบางๆหุ้มอยู่โดยรอบ ก้านดอกเห็ดมีผิวเรียบ ขรุขระมีขน หรือมีเกล็ด เวลาจับอาจเปลี่ยนเป็นสีอื่นๆได้ในเห็ดบางชนิด เนื้อเยื่อภายใน ก้านดอกเห็ดอาจสานกันแน่นทึบ นิ่ม แข็งกรอบ หรือเป็นเส้นหยาบ หรือสานกันเป็นเส้นใยหลวมๆคล้ายฟองน้ำ

**2.3.1.4 วงแหวน (ring หรือ annulus)** เป็นเนื้อเยื่อบางๆที่ยึดก้านดอกและขอบหมวกของเห็ดให้ติดกัน เมื่อหมวกเห็ดกางออก เยื่อนี้จะขาดจากขอบหมวกแต่ยังคงมีเศษส่วนยึดติดกับก้านดอกให้เห็นรอบก้านดอกเหมือนมีวงแหวนหรือแผ่นเยื่ออย่างสวมอยู่ วงแหวนที่อยู่ตอนบนใต้หมวกเห็ดลงมาเล็กน้อยเรียกว่า "inner vell" วงแหวนนี้เลื่อนขึ้นลงได้โดยไม่ยึดติดกับก้านดอก ซึ่งเป็นลักษณะของเห็ดบางชนิด

**2.3.1.5 เปลือกหุ้ม (volva หรือ cup)** เป็นเนื้อเยื่อหนาหรือบางชั้นนอกสุดที่หุ้มดอกเห็ดทั้งดอกไว้ในระยะที่เป็นดอกตูม ซึ่งเราเรียกว่า "outer vell" ซึ่งมีในเห็ดบางชนิด เช่น เห็ดบัว เห็ดฟาง เป็นต้น เมื่อดอกเห็ดโตขึ้น เปลือกเห็ดแตกออกตอนบน เพื่อให้หมวกเห็ดและก้านดอกยึดตัวชูสูงขึ้นมาในอากาศ แล้วทิ้งให้เปลือกหุ้มอยู่ที่โคนก้านมองดูแล้วเหมือนว่าก้านดอกเห็ดตั้งอยู่ในถ้วย เปลือกหุ้มมีเนื้อเยื่อและสีคล้ายคลึงกับหมวกเห็ดหรือแตกต่างกัน แต่ส่วนมากมีสีขาว เปลือกหุ้มเห็ดบางชนิดอาจไม่ชัดเจนเหมือนของเห็ดบัว แต่เป็นเนื้อเยื่อบางๆคล้ายวงแหวนหุ้มอยู่รอบโคนต้น เช่นเห็ดบางชนิดในวงศ์ Amanita ซึ่งเป็นเห็ดมีพิษ ดังนั้นการเก็บเห็ดตูมหรือเห็ดอ่อนที่ยังเป็นก้อนกลมมากินนั้นนับเป็นการเสี่ยงต่อการเก็บเห็ดมีพิษมากินจนอาจได้รับอันตรายถึงชีวิตได้

**2.3.1.6 เกล็ด (scale)** เป็นเนื้อเยื่อลักษณะขรุขระบนผิวของหมวกดอก (cap) ซึ่งช่วยปกคลุมและป้องกัน



ภาพที่ 2.3 ส่วนประกอบของเห็ด (<http://www.findaus.com/beverleyednie/prints.htm>)

## 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ด

เห็ดมีน้ำเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 90 นอกนั้นเป็นคาร์โบไฮเดรตอยู่ระหว่างร้อยละ 3-28 เส้นใยอยู่ระหว่างร้อยละ 3-32 โปรตีนประมาณร้อยละ 3 ซึ่งเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์ มีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบคือ มีดัชนีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid index) เท่ากับร้อยละ 72-98 ของเนื้อสัตว์ ได้แก่ ไอโซลิวซีน ลิว

ซิน ไลซีน เมทไทโอนีน ซิสทีอีน ไทโรซีน ฟีนิลอะลานีน เป็นต้น นอกจากนั้นยังพบกรดอะมิโนกลูตามิกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งทำให้เห็ดมีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน โดยกรดอะมิโนตัวนี้ทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสชาติของลิ้นให้ไวกว่าปกติ และทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ เห็ดโดยทั่วไปมีไขมันต่ำประมาณร้อยละ 2-8 มีเกลือแร่ และวิตามินบี เช่น thiamine (B1), riboflavin (B2), niacin (B3) และมีวิตามินซีสูง นอกจากนี้เห็ดยังมีเกลือแร่ที่ร่างกายต้องการ เช่น แคลเซียม โปแตสเซียม และฟอสฟอรัส องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดส่วนที่กินได้แสดงในตารางที่ 2.1

#### 2.4.1 คาร์โบไฮเดรต

เห็ดมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบส่วนมาก โดยเห็ดสดพบปริมาณคาร์โบไฮเดรต ระหว่างร้อยละ 3-28 (หรือประมาณร้อยละ 50-80 ของน้ำหนักแห้ง) ส่วนเส้นใยประมาณร้อยละ 3-32 (พอรเรีย, 2548) คาร์โบไฮเดรตในเห็ดส่วนใหญ่อยู่ในรูปพอลิแซ็กคาไรด์ คือ ไกลโคเจน (glycogen) และองค์ประกอบที่ไม่สามารถย่อยได้ ได้แก่ dietary fiber เซลลูโลส ไคติน แมนแนน (mannans) ละกลูแคน (Manzi และ Pizzoferrato, 2000; Manzi et al., 2001) ซึ่งกลูแคน (homo- และ hetero-glucan) เชื่อมด้วยพันธะ glycoside  $\beta$  (1-3),  $\beta$  (1-4) และ  $\beta$  (1-6) เป็นองค์ประกอบในเห็ดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ในเห็ดกระดุมสด (*Agaricus bisporus* (Lange) Sing.) และเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) (Manzi et al., 2001) พบปริมาณของ dietary fiber เท่ากับ 2.0 กรัมในตัวอย่างเห็ดสด 100 กรัม และ 4.1 กรัมในตัวอย่างเห็ดสด 100 กรัม ตามลำดับ และพบปริมาณของเบต้ากลูแคน ในเห็ดกระดุมและเห็ดนางฟ้าเท่ากับ 139 มิลลิกรัม และ 1.4 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างเห็ดสด ตามลำดับ นอกจากนั้นแล้วน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดมีหลายชนิด เช่น pentoses, methylpentose, hexoses เป็นต้น ความหวานของเห็ดเนื่องจากน้ำตาลพิเศษ เช่น แอลฟา-ทรีฮาโลส ( $\alpha$ -trehalose) ซึ่งถูกเรียกเฉพาะว่าเป็นน้ำตาลเห็ด (mushroom sugar) น้ำตาลนี้พบมากในเห็ดอ่อน เมื่อเห็ดโตเต็มที่น้ำตาลทรีฮาโลสถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่มีความหวานลดลง (ศิริวรรณ และไมตรี, 2548)

#### 2.4.2 โปรตีน

โปรตีนในเห็ดประมาณร้อยละ 19-35 ของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง (ประมาณ 0.8-3.5 กรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักเปียก (Zrodowski, 1995) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในอาหารชนิดต่างๆ เช่นข้าวมีโปรตีนร้อยละ 7.3 ข้าวสาลีมีโปรตีนร้อยละ 13.2 ถั่วเหลืองมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 39.1 และนมมีโปรตีนร้อยละ 25.2 เห็นได้ว่าเห็ดมีปริมาณโปรตีนต่ำกว่าเนื้อสัตว์แต่มีปริมาณสูงกว่าอาหารชนิดอื่น ๆ รวมทั้งนม ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสัตว์ โดยปริมาณโปรตีนในเห็ดขึ้นอยู่กับขนาดของหมวกเห็ด ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และชนิดของเห็ด (Bernas et al., 2006) โดยปริมาณโปรตีนในเห็ดโดยทั่วไปเป็น 2 เท่าของหน่อไม้ฝรั่งและกะหล่ำปลี 4 เท่า และ 12 เท่าของส้มและแอปเปิ้ล ตามลำดับ เห็ดมีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบ ซึ่งมีดัชนีกรดอะมิโนจำเป็น เท่ากับร้อยละ 72-98 ของเนื้อสัตว์ ซึ่งมีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นใกล้เคียงกับเนื้อสัตว์มาก ดังแสดงในตารางที่ 2.2 เห็ดโดยทั่วไปพบกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้ง 9 ชนิด ได้แก่ ไลซีน วาลีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน ทรีโอนีน ทรีโตนแพน เมทไทโอนีน ฟีนิลอะลานีน และฮีสติดีน กรดอะมิโนจำเป็นที่พบมากที่สุด คือ ลิวซีน และไลซีน ส่วนกรดอะมิโนจำเป็นที่พบน้อยที่สุดคือ ทรีโตนแพน และ เมทไทโอนีน (Chang and Miles, 2004) (ตารางที่ 2.3) นอกจากพบกรดอะมิโนที่จำเป็นทั้ง 9 ชนิดแล้วยังพบกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นต่อร่างกายอีกด้วย ได้แก่ อะลานีน อาร์จินีน ไกลซีน กรดแอสพาร์ติก กรดกลูตามิก โพรลีน และซีรีน เป็นต้น โดยกรดอะมิโนที่ให้กลิ่นรสที่ดีและพบในปริมาณมากได้แก่ กรดกลูตามิก มีรสชาติและกลิ่นที่ชวนรับประทาน โดยกรดอะมิโนตัวนี้จะทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสชาติของลิ้นให้ไวกว่าปกติ และทำให้มีรสชาติคล้ายกับเนื้อสัตว์ (Bernas et al., 2006)

### 2.4.3 ไขมัน

หีตมีปริมาณไขมันต่ำมากประมาณร้อยละ 2-8 ของน้ำหนักแห้ง พบกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว โดยพบกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างน้อยร้อยละ 72 ของกรดไขมันทั้งหมด (total fatty acid) ซึ่งกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบมาก คือ กรดลิโนเลอิก (linoleic acid, C18:2) ในหีตหอมพบกรดลิโนเลอิก เท่ากับร้อยละ 76.25 หีตฟางร้อยละ 69.9 หีตกระดุมร้อยละ 69.2 ของกรดไขมันทั้งหมด ดังตารางที่ 2.4 กรดลิโนเลอิกเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากกว่ากรดไขมันที่อิ่มตัวที่พบได้มากในไขมันสัตว์ นอกจากนี้กรดลิโนเลอิกยังเป็นสารตั้งต้นในการเกิดปฏิกิริยา enzymatic reaction ได้ 1-octen-3-ol มีลักษณะกลิ่นหีต ซึ่งเป็นกลิ่นที่สำคัญในหีต เอนไซม์เกี่ยวข้องในปฏิกิริยานี้คือ เอนไซม์ lipoxygenase (Morawicki *et al.*, 2005)

### 2.4.4 วิตามิน

หีตเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินบีหนึ่ง บีสอง และวิตามินบี 3 ซึ่งช่วยควบคุมการทำงานของระบบย่อยอาหาร นอกจากนี้ยังพบ folate, pantothenic acid, วิตามินบี, วิตามินซี และวิตามินดีอีกด้วย (ตารางที่ 2.5) นอกจากนี้ยังพบหีตบางชนิดมีเบต้า-แคโรทีน ( $\beta$ -carotene) (วิภาวรรณ, 2550)

### 2.4.5 เกลือแร่

หีตจัดเป็นแหล่งเกลือแร่ที่สำคัญ ซึ่งปริมาณเกลือแร่ขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ อายุ และขนาดของหมีวกหีต (Demirbus, 2001) โดยเกลือแร่พบมากในหมีวกหีตมากกว่าก้านหีต เกลือแร่ต่างๆ ที่พบ (ตารางที่ 2.6) เช่น ซีลีเนียมทำหน้าที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน ส่วนโปแตสเซียมทำหน้าที่ควบคุมจังหวะการเต้นของหัวใจ สมดุลของน้ำในร่างกาย การทำงานของกล้ามเนื้อ และระบบประสาทต่างๆ ลดการเกิดโรคความดันโลหิตสูง อัมพฤกษ์ และอัมพาต ส่วนทองแดง ทำหน้าที่ช่วยเสริมสร้างการทำงานของธาตุเหล็ก (ชฎาพร, 2549)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเห็ดส่วนที่กินได้ 100 กรัม

| ชนิดของเห็ด       | น้ำ<br>(กรัม) | พลังงาน<br>(แคลอรี) | ไขมัน<br>(กรัม) | คาร์โบ <sup>n</sup><br>(กรัม) | โปรตีน<br>(กรัม) | เส้นใย<br>(กรัม) | เถ้า<br>(กรัม) | เกลือแร่          |                |                   | วิตามิน       |               |                  |             |
|-------------------|---------------|---------------------|-----------------|-------------------------------|------------------|------------------|----------------|-------------------|----------------|-------------------|---------------|---------------|------------------|-------------|
|                   |               |                     |                 |                               |                  |                  |                | แคลเซียม<br>(มก.) | เหล็ก<br>(มก.) | ฟอสฟอรัส<br>(มก.) | บี 1<br>(มก.) | บี 2<br>(มก.) | ไนอาซิน<br>(มก.) | ซี<br>(มก.) |
| 1.เห็ดหอม         | 92.40         | 21.55               | 0.043           | 2.95                          | 2.34             | 1.308            | 0.625          | 2.30              | 2.22           | 58.59             | 0.001         | 0.24          | 3.23             |             |
| 2.เห็ดนางรม       | 90.70         | 32.39               | 0.043           | 5.67                          | 2.13             | 0.396            | 0.543          | 1.32              | 1.08           | 55.76             | 0.004         | 0.06          | 8.04             | 0.82        |
| 3.เห็ดนางฟ้า      | 90.27         | 33.32               | 0.071           | 4.79                          | 3.36             | 0.472            | 0.642          | 1.90              | 0.86           | 87.44             | 0.006         | 0.08          | 3.21             | 3.56        |
| 4.เห็ดฟาง         | 89.90         | 32.38               | 0.071           | 4.75                          | 3.16             | 0.595            | 0.986          | 5.56              | 1.27           | 105.81            | 0.011         | 0.14          | 2.87             | 0.67        |
| 5.เห็ดโคน         | 84.90         | 48.72               | 0.280           | 5.28                          | 6.27             | 1.963            | 1.293          | 8.64              | 3.04           | 135.11            | 0.095         | 0.50          | 9.24             |             |
| 6.เห็ดหูหนู*      | 87.10         | 50.00               | 0.100           | 10.90                         | 1.40             | 1.80             | 0.500          | 60.00             | 6.10           | -                 | -             | -             | 2.80             | 21.00       |
| 7.เห็ดขมิ้น**     | -             | -                   | 0.500           | 2.30                          | 2.70             | -                | -              | 2.00              | 1.60           | 17.00             | 0.03          | 0.44          | 3.70             | 7.00        |
| 8.เห็ดเป่าฮื้อ**  | -             | -                   | 0.200           | 3.20                          | 3.40             | -                | -              | -                 | 22.2           | 18.00             | 9.7           | 0.47          | 3.0              | 7.00        |
| 9.เห็ดกระดุม      | 90.50         | -                   | 0.200           | -                             | 4.70             | -                | -              | 9.00              | 5.70           | -                 | -             | -             | -                | -           |
| 10.เห็ดเข็มทอง*** | -             | 34.00               | 0.400           | 7.00                          | 2.40             | 2.60             | -              | -                 | -              | -                 | -             | -             | -                | -           |

ที่มา : วิทยารรณ (2550)

หมายเหตุ: ข้อมูลทั้งหมดแสดงเป็นร้อยละของน้ำหนักเปียก

คาร์โบ<sup>n</sup> = คาร์โบไฮเดรต

\* = วิเคราะห์โดยจากกรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข

\*\* = สาคิต (2546)

\*\*\*= นีรนาม (2548)

- = ไม่มีการวิเคราะห์

**ตารางที่ 2.2** ดัชนีของกรดอะมิโนจำเป็นและดรรชนีทางโภชนาการของเห็ดเปรียบเทียบกับเนื้อสัตว์ต่างๆ

| ชนิดอาหาร        | Essential amino acid index (EAA) | Amino acid scores (AAS) | Nutritional indexes (NI) |
|------------------|----------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| หมู ไก่ เนื้อวัว | 100                              | 100                     | 59                       |
| เห็ด             | 72-98                            | 32-89                   | 5-28                     |

**ตารางที่ 2.3** กรดอะมิโนจำเป็นของเห็ดกินได้

| Amino acid                        | เห็ดกระดุม  | เห็ดหอม     | เห็ดนางรม   | เห็ดนางฟ้า  | เห็ดฟาง     |
|-----------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| Leucine                           | 7.5         | 7.9         | 6.8         | 7.0         | 4.5         |
| Isoleucine                        | 4.5         | 4.9         | 4.2         | 4.4         | 3.4         |
| Valine                            | 2.5         | 3.7         | 5.1         | 5.3         | 5.4         |
| Tryptophan                        | 2.0         | Nd          | 1.3         | 1.2         | 1.5         |
| Lysine                            | 9.1         | 3.9         | 4.5         | 5.7         | 7.1         |
| Threonine                         | 5.5         | 5.9         | 4.6         | 5.0         | 3.5         |
| Phenylalanine                     | 4.2         | 5.9         | 3.7         | 5.0         | 2.6         |
| Methionine                        | 0.9         | 1.9         | 1.5         | 1.8         | 1.1         |
| Histidine                         | 2.7         | 1.9         | 1.7         | 2.2         | 3.8         |
| <b>Total essential amino acid</b> | <b>38.9</b> | <b>36.0</b> | <b>33.4</b> | <b>37.6</b> | <b>32.9</b> |

ที่มา: Chang and Miles (2004)

**ตารางที่ 2.4** ปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว และกรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) ในเห็ดกินได้

| Mushrooms    | % Distribution of fatty acids |             | Linoleic acid<br>(% of total fatty acid) |
|--------------|-------------------------------|-------------|--|
|              | Saturated                     | Unsaturated |  |
| เห็ดกระดุม   | 19.5 (0.60)                   | 80.5 (2.50) | 69.2                                     |
| เห็ดหูหนู    | 25.8 (0.34)                   | 74.2 (0.96) | 40.4                                     |
| เห็ดหอม      | 19.9 (0.42)                   | 80.1 (1.68) | 76.25                                    |
| เห็ดนางฟ้า   | 20.7 (0.33)                   | 79.3 (1.27) | 62.9                                     |
| เห็ดหูหนูขาว | 22.8 (0.14)                   | 77.2 (0.46) | 28.0                                     |
| เห็ดฟาง      | 14.6 (0.44)                   | 85.4 (2.56) | 69.9                                     |

หมายเหตุ: ค่าตัวเลขในวงเล็บเป็นปริมาณกรดไขมันต่อน้ำหนักแห้ง

ที่มา: Chang and Miles (2004)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณวิตามินละลายของเห็ด

| วิตามิน                      | ปริมาณเฉลี่ยต่อเห็ด 100 g |
|------------------------------|---------------------------|
| Thiamin (B1) (mg)            | 0.02                      |
| Riboflavin (B2) (mg)         | 0.37                      |
| Niacin equivalents (B3) (mg) | 3.7                       |
| Folate (mcg)                 | 18                        |
| Pantothenic acid (mg)        | 1.15                      |
| Biotin (mcg)                 | 8.9                       |

หมายเหตุ: mg = milligrams; mcg = micrograms

ที่มา: Cardwell (2007)

ตารางที่ 2.6 ปริมาณเกลือแร่ละลายของเห็ด

| เกลือแร่        | ปริมาณเฉลี่ยต่อเห็ด 100 g |
|-----------------|---------------------------|
| Copper (mcg)    | 342                       |
| Selenium (mcg)  | 15.4                      |
| Phosphorus (mg) | 110                       |
| Potassium (mg)  | 310                       |
| Magnesium (mg)  | 10                        |

หมายเหตุ: mg = milligrams; mcg = micrograms

ที่มา: Cardwell (2007)

#### 2.4.6 กลิ่น

สารประกอบกลิ่นในเห็ดถึงแม้ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ แต่กลิ่นเหล่านี้เป็นตัวกระตุ้นความรู้สึกรักอาหารและทำให้อาหารที่มีเห็ดเป็นส่วนประกอบมีกลิ่นเฉพาะตัว มีการศึกษาสารประกอบกลิ่นในเห็ดหลายชนิดพบว่า สารประกอบที่ให้กลิ่นในเห็ดมีอยู่ประมาณ 150 ชนิด (Cho *et al.*, 2006) ซึ่งสารประกอบกลิ่นในเห็ดแต่ละชนิดมีองค์ประกอบและชนิดของสารที่ต่างกัน แต่สารหอมระเหย (volatiles) หลักที่พบมากในเห็ดคือ สารประกอบ aliphatic ที่มีคาร์บอน 8 อะตอม เช่น 1-octen-3-ol, 3-octanone, 1-octen-3-one และ octanoic acid เป็นต้น (Cho *et al.*, 2006) โดยเฉพาะ 1-octen-3-ol เรียกว่า “mushroom alcohol” มีลักษณะกลิ่นคล้ายกลิ่นเห็ดหรือเห็ดดิบ และเป็นสารหลักที่พบมากในเห็ดกินได้หลายชนิด ซึ่งรูปแบบของสารประกอบกลิ่นในเห็ดนั้นขึ้นกับ สายพันธุ์ ชนิด เกรด อายุ ของเห็ด และสภาพแวดล้อมในการปลูก นอกจากนี้การให้ความร้อนในรูปแบบต่างๆ มีผลต่อสารประกอบกลิ่นเช่นกัน (Rapior *et al.*, 1997; Picardi and Issenberg, 1973; Cho *et al.*, 2006)

งานวิจัยเกี่ยวกับเห็ดนั้นมียุ่่มากมาย เช่น สรรพคุณทางยาของเห็ด การศึกษากลิ่นในเห็ด การนำเห็ดมาเป็นส่วนประกอบในอาหารต่างๆ มากมาย มีรายงานวิจัยพบ สารเลนติแนน (lentinan) ใน

เห็ดหอมซึ่งเป็นสารประเภทพอลิแซคคาไรด์ที่มีฤทธิ์กระตุ้นเซลล์เม็ดเลือดขาวและสามารถจับแอนติเจน ซึ่งช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกัน (เย็นจิตร, 2547) สารพอลิแซคคาไรด์ในเห็ดหลินจือ (Tseng *et al.*, 2008) สารประกอบ phenolic ในเห็ดหอมและเห็ดฟาง (Cheung *et al.*, 2003) มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารเบต้ากลูแคนในเห็ดนางรมและเห็ดหอม มีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นเซลล์ macrophage ให้อยู่ในสภาวะตื่นตัวเพื่อทำหน้าที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Manzi and Pizzoferrato, 2000) หรือการเติม sunflower oil hydrolysate ลงในเห็ดกระดุม (*Agaricus bisporus*) แห่งและนำมาทำเป็นผง (Liu *et al.*, 2004) ซึ่งให้กลิ่นรสที่สำคัญคือ 1-octen-3-ol (Tressl *et al.*, 1982) ประโยชน์และการแปรรูปเห็ดมีหลายรูปแบบ เช่น การทำเห็ดหยอง เห็ดผง หรือซूपเห็ด นอกจากนี้ยังมีการทำสารปรุงแต่งกลิ่นรสจากการย่อยสลายโปรตีนจากพืช เนื่องจากเห็ดมีโปรตีนสูง ซึ่งเรียกว่า Hydrolysed Vegetable Protein (HVP) ซึ่งได้ทั้งประโยชน์จากกรดอะมิโนและกลิ่นรสที่ต้องการ

## 2.5 Hydrolysate Vegetable Protein (HVP)

HVP ผลิตได้จากการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้กรดซึ่งโปรตีนส่วนใหญ่จะเป็นโปรตีนที่ได้จากพืชลักษณะกลิ่นรสของ HVP ที่ได้ ขึ้นกับความเข้มข้นของส่วนผสมที่ใช้ substrate (แหล่งของโปรตีน) และกระบวนการ โดย HVP ถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมหลักในการผลิต meat-like flavors อย่างแพร่หลาย สารให้กลิ่นรสนี้ไม่เพียงแต่ให้ aroma notes แต่ยังช่วยเน้นรสชาติด้วย

### 2.5.1 ประเภทและความสำคัญของ HVP

Hydrolysate Vegetable Protein (HVP) หรือ Hydrolysate Plant Protein (HPP) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน เปปไทด์และสารประกอบอื่นๆ เช่น เกลือ HVP ได้จากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากโปรตีนของพืช โดยใช้กรดในการไฮโดรไลซ์หรือบางครั้งอาจใช้เอนไซม์ ซึ่งเป็นการเปลี่ยนโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนอิสระ ทำให้ HVP มีคุณสมบัติในการปรับปรุงและเสริมกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์ เนื่องจากองค์ประกอบทางเคมีของ HVP คล้ายคลึงกับสารประกอบที่เกิดขึ้นในระหว่างการหุงต้มเนื้อ การใช้ HVP เป็นสารปรุงแต่งอาหารเริ่มต้นครั้งแรกในทวีปเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น จีนและอินโดนีเซียซึ่งใช้วิธีการหมักเพื่อรักษาและปรับปรุงคุณภาพอาหารโปรตีน (Olsman, 1979) HVP เริ่มได้รับความสนใจอย่างมากหลังจากการค้นพบว่า โมโนโซเดียมกลูตาเมต หรือ MSG เป็นองค์ประกอบหลักที่ให้กลิ่นรสใน HVP (Nagodawitthana, 1994) วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการผลิต HVP มักเป็นแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูก เช่น ถั่วเหลือง ถั่วเขียวและธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าว ทานตะวัน เป็นต้น

**2.5.1.1 Enhancer hydrolysate HVP** ประเภทนี้ใช้ในอาหารเพื่อเพิ่มกลิ่นรสของอาหารที่มีอยู่ให้มากขึ้น วัตถุประสงค์ที่ใช้ผลิต HVP ประเภทนี้ได้แก่ กลูเตนของข้าวสาลี เนื่องจากกลูเตนของข้าวสาลีมีกรดอะมิโนกลูตามิก (glutamic acid) อยู่สูง และในกระบวนการผลิตนั้นมีขั้นตอนการทำให้บริสุทธิ์ เพื่อฟอกสี กำจัดกลิ่นที่ไม่ต้องการ และกำจัดเพปไทด์ที่ทำให้รสขมออกไป HVP ที่ได้จึงมีสีอ่อน และนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ปรุงแต่งกลิ่นรส เช่น รสเนื้อไก่ ซุปซอส และน้ำเกรวี่ (gravy)

**2.5.1.2 Full-bodied hydrolysate HVP** ประเภทนี้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อให้มีกลิ่นรสของ HVP ตามที่ต้องการ ซึ่งอาจแบ่ง HVP ประเภทนี้ออกเป็น 2 ชนิด ดังนี้

- **sweet / meal type HVP** ชนิดนี้มีสีน้ำตาลอ่อนถึงสีน้ำตาลเข้มนิยมใช้ในอาหารที่ต้องการให้มีกลิ่นรสของเนื้อสัตว์ซึ่ง วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการผลิต HVP ชนิดนี้ คือ เมล็ดข้าวโพด นิยมใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์อาหารพวกซุปร้อน brown gravy snacks และอาหารสำเร็จรูป (instant meals)

- **bitter / roasted type HVP** ชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้มมีกลิ่นรสเหมือนเนื้อย่างและน้ำตาลไหม้ซึ่งวัตถุประสงค์ที่ใช้ในการผลิต HVP ชนิดนี้ คือ แป้งถั่วเหลือง หรือพวกธัญชาติที่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตอยู่สูง นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารพวกซุปร้อน

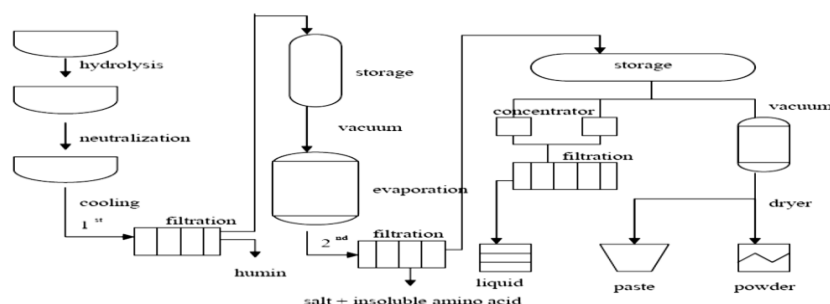
**2.5.1.3 sophisticated hydrolysate HVP** ประเภทนี้มีการปรุงแต่งกลิ่นรส โดยเสริมหรือให้กลิ่นรสประเภทอื่นด้วยเพื่อให้มีกลิ่นรสตามชนิดของผลิตภัณฑ์อาหารตามที่ต้องการ จึงทำให้มีราคาแพงกว่า HVP ประเภทอื่น อาจแบ่ง HVP ประเภทนี้เป็น 2 ชนิด คือ

- **fortified type HVP** ชนิดนี้ปรุงแต่งด้วยผงชูรส (monosodium glutamate, MSG), ribotides, caramel หรือ autolyzed yeast extract (AYE) ซึ่ง HVP ชนิดนี้มีสีน้ำตาลเข้ม กลิ่นคล้ายเนื้อสัตว์ คุณภาพดี นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ อาหารแช่แข็งและอาหารที่ต้องผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิสูง

- **processed type HVP** ชนิดนี้ปรุงแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugars) ไทอะมีนและกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์ (sulfur amino acid) เป็นองค์ประกอบเพื่อให้ HVP มีกลิ่นรสเฉพาะตามต้องการนิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารพวก meat analogs, extruded snacks และ reformed meatsในการใช้ HVP เพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึง คือ ปริมาณ HVP ที่ใช้ด้วย ซึ่งปกติแล้วปริมาณ HVP โดยเฉลี่ยที่ใสในอาหารอยู่ในช่วงร้อยละ 0.2-2.0 โดยน้ำหนัก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับ ชนิดของอาหาร เช่น ซุปมะเขือเทศ หรือซุปร้อน ใช้ HVP ร้อยละ 0.2-1.0 โดยน้ำหนัก ซึ่งเป็นปริมาณที่ผู้บริโภคไม่ได้กลิ่นรสของ HVP แต่ HVP สามารถช่วยเสริมกลิ่นรสของมะเขือเทศ และผักต่างๆ ในผลิตภัณฑ์ปลาใช้ HVP ร้อยละ 0.3-0.5 โดยน้ำหนัก ขณะที่ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกใช้ HVP ร้อยละ 1.0-2.0 โดยน้ำหนัก

## 2.6 การผลิต Hydrolysate Vegetable Protein

การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจัดเป็นการย่อยสลายโปรตีนเพื่อเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ให้แก่ วัตถุประสงค์ทางการเกษตร หรือของเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารต่าง ๆ ได้ การย่อยสลายโปรตีนนั้นปฏิบัติกันมาเป็นเวลานานแล้ว เข้าใจกันว่าเกิดขึ้นครั้งแรกในประเทศจีน ต่อมาได้นำมาผลิตในประเทศญี่ปุ่นและประเทศอื่น ๆ (Yong and Wood, 1974)



ภาพที่ 2.4 กระบวนการผลิต HVP ในระดับอุตสาหกรรม (Manley and Fageron, 1971)

กระบวนการผลิต HVP ในระดับโรงงานอุตสาหกรรม ดังภาพที่ 2.4 นำโปรตีนจากพืชมาทำปฏิกิริยาย่อยสลายด้วยกรดที่อุณหภูมิสูงภายใต้ความดันปกติหรือความดันสูง หลังจากปฏิกิริยาเสร็จสิ้นจึงนำ HVP ที่ได้ไปทำให้เย็น แล้วจึงเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 5.5-6.2 แล้วจึงนำไปกรองเพื่อกำจัดสารฮิวมิน (humin) ซึ่งเป็นโพลีเมอร์ของกรดอะมิโนและคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นในระหว่างการย่อยสลายและขั้นตอนการปรับพีเอช ขั้นตอนต่อไปนำ HVP มาทำให้เข้มข้นมากขึ้น แล้วนำไปกรองอีกครั้งหนึ่ง นำส่วนใสของ HVP ที่ได้ไปรวมกับสารให้กลิ่นรสอื่นๆ แล้วจึงผ่านขั้นตอนทำให้แห้ง (Manley and Fagerson, 1971)

## 2.7 ชนิดของการไฮโดรไลซ์โปรตีน

โปรตีนไฮโดรไลเซทเริ่มทำการค้าในปี ค.ศ. 1990 ที่ประเทศจีนและญี่ปุ่น เพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในอาหาร ซึ่งกลิ่นรสที่ได้ขึ้นกับชนิดของวัตถุดิบและองค์ประกอบของกรดอะมิโน วิธีการผลิตโดยทั่วไป มี 2 วิธี ได้แก่ การย่อยสลายด้วยสารเคมี (กรดหรือด่าง) และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (สุปราณี, 2539)

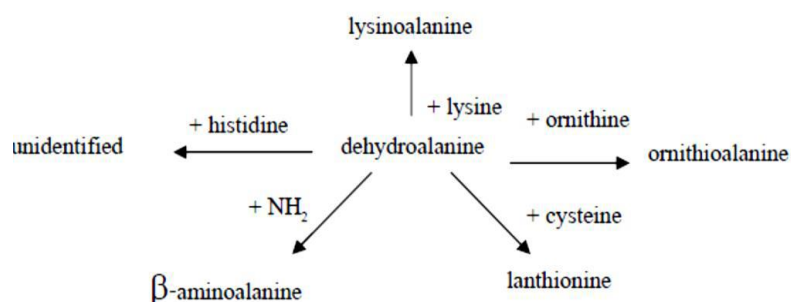
### 2.7.1 การย่อยสลายด้วยสารเคมี

**2.7.1.1 การย่อยสลายด้วยกรด** นำโปรตีนจากพืชผสมกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 นอร์มัล ไฮโดรไลซ์ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 9-12 ชั่วโมง ซึ่งเวลาที่ใช้นั้นขึ้นกับชนิดของโปรตีน ใช้ภาวะภายใต้ความดันปกติหรือความดันสูงก็ได้ หรืออาจใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 6-7 โมลาร์ ในการย่อยสลายโปรตีนที่อุณหภูมิ 100-125°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งในขั้นตอนนี้โปรตีนถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดอะมิโนและกำจัดส่วนของฮิวมิน ซึ่งเป็นส่วนผสมของไทโรซีน และทรีโตนเฟนออกไป และทำให้เป็นกลางโดยใช้ด่าง เช่น โซเดียมคาร์บอเนต หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อให้กรดที่เหลือกลายเป็นเกลือและน้ำ จากนั้นนำไปทำให้แห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย นอกจากนี้ยังสามารถใช้กรดซัลฟูริกเข้มข้น 6-7 โมลาร์ ในการย่อยสลายโปรตีนที่อุณหภูมิ 100-125 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง (Peterson, 1974) ซึ่งการย่อยสลายด้วยสารละลายกรดนั้น พันธะเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโนแอสปาร์ติกอยู่ทางด้านปลายสายจะถูกย่อยสลายได้เร็วกว่าพันธะเปปไทด์อื่นๆประมาณ 100 เท่า (Hudson, 1992) วิธีการนี้ทำให้กรดอะมิโนทรีโตนเฟน ซีรีน ทรีโอนีน กรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซิสทีอีนและกรดอะมิโนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลถูกทำลาย และยังทำให้กรดอะมิโนแอสปาร์จีนและกลูตามีนถูกย่อยสลายเป็นกรดอะมิโนแอสปาร์ติกและกลูตามิก (Peterson and Johnson, 1978) กรดที่นิยมใช้ในการไฮโดรไลซ์โปรตีน คือ กรดซัลฟูริกและกรดไฮโดรคลอริก ส่วนกรดอื่นๆเช่น กรดฟอสฟอริก อะซิติก แลคติกและกลูโคนิกไม่เหมาะสมเนื่องจากเป็นกรดอ่อน จึงไม่สามารถที่จะย่อยโมเลกุลของโปรตีนได้ เมื่อย่อยโปรตีนด้วยกรดซัลฟูริก ทำให้ไอออนซัลเฟต ( $SO_4^{2-}$ ) ถูกแยกออกโดยการเติมแคลเซียมออกไซด์ (CaO) หรือแบเรียมไฮดรอกไซด์ ( $Ba(OH)_2$ ) ทำปฏิกิริยาได้ตะกอนของแคลเซียมซัลเฟต ( $CaSO_4$ ) หรือแบเรียมซัลเฟต ( $BaSO_4$ ) ซึ่งตะกอนดังกล่าวสามารถดูดซับกรดอะมิโนหรือสารประกอบอื่นๆที่ได้จากการย่อยโปรตีน ดังนั้นจึงนิยมใช้กรดไฮโดรคลอริกมากกว่ากรดซัลฟูริกสารอาหารที่ถูกย่อยโดยกรด คือ แป้งและโปรตีน แป้งถูกย่อยได้เป็นน้ำตาล ส่วนโปรตีนถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน ซึ่งกรดอะมิโนที่ได้คือ กรดกลูตามิก วิธีนี้เป็นวิธีที่ต้นทุนต่ำกว่าและลดระยะเวลาเนื่องจากใช้เวลาในการผลิตประมาณ 24 ชั่วโมง แต่ทำให้เกิดสาร 3-monochloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) เนื่องจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยกรด ที่

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันที่เหมาะสม ทำให้กรดไฮโดรคลอริกทำปฏิกิริยากับกรดไขมันที่อยู่ในวัตถุดิบ ส่งผลให้เกิดการสร้างสารพิษในกลุ่ม chloropropanol ซึ่งสารในกลุ่มนี้ที่พบบนจาก 3-MCPD แล้วยังพบ 1, 3-dichloropropan-2-ol (1,3-DCP) ส่วนใหญ่ การปนเปื้อนสารทั้ง 2 ชนิดนี้ ใน acid Hydrolyzed vegetable Protein (aHVP) ซอสปรุงรส ในการย่อยสลายด้วยกรด เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นปริมาณของอะมิโนไนโตรเจนมากขึ้น แสดงว่าอัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นด้วยแต่การย่อยโปรตีนด้วยกรดภายใต้สภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และระยะเวลาานานทำให้กรดอะมิโนที่เกิดขึ้นเกิดการเปลี่ยนแปลง ได้แก่ กรดอะมิโนบางตัวเกิดการ racemization ทำให้คุณสมบัติทางฟิสิกส์แตกต่างไปจากเดิม กรดอะมิโนบางตัวทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่มี hydroxyl group ของ ซิรีน ทรีโอนีน ไทโรซีน และน้ำตาล เป็นต้น กรดอะมิโนบางตัวอาจเกิดการสลายตัวให้ ก๊าซแอมโมเนีย(deamination) เช่น แอสพาราจีน และกลูตามีน เป็นต้น ส่วนทริปโตเฟนเป็นกรดอะมิโนที่ถูกทำลายมากที่สุดในช่วงการย่อยโปรตีนด้วยกรด ส่วนซิรีน ทรีโอนีน และไทโรซีนถูกทำลายเพียงบางส่วน นอกจากนี้กรดอะมิโนยังทำปฏิกิริยากับสารประกอบที่ได้จากการสลายตัวของคาร์โบไฮเดรต เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล (อูบลัตติน, 2535) ได้ศึกษาการผลิต HVP จากโปรตีนถั่วเขียวโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งรสอาหาร พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยสลายโปรตีนถั่วเขียวด้วยกรดไฮโดรคลอริก คืออัตราส่วนโปรตีนถั่วเขียวต่อกรดไฮโดรคลอริก 1:3 โดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นเพิ่มความเข้มข้นของ HVP ด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ความเร็วรอบ 240 รอบต่อนาที ความดันที่สภาวะสูญญากาศที่ 26 นิ้วปรอท ซึ่งพบว่าที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสใช้เวลาในการเพิ่มความเข้มข้นน้อยที่สุด จากนั้นทำให้เป็นผงด้วยเครื่องพ่นฝอย ใช้ลมร้อน 180 องศาเซลเซียส ความดัน 30 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยเติม HVP ลงในน้ำซุ๊ป พบว่าที่ปริมาณ HVP ไม่เกินร้อยละ 1.5 น้ำซุ๊ปไม่แตกต่างจากน้ำซุ๊ปที่ไม่ได้เติม HVP (Lee et al., 2001) พบว่า ลักษณะของ HVP ที่ผลิตได้จากการใช้กรดไฮโดรคลอริกทำปฏิกิริยากับแหล่งโปรตีน หรือวิธีการใช้เอนไซม์ ทำให้ HVP มีความหนืดสูง ซึ่งยากต่อการกรองเอา humin ออกไป ดังนั้นจึงศึกษาการผลิต HVP โดยการใช้กรดที่มีความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 0.1-1.0 นอร์มัล ไฮโดรไลซ์กากถั่วเหลืองสกัดน้ำมัน ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-95 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำของผสมจากขั้นตอนนี้มาไฮโดรไลซ์ต่อด้วยเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 50-95 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการไฮโดรไลซ์แบบ mild-condition เพื่อแก้ไขปัญหาด้านความหนืด พบว่า ที่ระดับความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก 0.2 นอร์มัล สามารถลดการเกิดความหนืดใน HVP ได้

**2.7.1.2 การย่อยสลายด้วยต่าง** กระบวนการย่อยด้วยต่างเป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดการแตกตัวของโมเลกุลโปรตีน โดยการเติมโมเลกุลของน้ำเข้าไปแทรกในระหว่างพันธะของสาย building block ที่ถูกตัด (Kaye et al., 2004) การย่อยสลายโปรตีนด้วยต่างเข้มข้น เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ แบเรียมไฮดรอกไซด์หรือแคลเซียมไฮดรอกไซด์การใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.0 โมลาร์ ซึ่งให้อัตราการย่อยสลายดีและเร็วกว่าแบเรียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.2 โมลาร์ (วารยา, 2539) แม้ว่าทริปโตเฟนสลายตัวน้อย แต่มีโอกาสที่กรดอะมิโนบางชนิดเกิดปฏิกิริยา racemization ซึ่งเป็นการเปลี่ยนจาก L-form ไปเป็น D-form ที่ร่างกายไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ การย่อยสลายด้วยสารละลายต่างสภาวะรุนแรง ทำให้เกิดปฏิกิริยาเบต้า-อีลิมีเนชัน ( $\beta$ -elimination) ของกรดอะมิโนเซอรีนและซี สตีน เป็นผลให้เกิดสารประกอบดีไฮโดรอะ

ลานีน(dehydroalanine) ซึ่งสารนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนชนิดอื่นๆ ได้ เช่น ฮิสติดีน และไลซีน เป็นต้นทำให้เกิดสารประกอบหลายชนิด เช่น แลนทีโอนีน (lanthionine) ไลซิโนอะลานีน (lysinoalanine) ดังภาพที่ 2.5 ทำให้เกิดกลิ่นรสไม่ดี เกิดการสูญเสียสารอาหารที่สำคัญและเกิดสารพิษขึ้น (Howell, 1996) การย่อยสลายด้วยด่างนี้จึงไม่เป็นที่นิยม (Hill, 1965) แต่ข้อดีการย่อยสลายวัตถุดิบด้วยด่างคือ กรดอะมิโนชนิดทริปโทเฟนจะไม่ถูกทำลาย แต่มีข้อเสีย คือ สูญเสียกลิ่นรสอาหารไปบางส่วน



ภาพที่ 2.5 ปฏิกิริยาเคมีที่อาจเกิดขึ้นจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยสารละลายต่าง (Kristinsson and Rasco, 2000)

**2.7.1.3 การย่อยสลายด้วยเอนไซม์** จากการใช้สารเคมี (กรด และด่าง) ในการย่อยสลายเพื่อผลิต HVP ทำให้เกิดสารที่เป็นอันตรายต่อร่างกายและมีผลต่อผลิตภัณฑ์ จึงมีการคิดค้นการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายเพื่อผลิต HVP ขึ้น โดยใช้เอนไซม์โปรตีเอส ซึ่งในปัจจุบันการย่อยสลายโปรตีนโดยใช้เอนไซม์โปรตีเอสจากแหล่งต่างๆ กำลังได้รับความสนใจมาก เนื่องจากการใช้เอนไซม์โปรตีเอสในการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเปปไทด์ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ คือ เปปไทด์ที่มีขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระในปริมาณสูง และเป็นการย่อยภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง รวมทั้งสามารถควบคุมระดับการย่อย และควบคุมการกระจายตัวของขนาดผลิตภัณฑ์ได้ดี และการย่อยด้วยเอนไซม์ยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (วาริท และพูนสุข, 2545) ที่สำคัญเอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น ค่าพีเอช และความคงทนต่อความร้อนของสภาวะที่ใช้ผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซท จึงสามารถเลือกใช้ชนิดของเอนไซม์และสภาวะการย่อยสลายได้ตามความเหมาะสม เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทที่มีคุณภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ตามต้องการ ซึ่งระดับการย่อยสลายและชนิดของเอนไซม์มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นการควบคุมการย่อยและการเลือกเอนไซม์ที่เหมาะสมในแต่ละผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งจำเป็น (ปราณี, 2543) ซึ่งในการใช้เอนไซม์มีผลกระทบต่อโครงสร้างทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้อยกว่าการย่อยด้วยสารเคมี โดยการย่อยด้วยสารเคมีมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปของกรดอะมิโนจาก L-form เป็น D-form ซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ จึงเป็นสาเหตุให้คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนลดลง (Hall and Ahmad, 1992) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากการย่อยสลายด้วยสารเคมีและเอนไซม์โปรตีเอสพบว่า การย่อยสลายด้วยเอนไซม์นั้นสามารถกำหนดขอบเขตการย่อยสลายและขนาดของเปปไทด์ที่เกิดขึ้นได้ ในขณะที่การย่อยสลายด้วยสารเคมีนั้นไม่สามารถกำหนดการทำลายของพันธะและขนาดของเปปไทด์ (Adler-Nissen, 1986)

## 2.8 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์

**2.8.1 แหล่งโปรตีน** แหล่งโปรตีนที่สำคัญได้แก่ กลุ่มเตนจากธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด ข้าวสาลี แป้งถั่วต่างๆ กา กะหล่ำปลีและเมล็ดทานตะวันสกัดน้ำมัน เป็นต้น นอกจากนี้เห็ดซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่ค่อนข้างสูง และมีกรดอะมิโน ที่จำเป็นต่อร่างกาย สามารถนำมาทำ HVP ได้ด้วย โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเลือกชนิดของโปรตีน คือ ราคา องค์ประกอบทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพและการยอมรับของผู้บริโภค (Olsman, 1979) แหล่งของโปรตีนต่างชนิดกันให้ HVP ที่มีคุณสมบัติในการให้กลิ่นรสหรือเสริมกลิ่นรสของอาหารแตกต่างกันด้วย

**2.8.2 ปริมาณไขมันและคาร์โบไฮเดรต** ในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์ ปริมาณไขมันในวัตถุดิบควรมีในปริมาณต่ำ เนื่องจากไขมันไปขัดขวาง การไฮโดรไลซ์โปรตีนโดยไขมันจะเกิด cross link กับโมเลกุลของโปรตีน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างไขมันและโปรตีน (lipo-protein complex) ซึ่งโครงสร้างดังกล่าว เป็นตัวต้านทานต่อการไฮโดรไลซ์โปรตีนของเอนไซม์ นอกจากนี้ไขมันยังเกิด sponification ในขั้นตอนการปรับ pH ของสับเสตรด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ก่อนการไฮโดรไลซ์ เนื่องจากเกิดเกลือโซเดียมของกรดไขมันทำให้ต้องใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ในการปรับ pH มากกว่าที่ควร และเกิดกลิ่นแปลกปลอมขึ้นในผลิตภัณฑ์ (อุบลรัตน์, 2535) นอกจากนี้ไขมันยังเกิดปฏิกิริยา oxidation ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นหืนได้คาร์โบไฮเดรตสามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยโปรตีน เนื่องจากปฏิกิริยา Maillard และ Strecker degradation ได้สารระเหยที่ให้กลิ่นใน HVP (Manley and Fagerson, 1970) แต่ถ้าปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากเกินไปทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทมีปริมาณต่ำลง และผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่นที่ไม่ดีและมีสีเข้ม (วันชัย, 2524)

**2.8.3 เวลา** เมื่อระยะเวลาในการย่อยสลายเพิ่มขึ้น ปริมาณของอะมิโนไนโตรเจนที่ถูกย่อยสลายเพิ่มขึ้นด้วย นั่นคือ โปรตีนจะถูกย่อยสลายมากขึ้น (Greenberg, 1927) ได้เป็นกรดอะมิโนและไดเปปไทด์ โดยไดเปปไทด์บางชนิดมีความคงตัว จึงไม่ถูกย่อยสลายต่อไป ซึ่งกรดอะมิโนและไดเปปไทด์เหล่านี้เป็นองค์ประกอบสำคัญต่อการให้กลิ่นรสของโปรตีนไฮโดรไลเซท ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทมีกลิ่นรสที่ดี ทั้งนี้ถ้าวัตถุดิบมีปริมาณของโปรตีนสูง ระยะเวลาที่ใช้ย่อยสลายควรนานขึ้น เนื่องจากระยะเวลาในการย่อยสลายนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบที่ใช้ย่อยสลาย (Manley and Fagerson, 1971)

**2.8.4 อุณหภูมิ** สำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทด้วยเอนไซม์นั้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จะช่วยเพิ่มพลังงานจลน์ให้กับระบบ ทำให้สารที่ถูกกระตุ้นมีพลังงานสูง ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่การเพิ่มอุณหภูมินั้นมีขีดจำกัด กล่าวคือ ถ้าอุณหภูมิสูงมาก ส่งผลให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพธรรมชาติทำให้โครงสร้างสามมิติเกิดการหักงอ และหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ในที่สุด (พัชรา, 2543)

**2.8.5 ปริมาณของเอนไซม์** ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เพิ่มสูงขึ้น ทำให้มีโอกาสที่เอนไซม์จะจับกับโมเลกุลของโปรตีนมากขึ้นเป็นผลให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นจนกระทั่งปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เพียงพอกับปริมาณโปรตีนที่มีอยู่ ค่าระดับการย่อยสลายจะคงที่ แม้เพิ่มปริมาณเอนไซม์มากขึ้นอีกก็ไม่ทำให้ค่าระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้น

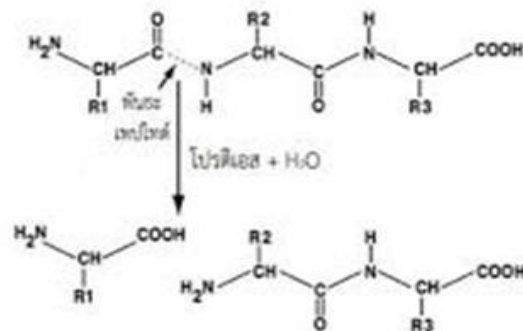
**2.8.6 พีเอช (pH)** พีเอชมีผลต่อค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนไฮโดรไลเซท เนื่องจากเอนไซม์จัดเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งดังนั้นเมื่อค่า pH สูงหรือต่ำเกินไป ทำให้โครงสร้างของเอนไซม์ถูกทำลายและสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ได้โดยเอนไซม์แต่ละชนิดมีค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงานแตกต่างกัน (Eskin and Henderson, 1971)

## 2.9 เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิต hydrolysate vegetable protein (HVP)

เอนไซม์ที่นิยมใช้ในการผลิต HVP โดยเอนไซม์ที่นำมาไฮโดรไลซ์โปรตีนนั้นมีหลายชนิด ทั้งเอนโดเปปติเดส (endopeptidase) และเอกโซเปปติเดส (exopeptidase) และเอนไซม์ทางการค้าที่นิยมใช้ได้แก่ Flavourzyme®, Alcalase® และ Neutrase® (Novozyme, 2002) เอนไซม์ทางการค้าส่วนใหญ่มีราคาแพงและต้องนำเข้ามาจากต่างประเทศ ยังมีเอนไซม์อื่นที่สามารถนำมาใช้ทดแทนเอนไซม์ทางการค้าดังกล่าวและสามารถผลิตได้ในประเทศเพื่อเป็นการลดต้นทุนการผลิตคือเอนไซม์โบรมิเลนซึ่งผลิตได้จากสับปะรด เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในกลุ่มของซิสเตอีนโปรตีนเนส (cysteine proteinase)

### 2.9.1 เอนไซม์โปรติเอส

เอนไซม์โปรติเอส (Protease enzyme) เป็นเอนไซม์ที่สิ่งมีชีวิตผลิตขึ้นมา เพื่อทำหน้าที่ในการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic enzyme) ให้ได้เปปไทด์สายสั้นๆหรือเป็นกรดอะมิโนอิสระโดยการสลายพันธะเปปไทด์ในสภาวะที่มีน้ำอยู่ในสารละลาย ซึ่งมีความจำเพาะต่อพันธะเปปไทด์เป็นอย่างมากโดยปกติเอนไซม์โปรติเอสเมื่อสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่จะอยู่ในรูปที่ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ (inactive form) ซึ่งเรียกว่า proenzyme หรือ zymogen เพื่อป้องกันการย่อยสลายโปรตีนภายในเซลล์และจะอยู่ในรูปแบบที่เร่งปฏิกิริยาได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสม (ธรรมรัตน์, 2544) เอนไซม์โปรติเอสเร่งการตัดพันธะเปปไทด์ในโปรตีนด้วยกระบวนการไฮโดรไลซิส (hydrolysis) หรือที่เรียกว่าการแยกสลายด้วยน้ำทำให้สายพอลิเปปไทด์ถูกตัดเป็นเปปไทด์ที่มีขนาดสั้นลงและเกิดเป็นกรดอะมิโนอิสระ ผลิตภัณฑ์จากการแยกสลายโปรตีนนิยม เรียกว่า โปรตีนไฮโดรไลเซต การแยกสลายโปรตีนด้วยวิธีนี้มีข้อดีคือ เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้นสูง ดังนั้นจึงไม่ต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมากและมีสภาวะในการย่อยที่ไม่รุนแรงการใช้เอนไซม์ยังมีระดับการย่อยของโปรตีนค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กรดหรือด่าง (Kristinsson and Rosco, 2000)



ภาพที่ 2.7 การสลายโปรตีนโดยเอนไซม์โปรติเอส (ดัดแปลงจาก Terrence and Osna, 2003)

**2.10 ประโยชน์การใช้ของโปรตีนไฮโดรไลเซท** โปรตีนไฮโดรไลเซท สามารถนำมาประยุกต์ใช้ได้หลายรูปแบบ ได้แก่

**2.10.1 สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร** HVP ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีสมบัติเสริมหรือปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารได้ดี และราคาถูก นอกจากนี้ HVP มีกลิ่นที่ดีจากปฏิกิริยา Maillard ซึ่งเกิดระหว่างการย่อยสลายโปรตีนแล้ว ยังมีสาร MSG จากกรดกลูตามิกที่มีในโปรตีน และเกลือโซเดียมคลอไรด์ ซึ่งช่วยให้มีรสชาติที่ดีแก่ HVP ด้วย HVP เป็นส่วนประกอบสำคัญในการผลิตสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหารที่มีกลิ่นรสเฉพาะ เช่นกลิ่นเบคอน โดยผสม cysteine hydrochloride, arabinose, glycine hydrochloride และ dextrose ปริมาณ 13.0, 8.0, 6.7 และ 10.8 กรัม ตามลำดับ เติมน้ำ 60 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7.0 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หลังทำให้เย็น ปรับ pH ให้เป็น 6.0 เติมน้ำตาล sucrose, HVP (ความเข้มข้นร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก) และ MSG ปริมาณ 166, 550 และ 530 กรัม ตามลำดับ ให้ความร้อนของผสมที่ 70 องศาเซลเซียส 4 ชั่วโมง เติมน้ำมันไก่ 1.5 กรัม และ hickory-smoke flavor 10 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส 15 นาที ได้สารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร กลิ่นเบคอน

**2.10.2 อาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ** Sugimoto et al. (1971) ผลิตเครื่องดื่มที่มีกลิ่นและรสคล้ายน้ำมะนาว โดยนำโปรตีนไอโซเลท จากถั่วเหลืองที่เป็นกลางในรูปโซเดียม มีชื่อทางการค้าว่า “Promine D” มาผ่านการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ acid protease ที่เตรียมจาก *Trametes sanguinea* Conrad (1983) ใช้เอนไซม์หลายชนิด เพื่อย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนในการทำผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จากการย่อยสลายพวกธัญพืชทั้งเมล็ด ได้แก่ ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ตและข้าวเจ้า เอนไซม์ที่ใช้ เช่น Neutrase®, HT Proteolytic, BANL 120 (เป็นพวก amylase เป็นต้น) หลักการคือ ใช้ proteolytic enzyme ย่อยสลายโปรตีนที่ไม่ละลายให้ละลายได้ในน้ำต่อไปใช้เอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตให้ได้แบ่งที่ละลายน้ำได้เป็น mono และ disacchases แยกส่วนสารละลายออกมาทำแห้ง กึ่งแห้ง หรือทำให้เป็นของเหลวเข้มข้น นอกจากนี้ยังได้ส่วนที่เป็นราข้าวออกมาด้วย ผลิตภัณฑ์ที่ได้ใช้เป็นสารให้ความหวานเพื่อเติมในขนมปัง เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์อาหารเช้า (breakfast cereal product) ส่วนที่เป็นรำข้าวใช้เติมในอาหารเพื่อสุขภาพสำหรับการทำงานของลำไส้ให้เป็นปกติ

**2.10.3 สารเชิงหน้าที่ (functional)** โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้สามารถนำมาใช้เป็น function food ในอุตสาหกรรมอาหารได้หลายอย่าง เช่น สารอิมัลซิไฟเออร์ ใช้ผสมร่วมกับสารกันหืน เช่น butyl hydroxyl-anisole (BHA) และ butyl hydroxyl-toluene (BHT) เพื่อลดปริมาณของสารกันหืนที่ใช้ โดยประสิทธิภาพของการป้องกันการเกิดปฏิกิริยา oxidation ยังคงเดิม (อุบลรัตน์, 2535) ในปัจจุบันกระบวนการสร้างหรือเพิ่มกลิ่นรสเนื้อได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยผลิตขึ้นจากการใช้สารปรุงแต่งต่างๆ เช่น เนื้อผง เครื่องเทศ ผงชูรส (MSG), 5'-ribonucleotides รวมทั้งโปรตีนไฮโดรไลเซท (Vanden et al., 1978) ถึงแม้ว่ากลิ่นรสเนื้อที่ได้มีคุณภาพดี แต่ความต้องการใช้กลิ่นรสเนื้อยังคงมีปริมาณสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง อีกทั้งยังมีความต้องการกลิ่นรสเนื้อที่มีความจำเพาะเจาะจงมากยิ่งขึ้นด้วยเพื่อตอบสนองความต้องการจึงมีการพัฒนาสารปรุงแต่งกลิ่นรสสองชนิด ได้แก่ processed flavor และสารปรุงแต่งกลิ่นรสเนื้อสังเคราะห์

## 2.11 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

แพรวาไพลิน และคณะ (2552) โพรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดจากเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) และเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus* (Fr.) Kummer.) โดยการไฮโดรไลซ์ด้วยน้ำอุณหภูมิร้อนที่ 95 °C แปรระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต โพรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดหอมและเห็ดนางรมคือ ระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ 24 ชั่วโมง โดยมี ค่าระดับการย่อยสลายร้อยละ 50.11 และ 46.52 มีปริมาณเกลือร้อยละ 2.40 และ 1.60 ตามลำดับ โพรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเห็ดหอมมีสีน้ำตาลอ่อน มีค่า L\*, a\* และ b\* เท่ากับ 36.3, -1.5 และ +5.2 ตามลำดับ ส่วนโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเห็ดนางรมมีสีน้ำตาลอ่อน มีค่า L\*, a\* และ b\* เท่ากับ 36.2, -1.5 และ +5.0 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์สารหอมระเหยให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเห็ดทั้งสองชนิดด้วยวิธี Dynamic headspace gas chromatography-mass spectrometry (DHS GCMS) พบสารหอมระเหยที่สำคัญในโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ด 7 ชนิด คือ benzaldehyde, 2-heptenal, 1, 2, 4-trithiolane, 3-octanone, 2-undecenal, 2-dodecenal, และ pentanoic acid

พัสดราภรณ์ และคณะ (2559) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบสมบัติในการเป็น สารต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนที่ไฮโดรไลซ์จากกากทานตะวันด้วยเอนไซม์ 2 ชนิด คือ โบรมิเลน และ Flavourzyme® แปรความเข้มข้นของเอนไซม์ 3 ความเข้มข้น คือร้อยละ 5, 10 และ 15 ที่เวลาการไฮโดรไลซ์ 1, 3, 6, 12 และ 18 ชั่วโมง พบว่า ความเข้มข้นและเวลาในการ ไฮโดรไลซ์มีผลต่อร้อยละระดับการไฮโดรไลซ์ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ และเวลาในการไฮโดรไลซ์เพิ่มขึ้น ทำให้ไฮโดรไลเซทที่ย่อยสลายด้วยโบรมิเลน (Enzymatic bromelain sunflower protein hydrolysate: eb-SPHs) และ Flavourzyme® (Enzymatic flavourzyme sunflower protein hydrolysate: ef-SPHs) สูงขึ้น ถึงแม้ว่า ef-SPHs มีระดับการไฮโดรไลซ์สูงกว่า eb-SPHs แต่ eb-SPHs มีค่า surface hydrophobicity (So) และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• (1, 1 - diphenyl-2-picrylhydrazyl) และ ABTS•+ (2, 2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical scavenging) สูงกว่า ef-SPHs โดยเฉพาะ eb-SPHs ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยโบรมิเลนที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มี ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• และ ABTS•+ สูงที่สุดที่ร้อยละ 83.94 และ 89.31 ตามลำดับ นอกจากนี้ eb-SPHs มีสมบัติเชิงหน้าที่ในการเกิดฟองและอิมัลชันที่สูงกว่า ef-SPHs ขณะที่ eb-SPHs ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยโบรมิเลนเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มี ระดับการไฮโดรไลซ์เพียงร้อยละ 30.48 แต่มีค่า So สูงที่สุด เท่ากับ 1300 จัดเป็นสภาวะที่ดีที่สุดในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากกากทานตะวันที่แสดงสมบัติเชิงหน้าที่ในการเกิดฟองและอิมัลชันสูง ที่สุดอยู่ที่ร้อยละ 287.50 และ 56.17 ตามลำดับ

Panida *et al.* (2016) นำเห็ดหอมนางรม เห็ดหอมเป่าฮื้อและเห็ดหอม (OMPH, AMPH และ SHMPH ตามลำดับ) มาย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลาต่างกัน (6, 12, 18 และ 24 ชั่วโมง) เพื่อให้ได้ไฮโดรไลเซทจากเห็ด ผลการศึกษาพบว่า ระดับการย่อยสลาย (%DH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (%TSS) โซเดียมคลอไรด์ (%NaCl) ไนโตรเจน โปรตีน และปริมาณกรดอะมิโนอิสระของเห็ดย่อยสลายโปรตีนทั้งหมด (MPHs) เพิ่มขึ้น เมื่อเวลาการสกัดที่ เพิ่มขึ้น ส่วน MPHs ที่เหมาะสมในการผลิตที่ให้ % DH สูงสุดของ OMPH, AMPH และ SHMPH

(ร้อยละ 46.54, 38.15 และ 25.75) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนคือ 18, 18 และ 24 ชั่วโมง ทำให้ได้กรดอะมิโนทั้งหมด 384, 157 และ 110 mg / 100 ml ตามลำดับ จึงมีความเป็นไปได้ที่ให้นางรมเห็ดเป่าฮื้อและเห็ดหอมสามารถผลิตสารสกัดโปรตีนจากเห็ดโดยใช้กระบวนการไฮโดรไลซิสของเอนไซม์และให้ประโยชน์แก่ผู้บริโภคสำหรับการใช้งานด้านอาหารและโภชนาการ

เกวรินทร์ (ม.ป.ป.) ได้รายงานผลการศึกษาค่าผลของการเสริมเอนไซม์โปรติเอสต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนในลูกสุกรหย่านม โดยการรวบรวมและศึกษาจากเอกสารพบว่า มีการลดระดับโปรตีนในสูตรอาหารผสม โปรติเอส 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร พบว่า อาหารกลุ่มที่ลดโปรตีนผสมเอนไซม์โปรติเอส 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร มีแนวโน้มทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้เพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างกับอาหารกลุ่มควบคุม ( $P > 0.05$ ) ส่วนอาหารกลุ่มควบคุมผสมเอนไซม์โปรติเอส 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหารทำให้ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนสูงกว่าอาหารกลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการเสริมเอนไซม์โปรติเอสมีผลต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีน และควรเสริมที่ระดับ 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ทั้งนี้ควรพิจารณาปริมาณเอนไซม์ที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์ และอายุของสัตว์ร่วมด้วย

ทิพย์วาลี และศศิธร (2562) โปรตีนไฮโดรไลเซตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีนได้เปปไทด์ที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันและกรดอะมิโนอิสระกระบวนการผลิตสามารถทำได้โดยใช้สารเคมี กรด ต่าง หรือเอนไซม์โปรติเอส ในสภาวะเหมาะสม การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตสามารถผลิตได้จากแหล่งโปรตีนที่หลากหลาย หนึ่งในแหล่งโปรตีนไฮโดรไลเซตที่สำคัญ คือ โปรตีนไข่ขาวไฮโดรไลเซตซึ่งมีบทบาทสำคัญทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในแง่ของคุณค่าโภชนาการ และยังมีสมบัติเชิงหน้าที่ในรูปของการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ สารที่ทำให้เกิดโฟม และสารต้านอนุมูลอิสระ เหมาะสำหรับผู้บริโภคที่มีข้อจำกัดทางด้านอาหารหรือผู้ที่ต้องการโปรตีนในปริมาณที่สูงขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ ในบทความนี้ได้นำเสนองานวิจัยและข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับโปรตีนไข่ขาวไฮโดรไลเซตในแง่กระบวนการผลิตโปรตีนไข่ขาวไฮโดรไลเซตและการประยุกต์ใช้โปรตีนไข่ขาวไฮโดรไลเซตทางอุตสาหกรรมอาหารและทางเภสัชศาสตร์

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินการวิจัย

#### วิธีการทดลอง

##### 3.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำเห็ดนางฟ้ามาหั่นเป็นชิ้นบางๆแล้วนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (tray dryer) ที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นนำเห็ดที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด เก็บในถุงพลาสติกที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

##### 3.2 ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์ protease

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายสับเสตรของเอนไซม์ protease ในเห็ดนางฟ้าเพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า จำนวน 16 ตัวอย่าง ดังนี้

ตัวอย่างชุดที่ 1 (ชุดตัวอย่างควบคุม) โดยไม่มีการใช้เอนไซม์ protease ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

ตัวอย่างชุดที่ 2 ใช้เอนไซม์ protease 5 % ของน้ำหนักรวมของเห็ดแห้งและสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

ตัวอย่างชุดที่ 3 ใช้เอนไซม์ protease 10 % ของน้ำหนักรวมของเห็ดแห้งและสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ ทำการย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้แก่ 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

ตัวอย่างชุดที่ 4 การสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดโดยการย่อยด้วยความร้อน 95 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย ได้แก่ 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

โดยใช้เห็ดแห้งที่บดละเอียดผสมน้ำในอัตราส่วน 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตรน้ำกลั่น นำมาปรับค่า pH เป็น 9.5 ด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ จากนั้นเติมผงเอนไซม์ protease ปริมาณที่กำหนด แล้วจึงนำมาทำการย่อยสลายตามอุณหภูมิที่กำหนดใน water bath เป็นระยะเวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงหยุดปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรอง เพื่อแยกเอาส่วนที่เป็นตะกอนออกแล้วจะได้ส่วนใสที่เป็นโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

##### 3.3 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

ปริมาณผลผลิตหรือ %yield ปริมาณเกลือ ปริมาณ Total soluble solids ค่า pH ค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) ด้วยเครื่องวัดสี องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณโปรตีน

1. %yield นำตัวอย่างน้ำหนักเห็ดหลังการย่อย มาหารด้วยน้ำหนักน้ำเริ่มต้น แล้วคูณด้วย 100

2. ปริมาณเกลือ นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้มาวัดด้วยเครื่องวัดความเค็ม แล้วอ่านสเกลที่ได้ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

3. การทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solids) นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าทั้งหมดที่ได้มาทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง Pocket Refractometer โดยเซต Zero ด้วยน้ำกลั่น และหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ จำนวน 3 ซ้ำ

4. การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าทั้งหมดที่ได้มาทดสอบความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช ก่อนทำการทดสอบต้องทำการสอบเทียบเครื่องมือด้วยสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 และสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 ตามลำดับ แล้วจึงหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ

5. การวัดค่าสีในเห็ดนางฟ้า นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้ มาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี UltraScan VIS โดยนำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้ทั้งหมดใส่ควิวเวทท์พลาสติก เพื่อทดสอบ

### 3.4 วิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตามวิธีของ Folin-ciocalteu colorimetric assays ความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระ โดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

1. การสกัดสารจากเห็ดนางฟ้า นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ เติมตัวทำละลาย คือ 80% เอทานอล บีกเกอร์ละ 40 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร ตั้งบน Hot plate กวนผสมที่ความเร็วเบอร์ 5 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ลงในหลอดทดลองพลาสติก

2. การทดสอบสารประกอบฟีนอลทั้งหมด วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent (Lim et al., 2007) สารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 0.3 ml ผสมกับ Folin-Ciocalteu's phenol reagent (ที่เจือจางแล้ว 10 เท่า ด้วย distilled water) ปริมาตร 1.5 ml เติมสารละลาย 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต (NaCO<sub>3</sub>) ปริมาตร 1.2 ml เขย่าให้สารผสมกัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงของสีที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

3. การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีจาก Wu et al., 2006) โดยปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 ml เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 4 ml และผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

### 3.5 วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

สมบัติการละลาย (solubility) สมบัติการอุ้มน้ำ และความสามารถในการจับไขมัน สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ ความสามารถในการเกิดโฟม

1. การทดสอบสมบัติการละลาย ละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองก่อนปรับ PH ของระบบให้ได้ PH ที่แตกต่างกันที่ 2.0 – 12.0 โดยใช้ 1 M NaOH

จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายของระบบในแต่ละหลอดทดลองให้ได้ 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นซึ่งมีค่า PH เท่ากับ สารละลายตัวอย่างเริ่มต้น นำตัวอย่างที่ผสมแล้วไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 g เป็นเวลา 5 นาที (Phongthai et al., 2016)

**2.การทดสอบสมบัติการอุ้มน้ำและความสามารถในการจับไขมัน** วัดสมบัติการอุ้มน้ำโดยการชั่งตัวอย่าง 0.25 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และปล่อยให้ตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที (เขย่าทุก 5 นาที) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นแยกส่วนใสกับตะกอนออกจากกัน (Phongthai et al., 2016; Larrauri et al., 1996)

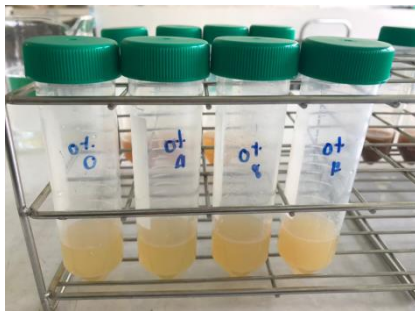
**3.การทดสอบการเกิดอิมัลชัน** เตรียมตัวอย่างความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำมันถั่วเหลือง 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 10,000 รอบ ต่อ นาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้เกิดอิมัลชัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 g เป็นเวลา 5 นาที วัดปริมาตรอิมัลชันที่เกิดขึ้น ดัดแปลงจาก Cao และคณะ (2009)

**4.การทดสอบความสามารถในการเกิดโฟม** เตรียมตัวอย่างความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร ปั่นให้เกิดโฟมด้วยโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 10,000 รอบ ต่อ นาที เป็นเวลา 1 นาที วัดปริมาตรของฟองที่เกิดขึ้น ดัดแปลงจาก Cao และคณะ (2009)

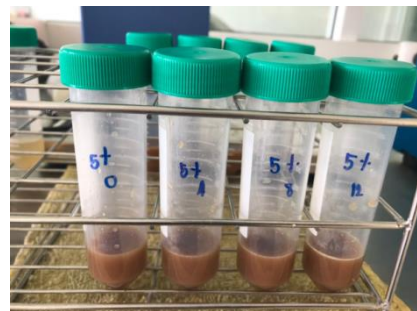
## บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

### 4.1 ผลการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอส

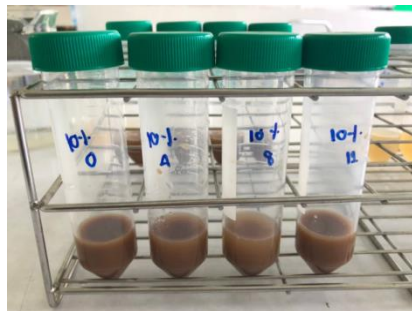
จากการนำเห็ดนางฟ้ามาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยสลายเห็ดนางฟ้าสับเสตรของเอนไซม์โปรติเอส เพื่อให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า จำนวน 16 ตัวอย่าง ดังแสดงในภาพที่ 4.1



(ก)



(ข)



(ค)



(ง)

ภาพที่ 4.1 โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

ภาพ (ก) คือชุดที่ 1 ชุดควบคุมย่อยที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง  
ภาพ (ข) คือชุดที่ 2 ใช้เอนไซม์ 5% อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง  
ภาพ (ค) คือชุดที่ 3 ใช้เอนไซม์ 10% อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง  
ภาพ (ง) คือชุดที่ 4 ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง

ผลจากการย่อยตามภาพที่ 4.1 พบว่า ตัวอย่างชุดควบคุมมีสีเหลืองอ่อน และเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์จากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 10 สีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการย่อยก็จะเข้มขึ้นตามลำดับและเมื่อนำไปให้ความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส สีของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ผ่านการย่อยนาน 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง จะมีสีเหลืองน้ำตาลเข้มมากกว่าชุดควบคุม เมื่อเวลาการย่อยนานขึ้น ส่งผลให้มีสีเข้มขึ้น

#### 4.2 ผลสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าตามภาพที่ 4.1 มาศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า ได้แก่ ปริมาณผลผลิต ปริมาณเกลือ ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด และปริมาณโปรตีน แสดงดังตารางที่ 4.1 และค่า pH และค่าสี ( $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$ ) ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า แสดงดังตารางที่ 4.2

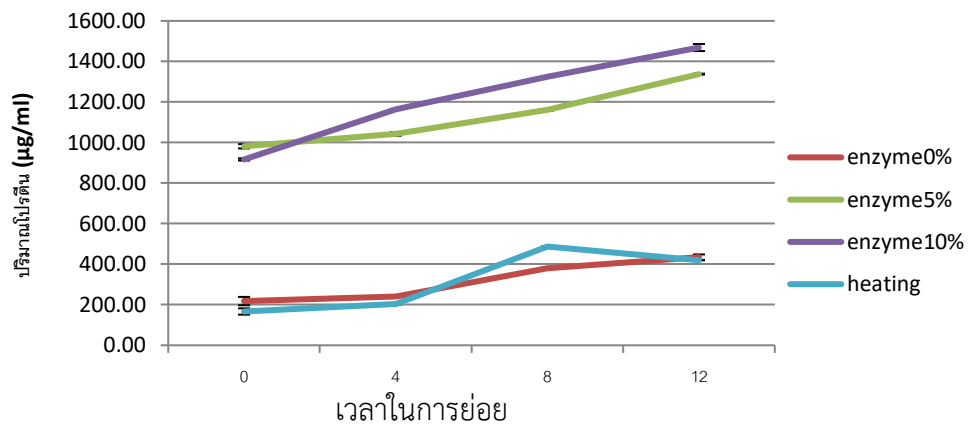
ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

| ตัวอย่าง                               | ปริมาณผลผลิต             | ปริมาณเกลือ             | ของแข็งที่ละลายใน       | ปริมาณโปรตีน               | DH                       |
|--|--------------------------|-------------------------|-------------------------|----------------------------|--------------------------|
| <b>ชุดที่ 1 Control อุณหภูมิ 50 °C</b> |                          |                         |                         |                            |                          |
| 0 hr                                   | 23.50±0.25 <sup>j</sup>  | 3.00±0.00 <sup>k</sup>  | 4.47±0.05 <sup>k</sup>  | 218.01±20.85 <sup>k</sup>  | 17.54±0.92 <sup>gh</sup> |
| 4 hr                                   | 23.68±0.00 <sup>ij</sup> | 3.00±0.00 <sup>k</sup>  | 4.50±0.00 <sup>kj</sup> | 240.16±1.18 <sup>j</sup>   | 21.37±0.34 <sup>ef</sup> |
| 8 hr                                   | 26.31±0.00 <sup>h</sup>  | 3.20±0.00 <sup>j</sup>  | 5.00±0.00 <sup>i</sup>  | 379.25±5.36 <sup>i</sup>   | 19.42±0.21 <sup>fg</sup> |
| 12 hr                                  | 27.36±0.43 <sup>h</sup>  | 3.37±0.05 <sup>i</sup>  | 5.20±0.08 <sup>h</sup>  | 434.63±13.54 <sup>h</sup>  | 15.69±0.06 <sup>h</sup>  |
| <b>ชุดที่ 2 Enzyme 5%</b>              |                          |                         |                         |                            |                          |
| 0 hr                                   | 53.86±0.50 <sup>g</sup>  | 7.73±0.05 <sup>g</sup>  | 10.23±0.09 <sup>g</sup> | 981.55±10.59 <sup>e</sup>  | 22.36±1.61 <sup>e</sup>  |
| 4 hr                                   | 59.82±0.66 <sup>f</sup>  | 8.87±0.05 <sup>f</sup>  | 11.37±0.12 <sup>f</sup> | 1,042.56±8.88 <sup>d</sup> | 19.33±0.17 <sup>fg</sup> |
| 8 hr                                   | 59.82±0.49 <sup>f</sup>  | 8.83±0.05 <sup>f</sup>  | 11.37±0.09 <sup>f</sup> | 1,160.59±4.01 <sup>c</sup> | 22.26±0.18 <sup>e</sup>  |
| 12 hr                                  | 63.86±0.89 <sup>e</sup>  | 9.00±0.00 <sup>e</sup>  | 12.13±0.17 <sup>e</sup> | 1,337.45±2.45 <sup>b</sup> | 27.09±0.19 <sup>d</sup>  |
| <b>ชุดที่ 3 Enzyme 10%</b>             |                          |                         |                         |                            |                          |
| 0 hr                                   | 79.12±0.25 <sup>d</sup>  | 11.90±0.00 <sup>d</sup> | 15.03±0.05 <sup>d</sup> | 916.55±5.38 <sup>f</sup>   | 29.12±0.34 <sup>cd</sup> |
| 4 hr                                   | 86.84±0.00 <sup>c</sup>  | 12.33±0.01 <sup>b</sup> | 16.50±0.00 <sup>c</sup> | 1,164.04±1.94 <sup>c</sup> | 55.14±0.05 <sup>a</sup>  |

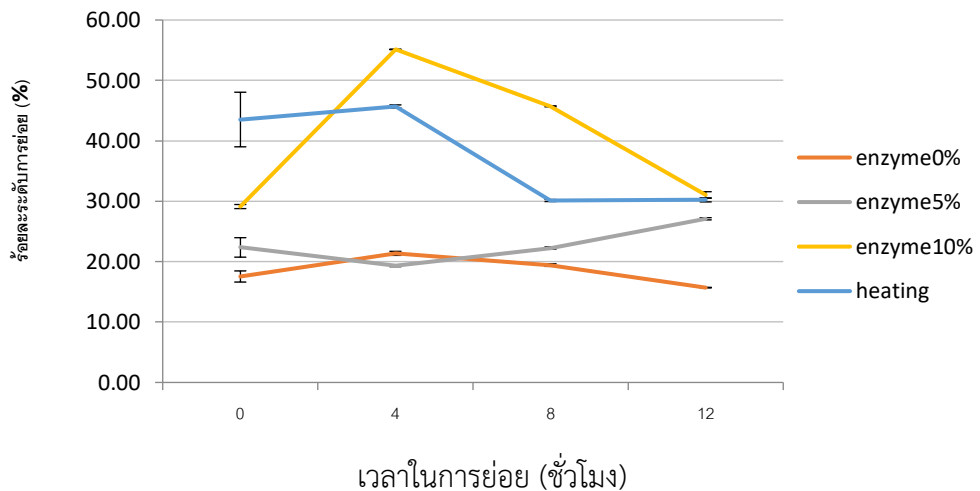
|  |                         |                         |                         |                             |                         |
|--|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|
| 8 hr                                   | 92.98±0.66 <sup>a</sup> | 14.03±0.05 <sup>a</sup> | 17.67±0.12 <sup>a</sup> | 1,325.47±1.80 <sup>b</sup>  | 45.71±0.09 <sup>b</sup> |
| 12 hr                                  | 89.12±0.25 <sup>b</sup> | 12.00±0.00 <sup>c</sup> | 16.93±0.05 <sup>b</sup> | 1,468.73±17.48 <sup>a</sup> | 31.03±0.54 <sup>c</sup> |
| <b>ชุดที่ 4 Heating อุณหภูมิ 95 °C</b> |                         |                         |                         |                             |                         |
| 0 hr                                   | 20.52±0.00 <sup>k</sup> | 3.00±0.00 <sup>k</sup>  | 3.90±0.00 <sup>l</sup>  | 166.62±15.51 <sup>l</sup>   | 43.53±4.52 <sup>b</sup> |
| 4 hr                                   | 18.77±0.25 <sup>l</sup> | 3.00±0.00 <sup>k</sup>  | 3.57±0.05 <sup>m</sup>  | 202.94±2.01 <sup>k</sup>    | 45.69±0.25 <sup>b</sup> |
| 8 hr                                   | 24.56±0.89 <sup>j</sup> | 3.40±0.00 <sup>i</sup>  | 4.67±0.17 <sup>kj</sup> | 486.93±2.04 <sup>s</sup>    | 30.12±0.17 <sup>c</sup> |
| 12 hr                                  | 24.73±0.86 <sup>i</sup> | 4.00±0.00 <sup>h</sup>  | 4.70±0.16 <sup>j</sup>  | 419.74±0.93 <sup>h</sup>    | 30.22±0.34 <sup>c</sup> |

หมายเหตุ : DH = ระดับการย่อยสลาย

a,b,c,... หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 4.2 ปริมาณโปรตีนของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน



ภาพที่ 4.3 ปริมาณร้อยละระดับการย่อยของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

จากตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณผลผลิตของตัวอย่างชุดที่ 4 (Heating) มีปริมาณผลผลิตใกล้เคียงกับชุดควบคุมและน้อยกว่าชุดที่ 2 และ 3 ที่มีการใช้เอนไซม์ โดยมีปริมาณผลผลิตอยู่ในช่วงร้อยละ 18.77-24.73 และ 23.50-27.36 ตามลำดับ เนื่องจากไม่มีการใช้เอนไซม์ จึงมีการย่อยเพียงเล็กน้อยจากความร้อนที่ใช้ และพบว่าปริมาณผลผลิตชุดตัวอย่างที่ 3 (Enzyme 10%) สูงที่สุดและสูงกว่าชุดที่ 2 (Enzyme 5%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณผลผลิตร้อยละ 79.21-92.98 และร้อยละ 53.86-63.86 ตามลำดับ เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 10 ทำให้มีปริมาณผลผลิตของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น ยกเว้นชุดที่ 3 (Enzyme 10%) จากเวลาในการย่อยที่ 8 ชั่วโมงเป็น 12 ชั่วโมงปริมาณผลผลิตจะลดลงจากร้อยละ 92.98 เป็นร้อยละ 89.12 เนื่องจากในระหว่างการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทมีการใช้สับสเตรทหรือเห็ดนางฟ้าอบแห้งในปริมาณ

คงที่ ทำให้เมื่อใช้เวลาในการย่อยจาก 0 ชั่วโมงเป็น 8 ชั่วโมง การย่อยส่งผลให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเวลาการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 8 ชั่วโมง เป็น 12 ชั่วโมง จึงทำให้ปริมาณผลผลิตลดลง

จากตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณเกลือซุดควบคุมและซุดที่ 4 (Heating) ไม่มีความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 3.00-4.00 และพบว่าปริมาณเกลือของตัวอย่างซุดที่ 3 (Enzyme 10%) สูงที่สุดและสูงกว่าซุดที่ 2 (Enzyme 5%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณเกลือร้อยละ 11.90-14.03 และร้อยละ 7.73-9.00 ตามลำดับ เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณเกลือ ส่วนเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณเกลือเพิ่มขึ้น ยกเว้นซุดที่ 3 (Enzyme 10%) จากเวลาในการย่อยที่ 8 ชั่วโมงเป็น 12 ชั่วโมง ปริมาณเกลือจะลดลงจากร้อยละ 14.03 เป็นร้อยละ 12.00 ซึ่งสอดคล้องกับผลของปริมาณผลผลิตที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งปริมาณเกลือของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ทำการศึกษานี้มีค่ามากกว่าผลการศึกษานี้ของแพรวไพลิน และคณะ (2552) ที่ทำการศึกษาและพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดหอมและเห็ดนางรมคือ ระยะเวลาในการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเกลือร้อยละ 2.40 และ 1.60 ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.1 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดของตัวอย่างซุดที่ 4 (Heating) มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดน้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดเป็นร้อยละ 3.57-4.70 และพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดซุดตัวอย่างที่ 3 (Enzyme 10%) สูงที่สุดและสูงกว่าซุดที่ 2 (Enzyme 5%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดร้อยละ 15.03-17.67 และ 10.23-12.13 ตามลำดับ เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้น และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดจะลดลง เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้น ยกเว้นซุดที่ 3 (Enzyme 10%) จากเวลาในการย่อยที่ 8 ชั่วโมงเป็น 12 ชั่วโมง ปริมาณผลผลิตจะลดลงจากร้อยละ 17.67 เป็นร้อยละ 16.93 ซึ่งสอดคล้องกับผลการปริมาณผลผลิตที่ทำการศึกษา

จากตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.2 พบว่าปริมาณโปรตีนซุดควบคุมและซุดที่ 4 (Heating) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วง 1.66-4.86  $\mu\text{g/ml}$  และพบว่าปริมาณปริมาณโปรตีนของตัวอย่างซุดที่ 3 (Enzyme 10%) และซุดที่ 2 (Enzyme 5%) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีปริมาณปริมาณโปรตีน 916.55-1,468.73  $\mu\text{g/ml}$  และเมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.2 ค่า pH ค่าสี (L\*, a\* และ b\*) ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

| ตัวอย่าง   | pH                      | ค่าสี L*                 | ค่าสี a*                | ค่าสี b*                 |
|--|-------------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| <b>ชุดที่ 1 Control อุณหภูมิ 50 °C (ไม่ใช้เอนไซม์)</b> |                         |                          |                         |                          |
| 0 hr   | 6.52±0.05 <sup>h</sup>  | 33.84±0.19 <sup>f</sup>  | -0.48±0.22 <sup>e</sup> | -0.07±0.29 <sup>gh</sup> |
| 4 hr   | 6.80±0.07 <sup>g</sup>  | 33.45±0.17 <sup>f</sup>  | -0.36±0.27 <sup>e</sup> | 0.06±0.18 <sup>fgh</sup> |
| 8 hr   | 6.92±0.02 <sup>f</sup>  | 33.78±0.26 <sup>f</sup>  | -0.59±0.18 <sup>e</sup> | 0.59±0.28 <sup>e</sup>   |
| 12 hr  | 6.13±0.03 <sup>j</sup>  | 36.39±0.20 <sup>bc</sup> | -1.26±0.08 <sup>f</sup> | 0.58±0.04 <sup>e</sup>   |
| <b>ชุดที่ 2 Enzyme 5% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>             |                         |                          |                         |                          |
| 0 hr   | 7.31±0.02 <sup>b</sup>  | 35.85±0.15 <sup>c</sup>  | 1.27±0.24 <sup>d</sup>  | 3.30±0.26 <sup>d</sup>   |
| 4 hr   | 7.60±0.00 <sup>a</sup>  | 35.94±0.49 <sup>c</sup>  | 1.35±0.12 <sup>d</sup>  | 3.37±0.05 <sup>d</sup>   |
| 8 hr   | 7.29±0.01 <sup>b</sup>  | 36.03±0.52 <sup>c</sup>  | 1.59±0.20 <sup>d</sup>  | 3.98±0.28 <sup>bc</sup>  |
| 12 hr  | 7.03±0.01 <sup>de</sup> | 36.23±0.31 <sup>bc</sup> | 1.57±0.03 <sup>d</sup>  | 3.30±0.11 <sup>d</sup>   |
| <b>ชุดที่ 3 Enzyme 10% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>            |                         |                          |                         |                          |
| 0 hr   | 7.21±0.01 <sup>c</sup>  | 36.76±0.08 <sup>ab</sup> | 2.39±0.08 <sup>b</sup>  | 4.23±0.18 <sup>ab</sup>  |
| 4 hr   | 7.07±0.01 <sup>d</sup>  | 36.02±0.11 <sup>c</sup>  | 2.11±0.13 <sup>c</sup>  | 3.19±0.33 <sup>d</sup>   |
| 8 hr   | 7.01±0.01 <sup>e</sup>  | 36.55±0.10 <sup>bc</sup> | 2.45±0.21 <sup>b</sup>  | 3.59±0.13 <sup>cd</sup>  |
| 12 hr  | 6.92±0.00 <sup>f</sup>  | 37.40±0.25 <sup>a</sup>  | 2.86±0.04 <sup>a</sup>  | 4.64±0.09 <sup>a</sup>   |
| <b>ชุดที่ 4 Heating อุณหภูมิ 95 °C (ไม่ใช้เอนไซม์)</b> |                         |                          |                         |                          |
| 0 hr   | 6.53±0.02 <sup>h</sup>  | 34.54±0.34 <sup>de</sup> | -0.52±0.06 <sup>e</sup> | -0.07±0.42 <sup>gh</sup> |
| 4 hr   | 6.36±0.00 <sup>i</sup>  | 33.98±0.54 <sup>ef</sup> | -0.59±0.07 <sup>e</sup> | -0.32±0.25 <sup>h</sup>  |
| 8 hr   | 6.56±0.01 <sup>h</sup>  | 34.78±0.28 <sup>d</sup>  | -0.56±0.04 <sup>e</sup> | 0.54±0.21 <sup>ef</sup>  |
| 12 hr  | 6.53±0.01 <sup>h</sup>  | 34.81±0.43 <sup>d</sup>  | -0.70±0.09 <sup>e</sup> | 0.42±0.07 <sup>efg</sup> |

หมายเหตุ : <sup>a,b,c,...</sup> หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

จากตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.3 พบว่า %DH ตัวอย่างชุดควบคุมมีปริมาณ %DH น้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 15.69-21.31 และพบว่า %DH ของตัวอย่างชุดที่ 3 (Enzyme 10%) และชุดที่ 4 (Heating) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 29.21-45.71 และเมื่อปริมาณเอนไซม์โปรตีนไฮโดรไลเซทเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณ %DH เพิ่มขึ้น เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณ %DH เพิ่มขึ้น ยกเว้นชุดที่ 3 (Enzyme 10%) จากเวลาในการย่อยที่ 0 ชั่วโมงเป็น 4 ชั่วโมง %DH ลดจากร้อยละ 29.12 เป็นร้อยละ 55.14 จากการศึกษาของ Panida *et al.*, (2016) นำเห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดหอม (OMPH, AMPH และ SHMPH ตามลำดับ) มาย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลาต่างกัน (6, 12, 18 และ

24 ชั่วโมง) เพื่อให้ได้ไฮโดรไลเซทจากเห็ด ผลการศึกษาพบว่า ระดับการย่อยสลาย (%DH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โขเดียมคลอไรด์ ไนโตรเจน โปรตีน และปริมาณกรดอะมิโนอิสระของเห็ดย่อยสลายโปรตีนทั้งหมด (MPHs) เพิ่มขึ้น เมื่อเวลาการสกัดที่เพิ่มขึ้น ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตที่ให้ % DH สูงสุดของ OMPH, AMPH และ SHMPH (ร้อยละ 46.54, 38.15 และ 25.75) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนคือ 18, 18 และ 24 ชั่วโมง ทำให้ได้กรดอะมิโนทั้งหมด 384, 157 และ 110 mg/100 ml ตามลำดับ

จากตารางที่ 4.2 พบว่าค่า pH ของตัวอย่างชุดที่ 4 (Heating) มีค่า pH น้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า pH เป็น 6.36-6.56 ตามลำดับ และพบว่าค่า pH ชุดตัวอย่างที่ 2 (Enzyme 5%) สูงที่สุดและสูงกว่าชุดที่ 3 (Enzyme 10%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า pH 7.03-7.60 และ 6.92-7.21 ตามลำดับ เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 5 ทำให้มีค่า pH ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้น และพบว่า เมื่อใช้เอนไซม์ 10% ค่า pH ที่ได้จะน้อยกว่าชุดเอนไซม์ 5% และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ค่า pH จะลดลง ส่วนระยะเวลาในการย่อยไม่ส่งผลต่อค่า pH จากตารางที่ 4.2 พบว่าค่า L\*, a\* และ b\* ของตัวอย่างชุดที่ 3 (Enzyme 10%) สูงกว่าตัวอย่างชุดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีสีคล้ำ ซึ่งสอดคล้องกับภาพที่ 7 จากการศึกษาของแพรวไพลิน และคณะ (2552) พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทที่ได้จากเห็ดนางรมมีสีน้ำตาลอ่อน มีค่า L\*, a\* และ b\* เท่ากับ 36.2, -1.5 และ 5.0 ตามลำดับ

#### 4.3 ผลฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าตามภาพที่ 7 มาศึกษาผลฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า ได้แก่ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH แสดงดังตารางที่ 4.3

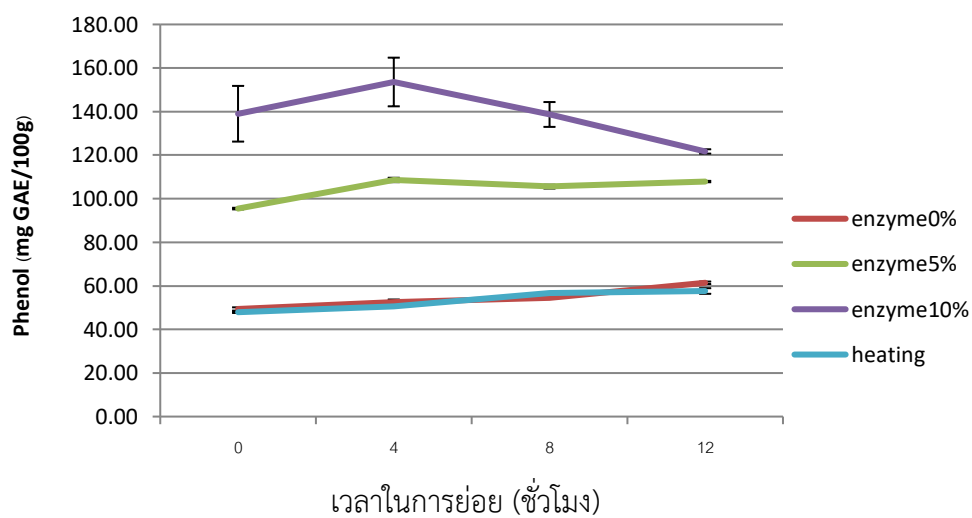
ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

| ตัวอย่าง   | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก   | ความสามารถในการจับสารอนุมูล |
|--|--------------------------|-----------------------------|
| <b>ชุดที่ 1 Control อุณหภูมิ 50 °C (ไม่ใช้เอนไซม์)</b> |                          |                             |
| 0 hr   | 49.39±0.75 <sup>g</sup>  | 14.55±0.02 <sup>ghi</sup>   |
| 4 hr   | 52.61±1.13 <sup>fg</sup> | 14.27±0.15 <sup>j</sup>     |
| 8 hr   | 54.48±0.38 <sup>fg</sup> | 14.70±0.07 <sup>gh</sup>    |
| 12 hr  | 61.42±0.56 <sup>f</sup>  | 14.41±0.05 <sup>ij</sup>    |
| <b>ชุดที่ 2 Enzyme 5% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>             |                          |                             |
| 0 hr   | 95.47±0.37 <sup>e</sup>  | 16.33±0.13 <sup>e</sup>     |
| 4 hr   | 108.62±1.01 <sup>d</sup> | 16.37±0.17 <sup>e</sup>     |
| 8 hr   | 105.56±0.88 <sup>d</sup> | 16.79±0.03 <sup>cd</sup>    |

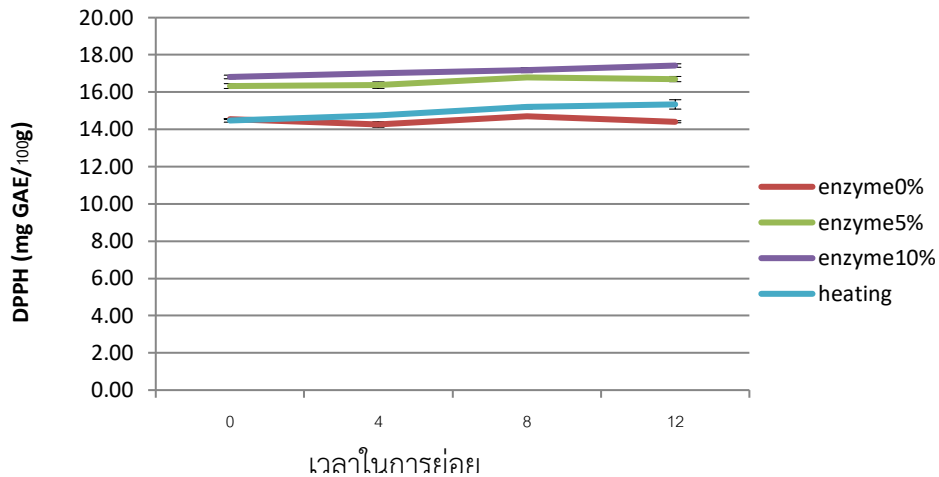
|  |                           |                           |
|--|---------------------------|---------------------------|
| 12 hr  | 107.88±0.31 <sup>d</sup>  | 16.70±0.14 <sup>d</sup>   |
| <b>ชุดที่ 3 Enzyme 10% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>            |                           |                           |
| 0 hr   | 139.00±12.78 <sup>b</sup> | 16.82±0.10 <sup>cd</sup>  |
| 4 hr   | 153.59±11.17 <sup>a</sup> | 17.01±0.01 <sup>bc</sup>  |
| 8 hr   | 138.67±5.70 <sup>b</sup>  | 17.18±0.13 <sup>b</sup>   |
| 12 hr  | 121.71±1.00 <sup>c</sup>  | 17.43±0.09 <sup>a</sup>   |
| <b>ชุดที่ 4 Heating อุณหภูมิ 95 °C (ไม่ใช่เอนไซม์)</b> |                           |                           |
| 0 hr   | 47.91±0.37 <sup>g</sup>   | 14.48±0.09 <sup>hij</sup> |
| 4 hr   | 50.48±0.10 <sup>g</sup>   | 14.74±0.03 <sup>g</sup>   |
| 8 hr   | 56.59±0.25 <sup>f</sup>   | 15.19±0.10 <sup>f</sup>   |
| 12 hr  | 57.64±1.29 <sup>f</sup>   | 15.34±0.25 <sup>f</sup>   |

หมายเหตุ : <sup>a,b,c,...</sup> หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ทางสถิติ ( $p < 0.05$ )



ภาพที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน



ภาพที่ 4.5 ความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ของโปรตีนไฮโดรไลเซท จากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

จากตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างชุดควบคุม และชุดที่ 4 (Heating) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วง 47.91-61.42 mg GAE/ 100 g และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างชุดที่ 3 (Enzyme 10%) สูงกว่าชุดที่ 2 (Enzyme 5%) โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 121.71-139.00 และ 95.47-108.62 mg GAE/ 100 g ตามลำดับ และเมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง

จากตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4 พบว่าความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ของตัวอย่างชุดควบคุมน้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วง 14.27-14.70 mg GAE/ 100 g และพบว่าความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH ของตัวอย่างชุดที่ 3 (Enzyme 10%) สูงกว่าชุดที่ 2 (Enzyme 5%) โดยมีความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH 16.82-17.43 และ 16.33-16.79 mg GAE/ 100 g ตามลำดับ และเมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลต่อความสามารถในการจับสารอนุมูลอิสระ

#### 4.4 ผลสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

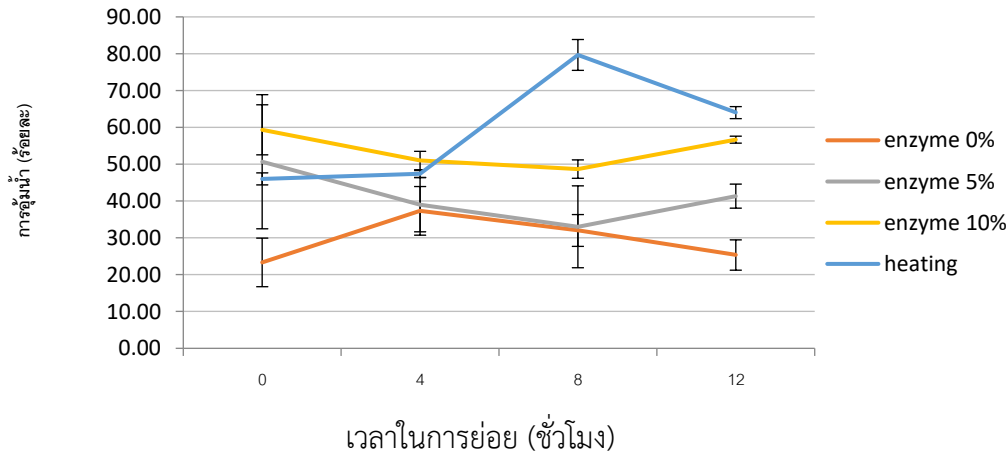
เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าตามภาพที่ 7 มาศึกษาผลสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า ได้แก่ สมบัติการละลาย สมบัติการอุ้มน้ำ สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และความสามารถในการเกิดโฟม แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 สมบัติการละลาย (solubility) สมบัติการอุ้มน้ำ สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ และความสามารถในการเกิดโฟมของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

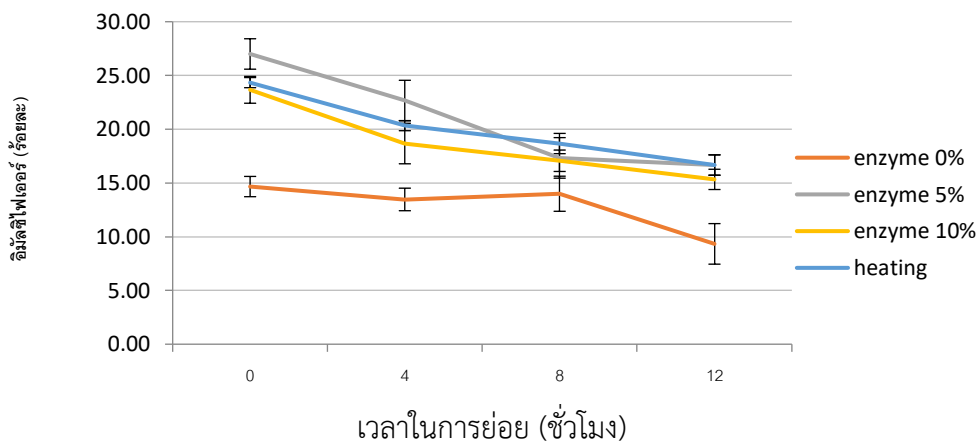
| ตัวอย่าง                               | การละลายน้ำ pH7            | การละลายน้ำ pH11          | การอุ้มน้ำ                 | อิมัลซิไฟเออร์            | การเกิดโฟม |
|--|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|------------|
| <b>ชุดที่ 1 Control อุณหภูมิ 50 °C</b> |                            |                           |                            |                           |            |
| 0 hr                                   | 77.33±9.88 <sup>abcd</sup> | 54.00±2.94 <sup>bc</sup>  | 23.33±6.60 <sup>g</sup>    | 14.67±0.94 <sup>fgh</sup> | 0.00±0.00  |
| 4 hr                                   | 84.33±5.91 <sup>a</sup>    | 59.33±1.89 <sup>abc</sup> | 37.33±6.60 <sup>efg</sup>  | 13.47±1.05 <sup>h</sup>   | 0.00±0.00  |
| 8 hr                                   | 78.67±1.32 <sup>abc</sup>  | 57.67±6.34 <sup>abc</sup> | 32.00±4.32 <sup>fg</sup>   | 14.00±1.63 <sup>gh</sup>  | 0.00±0.00  |
| 12 hr                                  | 83.00±4.08 <sup>ab</sup>   | 74.67±8.73 <sup>a</sup>   | 25.33±4.11 <sup>g</sup>    | 9.33±1.89 <sup>i</sup>    | 0.00±0.00  |
| <b>ชุดที่ 2 Enzyme 5%</b>              |                            |                           |                            |                           |            |
| 0 hr                                   | 49.67±8.81 <sup>ef</sup>   | 54.67±6.18 <sup>bc</sup>  | 50.67±8.21 <sup>bcde</sup> | 27.00±1.41 <sup>a</sup>   | 0.00±0.00  |
| 4 hr                                   | 64.33±5.44 <sup>bcde</sup> | 63.00±9.63 <sup>abc</sup> | 27.33±7.36 <sup>g</sup>    | 22.67±1.89 <sup>bc</sup>  | 0.00±0.00  |
| 8 hr                                   | 63.00±9.09 <sup>cde</sup>  | 54.00±6.75 <sup>bc</sup>  | 38.67±1.12 <sup>efg</sup>  | 17.33±1.89 <sup>ef</sup>  | 0.00±0.00  |
| 12 hr                                  | 60.00±9.63 <sup>cdef</sup> | 54.67±2.49 <sup>bc</sup>  | 44.00±3.27 <sup>cdef</sup> | 16.67±0.94 <sup>efg</sup> | 0.00±0.00  |
| <b>ชุดที่ 3 Enzyme 10%</b>             |                            |                           |                            |                           |            |
| 0 hr                                   | 50.33±4.50 <sup>ef</sup>   | 44.00±4.90 <sup>cde</sup> | 59.33±6.80 <sup>bc</sup>   | 23.67±1.25 <sup>b</sup>   | 0.00±0.00  |

|  |                            |                           |                            |                           |           |
|--|----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|-----------|
| 4 hr                                   | 42.00±4.72 <sup>f</sup>    | 34.67±3.07 <sup>de</sup>  | 42.67±2.49 <sup>def</sup>  | 18.67±1.89 <sup>de</sup>  | 0.00±0.00 |
| 8 hr                                   | 48.00±9.63 <sup>ef</sup>   | 31.67±6.65 <sup>e</sup>   | 54.67±2.49 <sup>bcd</sup>  | 17.07±1.00 <sup>ef</sup>  | 0.00±0.00 |
| 12 hr                                  | 58.67±7.41 <sup>def</sup>  | 51.33±3.09 <sup>bcd</sup> | 58.67±0.94 <sup>bc</sup>   | 15.33±0.94 <sup>fgh</sup> | 0.00±0.00 |
| <b>ชุดที่ 4 Heating อุณหภูมิ 95 °C</b> |                            |                           |                            |                           |           |
| 0 hr                                   | 88.00±4.97 <sup>a</sup>    | 64.67±9.81 <sup>ab</sup>  | 46.00±1.63 <sup>cdef</sup> | 24.33±0.47 <sup>ab</sup>  | 0.00±0.00 |
| 4 hr                                   | 82.33±7.32 <sup>ab</sup>   | 65.33±2.87 <sup>ab</sup>  | 47.33±0.94 <sup>cdef</sup> | 20.33±0.447 <sup>cd</sup> | 0.00±0.00 |
| 8 hr                                   | 75.33±2.05 <sup>abcd</sup> | 35.00±7.26 <sup>de</sup>  | 79.67±4.19 <sup>a</sup>    | 18.67±0.94 <sup>de</sup>  | 0.00±0.00 |
| 12 hr                                  | 68.67±7.53 <sup>abcd</sup> | 50.33±9.57 <sup>bcd</sup> | 64.00±1.63 <sup>b</sup>    | 16.67±0.94 <sup>efg</sup> | 0.00±0.00 |

หมายเหตุ : <sup>a,b,c...</sup> หมายถึง ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 4.6 การอุ้มน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์ และเวลาที่ต่างกัน



ภาพที่ 4.7 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณ เอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

จากตารางที่ 4.4 พบว่า การละลายน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทของเห็ดนางฟ้าที่ pH 7 สูงกว่าการละลายน้ำที่ pH 11 ซึ่งสมบัติของการละลายเป็นสมบัติพื้นฐานที่สำคัญที่สุดเนื่องจากมีผลต่อสมบัติอื่นๆ เช่น การเกิดโฟม และการเกิดอิมัลชัน เป็นต้น โดยปกติแล้วความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้นเมื่อโปรตีนมีขนาดเล็กลง หรือมีการคลายตัว (unfolding) เกิดขึ้น ณ สภาวะใดๆ ที่มีค่า pH ต่ำหรือสูงกว่าจุด Isoelectric point (pI) โปรตีนจะแสดงประจุลบหรือบวกตามลำดับ ทำให้สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายได้ ปัจจัยที่มีผลต่อการละลายของโปรตีนในสภาวะนี้ได้แก่ electrostatic repulsion และ ionic hydration โดยโปรตีนจะมีการละลายต่ำสุดที่ ณ จุด pI เนื่องจาก โปรตีนมีจำนวนประจุบวกและประจุลบภายในโมเลกุลเท่ากัน ทำให้ประจุสุทธิมีค่าเท่ากับศูนย์ จึงทำให้โปรตีนตกตะกอน (Yeom *et al.*, 2010) ดังนั้นจึงถือว่าโปรตีนไฮโดรไลเซทจากการทดลองนี้มีศักยภาพเหมาะสมที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารต่อไป

จากตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4 พบว่าการอุ้มน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทของเห็ดนางฟ้าพบว่า เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณการอุ้มน้ำเพิ่มขึ้น เมื่อทำการย่อยด้วยความร้อน 95 °C จะทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณการอุ้มน้ำสูงที่สุดโดยเฉพาะเมื่อย่อยที่ 8 ชั่วโมง

จากผลการศึกษาที่สอดคล้องกับผลการศึกษาการเพิ่มระดับการย่อยของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากถั่วลิสง (Jamdar *et al.*, 2010) รำข้าวโอ๊ต (Guan *et al.*, 2007) หรือแม้แต่ปลาข้างเหลือง (Klompong *et al.*, 2007) มีผลทำให้ความสามารถในการละลายของโปรตีนสูงขึ้น เนื่องจากเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กจะมี ionisable amino acid และ carboxylic group ที่เพิ่มขึ้น ทำให้สมบัติ hydrophilicity ของโปรตีนสูงขึ้น ซึ่งความสามารถในการอุ้มน้ำ หรือน้ำมันไว้ในโมเลกุลของโปรตีนนั้นเกี่ยวข้องกับการกักเก็บน้ำหรือน้ำมัน ด้านกายภาพ และสมบัติ hydrophobic และ hydrophilic ของโปรตีน (He *et al.*, 2013) ค่าการอุ้มน้ำของโปรตีนสามารถอธิบายเพิ่มเติมโดยใช้สมบัติการละลายและ surface hydrophobicity นั่นคือเมื่อโปรตีนเกิดการคลายตัว และปลดปล่อยหมู่ hydrophobic มากขึ้น จะมีผลทำให้ค่าการอุ้มน้ำมันสูงขึ้นด้วยเหมาะกับการใช้เป็นส่วนผสมในอาหารประเภทไส้กรอก แต่หากโปรตีนมีหมู่ hydrophobic น้อย หรือมีหมู่ hydrophilic มาก จะทำให้โปรตีนมีค่าการอุ้มน้ำมันที่ลดลง หรืออุ้มน้ำได้มากขึ้น ซึ่งเหมาะกับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่เพื่อลดการสูญเสียน้ำหนักจากความชื้นที่หายไป อย่างไรก็ตามการย่อยโปรตีนในระดับที่สูงเกินไปจะทำให้โปรตีนสูญเสียโครงสร้างที่สามารถเก็บกักน้ำ หรือน้ำมันไว้ใน และทำให้สมบัติของการละลายเปปไทด์ขนาดเล็กสูงขึ้นแทน (Phongthai *et al.*, 2016a)

จากตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.5 สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนไฮโดรไลเซทของเห็ดนางฟ้าพบว่า เมื่อปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0 เป็นร้อยละ 10 ทำให้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้ามีสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้สมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ลดลง

โปรตีนช่วยให้อิมัลชัน (emulsion) คงตัวด้วยการลดแรงตึงผิว (surface tension) ของของเหลว ซึ่งช่วยป้องกันอิมัลชันไม่ให้แยกเป็นชั้น ในโมเลกุลของโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด มีทั้งส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) โดยจะหันส่วนที่ชอบน้ำเข้าหาน้ำ และส่วนที่ไม่ชอบน้ำเข้าหาไขมัน นอกจากนี้โปรตีนที่มีโมเลกุลใหญ่และละลายน้ำได้น้อยมักมีความสามารถในการเกิดอิมัลชันได้น้อย อย่างไรก็ตามโปรตีนที่มีขนาดเล็กเกินไปจะมีความสามารถในการลดแรงตึงผิวระหว่างน้ำมันและน้ำได้น้อย เนื่องจากไม่สามารถคลายตัวและจัดเรียงตัวใหม่ที่พื้นผิวสัมผัสน้ำมันกับน้ำได้เช่นเดียวกับ เปปไทด์ขนาดใหญ่กว่า (Klompong *et al.*, 2007) ส่วนการย่อยด้วยเอนไซม์จะทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัวและเสียสภาพ ปล่อยหมู่ hydrophobic ออกมามากขึ้นและมีความยืดหยุ่นมากขึ้น และถ้าโปรตีนละลายในระบบได้ดีจะทำให้เกิดการเคลื่อนที่ไปยังพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมันได้ดี ช่วยลดแรงตึงผิวทำให้ระบบอิมัลชันคงตัวมากขึ้น แต่การย่อยโปรตีนในระดับที่สูงจนเกินไปก็ส่งผลเสียต่อสมบัตินี้ได้เช่นกัน Jamdar *et al.* (2010) และ Chabanon *et al.* (2007) รายงานว่า การย่อยที่ระดับร้อยละ 20-40 และ ร้อยละ 15 ตามลำดับ มีผลทำให้สมบัติการเกิดอิมัลชันของโปรตีนจากถั่วลิสงและ rapeseed มีค่าลดลงอย่างเห็นได้ชัด

จากตารางที่ 4.4 พบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าไม่มีสมบัติในการเกิดโฟม (ร้อยละ 0) ในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบ ซึ่งการเกิดโฟมของโปรตีนนั้นโปรตีนที่จะเกิดโฟมได้ดีและมีความคงตัว จะต้องมีความยืดหยุ่นสูง และสามารถเกิดแผ่นฟิล์มบางๆ และแข็งแรงที่สามารถเก็บอากาศได้ โปรตีนที่มีความยืดหยุ่น

ที่สามารถวัดโพลีเมอร์ได้ดีต้องมี surface hydrophobicity สูง ซึ่งในระหว่างการตีหรือการทำให้เกิดโพลีเมอร์ แรงกลจากการตี หรือปั่นอย่างรุนแรง ทำให้พันธะระหว่างโมเลกุลของโปรตีนเกิดการเสียสภาพทางธรรมชาติ (protein denaturation) เกิดการคลายตัว (unfolding) ของโครงสร้างโปรตีน เกิดเป็นฟิล์มและจับกับน้ำซึ่งอยู่รอบๆได้ หันด้านที่เป็น hydrophobic ที่อยู่ด้านในโครงสร้างออกมาด้านนอก ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้เกิดโครงสร้างของโพลีเมอร์ โดยเกิดเป็นแผ่นฟิล์มบางๆจะสามารถเก็บอากาศไว้ได้ มีรายงานการเกิดโพลีเมอร์ในโปรตีนบางชนิด เช่น การย่อยโปรตีนจากถั่วลิสงและถั่วลูกไก่ (chickpea) ด้วยระดับการย่อยร้อยละ 40 และร้อยละ 10 จะมีผลที่ทำให้โปรตีนเกิดโพลีเมอร์ได้น้อยลงอย่างมีนัยสำคัญ (Jamdar *et al.*, 2010; Yust *et al.*, 2010) นอกจากนี้ความคงตัวของโพลีเมอร์จากโปรตีน rapeseed มีแนวโน้มลดลงเมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 5 เป็นร้อยละ 15 (Chabanon *et al.*, 2007) การย่อยโปรตีนเป็นบางส่วนด้วยระดับการย่อยที่ประมาณร้อยละ 5 พบว่าสามารถใช้ปรับปรุงสมบัติการเกิดโพลีเมอร์ของโปรตีนที่ได้จากรำข้าวและปลาข้างเหลือง (phongthai *et al.*, 2016a; Klompong *et al.*, 2007) ได้อย่างเหมาะสม

#### 4.5 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

เมื่อนำโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าตามภาพที่ 7 มาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Ideal Ratio Profile Test แสดงดังตารางที่ 4.5

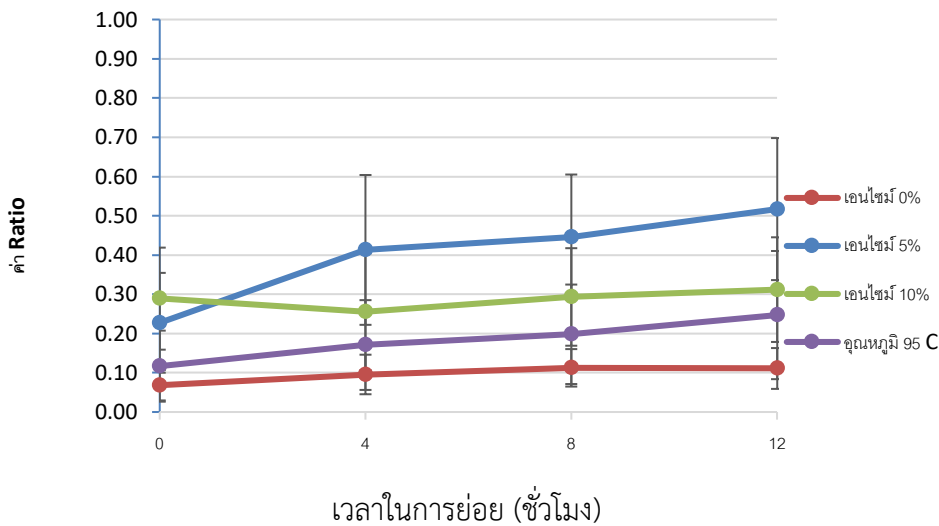
ตารางที่ 4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Ideal Ratio Profile Test ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

| ตัวอย่าง   | การดมกลิ่น (ค่าตัวอย่าง/ค่าอุดมคติ) |
|--|-------------------------------------|
| <b>ชุดที่ 1 Control อุณหภูมิ 50 °C (ไม่ใช้เอนไซม์)</b> |                                     |
| 0 hr   | 0.07±0.04 <sup>h</sup>              |
| 4 hr   | 0.10±0.05 <sup>h</sup>              |
| 8 hr   | 0.11±0.05 <sup>gh</sup>             |
| 12 hr  | 0.11±0.05 <sup>gh</sup>             |
| <b>ชุดที่ 2 Enzyme 5% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>             |                                     |
| 0 hr   | 0.23±0.13 <sup>def</sup>            |
| 4 hr   | 0.41±0.19 <sup>b</sup>              |
| 8 hr   | 0.45±0.16 <sup>b</sup>              |
| 12 hr  | 0.52±0.18 <sup>a</sup>              |
| <b>ชุดที่ 3 Enzyme 10% (อุณหภูมิ 50 °C)</b>            |                                     |
| 0 hr   | 0.29±0.13 <sup>cd</sup>             |
| 4 hr   | 0.26±0.15 <sup>cde</sup>            |
| 8 hr   | 0.29±0.12 <sup>cd</sup>             |
| 12 hr  | 0.31±0.13 <sup>c</sup>              |

ชุดที่ 4 Heating อุณหภูมิ 95 °C (ไม่ใช่เอนไซม์)

|       |                          |
|-------|--------------------------|
| 0 hr  | 0.12±0.09 <sup>gh</sup>  |
| 4 hr  | 0.17±0.11 <sup>fg</sup>  |
| 8 hr  | 0.20±0.13 <sup>ef</sup>  |
| 12 hr | 0.25±0.16 <sup>cde</sup> |

หมายเหตุ : <sup>a,b,c...</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)



ภาพที่ 4.8 ค่า Ratio จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Ideal Ratio Profile Test ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการย่อยด้วยปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ต่างกัน

จากตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 พบว่าการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้วิธี Ratio Profile Test ด้วยวิธีการดมกลิ่น ผู้ทดสอบเห็นว่าตัวอย่างชุด Enzyme 5% มีกลิ่นที่เป็นไปตามต้องการ เมื่อเทียบกับตัวอย่างในอุดมคติของผู้ทดสอบ และมีกลิ่นที่มาจากสารระเหยมากกว่าตัวอย่าง ตามมาด้วยชุด Enzyme 10% และชุด Heating และ Enzyme 0% จะให้ค่า Ratio น้อยที่สุด เมื่อเวลาในการย่อยเพิ่มขึ้นสารระเหยที่ให้กลิ่นก็จะเพิ่มขึ้นตามลำดับ

จากการศึกษาของแพรวไพลิน และคณะ (2552) โดยเมื่อวิเคราะห์สารหอมระเหยให้กลิ่นในโปรตีนไฮโดรไลเซทเห็ดทั้งสองชนิดจากสภาวะที่มี %DH สูงสุด พบว่ามีสารหอมระเหยให้กลิ่นชนิดเดียวกัน คือ benzaldehyde (almond), 2-heptenal (green), 1, 2, 4-trithiolane, 3-octanone (mushroom, oily), 2-undecenal (sweet), 2-dodecenal (oily), และ pentanoic acid (green, fresh) แต่มี %relative peak area ต่างกันตามชนิดของเห็ด ยกเว้น 1, 2, 4-trithiolane ที่พบเฉพาะในเห็ดหอมเท่านั้น ซึ่งสอดคล้องกับ Caglarimak *et al.* (2007) ที่รายงานว่า 1, 2, 4-trithiolane เป็นสารให้กลิ่นรสที่สำคัญพบเฉพาะในเห็ดหอม นอกจากนี้ยังพบว่า 3-octanone เป็นสารหอมระเหยให้กลิ่นที่สำคัญมีคาร์บอน 8 อะตอม ที่มีลักษณะเป็นกลิ่นเห็ดสุกหรือเห็ดที่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งสามารถพบได้ในเห็ดทั่วไปหลายชนิด เช่น เห็ดหอม เห็ดนางฟ้า เห็ดนางรม และเห็ดกระดุม (Misharina *et al.*, 2007)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

ผลของการย่อยโปรตีนจากเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอส (5% และ 10%) และความร้อน (50 และ 95 องศาเซลเซียส) พบว่า เอนไซม์โปรติเอสและความร้อนมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า โดยเมื่อใช้ปริมาณเอนไซม์โปรติเอสเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณผลผลิต ปริมาณเกลือ ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด ปริมาณโปรตีน %DH ค่าสี a\* ค่าสี b\* ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเวลาในการย่อยนานขึ้น มีแนวโน้มจะทำให้ค่าเหล่านี้สูงขึ้น แต่จากการการย่อยที่มากขึ้น ทำให้ขนาดของโปรตีนเล็กลง ส่งผลให้สมบัติเชิงหน้าที่ลดลง ในขณะที่เมื่อใช้ความร้อนในการย่อยเพิ่มขึ้น ทำให้ %DH การละลายน้ำ และการอุ้มน้ำของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้น และพบว่า โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าไม่มีสมบัติในการเกิดโฟม

#### ข้อเสนอแนะ

สภาวะที่เหมาะสมในการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้านั้นขึ้นอยู่กับความต้องการในการนำไปใช้ประโยชน์ เช่น หากต้องการปริมาณโปรตีนและเกลือที่มากที่สุด ควรใช้เอนไซม์โปรติเอส 10% ย่อยนาน 12 ชั่วโมง หากต้องการให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มากที่สุด ควรใช้เอนไซม์โปรติเอส 10% ย่อยนาน 4 ชั่วโมง หรือเอนไซม์โปรติเอส 5% ย่อยนาน 4 ชั่วโมง หากต้องการให้ได้โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าที่ได้รับการยอมรับด้านกลิ่นมากที่สุด ควรใช้เอนไซม์โปรติเอส 5% เป็นต้น โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าเป็นทางเลือกโปรตีนสะอาดจากพืชที่สามารถนำไปพัฒนาเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มได้

#### ตารางที่ 5.1 ผลผลิต (Output) ผลลัพธ์ (Outcome) และผลกระทบ (Impact) จากงานวิจัย

| ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ                                 | รายละเอียดของผลผลิต   |   |
|--|---|---|
|  | แผนการดำเนินงาน   | ผลการดำเนินงาน  |
| ต้นแบบเทคโนโลยี – ระดับห้องปฏิบัติการจำนวน 1 เทคโนโลยี | 1. การเตรียมตัวอย่างเห็ดนางฟ้า                                  | สภาวะการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสที่เหมาะสม โดยนำไปใช้ประโยชน์จากนวัตกรรมอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารฟังก์ชัน   |
| การประชุม/สัมมนาระดับชาติจำนวน 1 เรื่อง                | 2. ศึกษาการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้าด้วยเอนไซม์โปรติเอส |   |
|  | 3. วิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า | อยู่ในระหว่างส่งต้นฉบับเพื่อพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ ซึ่งเป็นการเผยแพร่ผลงานวิจัยร่วมกับนักศึกษาของสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร |
|  | 4. การวิเคราะห์สมบัติด้านกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ              |   |
|  | 5. วิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า   |   |

## เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มแม่เฝ้าระวัง และ สอบสวนโรค , 2548 , พีชพีช , [online], แหล่งสืบค้นออนไลน์ Available: <http://203.157.15.4/publish/outbreak/FPOI49/annex1.htm>
- ชฎาพร นุชจันทรดี , 2549, ประโยชน์ของเห็ดนานาชนิด , [online], แหล่งสืบค้นออนไลน์ Available: [http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/post.asp?method=Reply&TOPIC\\_ID=1393&FORUM\\_ID=7](http://www.uniserv.buu.ac.th/forum2/post.asp?method=Reply&TOPIC_ID=1393&FORUM_ID=7)
- ทิพย์วลี จุลมัญญิก และ ศศิธร คงเรือง, 2562, สมบัติเชิงหน้าที่และการประยุกต์ใช้โปรตีนไข่ขาวไฮโดรไลเสต,วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 14 ฉบับที่ 1, 69-87.
- บุญส่ง วงศ์เกรียงไกร, 2543, เห็ดนางฟ้า, พิมพ์ครั้งที่ 3.
- ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). เอนไซม์ทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พวงเพชร พูนทรัพย์ , 2546, เห็ด ประโยชน์ ใน ทาง ยา [online], แหล่งสืบค้นออนไลน์ Available: <http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/mushrm1.html>
- พัชรา วีระกะลัส, 2543, เอนไซม์, พิมพ์ครั้งที่ 2, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ, 344 หน้า.
- พัศตราภรณ์ ทองอิมพงษ์ ณีภูษา เลาทกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น, 2559, คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากทานตะวันด้วยเอนไซม์โบรมีเลนและ Flavourzyme®, วารสารวิจัยและพัฒนา มจร ปีที่ 39 ฉบับที่ 4, 565-583.
- แพรวไพลิน ต้นติบุตร, ณีภูษา เลาทกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น และปนิดา บรรจงสินศิริ, 2552, คุณลักษณะของโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ด้วยน้ำร้อนสำหรับใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส, วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 40 ฉบับที่ 3, 233-236.
- เย็นจิตร์ เตชะดารงสิน, 2547, เห็ดชิตาเกะ, วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก, 2, หน้า 53.
- วันชัย สมชิต, 2524, ผลของการให้ความร้อนเพื่อทำให้สุกต่อกลิ่นของผักบางชนิด, วารสารเกษตร, 13, หน้า 186-191.
- วารยา บุชปธารง, 2539, เครื่องดื่มโปรตีนไฮโดรไลเซตจากกากถั่ว, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 103 หน้า.
- วาริท หมดหมาน และ พูนสุข ประเสริฐสรรพ, 2545, ผลกระทบจากการแปรสภาพวัสดุเศษเหลือโรงงานแปรรูปอาหารทะเลด้วยเทคโนโลยีชีวภาพและการประยุกต์ใช้, วารสารสงขลานครินทร์ วทท, Vol. 24(2), pp. 341-356.
- วิภาวรรณ ศรีมุข , 2550, เรื่องน่ารู้ของเห็ด , [online], แหล่งสืบค้นออนไลน์ Available: [http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp\\_12\\_2550\\_Mushroom.pdf](http://www.dss.go.th/dssweb/st-articles/files/bsp_12_2550_Mushroom.pdf)
- ศิริวรรณ สุทธิจิตต์ และไมตรี สุทธิจิตต์, 2548, ผลกระทบต่อรสชาติเพื่อสุขภาพ, พิมพ์ครั้งที่ 4, The Knowledge Center, กรุงเทพฯ, 423 หน้า.
- สุปราณี แยมพราย, 2539, การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากของเหลือจากโรงงานผลิตซูริมิ เพื่อใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมและการเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- อุบลรัตน์ สิริภักทวารวณ, 2535, การผลิตไฮโดรไลซ์เวเจตเทเบิลโปรตีนจากโปรตีนถั่วเขียวเพื่อใช้เป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรสอาหาร, วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 97 หน้า.
- Adler-Nissen, J., 1986, Enzymic hydrolysis of food protein, Vanderbilt, New York, p. 421.
- Banjongsinsiri, P., Pasakawee, K., Noojuy, N., Taksima, T. and Rodsuwan, U., 2016, Production of mushroom protein hydrolysates by enzymatic hydrolysis and their physicochemical properties. Food and Applied Bioscience Journal, 4(3), 161-170.
- Bernas., E., Jaworska G., and Lisiewska Z., 2006, Edible mushrooms as a source of valuable nutritive constituents, Acta Science Pol., Technol. Aliment., Vol.5, No. 1, pp. 5-20.
- Chang, S.T. and Miles, P.G., 2004, Mushroom Cultivation, Nutritional Values, Medicinal Effect, and Environmental Impact, 2nd ed., CRC Press, pp. 2-359.
- Cheung, L.M., Cheung, P.C.K., Ooi, V. E.C., 2003, Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts, Food Chemistry, Vol. 81, pp. 249-255.
- Cho, I. H., Choi, H.-K., and Kim, Y.-S., 2006, Difference in the Volatile Composition of Pine-Mushrooms (*Tricholoma matsutake* Sing.) According to Their Grade, Journal of Agricultural and Food Chemistry, Vol. 54, pp. 4820-4825
- Hall, G.M., and Ahmad, N.H., 1992, Functional properties of fish protein hydrolysate. In fish processing technology, G.M. Hall (ed). London: Blackle Academic
- Howell, N. K., 1996, Chemical and Enzymatic Modification, YCH publishers, New York, pp. 235-280.
- Hudson, B. J. F., 1992, Biochemistry of food protein, Elsevier Applied Science, London, pp. 235-248.
- Kaye, G.I., Weber, P.B., and William, M.W., 2004, Alkaline hydrolysis [online], Available: <http://www.google.co.th/alkalinehydrolysis.html>

- Lee, J.Y., Lee, H.D. and Lee, C.H., 2001, Characterization hydrolysates produced by mild-acid treatment and enzymatic hydrolysis of defatted soybean flour, *Food Research International*, Vol.34, pp. 217-222.
- Lim, Y. Y., Lim, T. T. and Tee, J. J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. *Food Chemistry* 103, 1003-1008.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J. A., Luzio, G., Talcott, S. T., Goodner, K. and Baldwin, E. A. 2006. Total antioxidant activity and fiber content of select florida-grown tropical fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 7355-7363.
- Manley, C.H. and Fagerson, I.S., 1970, Major volatile neutral and acid compounds of hydrolyzed soy protein. *Journal of Food Science*, Vol. 35, No. 3, pp. 286-291.
- Manley, C.H. and Fagerson, I.S., 1971. Aspects of aroma and taste characteristics of hydrolyzed vegetable protein, *The Flavor Industry*, Vol. 2, No. 12, pp. 686-690.
- Manzi, P., and Pizzoferrato L., 2000, Beta-glucans in edible mushrooms, *Food Chemistry*, Vol. 68, No. 3, pp. 315-318.
- Morawicki, R. O., Beelman, R. B., Peterson, D., and Ziegler, G., 2005, Biosynthesis of 1-octen-3-ol and 10-oxo-trans-8-decenoic acid using a crude homogenate of *Agaricus bisporus* Optimization of the reaction: kinetic factors, *Process Biochemistry*, Vol. 40, pp. 131-137.
- Nagodawithana, T.W., 1994, *Savory flavor*, A Wiley-Interscience Publication, pp. 235-285.
- Olsman, H., 1979, Hydrolyzed and autolyzed vegetable protein as functional food ingredients, *Journal of the American Oil Chemists' Society*, Vol. 56 (3), 375-376.
- Peterson, J., 1974, *Encyclopedia of Food Technology*. Van Nostrand reinhold company, NewYork, p. 150.
- Peterson, M.S. and Johnson, A.H., 1978. *Encyclopedia of Food Science*, AVI Publishing Company, Connecticut, 1005 p.
- Picardi, S. M., and Issenberg, P., 1973, Investigation of some volatile constituents of mushrooms (*Agaricus bisporus*): Changes which occur during heating, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol. 21, pp. 959-962.
- Rapior, S., Marion, C., Pe' lissier, Y., Bessie're, J. M., 1997, Volatile composition of fourteen species of fresh wild mushrooms (Boletales), *J. Essent. Oil Res.*, Vol. 9, pp. 231-234.
- Sugimoto, H., Jerome, P., Van B., and Willard, B.P., 1971, An Enzymatic Process for a Protein-Containing Beverage based on Soybean Protein and Melon Juice, *Journal of Food Science*, Vol. 36, pp. 729-731.
- Tseng, Y. H., Yang J. H., Mauc, J. L., 2008, Antioxidant properties of polysaccharides from *Ganoderma tsugae*, *Food Chemistry*, Vol. 107, pp. 732-738.
- Vanden Ouweland, G. A. M. Olsman, H. and Peer, H. G., 1978, Past, Present, Future, In *Agriculture and Food Chemistry*, Teranishi, R.(Ed.), AVI Publishing Co., Westport, CT, 292 p.
- Wu, L.-C., Hsu, H.-W., Chen, Y.-C., Chiu, C.-C., Lin, Y.-I. and Ho, J.-A.A. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. *Food Chemistry*, 95, 319-327
- Yong, F.M., and Wood, J.B., 1974, Microbiological and biochemistry of soy sauce fermentation, *Adv. Appl. Microbiology*, Vol. 17, pp 157-195.

## ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

### ปริมาณผลผลิต (% yield)

$$\frac{\text{ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดของโปรตีนไฮโดรไลเซต} \times 100}{\text{น้ำหนักของเห็ดแห้งเริ่มต้น}}$$

### ปริมาณเกลือ

นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้มาวัดด้วยเครื่องวัดความเค็ม แล้วอ่านสเกลที่ได้ ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ

### การทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (ของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด)

นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าทั้งหมดที่ได้มาทดสอบหาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง Pocket Refractometer โดยเซต Zero ด้วยน้ำกลั่น และหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ จำนวน 3 ซ้ำ

### การทดสอบความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าทั้งหมดที่ได้มาทดสอบความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่องวัดพีเอช ก่อนทำการทดสอบ ต้องทำการสอบเทียบเครื่องมือด้วยสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7 และสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 4 ตามลำดับ แล้วจึงหยดตัวอย่างเพื่อทดสอบ

### การวัดค่าสี

นำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้ มาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี UltraScan VIS โดยนำตัวอย่างเห็ดนางฟ้าที่ได้ทั้งหมดใส่ควิวเวทท์พลาสติก

### การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

ปีเปตสารละลายโปรตีนที่ได้จากการสกัดมา 1.0 ไมโครลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร จากนั้นปีเปตสารละลายโปรตีนที่เจือจางแล้ว 5.0 ไมโครลิตร เติมน้ำในหลอดทดลองและเติมสารละลาย Alkali copper ปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร (Lowry *et al.*, 1951)

### ระดับการย่อย (Degree of Hydrolysis, %DH)

ไฮโดรไลเซต 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge

2 เติมน้ำกรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloroacetic acid, TCA) เข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

3 เขย่าให้เข้ากันประมาณ 2 นาที แล้วนำไปเซนตริฟิวส์ด้วยความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที

4 นำส่วนของเหลวใสด้านบนไปวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามข้อที่ 6 และนำมาคำนวณระดับการย่อยสลาย ดังนี้

การคำนวณ

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \frac{\text{soluble protein content in 10\% TCA (mg)}}{\text{Total protein content (mg)}} \times 100$$

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์ฤทธิ์ทางชีวภาพ

#### การสกัดสารจากเห็ดนางฟ้า

นำตัวอย่างไฮโดรไลเซตจากเห็ดนางฟ้าปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่บีกเกอร์ เติมตัวทำละลาย คือ 80% เอทานอล บีกเกอร์ละ 40 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร ตั้งบน Hot plate กวนผสมที่ความเร็วเบอร์ 5 เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ลงในหลอดทดลองพลาสติก

#### การทดสอบสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu's reagent (Lim *et al.*, 2007) สารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 0.3 ml ผสมกับ Folin-Ciocalteu's phenol reagent (ที่เจือจางแล้ว 10 เท่า ด้วย distilled water) ปริมาตร 1.5 ml เติมสารละลายความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โซเดียมคาร์บอเนต ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) ปริมาตร 1.2 ml เขย่าให้สารผสมกัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงของสีที่เปลี่ยนแปลงที่ความยาวคลื่น 765 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

#### การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีจาก Wu *et al.*, 2006) โดยปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 ml เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 4 ml และผสมให้เข้ากันเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เขย่าทุก ๆ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน Gallic acid รายงานเป็น mg สมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 g ของตัวอย่าง (mg GA/ 100 g)

## ภาคผนวก ค

### การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

#### สมบัติการละลาย

ละลายตัวอย่างที่ต้องการทดสอบในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายที่ร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วดูดสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองก่อนปรับ PH ของระบบให้ได้ PH ที่แตกต่างกันที่ 2.0 – 12.0 โดยใช้ 1 M NaOH จากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายของระบบในแต่ละหลอดทดลองให้ได้ 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นซึ่งมีค่า PH เท่ากับ สารละลายตัวอย่างเริ่มต้น นำตัวอย่างที่ผสมแล้วไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 g เป็นเวลา 5 นาที (Phongthai *et al.*, 2016)

#### สมบัติการอุ้มน้ำ

วัดสมบัติการอุ้มน้ำโดยการชั่งตัวอย่าง 0.25 กรัม ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที (เขย่าทุก 5 นาที) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นแยกส่วนใสกับตะกอนออกจากกัน Phongthai *et al.* (2016)

#### การเกิดอิมัลชัน

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมน้ำมันถั่วเหลือง 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 10,000 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที เพื่อให้เกิดอิมัลชัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3000 g เป็นเวลา 5 นาที วัดปริมาตรอิมัลชันที่เกิดขึ้น ดัดแปลงจาก Cao และคณะ (2009)

#### ความสามารถในการเกิดโฟม

เตรียมตัวอย่างความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดเซนตริฟิวซ์ ขนาด 50 มิลลิลิตร ปั่นให้เกิดโฟมด้วยโฮโมจีไนเซอร์ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที วัดปริมาตรของฟองที่เกิดขึ้น ดัดแปลงจาก Cao และคณะ (2009)

ภาคผนวก ง  
การทดสอบทางประสาทสัมผัส

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส  
ผลิตภัณฑ์ โปรตีนไฮโดรไลเซทจากเห็ดนางฟ้า

ชื่อผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส.....

คำชี้แจง กรุณาให้ 1 บนแถบคะแนนเป็นด้านกลิ้งในอุดมคติของผู้ทดสอบชิม จากนั้นผู้ทดสอบดมกลิ้งตัวอย่าง  
ผลิตภัณฑ์แต่ละตัวอย่างและให้ X พร้อมทั้งเขียนรหัสกำกับ

กลิ้ง    น้อย    \_\_\_\_\_    มาก

## ภาคผนวก จ

### แบบสรุปคุณลักษณะและการใช้ประโยชน์จากการวิจัย

### แบบสรุปคุณลักษณะและการใช้ประโยชน์จากการวิจัย

**ชื่อโครงการ** สมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเซตเห็ดนางฟ้าโดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสและน้ำร้อน

**คณะผู้วิจัย** หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. วิจิตรา เหลียวตระกูล  
ผู้ร่วมโครงการ ดร.วชิรญา เหลียวตระกูล และนางสาวจิระประภา แสงอยู่

**หน่วยงานที่สังกัด** สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร  
คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

**ประเภทของงบประมาณ**  งบประมาณผลประโยชน์  
 งบประมาณแผ่นดิน  
 งบอื่น ๆ ระบุ.....กองทุนส่งเสริมงานวิจัย.....

ปีที่รับการสนับสนุนงบประมาณ 2564 จำนวนเงิน 20,000 บาท

ระยะเวลาดำเนินการวิจัยเริ่มเดือนตุลาคม พ.ศ.2563 สิ้นสุดเดือนกันยายน พ.ศ.2564

#### คุณลักษณะและประโยชน์ที่ได้รับ :

องค์ความรู้ในการสกัดโปรตีนไฮโดรไลเซตจากเห็ด และสามารถนำไปขยายผล โดยนำไปใช้ประโยชน์จากนวัตกรรมอาหารเพื่อสุขภาพและอาหารฟังก์ชัน และเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ในผลิตภัณฑ์อิมัลชันที่เป็นทางเลือกในการใช้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากพืชทดแทนเนื้อสัตว์ โดยเฉพาะผู้บริโภคที่รักสุขภาพ และกลุ่มผู้บริโภคที่แพ้เนื้อสัตว์ ไข่และถั่ว และด้านวิชาการ คือ ผลงานวิจัยที่ได้จะตีพิมพ์ในวารสารวิชาการที่อยู่ในฐานข้อมูล

**กลุ่มเป้าหมาย :** กลุ่มเกษตรกร กลุ่มแปรรูป ผู้ประกอบการ และผู้สนใจ

#### หากได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ ท่านนำไปใช้ประโยชน์ในด้านใด

- ด้านวิชาการ : ต้นฉบับอยู่ระหว่างการเขียนเพื่อขอพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ
- ด้านบริการวิชาการและสังคม
- ด้านการเรียนการสอน : ในการเรียนการสอนในรายวิชาปัญหาพิเศษ
- ใช้ในการอุตสาหกรรม
- ใช้ในการพัฒนาประเทศ