ผลของเวลาการสกัดด้วยน้ำร้อนต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า

วิจิตรา เหลียวตระกูล[1*] และ จิระประภา แสงอยู่[2]
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ อ.พระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000

[*] Corresponding Author: L_wijitra@hotmail.com
[1] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร
[2] นักศึกษาปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร

ข้อมูลบทความ

ประวัติบทความ :
รับเพื่อพิจารณา : 13 พฤษภาคม 2564
แก้ไข : 24 มกราคม 2565
ตอบรับ : 7 กุมภาพันธ์ 2565
DOI : 10.14456/kmuttrd.2022.5

คำสำคัญ :
เห็ดนางฟ้า / สมบัติเชิงหน้าที่ / การสกัดด้วยน้ำร้อน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของเวลาการสกัดด้วยน้ำร้อน (0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง) ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า จากผลการศึกษาพบว่า เมื่อเวลาการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ทำให้สารสกัดจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณผลผลิต (ร้อยละ 18.77-24.73) ความเค็ม (ร้อยละ 3.00-4.00) ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด (3.57-4.70 องศาบริกซ์) ค่าสี b^* (-0.07-0.44) ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด (50.48-57.64 mg GAE/100g) ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (14.34-15.34 mg GAE/100g) เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ทำให้สมบัติการละลายน้ำที่ pH 7 และ 11 (ร้อยละ 88.00 เป็นร้อยละ 68.67 และจากร้อยละ 65.33 เป็นร้อยละ 35.00 ตามลำดับ) และความคงตัวของอิมัลชัน (ร้อยละ 24.33 เป็นร้อยละ 16.67) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เวลาการให้ความร้อนเป็น 4 ชั่วโมงทำให้ได้ระดับการย่อยสูงที่สุดเป็นร้อยละ 45.69 จากนั้น ระดับการย่อยจะลดลงและคงที่เป็นร้อยละ 30.12-30.22 เมื่อให้ความร้อนนาน 8 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด (486.93 µg/ml) นอกจากนี้ พบว่าสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าด้วยน้ำร้อนไม่มีสมบัติในการเกิดโฟม

Impact of Hot-water Extraction Time on Physicochemical, Antioxidant and Functional Properties of *Pleurotus sajor-caju* Extracts

Wijitra Liaotrakoon[1*] and Jiraprapha Sangyoo[2]
Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Phra Nakhon Si Ayutthaya 13000

[*] Corresponding Author: L_wijitra@hotmail.com
[1] Assistant Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry.
[2] Undergraduate Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology and Agro-Industry.

Article Info

Article History:
Received: May 13, 2021
Revised: January 24, 2022
Accepted: February 7, 2022
DOI : 10.14456/kmuttrd.2022.5

Keywords:
Pleurotus sajor-caju /
Functional Properties /
Hot-water Extraction

Abstract

This research aimed to study the effect of hot-water extraction time (0 , 4 , 8 and 12 h) at 95°C on physicochemical properties, antioxidant activity and functional properties of *Pleurotus sajor-caju* extracts. Prolonged heating time resulted in an increase in %yield (18.77-24.73%), salinity (3.00-4.00%), total soluble solids content (3.57-4.70°Brix), *b** value (-0.07-0.44), total phenolics content (50.48-57.64 mg GAE/100g), and DPPH-based antioxidant activity (14.34-15.34 mg GAE/100g) of *Pleurotus sajor-caju* aqueous extracts ($p \leq 0.05$). On the other hand, prolonged heating time resulted in decreased water solubility at pH 7 and 11 (88.00 to 68.67%, and 65.33 to 35.00%, respectively) as well as emulsion stability (24.33 to 16.67%) of the extracts ($p \leq 0.05$). At 4-h heating time, the degree of hydrolysis of the extract was the highest (45.69%); beyond this time such a degree decreased and remained at 30.12-30.22%. The maximum protein content was observed (486.93 µg/ml) at 8-h heating time. All the extracts did not exhibit any foam formation capability.

1. บทนำ

เห็ดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงและอุดมด้วยสารพฤกษเคมี (Phytonutrients) ที่สำคัญ ที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน และมีผลต่อการลดความเสี่ยงในการเกิด โรคต่างๆ ซึ่งเห็ดนางฟ้า (*Pleurotus sajor-caju*) เป็นเห็ดทีมีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง ที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เห็ดนางฟ้ามีโปรตีนสูง และมีกรดอะมิโนที่จำเป็น (Essential Amino Acids) ได้แก่ ลิวซีน (Leucine) ไลซีน (Lysine) เมทไธโอนีน (Methionine) ซิสเทอีน (Cysteine) และฟีนลิอะลานีน (Phenylalanine) เป็นต้น [1-4] เห็ดมีสารโพลีแซคคาร์ไรด์ชนิดที่ไม่ย่อยสลายโดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร จึงมีสมบัติเป็นพรีไบโอติค (Prebiotics) ที่ช่วยระบบการย่อยอาหารลดความเสี่ยงการเกิดมะเร็งลำไส้ และช่วยลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือดอีกด้วย [5-6] โปรตีนจากพืชมีคุณค่าทางโภชนาการ กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว เส้นใยอาหาร และสารพฤกษเคมีที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ส่งผลช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และอาจลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ [7-8] โปรตีนจากพืช มีสมบัติเชิงหน้าที่แตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับปัจจัยภายใน ได้แก่ ปริมาณและลำดับกรดอะมิโน ขนาด รูปร่างและโครงสร้างของโปรตีน สมบัติความไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic) และสมบัติความชอบน้ำ (Hydrophilic) และขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอก ได้แก่ ด้านกายภาพ เช่น ความร้อน ความดัน สนามไฟฟ้าและคลื่นต่าง ๆ และด้านเคมี เช่น ความเป็นกรด-ด่าง และความแข็งแรงไอออนิกในโครงสร้างของโปรตีน เป็นต้น [9] โปรตีนจากพืชจึงมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นโปรตีนที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีสมบัติเชิงหน้าที่ทีหลากหลาย และถือเป็นโปรตีนทางเลือกที่เป็นโปรตีนสะอาดเมื่อเทียบกับโปรตีนจากเนื้อสัตว์ อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการย่อยและการดูดซึมภายในร่างกายขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของโปรตีน [10-11] การย่อยโปรตีนเกิดจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ทำการย่อยสลายโปรตีนที่บริเวณพันธะเปปไทด์ ทำให้ได้เปปไทด์สายสั้นลงและกรดอะมิโนอิสระ อาจเกิดการเปลี่ยนแปลง โครงสร้างที่ส่งผลต่อสมบัติของโปรตีน [12] เช่น โปรตีนมีน้ำหนักโมเลกุล ต่ำลง และมีความเป็นขั้วเพิ่มขึ้น จึงช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายได้ดีขึ้น ซึ่งการปรับปรุงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีน ด้วยกระบวนการย่อยสลายโปรตีนนั้นสามารถทำได้หลายวิธี เช่น วิธีทางกายภาพโดยใช้ความร้อน ซึ่งเป็นวิธีการแบบดั้งเดิม และยังช่วยเพิ่มความปลอดภัยทางอาหารด้านจุลินทรีย์ ช่วยกำจัดความเป็นพิษของวัตถุดิบ ปรับปรุงเนื้อสัมผัสและรสชาติของอาหาร และยังช่วยทำให้สารก่อภูมิแพ้ลดลง [13] ส่วนการใช้เอนไซม์โปรตีเอสที่สามารถตัดพันธะเปปไทด์ของโปรตีนได้อย่างจำเพาะเจาะจง จะ ได้โปรตีนทีมีคุณภาพตามต้องการ แต่มีราคาแพง สำหรับการใช้กรดหรือด่าง เป็นวิธีที่มีราคาถูก สามารถย่อยสลายโปรตีนได้รวดเร็ว แต่อาจทำให้มีสารเคมีตกค้างจากกระบวนการผลิตได้ [14-15] นอกจากเห็ดจะมีโปรตีนสูงและมีกรดอะมิโนที่จำเป็นแล้ว เห็ดยังมีกรดกลูตามิก (Glutamic Acid) ที่ทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นประสาทการรับรู้รสอาหารของลิ้นให้ไวกว่าปกติจึงเหมาะในการนำมาทำเป็นสารปรุงแต่งกลิ่นรส เช่น โปรตีนที่ผ่านการให้ความร้อนที่ 95 องศาเซลเซียส จากเห็ดหอม (*Lentinula edodes*) และเห็ดนางรม (*Pleurotus ostreatus*) [16] นอกจากนี้พบว่าการย่อยโปรตีนจากเห็ดหอม เห็ดนางรม และเห็ดเป๋าฮื้อ (*Pleurotus ostreatus* (FR.) *Guel*) ด้วยเอนไซม์ปาเปน เมื่อเวลาการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ระดับการย่อยสลาย ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โซเดียม คลอไรด์ ไนโตรเจน โปรตีน และกรดอะมิโนอิสระเพิ่มขึ้น [17]

หรือสามารถใช้พืชทางเลือกต่างๆ เช่น โปรตีนจากกากทานตะวันโดยการย่อยด้วยเอนไซม์โปรมิเลนและ Flavourzyme ® มีผลต่อประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และยังแสดงสมบัติเชิงหน้าที่ในการเกิดฟองและอิมัลชัน [18] โปรตีนจากเห็ดสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ มีแนวโน้มได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมอาหารเพิ่มขึ้น เป็นโปรตีนทางเลือกที่เหมาะสมกับผู้ที่หลีกเลี่ยงโปรตีนจากเนื้อสัตว์หรือโปรตีนจากแป้งสาลีที่มีกลูเตน (Gluten) สามารถนามาใช้เป็นส่วนผสมหรือวัตถุดิบในการผลิต อาหารได้หลากหลายชนิด อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาถึงสมบัติทางเคมีกายภาพ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเป็นสาคัญ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนจากเห็ดนางฟ้าด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้โปรตีนจากเห็ดนางฟ้า ที่ปราศจากสารเคมีและหลีกเลี่ยงรสขมจากเอนไซม์ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ต่อไป

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดเห็ดนางฟ้าโดยการให้ความร้อน

นำเห็ดนางฟ้ามาหั่นเป็นชิ้นบาง ๆ แล้วนำมาอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด (Tray Dryer) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ตัวอย่างเห็ดนางฟ้าอบแห้งมีปริมาณความชื้นสุดท้ายร้อยละ 5.50±0.50 นำเห็ดที่อบแห้งแล้วมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (MF10, IKA) ที่ความเร็วรอบ 4,500 รอบต่อนาที ร่อนโดยใช้ขนาดตะแกรงรูเปิด 2 มิลลิเมตร (MF 2.0 Sieve, IKA) เพื่อให้ได้ตัวอย่างเห็ดที่มีน้ำหนักแห้งเริ่มต้น และปริมาณความชื้นหลังการคืนตัวเท่ากันและสามารถเก็บรักษาได้นานขึ้น จากนั้น นำเห็ดนางฟ้าแห้งที่บดละเอียดผสมน้ำกลั่น (Distilled Water) ในอัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการสกัดด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่มีการกวนผสมตลอดเวลาเป็นระยะเวลา 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง จากนั้น จึงหยุดปฏิกิริยาโดยนำตัวอย่างจากการสกัดที่มีอุณหภูมิ 95±2 องศาเซลเซียส มาให้ความร้อนใน อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารละลายที่ได้มากรองด้วยกระดาษกรองเพื่อแยกเอาส่วนที่เป็นตะกอนออกแล้วจะได้ส่วนใสที่เป็นสารที่สกัดได้จากเห็ดนางฟ้า จากนั้น คำนวณหาร้อยละของปริมาณผลผลิต (Yield) ตามสมการที่ (1)

$$\text{ปริมาณผลผลิต (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดของสารสกัด}}{\text{น้ำหนักเห็ดนางฟ้าเริ่มต้น}}\right) x100 \quad (1)$$

2.2 การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพ

วิเคราะห์ความเค็มของตัวอย่างสารสกัด โดยใช้ Salinity Refractometer (RHS-28 ATC, ประเทศไทย) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดด้วยเครื่อง Refractometer (PAL-1 Atago, ประเทศญี่ปุ่น) วิเคราะห์ความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่องวัดพีเอช (PH 33 LAQUA Series, ประเทศญี่ปุ่น) และวิเคราะห์ค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Spectrophotometer Konica Minolta Color, CM3600A, ประเทศญี่ปุ่น) โดยการใส่ตัวอย่างสารสกัดลงในคิวเวทท์และทำการวิเคราะห์ตัวอย่างที่อุณหภูมิห้องวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ระดับการย่อยโดยวิธี Trichloroacetic Acid (TAC) ดัดแปลงวิธีของ Flavia and Maria [20] นำตัวอย่างสารสกัดเห็ดนางฟ้า 10 มิลลิลิตร เติม TCA ความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (MIKRO 200/200R/220R) ความเร็ว 3,000 × g เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Lowry และคณะ [19] และคำนวณตามสมการที่ (2)

$$\text{ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{ปริมาณโปรตีนหลังจากการย่อยด้วย TAC}}{\text{ปริมาณโปรตีนของสารสกัดที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วย TAC}}\right)x100 \quad (2)$$

สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีที่ดัดแปลงจาก Lowry และคณะ [19] โดยปิเปต ตัวอย่าง 1 ไมโครลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายโปรตีนที่เจือจางแล้ว 5 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Alkali Copper ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu's Reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Visible Spectrophotometer (Libra S11 Biochrom, USA)

2.3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 การสกัดสารจากเห็ดนางฟ้า

นำตัวอย่าง 20 มิลลิกรัม เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 ปริมาตร 80 มิลลิลิตร กวนผสมเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 จะได้สารสกัดสำหรับนำไปวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

2.3.2 สารประกอบฟินอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu's [21] นำสารสกัดจากตัวอย่างปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu's Phenol Reagent ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น ร้อยละ 7.5 ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด นาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วย เครื่อง Visible Spectrophotometer (Libra S11 Biochrom, USA) เทียบกับกราฟมาตรฐาน สารละลายกรดแกลลิกและรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง (mg GAE/100g)

2.3.3 ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1Picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงวิธีจาก Wu และคณะ [22] โดยปิเปตสารสกัดจากตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.6 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 4 มิลลิลิตร เก็บไว้ในทีมืดเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Visible Spectrophotometer (Libra S11 Biochrom, USA) นำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานสารละลายกรด แกลลิกและรายงานเป็น mg GAE/100g

2.4 การวิเคราะห์สมบัติเชิงหน้าที่

2.4.1 สมบัติการละลาย

วิเคราะห์สมบัติการละลายโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Phongthai และคณะ [23] ทำการละลายตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าในน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ปรับ pH เป็น 7 และ 11 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 5 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นและนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (MIKRO 200/200R/220R) ความเร็ว 3,000 × g เป็นเวลา 5

นาที นำส่วนใสไปอบแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นคำนวณค่าการละลายเป็นร้อยละตามสมการที่ (3)

$$\text{การละลาย (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือหลังการอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}\right) x100 \quad (3)$$

2.4.2 สมบัติการอุ้มน้ำ

วิเคราะห์สมบัติการอุ้มน้ำโดยการชั่งตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า 0.25 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร และปล่อยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เขย่าทุก 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (MIKRO 200/200R/220R) ความเร็ว 3,000 × g เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นคำนวณค่าการอุ้มน้ำเป็นร้อยละตามสมการที่ (4) โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Phongthai และ คณะ [23]

$$\text{การอุ้มน้ำ (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{น้ำหนักตะกอนหลังการปั่นเหวี่ยง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}\right) x100 \quad (4)$$

2.4.3 ความคงตัวของอิมัลชัน

วิเคราะห์สมบัติความคงตัวของอิมัลชันโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Cao และคณะ [24] เตรียมตัวอย่างสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำมันถั่วเหลือง 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (T18, Malaysia) ที่ความเร็ว 10,000 × g เป็นเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้เกิดอิมัลชัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 × g เป็นเวลา 5 นาที วัดปริมาตรอิมัลชันที่เกิดขึ้น และคำนวณตามสมการที่ (5)

$$\text{ความคงตัวของอิมัลชัน (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{ปริมาตรสารละลายอิมัลชัน}}{\text{ปริมาตรสารละลายทั้งหมด}}\right) x100 \quad (5)$$

2.4.4 ความคงตัวของโฟม

วิเคราะห์สมบัติความคงตัวของโฟมโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Cao และคณะ [24] เตรียมตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปั่นให้เกิดโฟมด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (T18, Malaysia) ความเร็ว 10,000 × g นาน 1 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดปริมาตรฟองที่เกิดขึ้น และคำนวณตามสมการที่ (6)

$$\text{ความคงตัวของโฟม (ร้อยละ)} = \left(\frac{\text{ปริมาตรโฟมที่เกิดขึ้น}}{\text{ปริมาตรสารละลายทั้งหมด}}\right) x100 \quad (6)$$

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานนำข้อมูลมาเปรียบเทียบความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Tests ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

3.1 สมบัติทางเคมีกายภาพของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า

เมื่อนำเห็ดนางฟ้ามาย่อยด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 0, 4, 8 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเวลาในการสกัดด้วยความร้อนมีผลต่อปริมาณผลผลิตหรือ %Yield ความเค็ม และ ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นเป็น 12 ชั่วโมง ทำให้สารสกัดจากเห็ดนางฟ้ามีปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 18.77 เป็นร้อยละ 24.73 ความเค็มเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 3.00 เป็นร้อยละ 4.00 และปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้น 3.57 องศาบริกซ์ เป็น

4.70 องศาบริกซ์ ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการศึกษาของ Tontibout และคณะ [16] พบว่าเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมดของโปรตีนไฮโดรไลเสต ที่ย่อยจากเห็ดหอมและเห็ดนางรมเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 1 สมบัติทางเคมีกายภาพของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อนในเวลาต่างกัน

เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	ปริมาณผลผลิต (%Yield)	ความเค็ม (ร้อยละ)	ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด (°Brix)
0	18.77 ± 0.25^{c}	3.00 ± 0.00^{c}	3.57 ± 0.05^{c}
4	20.52 ± 0.00^{b}	3.00 ± 0.00^{c}	3.90 ± 0.00^{b}
8	24.56 ± 0.89^{a}	3.40 ± 0.00^{b}	4.67 ± 0.17^{a}
12	24.73 ± 0.86^{a}	4.00 ± 0.00^{a}	4.70 ± 0.16^{a}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 2 พบว่า เวลาในการสกัดด้วยความร้อนไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (6.54-6.56) ค่าสี *L** (ความสว่าง) (33.98-34.81) และค่าสี *a** (สีเขียว-สีแดง) (-0.52 ถึง -0.60) ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แต่มีผลต่อค่าสี *b** (สีน้ำเงิน-สีเหลือง) ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานขึ้น ทำให้ตัวอย่างมีสีเหลืองมากขึ้น (-0.07-0.44) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยา เมลลาร์ด (Maillard Reaction) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่ใช้เอนไซม์ (Non-Enzymatic Browning Reaction) ทำให้เกิดสารสีน้ำตาลขึ้นระหว่างกระบวนการสกัดเห็ดด้วยความร้อน [25] จากรูปที่ 1 (ก) พบว่า เมื่อย่อยจนถึง 8 ชั่วโมง ปริมาณโปรตีนของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 166.62 µg/ml เป็น 486.93 µg/ml และเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นเป็น 12 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณโปรตีนลดลงเป็น 419.74 µg/ml ส่วนรูปที่ 1 (ข) พบว่า เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 2 ชั่วโมง เป็น 4 ชั่วโมง ทำให้ระดับการย่อยเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 13.53 เป็นร้อยละ 45.69 จากนั้น ระดับการย่อยจะลดลงที่ 8 ชั่วโมง และคงที่ที่ 12 ชั่วโมง (ร้อยละ 30.12-30.22) ตามลำดับ ผลการทดลองนี้สามารถเทียบเคียงได้กับการย่อยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากเห็ดนางรม เห็ดเป๋าฮื้อ และเห็ดหอมด้วยเอนไซม์ปาเปน ซึ่งมีระดับการย่อยร้อยละ 25.75-46.54 [17] ดังนั้น การสกัดโดยการให้ความร้อน เป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการช่วยลดรสขมจากการใช้เอนไซม์ในการย่อยสลายโปรตีน และช่วยลดปัญหาการเกิดสารพิษจากการใช้สารเคมีในการย่อยสลายได้

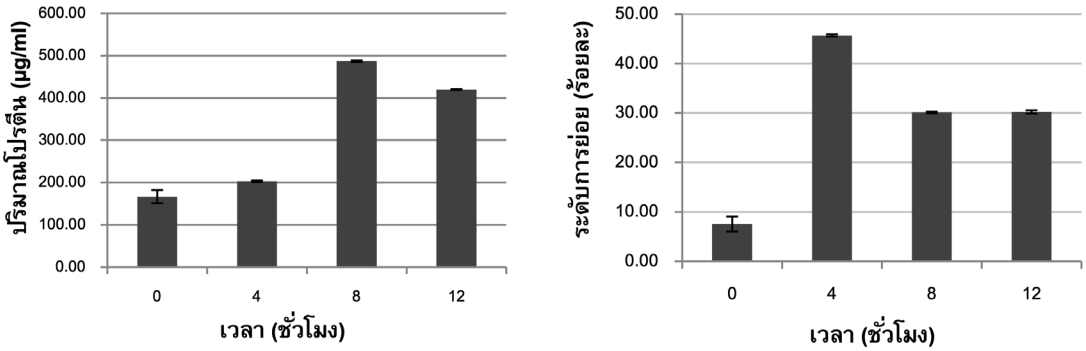
3.2 ผลกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า

ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี DPPH ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า ที่สกัดด้วยน้ำร้อนในเวลาที่ต่างกัน แสดงดังรูปที่ 2 พบว่า เวลามีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าโดยเมื่อ

ตารางที่ 2 ค่าความเป็นกรด-ด่างและค่าสีของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อนในเวลาต่างกัน

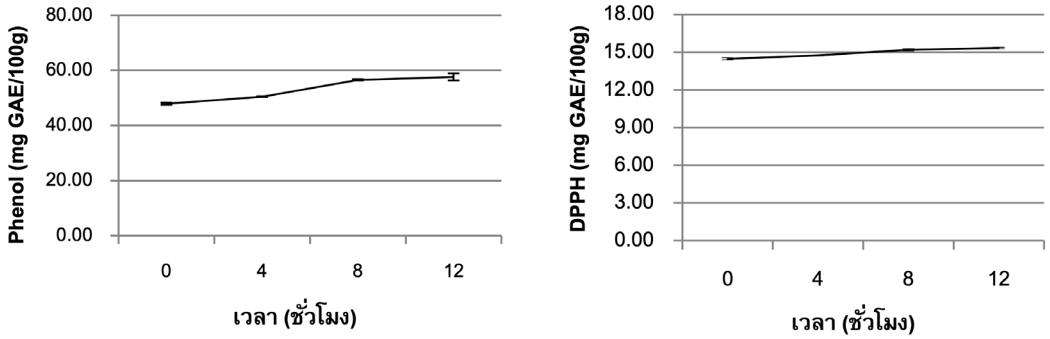
เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	pH^{ns}	ค่าสี L^{*ns}	ค่าสี a^{*ns}	ค่าสี b^*
0	6.54 ± 0.02	34.54 ± 0.34	-0.52 ± 0.06	-0.07 ± 0.04^{c}
4	6.56 ± 0.00	33.98 ± 0.54	-0.59 ± 0.07	-0.32 ± 0.05^{b}
8	6.56 ± 0.01	34.78 ± 0.28	-0.56 ± 0.04	0.44 ± 0.09^{a}
12	6.54 ± 0.02	34.81 ± 0.43	-0.60 ± 0.09	0.42 ± 0.07^{a}

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns แสดงถึงค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



(ก) (ข)

รูปที่ 1 (ก) ปริมาณโปรตีนและ (ข) ระดับการย่อยของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อน



(ก) (ข)

รูปที่ 2 (ก) ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดและ (ข) ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อน

เวลาในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่ว โมง ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จาก 50.48 mg GAE/100g เป็น 57.64 mg GAE/100g และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจาก 14.34 mg GAE/100g เป็น 15.34 mg GAE/100g ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารพฤกษเคมีในเห็ดนางฟ้าที่เป็นสารโพลีฟีนอลที่ละลายน้ำ (Water-Soluble Polyphenols) ถูกสกัดออกมาเมื่อได้รับความร้อน เช่นเดียวกับผลการศึกษาที่รายงานว่า ปริมาณแทนนินในใบชามีปริมาณมากขึ้นเมื่อแช่ในน้ำร้อนนานขึ้น [26] และเมื่อแช่ชาดอกแคในน้ำร้อนที่ 95 องศาเซลเซียสนานขึ้น จะทำให้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด และความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น [27]

3.3 ผลสมบัติเชิงหน้าที่ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า

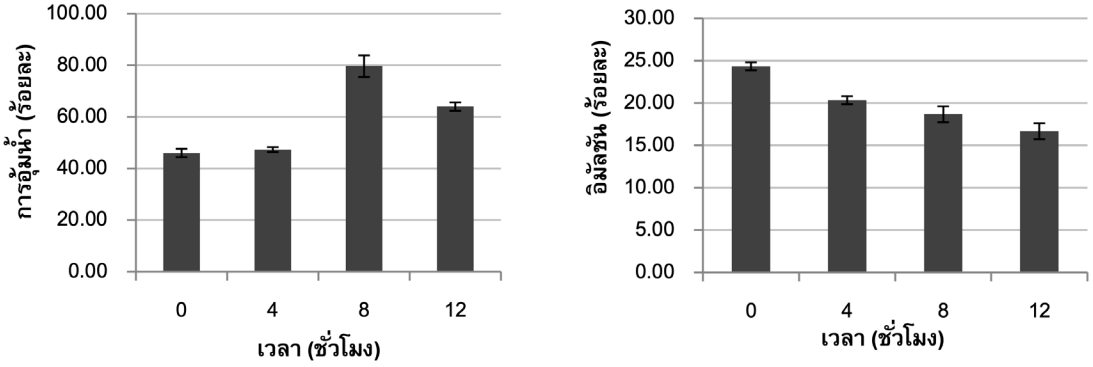
เวลาในการสกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส มีผลต่อการละลายน้ำของสารสกัดเห็ดนางฟ้าที่ pH 7 และ 11 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 3 เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นเป็น 12 ชั่วโมง ทำให้โปรตีนในสารสกัดจากเห็ดนางฟ้ามีสมบัติการละลายน้ำที่ pH 7 และ 11 ลดลงจากร้อยละ 88.00 เป็นร้อยละ 68.67 และจากร้อยละ 64.67-65.33 เป็นร้อยละ 35.00 ตามลำดับ และพบว่าสมบัติการละลายน้ำที่ pH 7 มีค่ามากกว่าสมบัติการละลายน้ำที่ pH 11 ซึ่งสมบัติของการละลายน้ำเป็นสมบัติพื้นฐานที่สำคัญ เนื่องจากมีผลต่อสมบัติอื่นๆ เช่น การเกิดโฟมและการเกิดอิมัลชัน เป็นต้น เมื่อโปรตีนมีขนาดเล็กลงหรือมีการคลายตัว ความสามารถในการละลายของโปรตีนจะเพิ่มขึ้น แต่ในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำหรือสูงกว่าจุด Isoelectric Point (pI) โปรตีนจะแสดงประจุบวกหรือลบตามลำดับ ทำให้สามารถกระจายตัวอยู่ในสารละลายได้ การละลายของโปรตีนจะต่ำสุดที่จุด pI เนื่องจากโปรตีนมีจำนวนประจุบวกและประจุลบภายในโมเลกุลเท่ากัน ทำให้ประจุสุทธิมีค่าเท่ากับศูนย์ จึงทำให้โปรตีนเกิดการตกตะกอน [28] นอกจากนี้ยังพบว่า สารสกัดจากเห็ดนางฟ้าด้วยความร้อนไม่มีสมบัติในการเกิดโฟม และความคงตัวของโฟมเป็นร้อยละ 0.00 ในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบ (ตารางที่ 3) ซึ่งการเกิดโฟมของโปรตีน ต้องสามารถเกิดแผ่นฟิล์ม

ตารางที่ 3 สมบัติเชิงหน้าที่ของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อนในเวลาต่างกัน

เวลาในการสกัด (ชั่วโมง)	การละลายน้ำที่ pH 7 (ร้อยละ)	การละลายน้ำที่ pH 11 (ร้อยละ)	การเกิดโฟม^{ns} (ร้อยละ)
0	88.00 ± 3.97^{a}	64.67 ± 2.81^{a}	0.00 ± 0.00
4	82.33 ± 5.32^{ab}	65.33 ± 2.87^{a}	0.00 ± 0.00
8	75.33 ± 2.05^{b}	50.33 ± 2.57^{b}	0.00 ± 0.00
12	68.67 ± 2.53^{c}	35.00 ± 2.26^{c}	0.00 ± 0.00

หมายเหตุ : ^{a,b,c} ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)
ns แสดงถึงค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

บาง ๆ และแข็งแรงเพียงพอที่สามารถกักเก็บอากาศได้ จากรูปที่ 1 (ข) การสกัดสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าด้วยน้ำร้อนทำให้โปรตีนถูกย่อยสลายโดยระดับการย่อยสลายเพิ่มขึ้นถึงร้อยละ 45.69 เมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น ทำให้การเกิดโฟมลดลง เนื่องจากการย่อยทำให้โปรตีนถูกทำให้เป็นเปปไทด์สายสั้นลง อย่างไรก็ตาม มีรายงานการเกิดโฟม ในโปรตีนไฮโดรไลเสตจากถั่วลิสง [29] และถั่วลูกไก่ (Chickpea) [30] นอกจากนี้พบว่า เมื่อระดับการย่อยเพิ่มขึ้น ทำให้ความคงตัวของโฟมจากโปรตีน Rapeseed มีแนวโน้มลดลง [31] การย่อย โปรตีนไฮโดรไลเสตนั้นสามารถปรับปรุงสมบัติการเกิดโฟมของโปรตีนจากราข้าว [23] และปลาข้างเหลืองได้ [32] ความสามารถในการเกิดฟองจะแตกต่างกันตามชนิดของโปรตีน ซึ่งโปรตีนจากพืช มักจะให้สมบัติการเกิดฟองที่น้อยกว่าโปรตีนจากไข่ขาว เนื่องจากไข่ขาวประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดที่มีความยืดหยุ่นสูง เมื่อเสียสภาพจะสามารถรวมตัวกันตกตะกอนทำให้ฟองที่เกิดขึ้นเกิดการตั้งยอดและคงตัวได้ [33] สมบัติการอุ้มน้ำของสารสกัดของเห็ดนางฟ้าที่ผ่านการสกัดด้วยความร้อน แสดงดังรูปที่ 3 (ก) พบว่า เมื่อทำการสกัดด้วยน้ำร้อน 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สมบัติการอุ้มน้ำของสารสกัดของเห็ดนางฟ้าเป็นร้อยละ 47.33 ใกล้เคียงกับที่เวลาเริ่มต้น (ร้อยละ 46.00) และเมื่อสกัดเป็นเวลา 8 ชั่วโมง จะทำให้มีสมบัติการอุ้มน้ำสูงที่สุด (ร้อยละ 79.67) เนื่องจากเปปไทด์ที่มีขนาดเล็กลง จะมี Ionizable Amino Acid และ Carboxylic Group เพิ่มขึ้น ทำให้สมบัติการชอบน้ำของโปรตีนสูงขึ้น [34] โปรตีนที่มีค่าการอุ้มน้ำมากเหมาะสมสำหรับการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ ทำให้ช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักจากความชื้นที่หายไป อย่างไรก็ตามการย่อยโปรตีนในระดับที่สูงเกินไปจะทำให้โปรตีนสูญเสียโครงสร้างที่สามารถเก็บกักน้ำไว้ภายใน และทำให้สมบัติของการละลายเปปไทด์ขนาดเล็กสูงขึ้นแทน [9, 23] จากรูปที่ 3 (ข) เมื่อเวลาในการสกัดด้วยความร้อนเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 12 ชั่วโมง ทำให้สารสกัดของเห็ดนางฟ้ามีความคงตัวของอิมัลชันลดลงจากร้อยละ 24.33 เป็นร้อยละ 16.67 โปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่และมีสมบัติละลายน้ำน้อย มักส่งผลต่อความสามารถในการเกิดอิมัลชันได้น้อย [32] รวมทั้งการย่อยโปรตีนในระดับสูงมากเกินไป จะส่งผลเสียต่อสมบัติการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ [29, 31]



รูปที่ 3 (ก) สมบัติการอุ้มน้ำและ (ข) การเป็นอิมัลชันของเห็ดนางฟ้าที่สกัดด้วยน้ำร้อน

4. สรุป

การสกัดเห็ดนางฟ้าด้วยน้ำร้อนมีผลต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ การต้านอนุมูลอิสระ และสมบัติเชิงหน้าที่บางประการของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า โดยเมื่อเวลาในการสกัดด้วยน้ำร้อนเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณผลผลิต ความเค็ม ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำได้ทั้งหมด ค่าสี *b** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่มีผลทำให้สมบัติการละลายน้ำที่ pH 7 และ 11 และความคงตัวของอิมัลชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่พบว่าเวลาในการสกัดไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าสี *L** (ความสว่าง) และค่าสี *a** (สีเขียว-สีแดง) ของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) นอกจากนี้พบว่า ปริมาณโปรตีนสูงสุดที่การสกัด 8 ชั่วโมง (486.93 µg/ml) ส่วนการสกัดที่ 4 ชั่วโมง ทำให้ได้ระดับการย่อยสูงที่สุด (ร้อยละ 45.69) และไม่พบสมบัติในการเกิดโฟมของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้า จากสมบัติดังกล่าวของสารสกัดจากเห็ดนางฟ้าที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำร้อน อาจนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อเสริมโปรตีน รวมถึงการใช้เป็นสารเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้

5. กิตติกรรมประกาศ

งบประมาณจากกองทุนส่งเสริมการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ประจำปีงบประมาณ 2564 รวมทั้งอุปกรณ์และเครื่องมือการทำวิจัย จากสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ

6. เอกสารอ้างอิง

1. Chirinang, P. and Intarapichet, K., 2009, "Amino Acids and Antioxidant Properties of The Oyster Mushrooms, *Pleurotus ostreatus and Pleurotus sajor-caju*," *Science Asia*, 35, pp. 326-333.

2. Kanagasabapathy, G., Malek, S.N., Kuppusamy, U.R. and Vikineswary, S., 2011, "Chemical Composition and Antioxidant Properties of Extracts of Fresh Fruiting Bodies of *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59, pp. 2618-2626.

3. Patel, Y., Naraian, R. and Singh, V.K., 2012, "Medicinal Properties of *Pleurotus Species* (Oyster Mushroom): A Review," *World Journal of Fungal and Plant Biology*, 3, pp. 1-12.

4. Manzi, P. and Pizzoferrato L., 2000, "Beta-Glucans in Edible Mushrooms," *Food Chemistry*, 68 (3), pp. 315-318.

5. Aida, F.M.N.A., Shuhaimi, M., Yazid, M. and Maaruf, A.G., 2009, Mushroom as a Potential Source of Prebiotics: A Review," *Trends in Food Science and Technology*, 20, pp. 567-575.

6. Bashir, K.M.I. and Choi, J.S., 2017, "Clinical and Physiological Perspectives of βGlucans: The Past, Present, and Future," *International Journal of Molecular Sciences*, 18 (9), 1906, pp. 1-48.

7. Chardigny, J.M. and Walrand, S., 2016, "Plant Protein for Food: Opportunities and Bottlenecks," *Oilseeds & Fats Crops and*

Lipids, 23 (4), pp. 1-6.

8. Richter, C.K., Skulas-Ray, A.C., Champagne, C.M. and Kris-Etherton, P.M., 2015, "Plant Protein and Animal Proteins: Do They Differentially Affect Cardiovascular Disease Risk?," *Advances in Nutrition*, 13 (6), pp. 712-728.

9. Panyoyai, N., 2020, "Plant-based Proteins: Nutrition, Structure, Functionality, and Applications in Food Industry," *Rajabhat Agriculture Journal*, 19 (1), pp. 61-69. (In Thai)

10. Carbonaro, M., Maselli, P. and Nucara, A., 2012, "Relationship between Digestibility and Secondary Structure of Raw and Thermally Treated Legume Proteins: A Fourier Transform Infrared (FT-IR) Spectroscopic Study," *Amino acids*, 43 (2), pp. 911–921.

11. Joye, I., 2019, "Protein Digestibility of Cereal Products," *Foods*, 8 (6), 199, pp. 1-14.

12. Severin, S. and Xia, W.S., 2006, "Enzymatic Hydrolysis of Whey Proteins by Two Different Proteases and Their Effect on The Functional Properties of Resulting Protein Hydrolysates," *Journal of Food Biochemistry*, 30 (1), pp. 77-97.

13. Vanga, S.K. and Raghavan, V., 2017, "Processing Effects on Tree Nut Allergens: A Review," *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57, pp. 3794-3806.

14. Haard, N.F., 2001, "Enzymic Modification Proteins in Food Systems," pp. 155-190, in Z.E. Sikorski (Eds.) *Chemical and Functional Properties of Food Proteins*, CRC Press, Boca Raton.

15. Pasupuleti, V.K. and Braun, S., 2010, "State of The Art Manufacturing of Protein Hydrolysates," pp. 11–32, *Protein Hydrolysates in Biotechnology*, Springer Dordrecht Heidelberg, New York, USA.

16. Tontibout, P., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O. and Banjonsinsiri, P., 2009, "Characterization of Mushroom Protein Hydrolysate Hydrolyzed by Hot Water Use as Flavoring Agent," *Agricultural Science Journal*, 40 (3), pp. 233-236. (In Thai)

17. 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), pp. 161-170.

18. Thongimpong, P., Laohakunjit, N. and Kerdchoechuen, O., 2016, Antioxidant and Functional Properties of Extracted Sunflower Proteins by Bromelain and Flavourzyme®," *KMUTT Research and Development Journal*, 39 (4), pp. 565-583. (In Thai)

19. Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. and Randall, R.J., 1951, "Protein Measurement with The Folin-Phenol Reagent," *Journal of Biological Chemistry*, 193, pp. 265-275.

20. Flavia, M.N. and Maria, A., 1998, "Production and Characterization of Enzymatic Hydrolysate from Soy Protein Isolate," *Food Science and Technology*, 31, pp. 624–631.

21. Lim, Y.Y., Lim, T.T. and Tee, J.J., 2007, "Antioxidant Properties of Several Tropical Fruits: A Comparative Study," *Food Chemistry,* 103 (3), pp. 1003-1008.

22. 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 (2), pp. 319-327.

23. Phongthai, S., Lim, S.T. and Rawdkuen, S, 2016, "Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Rice Bran Protein and Its Hydrolysates Properties," *Journal of Cereal Science*, 70, pp. 146-154.

24. Cao, X., Wen, H., Li, C. and Gu, Z., 2009, "Differences in Functional Properties and Biochemical Characteristics of Congenetic Rice Proteins," *Journal of Cereal Science*, 50, pp. 184-189.

25. Roncero-Ramos, I., Mendiola-Lanao, M., Pé rez-Clavijo, M. and Delgado-Andrade, C., 2017, "Effect of Different Cooking Methods on Nutritional Value and Antioxidant Activity of Cultivated Mushrooms," *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 68 (3), pp. 287-297.

26. Rehman, S.U., Almas, K., Shahzadi, N., Bhatti N. and Saleem. A., 2002, "Effect of Time and Temperature on Infusion of Tannins from Commercial Brands of Tea," *International Journal of Agriculture and Biology*, 4, pp. 285-287.

27. Liaotrakoon W. and Liaotrakoon, V., 2019, "Antioxidative Properties of White and Red Flowered Agathi (*Sesbania grandiflora*) Tea and Tea Extracts," *Walailak Journal Science and Technology*, 16 (11), pp. 831-839.

28. Yeom, H.J., Lee, E.H., Ha, M.S., Ha, S.D. and Bae, D.H, 2010, "Production and Physicochemical Properties of Rice Bran Protein Isolates Prepared with Autoclaving and Enzymatic Hydrolysis," *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53 (1), pp. 62-70.

29. Jamdar, S., Rajalakshmi, V., Pednekar, M., Juan, F., Yardi, V. and Sharma, A, 2010, "Influence of Degree of Hydrolysis on Functional Properties, Antioxidant Activity and ACE Inhibitory Activity of Peanut Protein Hydrolysate," *Food Chemistry*, 121 (1), pp. 178-184.

30. Yust, M.D.M., Pedroche, J., Millán-Linares, M.D.C., Alcaide-Hidalgo, J.M. and Millán, F., 2010, "Improvement of Functional Properties of Chickpea Proteins by Hydrolysis with Immobilised Alcalase," *Food Chemistry*, 122, pp. 1212-1217.

31. Chabanon, G., Chevalot, I., Framboisier, X., Chenu, S. and Marc, I, 2007, "Hydrolysis of Rapeseed Protein Isolates: Kinetics, Characterization and Functional Properties of Hydrolysates," *Process Biochemistry*, 42 (10), pp. 1419-1428.

32. Klompong, V., Benjakul, S., Kantachote, D. and Shahidi, F, 2007, "Antioxidative Activity and Functional Properties of Protein Hydrolysate of Yellow Stripe Trevally (*Selaroides leptolepis*) as Influenced by The Degree of Hydrolysis and Enzyme Type," *Food chemistry*, 102 (4), pp. 1317-1327.

33. Chindapan, R., 2004, "Food Foam," *Journal of Food Technology, Siam University*," 1, pp. 12-16. (In Thai)

34. He, S., Franco, C. and Zhang, W, 2013, "Functions, Applications and Production of Protein Hydrolysates from Fish Processing Co-Products (FPCP)," *Food Research International*, 50 (1), pp. 289-297.