การคัดเลือกสารห่อหุ้มที่เหมาะสมในกระบวนการไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยมอลโทเดกซ์ทรินและเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน

Selection of optimal wall materials for microencapsulation of protein isolate from *Cordyceps militaris* with Maltodextrin and β-Cyclodextrin

ณัฐพงษ์ มุงเมือง[1], วิจิตรา แดงปรก[1], จิตราพร งามพีระพงศ์[1], มงคล ถิรบุญยานนท์[2], กิตติมา ลีละพงศ์วัฒนา[3], สิริมา สินธุสำราญ[4], สิรินทร์ ปัญญาคม[5] และ ธีระพล เสนพันธุ์[1*]

Natthapong Mungmucang[1], Wichittra Daengprok[1], Chitraporn Ngampeerapong[1], Mongkol Thirabunyanon[2], Kittima Leelapongwattana[3], Sirima Sinthusamran[4], Sirin Panyakom[5] and Theerapol Senphan[1*]

Received: 24 July 2023 ; **Revised**; 11 September 2023 ; **Accepted**: 5 October 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง ด้วยเทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอยใช้สารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทริน (MD) และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (β-CD) และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (MD:β-CD) ที่อัตราส่วนร้อยละ 1:1, 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) อัตราส่วนการห่อหุ้มระหว่างโปรตีนไอโซเลตและสารห่อหุ้ม 1:4 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของผงไมโครเอนแคปซูล ได้แก่ ร้อยละผลผลิต ค่าสี กิจกรรมของน้ำอิสระ ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม ความสามารถในการละลาย องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่า โปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย MD1:β-CD2 มีร้อยละผลผลิต และปริมาณโปรตีนสูงที่สุดถึงร้อยละ 73.89 และ 16.75 อย่างไรก็ตามโปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย β-CD มีประสิทธิภาพการห่อหุ้มและความสามารถในการละลายสูงที่สุดร้อยละ 89.44 และ 95.67 ตามลำดับ นอกจากนี้ไมโครเอนแคปซูลทุกชุดการทดลองมีกิจกรรมของน้ำอิสระ ค่าความสว่าง (L^*) ค่าสีแดง (a^*) และค่าสีเหลือง (b^*) และค่าความต่างสี (ΔE^*) อยู่ในช่วง 0.21-0.25 74.74-79.20 7.32-8.65 35.59-41.52 และ 38.94-46.21 ตามลำดับ โปรตีนไอโซเลตที่ห่อหุ้มด้วย β-CD มีปริมาณฟีนอลลิกทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 101.45 mg GAE/g sample แต่การห่อหุ้มด้วย MD1:β-CD2 มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุดเท่ากับ 1,536.49 µmol Trolox equivalent/g sample ตามลำดับ ดังนั้นโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ห่อหุ้มด้วย MD1:β-CD2 เมื่อพิจารณาจากร้อยละผลผลิตและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงจึงเป็นกระบวนการห่อหุ้มที่เหมาะสมที่สุด

คำสำคัญ: ไมโครเอนแคปซูเลชัน, เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน, มอลโทเดกซ์ทริน, เห็ดถั่งเช่าสีทอง

---

[1] สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

[2] สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

[3] สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี

[4] ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

[5] สาขาวิชาหลักสูตรและการสอน คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

[1] Program in Food Science and Technology, Faculty of Engineering and Agro-Industry, Maejo University

[2] Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University

[3] Program in Food Science and Technology, Faculty of Agricultural Technology, Phetchaburi Rajabhat University

[4] Department of Agricultural Education, Faculty of Industrial Education and Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

[5] Program in Curriculum and Instruction, Faculty of Education, Sakon Nakhon Rajabhat University

** Corresponding author E-mail: theeraphol_s@mju.ac.th*

Abstract

We report the study of the microencapsulation processes of a protein isolate from *Cordyceps militaris* using spray drying technique. Maltodextrin (MD), β-cyclodextrin (β-CD) and maltodextrin mixed with β-cyclodextrin (MD:β-CD) at ratio of 1:1, 1:2 and 2:1 (weight/weight) and the ratio of protein isolate to wall material of 1:4 (weight/weight) were used as experimental variables. Physicochemical properties of microencapsulated powder, i.e., yield percentage, color value, water activity, encapsulation efficiency, solubility, chemical composition, total phenolic content, DPPH and ABTS radical activities were investigated. Protein isolates encapsulated with MD1:β-CD2 had the highest yield percentage and protein content of 73.89% and 16.75%. However, β-CD encapsulated had the highest encapsulation efficiency and solubility of 89.44% and 95.67%, respectively. In addition, all treatments of microencapsulated powder had water activity, lightness (L^*), redness (a^*) and yellowness (b^*), and total color difference (ΔE^*) values in the range of 0.21-0.25, 74.74-79.20, 7.32-8.65, 35.59-41.52 and 38.94-46.21, respectively. β-CD encapsulated protein isolate powder had the highest total phenolic content of 101.45 mg GAE/g sample, but MD1:β-CD2 encapsulated protein powder had the highest ABTS radical scavenging activities of 1536.49 µmol Trolox equivalent/g sample, respectively. Therefore, the protein isolate encapsulated with MD1:β-CD2 with its high yield percentage and antioxidant activity, represents an optimal microencapsulation process for *Cordyceps militaris*.

Keywords: Microencapsulation, β-Cyclodextrin, maltodextrin, *cordyceps militaris*

บทนำ

เห็ดถั่งเช่าสีทอง (*Cordyceps militaris*) เป็นราที่เกิดจากแมลง มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลายจึงมักมีการนำมาใช้เป็นยา เนื่องจากมีสารอาหารที่สำคัญ เช่น กรดอะมิโนจำเป็น โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ แคโรทีนอยด์ วิตามิน แร่ธาตุ รวมถึงมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูง ได้แก่ คอร์ไดซิปิน (cordycepin) อะดีโนซีน (adenosine) มีสรรพคุณช่วยในการลดการอักเสบ ป้องกันการเกิดมะเร็ง และสร้างภูมิคุ้มกัน (Phull *et al*., 2022) มีรายงานว่า เห็ดถั่งเช่าสีทองมีปริมาณโปรตีนสูงถึงร้อยละ 28.91 ซึ่งประกอบไปด้วยโปรตีนชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กลูเตลิน ร้อยละ 43.11 อัลบูมินร้อยละ 36.47 และโกลบูลินร้อยละ 17.94 (Yu *et al*., 2021) ในงานวิจัยของ Yang *et al*., (2015) ได้รายงานว่า สารสกัดโปรตีนจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมีฤทธิ์ยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ต้านไวรัส และยับยั้งเชื้อรา เป็นต้น นอกจากนี้มีงานวิจัยที่บ่งชี้ว่า สารสกัดโปรตีนจากเห็ดราสามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ รวมถึงช่วยเพิ่มความอิ่มได้นานขึ้น (Derbyshire & Delange, 2021)

กระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชัน (microencapsulation) เป็นกระบวนการห่อหุ้มสารสำคัญที่มีสถานะเป็นของแข็ง ของเหลว รวมถึงก๊าซที่อยู่ในไมโครแคปซูล (core) เพื่อป้องกันการเสื่อมเสียจากปัจจัยสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ออกซิเจน แสง และความชื้น เป็นต้น รวมถึงการเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบอื่น ๆ และช่วยในการควบคุมการปลดปล่อยสารสำคัญในสภาพแวดล้อมได้ ในด้านอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำมาห่อหุ้มสารให้กลิ่นรส สารให้สี สารสกัดโปรตีน เอนไซม์ และน้ำมันหอมระเหย เพื่อให้คงต่อการเปลี่ยนแปลงได้นานขึ้น โดยทั่วไปแล้วจะห่อหุ้มสารสำคัญด้วยพอลิเมอร์ให้มีอนุภาคขนาดเล็กที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-1,000 ไมครอน (Mohammed *et al*., 2020) สารห่อหุ้ม (wall material) ที่นิยมนำมาใช้ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูลมากที่สุด คือ พอลิแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) เนื่องจากมีราคาถูก ลักษณะเป็นผงสีขาวที่ไม่มีกลิ่น มีความสามารถในการละลายสูง ไม่มีรสชาติ มีความหนืดต่ำ และช่วยป้องกันการจับตัวกันเป็นก้อน (Akbarbaglu *et al*., 2021) และไซโคลเดกซ์ทริน (cyclodextrins) เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่นิยมใช้เป็นสารห่อหุ้มในกลุ่มสารสำคัญจำพวกวิตามิน สารให้สี กลิ่นรส สารสกัดจากผลไม้ และน้ำมันหอมระเหย โดยส่วนใหญ่มักนิยมใช้ เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (β-cyclodextrins) เนื่องจากมีราคาถูก มีสมบัติที่เสถียรต่อความร้อนสูง เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินจะสลายตัวเมื่อมีอุณหภูมิสูงที่ 200 องศาเซลเซียส ช่วยให้มีความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้น มีความสามารถในการดูดซึมที่สูง ซึ่งเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินผ่านการรับรองโดยองค์กรอาหารและยาของสหรัฐอเมริกาที่สามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Flores & Caro, 2022; Ghorbanzade *et al*., 2022) เทคนิคไมโครเอนแคปซูลด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมานาน เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีต้นทุนในการผลิตต่ำ มีวิธีการที่ง่ายไม่ยุ่งยาก และผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้มีคุณภาพสูง (Grgić *et al*., 2020) ปัจจุบันนิยมนำโปรตีนมาเก็บรักษาด้วยกระบวนการไมโครเอน

แคปซูลมากขึ้น ไม่ว่าจะเป็นโปรตีนไอโซเลต โปรตีนไฮโดรไลเสต รวมถึงสารสกัดเปปไทด์ต่าง ๆ เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ การเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ในระหว่างการขนส่ง และการเก็บรักษา (Jafari *et al*., 2019; Sarabandi *et al*., 2020)

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยสารห่อหุ้ม ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน (MD) เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน (β-CD) และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

เห็ดถั่งเช่าสีทองยาว 8-10 เซนติเมตร อายุ 47-55 วัน โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจากห้องปฏิบัติการของสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ นำมาทำความสะอาด และอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นบดผงให้ละเอียดที่มีขนาด 250 ไมโครเมตร และทำการสกัดโปรตีนโดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตตามวิธีของ Zhang *et al*., (2017) ทำแห้งสารละลายโปรตีนไอโซเลตที่ได้ด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (DW8, Heto Power Dry, Denmark) นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง

นำผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองมาผลิตเป็นไมโครเอนแคปซูลด้วยกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Takeungwongtrakul & Benjakul (2017) ซึ่งใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ จำนวน 5 ชุดทดลอง ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ใช้การวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) นำสารห่อหุ้มข้างต้นมาละลายด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้นร้อยละ 22.5 (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปกวนด้วยเครื่องกวนสารแบบใบกวน (IKA-Labortechnik, Germany) ที่ความเร็ว 500 รอบ/นาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามด้วยเติมผงโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองในสารละลายห่อหุ้มโดยใช้อัตราส่วน 1:4 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) จากนั้นปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์เซอร์ (Ultra-Turrax T25, IKA-Labortechnik, Germany) ที่ความเร็ว 22,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 3 นาที นำไปทำแห้งแบบพ่นฝอยด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Lab Plant SD-06A, Lab Plant Ltd., Huddersfield, UK) กำหนดให้อุณหภูมิขาเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส อัตราความเร็วลมที่ป้อน 0.54 m^3h^{-1} จะได้ผงเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองเพื่อนำไปวิเคราะห์ลักษณะปรากฏ ร้อยละผลผลิต ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระ ความสามารถในการละลาย ค่าสี องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3. การวิเคราะห์ลักษณะปรากฏ (appearance)

ลักษณะปรากฏของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ 5 ชุดการทดลองจะถูกถ่ายรูปด้วยกล้องถ่ายภาพดิจิทัล (X-A3, Fujifilm, Tokyo)

4. การวิเคราะห์ร้อยละผลผลิต (% yield)

ร้อยละผลผลิตของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทอง คำนวณจากสมการที่ (1)

$$\text{ผลผลิต (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักหลังทำแห้ง (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}} \quad (1)$$

5. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (encapsulation efficiency; EE)

นำโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทั้งหมดด้วยวิธีไบยูเร็ต เพื่อหาปริมาณโปรตีนก่อนการห่อหุ้ม จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนบนพื้นผิวหลังจากการห่อหุ้มดัดแปลงตามวิธีของ Maqsoudlou *et al*., (2020) นำผงเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองจำนวน 100 กรัม ผสมกับโพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร โดยผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีไบยูเร็ตตามวิธีของ (Robinson and Hogden, 1940) คำนวณประสิทธิภาพการห่อหุ้มจากสมการที่ (2)

$$\text{ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{A} \quad (2)$$

โดย A = ปริมาณโปรตีนก่อนห่อหุ้ม (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

B = ปริมาณโปรตีนหลังห่อหุ้ม (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

6. การวิเคราะห์กิจกรรมของน้ำอิสระ (water activity; a_w)

วัดค่ากิจกรรมของน้ำอิสระของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ด้วยเครื่องวัดกิจกรรมของน้ำอิสระ (Series 3 TE, Aqua LAB, U.S.A) โดยใช้ตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ลงในเซลล์ของเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระก่อนวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของน้ำอิสระที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

7. การวิเคราะห์ความสามารถในการละลาย (solubility)

ความสามารถในการละลายของผงเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ ดัดแปลงตามวิธีของ Loksuwan (2007) ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นที่ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้เติมลงในถ้วยอลูมิเนียมปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง คำนวณความสามารถในการละลายจากสมการที่ (3)

$$\text{ความสามารถในการละลาย (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{A} \quad (3)$$

โดย A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)
B = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

8. การวิเคราะห์ค่าสี (L^*, a^*, b^* and ΔE^*)

นำผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ มาวัดค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab (Color Flex EZ, Hunter Lab, U.S.A) ในระบบ CIE โดยค่า L^* ใช้กำหนดค่าความสว่าง a^* ใช้กำหนดค่าสีแดง/เขียว เมื่อ (+) แทนค่าสีแดง (-) แทนค่าสีเขียว และค่า b^* ใช้กำหนดค่าสีเหลือง/น้ำเงิน เมื่อ (+) แทนค่าสีเหลือง (-) แทนค่าสีน้ำเงิน และค่าความต่างของสี ΔE^* โดยคำนวนจากสมการที่ (4)

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2} \quad (4)$$

โดยที่ ΔL^*, Δa^* และ Δb^* คือ ความต่างระหว่างพารามิเตอร์สีของตัวอย่าง และพารามิเตอร์สีของสแตนดาร์ดสีขาว (L^* = 93.59, a^* = -0.98 และ b^* = 0.35) ซึ่งใช้เป็นแผ่น Background

9. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์ร้อยละปริมาณความชื้น (moisture) ไขมัน (fat) เถ้า (ash) และโปรตีน (protein) ตามวิธีของ AOAC, (2000) วิธีการที่ 927.05, 984.13, 942.05 และ 920.38 ตามลำดับ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) คำนวณจาก 100 – (%ความชื้น + %ไขมัน + %เถ้า + %โปรตีน)

10. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ตามวิธีของ Kosasu *et al*., (2015) นำผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ 5 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (VIS-732G, Rayleigh, China) ที่ระดับความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็นแบลงค์ (blank) และเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้กรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 25-400 ไมโครลิตร/มิลลิลิตร รายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วยของ mg GAE/g sample

11. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

11.1 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity)

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH วิเคราะห์โดยดัดแปลงตามวิธีของ Wu *et al*., (2003) นำผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ 5 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เติมลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ระดับความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ และเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox เข้มข้น 10-60 ไมโครโมลาร์ รายงานผลในหน่วยของ µmol Trolox equivalent/g sample

11.2 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity)

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS วิเคราะห์โดยดัดแปลงตามวิธีของ Binsan *et al*., (2008) นำผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ 5 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) เข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2,850 ไมโครลิตร บ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ระดับความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ และเตรียมกราฟมาตรฐานโดยใช้ Trolox เข้มข้น 10-600 ไมโครโมลาร์ รายงานผลในหน่วย μmol Trolox equivalent/g sample

12. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้วิธี ANOVA วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) กำหนดความเชื่อมั่นทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05) โดยใช้โปรแกรม SPSS (statistical package for the social science for windows version 29.0) (SPSS Inc., Chicago, USA)

ผลการทดลองและอภิปรายผล

ลักษณะปรากฏ

ผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้ม ได้แก่ มอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:1 1:2 และ 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่าลักษณะทางกายภาพของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ (Figure 1) มีผงสีเหลืองอ่อนที่ละเอียด เนื่องจากใช้อุณภูมิที่สูงในการทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้ผงไมโครเอนแคปซูลที่ได้ไม่จับตัวกันเป็นก้อน อีกทั้งในการเติมสารห่อหุ้มข้างต้นจะช่วยทำให้โครงสร้างของไมโครเอนแคปซูลเกิดความคงตัวเพิ่มมากขึ้น เกิดรูพรุนในโครงสร้างจึงส่งผลต่อผงไมโครเอนแคปซูลที่ได้มีความชื้น และปริมาณน้ำอิสระที่ต่ำ (Suyalek *et al*., 2020)

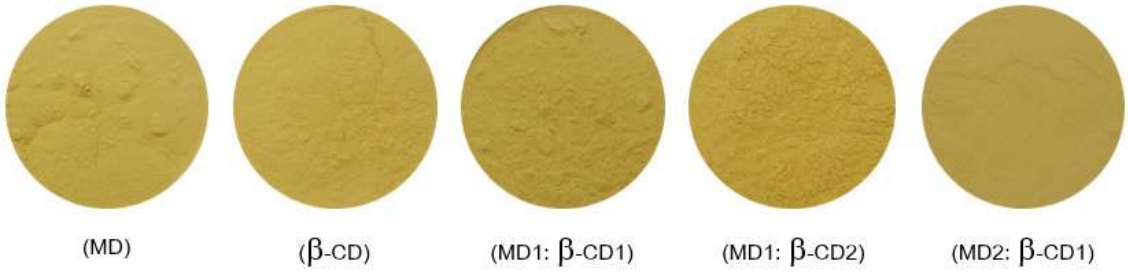

Figure 1 The appearance of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris*

ร้อยละผลผลิตและประสิทธิภาพการห่อหุ้ม

การศึกษาร้อยละผลผลิตของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ (Table 1) พบว่า การห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีร้อยละผลผลิตเท่ากับร้อยละ 65.51 68.57 และ 72.31-73.89 ตามลำดับ โดยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีปริมาณร้อยละผลผลิตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ที่ร้อยละ 72.31-73.89 ปริมาณผลผลิตที่สูงของอนุภาคขนาดเล็กที่เป็นผง ซึ่งเป็นผลมาจากการก่อตัวอย่างรวดเร็วของเปลือกแห้ง (drying crust) ช่วยป้องกันไม่ให้ผงเกาะติดที่ผนังถังอบแห้ง (drying chamber) (Escobar-Avello *et al*., 2021)

การศึกษาประสิทธิภาพการห่อหุ้มผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองอยู่ในช่วงร้อยละ 86.52-89.44 (Table 1) พบว่า ผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงที่สุดคือ ร้อยละ 89.44 เนื่องจากเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่เกิดจากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ไซโคลเดกซ์ทรินไกลโคซิลทรานเฟอเรส (cyclodextrin glycosyltransferase) ประกอบด้วยกลูโคส 7 โมเลกุล ที่เชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,4-glycosidic (Siva *et al*., 2020) โดยมีโครงสร้างเป็นรูปวงแหวนที่ประกอบด้วยไฮโดรเจน และกลูโคซิดิกออกซิเจนอยู่ภายในโมเลกุล มีคุณสมบัติไม่ชอบน้ำจึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลสารอินทรีย์ที่เข้ามารวมตัว เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนขึ้น ทำให้มีคุณสมบัติในการกักเก็บสารสำคัญได้ดี (Quan *et al*., 2020)

Table 1 Yield, encapsulation efficiency, water activity and solubility of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials

Treatments	Yield (%)	EE (%)	a_w	Solubility (%)
MD	65.51 ± 0.97^{*c**}	86.52 ± 0.22^{d}	0.25 ± 0.01^{a}	84.13 ± 0.68^{e}
β-CD	68.57 ± 1.14^{b}	89.44 ± 0.25^{a}	0.23 ± 0.02^{ab}	95.67 ± 0.75^{a}
MD1:β-CD1	72.31 ± 1.24^{a}	88.17 ± 0.10^{b}	0.23 ± 0.01^{ab}	88.99 ± 0.41^{d}
MD1:β-CD2	73.89 ± 0.54^{a}	88.20 ± 0.13^{b}	0.22 ± 0.03^{b}	93.88 ± 0.72^{b}
MD2:β-CD1	72.48 ± 0.74^{a}	87.59 ± 0.46^{c}	0.21 ± 0.02^{b}	92.75 ± 0.33^{c}

* Values are given as means ± SD (n=3)

** Different with letters ($^{a-e}$) in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$)

MD: Maltodextrin

β-CD: β-cyclodextrin

MD1:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:1, (weight/weight)

MD1:β-CD2: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:2, (weight/weight)

MD2:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 2:1, (weight/weight)

ในงานวิจัยของ Escobar-Avello *et al*., (2021) ศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดของสารประกอบฟีนอลิกจากต้นองุ่น ซึ่งละลายในเอทานอลที่อัตราส่วน 30:70 (ปริมาตร/ปริมาตร) ห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินร้อยละ 2.2 (โดยน้ำหนักสารสกัด) ผสมกับมอลโทเดกซ์ทรินที่อัตราส่วนร้อยละ 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่า มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 83.80 ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่มีการห่อหุ้มถึง 2 เท่า และมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงถึงร้อยละ 80.50 Dobroslavić *et al*., (2023) รายงานว่า ไมโครเอนแคปซูลของสารสกัดฟีนอลิกที่สกัดจากใบกระวาน (*Laurus nobilis* L.) ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในอัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) โดยใช้เทคนิคทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้าที่ 180 องศาเซลเซียส พบว่า มีผลผลิต ความสามารถในการละลาย ปริมาณความชื้น และมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงถึงร้อยละ 78.96, 59.47, 2.51 และ 74.41 ตามลำดับ

กิจกรรมของน้ำอิสระและความสามารถในการละลาย

กิจกรรมของน้ำอิสระที่ต่ำกว่า 0.6 ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร เนื่องจากมีกิจกรรมของน้ำอิสระที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Mahdi *et al*., 2020; Valková *et al*., 2022) และสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมได้กำหนดกิจกรรมของน้ำอิสระของเห็ดหลินจือผงสำเร็จรูป (มผช. 862/2013) ต้องน้อยกว่า 0.6 (Thai Industrial Standards Institute, 2013) ซึ่งจากการศึกษากิจกรรมของน้ำอิสระของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ พบว่า มีกิจกรรมของน้ำอิสระอยู่ในช่วงระหว่าง 0.21-0.25 ซึ่งจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ตามข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน

ส่วนความสามารถในการละลายของตัวอย่าง ไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองที่มีการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีความสามารถในการละลายสูงที่สุดที่ร้อยละ 95.67 (p<0.05) (Table 1) ซึ่งกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลต่อการเกิดรูพรุนในโครงสร้างของผงไมโครเอนแคปซูลอีกด้วย

ค่าสี

ผลของชนิดสารห่อหุ้มต่อค่าสี (L^*, a^*, b^* และ ΔE^*) ของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลต การถ่ายเทความร้อนและมวลจึงมีประสิทธิภาพมากขึ้นอัตราการระเหยน้ำของตัวอย่างจึงเพิ่มขึ้น ตัวอย่างที่มีส่วนผสมของเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินละลายได้ดีกว่าที่มีมอลโทเดกซ์ทรินเป็นสารห่อหุ้ม (Foo *et al*., 2020; Pudziuvelyte *et al*., 2019) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Villela-Castrejón *et al*., (2017) ที่ทำการศึกษากระบวนการไมโครเอนแคปซูลสารพฤกษเคมี จากของเสียจากโรงงานแปรรูปข้าวโพด (corn wastewater; nejayote) พบว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยทำให้เกิดอนุภาคผงเป็นทรงกลมที่มี

การกระจายของขนาดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสารห่อหุ้มที่ใช้ โดยผงที่ได้จากการใช้เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเป็นอนุภาคที่มีผิวหน้าเรียบ มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน และมีขนาดอนุภาคเล็กกว่าการใช้มอลโทเดกซ์ทริน จึงทำให้มีพื้นที่ผิวสัมผัสเพิ่มมากขึ้น สามารถละลายได้ดีกว่า โดยมีค่าเท่ากับร้อยละ 78.1-80.0 จากเห็ดถั่งเช่าสีทอง (Table 2) พบว่า มีค่าความสว่าง (*L**) อยู่ในช่วง 74.74-79.20 ซึ่งการห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียว ส่งผลให้ความสว่างมีค่าสูงที่สุด ค่าความเป็นสีแดง (*a**) อยู่ในช่วง 7.32-8.65 ส่วนค่าความเป็นสีเหลือง (*b**) อยู่ในช่วง 35.59-41.52 และค่าความต่างของสี (Δ*E**) อยู่ในช่วง 38.94-46.21

Table 2 Color values of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials

Treatments	Color values			
	L*	***a****	***b****	**Δ*E****
MD	79.20 ± 0.01[*a**]	7.32 ± 0.01[d]	35.59 ± 0.01[e]	38.94 ± 0.01[e]
β-CD	75.61 ± 0.03[d]	7.57 ± 0.02[c]	41.27 ± 0.01[b]	45.51 ± 0.02[b]
MD1:β-CD1	76.96 ± 0.02[b]	8.65 ± 0.01[a]	38.29 ± 0.01[d]	42.27 ± 0.02[d]
MD1:β-CD2	75.92 ± 0.01[c]	8.65 ± 0.01[a]	40.67 ± 0.01[c]	45.07 ± 0.00[c]
MD2:β-CD1	74.74 ± 0.01[e]	8.25 ± 0.01[b]	41.52 ± 0.01[a]	46.21 ± 0.01[a]

* Values are given as means ± SD (*n*=3).

** Different with letters ([a-e]) in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

MD: Maltodextrin

β-CD: β-cyclodextrin

MD1:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:1, (weight/weight)

MD1:β-CD2: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:2, (weight/weight)

MD2:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 2:1, (weight/weight)

ค่าความสว่าง (*L**) ในไมโครแคปซูลที่มีมอลโทเดกซ์ทรินสูงกว่าในตัวอย่างที่มีเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่มีมอลโทเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียว (ชนิดเดียว) ส่วนค่าความเป็นสีแดง และความแตกต่างของสีมีค่าต่ำที่สุด ผลจาก (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ไมโครแคปซูลที่เตรียมด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีสีแดงเข้มมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับมอลโทเดกซ์ทริน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharayei *et al*., (2020) รายงานว่า การเพิ่มปริมาณของสารห่อหุ้มเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินและมอลโทเดกซ์ทรินร้อยละ 5 และ 10 ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากเปลือกทับทิม (pomegranate peel) ส่งผลทำให้ค่า *L** และ *b** ของผงไมโครเอนแคปซูลมีค่าเพิ่มขึ้นและการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินจะส่งผลให้มีค่าความสว่าง และค่าความเป็นสีเหลืองสูงกว่าการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน ส่วนค่า *a** ของผงไมโครเอนแคปซูลที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีค่าลดลง

นอกจากนี้ Sarabandi *et al*., (2019) รายงานว่าการเพิ่มอุณหภูมิขาเข้าจาก 140 เป็น 170 องศาเซลเซียส ในกระบวนการไมโครเอนแคปซูเลชันสารสกัดจากเปลือกมะเขือม่วงโดยใช้มอลโทเดกซ์ทรินร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) เป็นสารห่อหุ้มที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยส่งผลทำให้ค่า *L** สูงขึ้น ส่วนค่า *a** และ *b** มีค่าลดลง ดังนั้นอุณหภูมิขาเข้าในการทำแห้งแบบพ่นฝอยจึงมีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์

องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ (Table 3) พบว่า มีปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์อยู่ในช่วงร้อยละ 2.19-2.41 ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขในผลิตภัณฑ์โปรตีนจากเมล็ดกัญชง ฉบับที่ 425/2021 กำหนดให้มีปริมาณความชื้นไม่เกินร้อยละ 10 (โดยน้ำหนัก) จัดว่าความชื้นของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน (Ministry of Public Health, 2021) ส่วนปริมาณไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ อยู่ในช่วงร้อยละ 0.56-0.72 0.15-0.45 และ

80.17-84.55 ตามลำดับ นอกจากนี้มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 12.31-16.75 พบว่า ตัวอย่างที่มีการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 16.75

โดยทั่วไปแล้วประสิทธิภาพในการห่อหุ้มจะแปรผกผันกับปริมาณโปรตีนในตัวอย่างจะเห็นว่า การห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงตัวเดียวมีค่ามีประสิทธิภาพในการห่อหุ้มที่สูง (Table 1) จึงทำให้มีกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ในอัตราที่มากส่งต่อปริมาณโปรตีนในตัวอย่างมีปริมาณน้อยกว่าตัวอย่างที่มีการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินเพียงตัวเดียว ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพในการห่อหุ้มน้อยกว่า หรือมีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ในการห่อหุ้มโปรตีนได้น้อยทำให้มีปริมาณโปรตีนที่วัดได้มีค่าสูง จะเห็นได้ว่า ชนิดและอัตราส่วนที่ต่างกันของสารห่อหุ้มมีผลทำให้องค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ประสิทธิภาพของการทำแห้งหรือปริมาณความชื้นเป็นตัวแปรสำคัญที่เกี่ยวข้องในการกำหนดคุณภาพ และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ที่เป็นผง เนื่องจากปริมาณความชื้นที่สูงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดความเหนียวในอนุภาคของผลิตภัณฑ์ (Pudziuvelyte *et al*., 2020) มอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ใช้เป็นสารห่อหุ้มในงานวิจัยนี้มีคุณสมบัติช่วยป้องกันการดูดความชื้นกลับได้ดี

Table 3 Chemical composition of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials

Treatments	Moisture (%)	Fat (%)	Ash (%)	Protein (%)	Carbohydrate (%)
MD	2.41 ± 0.06^{*a**}	0.69 ± 0.03^{a}	0.19 ± 0.02^{c}	12.31 ± 0.36^{d}	84.55 ± 0.39^{a}
β-CD	2.26 ± 0.01^{bc}	0.58 ± 0.06^{b}	0.32 ± 0.03^{b}	13.78 ± 0.26^{c}	83.03 ± 0.27^{b}
MD1:β-CD1	2.30 ± 0.02^{b}	0.56 ± 0.01^{b}	0.21 ± 0.04^{c}	15.60 ± 0.30^{b}	81.35 ± 0.31^{c}
MD1:β-CD2	2.23 ± 0.02^{cd}	0.70 ± 0.03^{a}	0.15 ± 0.04^{c}	16.75 ± 0.43^{a}	80.17 ± 0.41^{d}
MD2:β-CD1	2.19 ± 0.03^{d}	0.72 ± 0.07^{a}	0.45 ± 0.05^{a}	15.46 ± 0.17^{b}	81.18 ± 0.29^{c}

* Values are given as means ± SD (n=3).

** Different with letters ($^{a-d}$) in the same column indicate significant differences ($p < 0.05$).

MD: Maltodextrin

β-CD:β-cyclodextrin

MD1:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:1, (weight/weight)

MD1:β-CD2: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 1:2, (weight/weight)

MD2:β-CD1: Maltodextrin mixed with β-cyclodextrin at ratio of 2:1, (weight/weight)

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ (Figure 2) พบว่า การห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยมอลโทเดกซ์ทริน เบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน และมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทริน มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 90.77-101.45 mg GAE/g sample โดยการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินเพียงตัวเดียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 101.45 mg GAE/g sample แต่ไม่แตกต่างจากการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 และ 2:1 ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 99.64 และ 99.45 mg GAE/g sample ตามลำดับ ($p > 0.05$)

Sharayei *et al*., (2020) รายงานว่า ไมโครเอนแคปซูลสารสกัดจากเปลือกทับทิมที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 ในอัตราส่วนสารสกัดต่อสารห่อหุ้ม 1:5 ด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า การห่อหุ้มสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยมอลโทเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 เท่ากับ 23.75 และ 51.58 mg GAE/g sample ตามลำดับ ส่วนการห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 และ 10 เท่ากับ 54.96 และ 58.78 mg GAE/g sample ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณฟีนอลลิกของสารสกัดจากเปลือกทับทิมลดลงจากเริ่มต้นที่ 60.19 mg GAE/g sample

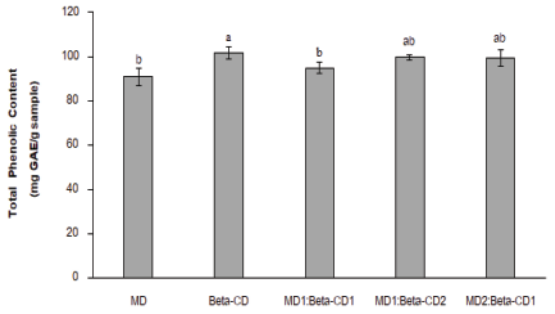

Figure 2 Total phenolic content of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials. Values are expressed as means ± SD (*n*=3). Different lowercase letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เป็นวิธีที่ใช้ในการศึกษากลไกการดักจับอนุมูลอิสระที่เกิดจากการให้อิเล็กตรอน และไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระส่งผลทำให้เกิดอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวที่เสถียรมากขึ้น เมื่อสารละลายอนุมูลอิสระ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระทำให้เปลี่ยนอยู่ในรูปของสารรีดิวซ์ ซึ่งจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ส่วนกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เกิดจากการออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้เป็นอนุมูลอิสระ โดยเปลี่ยนสีจากเขียวแกมน้ำเงินเป็นสีที่จางลง

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองโดยใช้สารห่อหุ้มชนิดต่าง ๆ พบว่า มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (Figure 3) และ ABTS (Figure 4) อยู่ในช่วง 272.49-284.95 และ 1,472.38-1,536.49 µmol Trolox equivalent/g sample ตามลำดับ การห่อหุ้มโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยสารผสมของมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินสามารถช่วยป้องกันการสูญเสียฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการห่อหุ้มด้วยสารห่อหุ้มเพียงชนิดเดียว เนื่องด้วยมอลโทเดกซ์ทริน และเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินมีจุดหลอมเหลวที่ 200 องศาเซลเซียส ซึ่งมีคุณสมบัติที่ทนต่อความร้อนได้สูง (Ćujić Nikolić *et al.*, 2023) จึงช่วยรักษาสารสำคัญในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิขาเข้า 180 องศาเซลเซียส โดยอัตราส่วนในการห่อหุ้มด้วยมอลโทเดกซ์ทรินต่อเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินที่อันตราส่วน 2:1 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดที่ 284.95 µmol Trolox equivalent/g sample และอันตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงสุดที่ 1,536.49 µmol Trolox equivalent/g sample

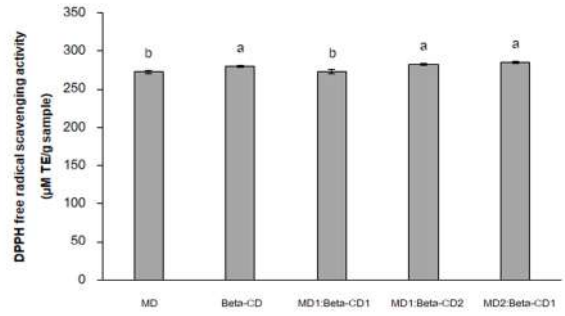

Figure 3 DPPH radical scanning activities of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials. Values are expressed as means ± SD (*n*=3). Different lowercase letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$)

Dobroslavić *et al*., (2023) รายงานว่าไมโครเอนแคปซูลฟีนอลิกที่สกัดจากใบกระวานห่อหุ้มด้วยเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินและมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วนร้อยละ 50:50 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 162.18 และ 201.43 µmol TE g^{-1} ตามลำดับ นอกจากนี้ Ćujić Nikolić *et al*., (2023) ศึกษาไมโครเอนแคปซูลสารประกอบฟีนอลิกจากของเสียในการแปรรูปข้าวโพดด้วยสารห่อหุ้มมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินอัตราส่วนร้อยละ 15:15 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) พบว่า กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ABTS เท่ากับ 58.37 mmol Trolox eq/kg ($p>0.05$)

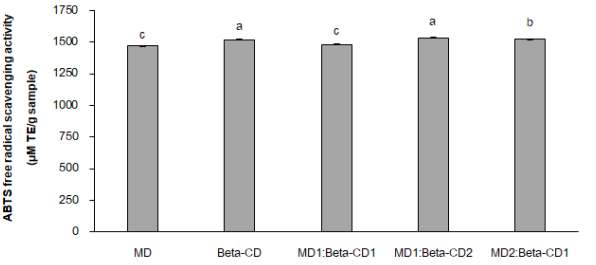

Figure 4 ABTS radical scanning activities of microencapsulated protein isolate from *Cordyceps militaris* using different types of wall materials. Values are expressed as means ± SD (*n*=3). Different lowercase letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

สรุปผลการทดลอง

ผงไมโครเอนแคปซูลโปรตีนไอโซเลตจากเห็ดถั่งเช่าสีทองด้วยมอลโทเดกซ์ทรินผสมกับเบต้า-ไซโคลเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1:2 (น้ำหนัก/น้ำหนัก) เป็นกระบวนการห่อหุ้มด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีลักษณะปรากฏที่เป็นผงเนียนละเอียด มีสีที่ดีตามธรรมชาติของเห็ดถั่งเช่าสีทอง อีกทั้งยังมีร้อยละผลผลิต ปริมาณโปรตีน ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 เลขสัญญาทุน มจ.1-65-046.2 ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัยนี้ รวมถึงสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร และสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนวัตถุดิบ สถานที่และอุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

Akbarbaglu, Z., Peighambardoust, S. H., Sarabandi, K., & Jafari, S. M. (2021). Spray drying encapsulation of bioactive compounds within protein-based carriers; different options and applications. *Food Chemistry*, 359, 129965.

AOAC, (2000). *Official methods of analysis of AOAC international*. Association of Official Analytical Chemists.

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

Ćujić Nikolić, N., Žilić, S., SimiĆ, M., Nikolić, V., Živković, J., Marković, S., & Šavikin, K. (2023). Microencapsulates of blue maize polyphenolics as a promising ingredient in the food and pharmaceutical industry: characterization, antioxidant properties, and in *vitro*-simulated digestion. *Foods*, *12*(9), 1870.

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

DobroslaviĆ, E., Elez GarofuliĆ, I., ZoriĆ, Z., PedisiĆ, S., Roje, M., & DragoviĆ-Uzelac, V. (2023). Physico-chemical properties, antioxidant capacity, and bioavailability of *Laurus nobilis* L. Leaf polyphenolic extracts microencapsulated by spray drying. *Foods*, *12*(9), 1923.

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

Flores, F., & Caro, M. (2022). Physicochemical, antioxidant, and enzyme inhibitory properties of Bignay (*Antidesma bunius* L. Spreng) and Duhat (*Syzygium cumini* L.) extracts microencapsulated with-cyclodextrin. *Food Research International,* 6, 283-288.

Foo, S. C., Khong, N. M., & Yusoff, F. M. (2020). Physicochemical, microstructure and antioxidant properties of microalgae-derived fucoxanthin rich microcapsules. *Algal Research*, 51, 102061.

Ghorbanzade, T., Akhavan-Mahdavi, S., Kharazmi, M. S., Ibrahim, S. A., & Jafari, S. M. (2022). Loading of fish oil into β-cyclodextrin nanocomplexes for the production of a functional yogurt. *Food Chemistry*, 15, 100406.

GrgiĆ, J., Šelo, G., PaniniĆ, M., Tišma, M., & BuciĆ-KojiĆ, A. (2020). Role of the encapsulation in bioavailability of phenolic compounds. *Antioxidants*, *9*(10), 923.

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

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

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

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

Maqsoudlou, A., Mahoonak, A. S., Mohebodini, H., & Koushki, V. (2020). Stability and structural properties of bee pollen protein hydrolysate microencapsulated using maltodextrin and whey protein concentrate. *Heliyon*, *6*(5), e03731.

Ministry of Public Health. (2021). *Notification of the Ministry of Public Health. Protein from hemp seeds*. https://ockt.dtam.moph.go.th.

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

Phull, A.-R., Ahmed, M., & Park, H.-J. (2022). *Cordyceps militaris* as a bio functional food source: pharmacological potential, anti-inflammatory actions and related molecular mechanisms. *Microorganisms*, *10*(2), 405.

Pudziuvelyte, L., Marksa, M., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Kopustinskiene, D. M., & Bernatoniene, J. (2019). Microencap-sulation of Elsholtzia ciliata herb ethanolic extract by spray-drying: impact of resistant maltodextrin complemented with sodium caseinate, skim milk, and beta-cyclodextrin on the quality of spray-dried powders. *Molecules*, *24*(8), 1461.

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

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

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

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

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

Sharayei, P., Azarpazhooh, E., & Ramaswamy, H. S. (2020). Effect of microencapsulation on antioxidant and antifungal properties of aqueous extract of pomegranate peel. *Journal of Food Science and Technology*, *57*(2), 723-733.

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

Suyalek, S., Jaturonglumlert, S., Amornlerdpison, D., Narkprasom, N., & Narkprasom, K. (2020). Encapsulation of crude extracts from Banana (Musa X paradisca) flowers by spray drying. *Burapha Science Journal*, *25*(2), 448-463.

Takeungwongtrakul, S., & Benjakul, S. (2017). Effect of glucose syrup and fish gelatin on physicochemical properties and oxidative stability of spray-dried microencapsulated shrimp oil. *Journal of Food Processing and Preservation*, *41*(3), e12876.

Thai Industrial Standards Institute. (2013). *Thai community products standards. Instant Lingzhi or reishi drink*. https://tcps. tisi.go.th/pub/ tcps0862_56 (Instant Lingzhi or reishi drink). pdf.

Valková, V., Ďúranová, H., Falcimaigne-Cordin, A., Rossi, C., Nadaud, F., Nesterenko, A., & KaČániová,

M. (2022). Impact of freeze-and spray-drying micro-encapsulation techniques on β-glucan powder biological activity: A comparative study. *Foods*, *11*(15), 2267.

Villela-Castrejón, J., Acosta-Estrada, B. A., & Gutiérrez-Uribe, J. A. (2017). Micro-encapsulation of corn wastewater (nejayote) phytochemicals by spray drying and their release under simulated gastrointestinal digestion. *Journal of Food Science*, *82*(7), 1726-1734.

Wu, H. C., Chen, H. M., & Shiau, C. Y. (2003). Free amino acids and peptides as related to antioxidant properties in protein hydrolysates of mackerel (*Scomber austriasicus*). *Food Research International*, *36*(9-10), 949-957

Yang, Q., Yin, Y., Yu, G., Jin, Y., Ye, X., Shrestha, A., Liu, W., Yu, W., & Sun, H. (2015). A novel protein with anti-metastasis activity on 4T1 carcinoma from medicinal fungus *Cordyceps militaris*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 80, 385-391.

Yu, X. Y., Zou, Y., Zheng, Q. W., Lu, F. X., Li, D. H., Guo, L. Q., & Lin, J. F. (2021). Physicochemical, functional and structural properties of the major protein fractions extracted from *Cordyceps militaris* fruit body. *Food Research International*, 142, 110211.

Zhang, D. q., Mu, T. h., Sun, H. n., Chen, J. w., & Zhang, M. (2017). Comparative study of potato protein concentrates extracted using ammonium sulfate and isoelectric precipitation. *International Journal of Food Properties*, *20*(9), 2113-2127.