# การพัฒนาโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ โดยใช้วิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน

# DEVELOPMENT OF PROTEIN HYDROLYSATE-FORTIFIED PORRIDGE FROM *WOLFFIA GLOBOSA* BY DRUM DRYING

ครองศักดา ภัคธนกนก[1]* รพีพรรณ กองตูม[1] และรินรำไพ พุทธิพันธ์[2]

Krongsakda Phakthanakanok[1]*, Rapeepan Kongtoom[1] and Rinrampai Puttipan[2]

**บทคัดย่อ**

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ โดยใช้กระบวนการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน เพื่อพัฒนานวัตกรรมอาหารฟังก์ชันสำหรับผู้สูงวัย โปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำเตรียมโดยผ่านกระบวนการต้ม แช่แข็ง ละลาย บด และย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส 3 ชนิด ได้แก่ acid protease, bromelain และ alkaline protease ภายใต้สภาวะค่า pH ที่แตกต่างกัน จากนั้นนำสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ผสมกับปลายข้าวหอมมะลิและนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนที่อุณหภูมิ 130°C ทำการบรรจุโจ๊กที่ได้ในซองอลูมิเนียมฟอยล์ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องนาน 120 วัน โดยทำการวิเคราะห์คุณภาพทุก 30 วัน ผลการวิจัยพบว่า alkaline protease มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยโปรตีนจากผำ โดยให้ค่าระดับการย่อยสลาย (%DH) ที่ 78.55% และสูงสุดถึง 89.20% เมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 30 มิลลิลิตร ในขณะที่ acid protease และ bromelain ให้ค่า %DH ต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ผลิตภัณฑ์โจ๊กที่ได้มีค่าสีและความชื้นที่เกิดการเปลี่ยนแปลงตลอดการเก็บรักษา โดยสีมีแนวโน้มเข้มขึ้นจากปฏิกิริยาเมลลาร์ดและมีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นเล็กน้อย การวิเคราะห์ด้านจุลชีววิทยาตรวจไม่พบ *E. coli* ยีสต์ และรา

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

[1]Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajaphat University, Chombueng District, Ratchaburi Province 70150

[2]วิทยาลัยมวยไทยศึกษาและการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง อำเภอจอมบึง จังหวัดราชบุรี 70150

[2]College of Muaythai Study and Thai Traditional Medicine, Muban Chombueng Rajaphat University, Chombueng District, Ratchaburi Province 70150

*corresponding author e-mail: krongsakdapha@mcru.ac.th

Received: 19 September 2025; Revised: 3 January 2026; Accepted: 12 February 2026

DOI: https://doi.org/10.14456/lsej.2026.3

ตลอดการเก็บรักษา แต่ตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ($1.85 \times 10^3$ cfu/g) ในวันที่ 120 ของการเก็บรักษา แต่ยังต่ำกว่าจุดอันตรายถึง 50 เท่า แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำสามารถเก็บรักษาได้ยาวนานและคงคุณภาพอยู่ในระดับปลอดภัย

**คำสำคัญ:** การทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน อาหารฟังก์ชันสำหรับผู้สูงวัย โปรตีนไฮโดรไลเซต ผำ

**Abstract**

This study aimed to develop protein hydrolysate-fortified porridge from *Wolffia globosa* using drum drying to develop a functional food innovation for the elderly. Protein hydrolysates from Wolffia were prepared by boiling, freezing, thawing, grinding and hydrolyzing with three types of proteases: acid protease, bromelain and alkaline protease under different pH conditions. The obtained protein hydrolysate solution was then mixed with jasmine broken-milled rice and processed with a drum dryer at 130 °C. The porridge was packed in aluminum foil pouches under a nitrogen atmosphere and stored at room temperature for 120 days, with quality analysis performed every 30 days. The results showed that alkaline protease had the highest efficiency in hydrolyzing Wolffia protein, giving a degree of hydrolysis (%DH) of 78.55% and up to 89.20% when the enzyme volume was increased to 30 mL, while acid protease and bromelain gave significantly lower %DH values ($p<0.05$). The porridge product showed changes in color and moisture during storage, with the color tending to darken due to the Maillard reaction and a slight increase in moisture. Microbiological analysis showed no detection of *E. coli* and yeast and mold throughout the storage. On day 120, the total plate count was $1.85 \times 10^3$ cfu/g, but still 50 times lower than the critical limit. These results indicated that the protein hydrolysate-fortified porridge from Wolffia could be stored for a long time and maintained its quality at a safe level.

**Keywords**: drum drying, functional food for elderly, protein hydrolysate, *Wolffia globosa*

## บทนำ

โปรตีนไฮโดรไลเซต (Protein Hydrolysates) ได้รับความสนใจอย่างมากในฐานะองค์ประกอบสำคัญของอาหารฟังก์ชัน เนื่องจากเกิดจากการย่อยสลายโปรตีนด้วยเอนไซม์ให้เป็นเปปไทด์ขนาดเล็กและกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งมีความสามารถในการดูดซึมได้ดีกว่าโปรตีนรูปปกติ และมีสมบัติทางหน้าที่เหมาะสมต่อการประยุกต์ใช้ในอาหารแปรรูป โปรตีนไฮโดรไลเซตจากพืช เช่น ถั่วเหลือง ถั่วชิกพี ควินัว

และเมล็ดเชีย มีคุณสมบัติทางฟังก์ชัน เช่น การละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดโฟมและอิมัลชัน ตลอดจนความสามารถในการคงตัวของโครงสร้างอาหาร (Duangjarus et al., 2022) คุณลักษณะเด่นของโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ส่งผลต่อสุขภาพ คือ เปปไทด์สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive peptides) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านจุลชีพ ตลอดจนความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ angiotensin-converting enzyme (ACE) ซึ่งมีบทบาทต่อความดันโลหิตสูง และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Peighambardoust et al., 2021) ตัวอย่างของโปรตีนไฮโดรไลเซตจากถั่วดาวอินคามีรายงานว่าสามารถลดความดันโลหิตในสัตว์ทดลองได้อย่างมีนัยสำคัญ (Sa-nguanpong et al., 2025) ขณะที่โปรตีนไฮโดรไลเซตจากเมล็ดเชียและควินัวมีฤทธิ์ต้านการเกิดภาวะดื้อต่ออินซูลิน และมีศักยภาพในการป้องกันโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Mudgil et al., 2023)

ผำ (*Wolffia globosa*) พืชน้ำจิ๋วในวงศ์ Lemnaceae เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนที่มีคุณภาพสูงและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ผำมีการเจริญเติบโตเร็ว (doubling time เพียง 2–3 วัน) และให้โปรตีนสูงถึง 40–45% ของน้ำหนักแห้ง มีกรดอะมิโนจำเป็นครบถ้วน และยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนหลายชนิด วิตามิน และสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฟลาโวนอยด์ และโทโคฟีรอล (Yadav et al., 2024; Boonarsa et al., 2024) การวิจัยด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์พบว่าผำสามารถเพิ่มโปรตีน ใยอาหาร และต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ ตลอดจนช่วยลดค่าดัชนีน้ำตาลได้ดี นอกจากนี้โปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำยังมีฤทธิ์ชีวภาพ ได้แก่ ต้านจุลชีพและต้านเซลล์มะเร็ง (On-Nom et al., 2023; Seephua et al., 2025) แม้ผำจะมีศักยภาพสูงแต่ยังเผชิญปัญหาความชื้นสูงซึ่งกระทบต่อการเก็บรักษาและการขนส่ง จึงต้องอาศัยเทคโนโลยีการแปรรูปที่เหมาะสมเพื่อคงคุณค่าทางโภชนาการและเพิ่มความสะดวกในการบริโภค (Siriwat et al., 2023)

การทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน (drum drying) เป็นหนึ่งในวิธีแปรรูปที่ได้รับความนิยมสูงในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะสำหรับผลิตภัณฑ์โจ๊กและซีเรียล เนื่องจากสามารถทำให้วัตถุดิบที่มีลักษณะข้นหนืดแห้งได้อย่างรวดเร็วและสามารถคืนรูปได้ง่าย (Jittanit et al., 2012) งานวิจัยเกี่ยวกับโจ๊กไรซ์เบอร์รี่และโจ๊กไก่กึ่งสำเร็จรูปแสดงให้เห็นว่าปัจจัยด้านอุณหภูมิ ความเร็วรอบของลูกกลิ้ง และความหนาของฟิล์มวัตถุดิบ ส่งผลต่อคุณสมบัติการคืนรูป ความสามารถในการดูดซึมน้ำ และคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Wiriyawattana et al., 2018) แม้ว่าความร้อนสูงอาจทำให้สารออกฤทธิ์บางชนิด เช่น แอนโทไซยานินและสารฟีนอลิกเสื่อมสลาย แต่การปรับสภาวะการทำแห้งและการใช้พรีทรีตเมนต์ด้วยเอนไซม์สามารถช่วยคงคุณค่าของสารอาหารที่ไวต่อความร้อนได้ดี (Akcicek et al., 2023; Sai-o., 2022) การบูรณาการการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนเข้ากับการแปรรูปผำจึงเป็นกลยุทธ์สำคัญในการแก้ปัญหาความชื้นสูงของผำ และยังช่วยสร้างผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชันที่มีความเป็นนวัตกรรม ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาการพัฒนาโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำโดยใช้วิธีทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน เพื่อเป็นอาหารฟังก์ชันที่เป็นนวัตกรรมที่สามารถเพิ่มมูลค่าให้ผำ และส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค โดยมีการศึกษาที่

ครอบคลุมตั้งแต่การสกัดโปรตีน การผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซต การใช้เทคโนโลยีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนในการผลิตโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซต ไปจนถึงการวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์

## วิธีดำเนินการวิจัย

### 1. การเตรียมผำ

ผำสายพันธุ์ *Wolffia globosa* ได้รับจากพื้นที่เพาะเลี้ยงในอำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี ตัวอย่างสดจำนวน 1 กิโลกรัมถูกล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา ตามด้วยน้ำกลั่น ก่อนเข้าสู่กระบวนการทำลายโครงสร้างเซลล์ (cell rupture) เพื่อเพิ่มการปลดปล่อยสารภายในเซลล์ โดยประยุกต์เทคนิค Rupture Method ของ Yadav et al. (2024) ซึ่งทำการดัดแปลงเล็กน้อย โดยขั้นตอนประกอบด้วยการต้มวัตถุดิบในหม้อสแตนเลสโดยไม่เติมน้ำเพิ่มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นบรรจุในถุงพลาสติก Low Density Polyethylene (LDPE) และนำไปแช่แข็งที่ –20°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงนำออกมาละลายโดยนำถุงไปแช่ในน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และปั่นบดด้วยเครื่องปั่นอาหาร (Bosch, รุ่น MCM3501M, Germany) โดยใช้ความเร็วระดับต่ำสุด และปั่นเป็นเวลา 1 นาที จนได้วัตถุดิบที่มีลักษณะเป็นเนื้อละเอียดพร้อมสำหรับการสกัดโปรตีน

### 2. การย่อยโปรตีนจากผำด้วยเอนไซม์โปรตีเอส

เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสในสภาวะความเป็นกรด–เบสต่างกัน ได้ทำการทดลองย่อยโปรตีนในสามช่วงค่า pH ได้แก่ สภาวะกรด (pH 4.0) โดยใช้ acid protease (iKnowZyme, Thailand) สภาวะกลาง (pH 7.0) โดยใช้ bromelain (Megazyme, Ireland) และสภาวะเบส (pH 9.0) โดยใช้ alkaline protease (iKnowZyme, Thailand) ทั้งหมดให้เตรียมโดยละลายในบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม ได้แก่ acetate buffer (pH 4.0) ความเข้มข้น 0.2 M, phosphate buffer (pH 7.0) ความเข้มข้น 0.2 M และ Tris–HCl buffer (pH 9.0) ความเข้มข้น 0.2 M ตามลำดับ ให้ได้ความเข้มข้นเอนไซม์ประมาณ 1,000 U/mg กระบวนการย่อยโปรตีนแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลอง โดยแต่ละชุดการทดลองใช้เอนไซม์โปรตีเอสจำนวน 1 ชนิด เริ่มโดยผสมวัตถุดิบผำกับสารละลายเอนไซม์ในอัตราส่วน 1 กิโลกรัม : 20 มิลลิลิตร และทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พร้อมการกวนอย่างสม่ำเสมอด้วยเครื่อง overhead stirrer หลังครบเวลาทำการยุติกิจกรรมของเอนไซม์ด้วยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ตัวอย่างที่ได้นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 8,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที ส่วนใส (supernatant) ที่ได้คือโปรตีนไฮโดรไลเซต (protein hydrolysate) จากนั้นนำไปวิเคราะห์ระดับการย่อยสลายโปรตีน (degree of hydrolysis, DH) และใช้เป็นสารตั้งต้นในการแปรรูปผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปต่อไป

**3. การศึกษาอัตราส่วนของเอนไซม์โปรตีเอสที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีน**

ในแต่ละชุดการทดลอง ให้ทำการศึกษาปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนจากผำ โดยใช้ผำสดน้ำหนัก 1 กิโลกรัมเช่นเดียวกับการทดลองตอนที่ 1 และปรับปริมาณสารละลายเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยให้แตกต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยใช้วิธีการย่อยโปรตีนดังการทดลองตอนที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากผำของเอนไซม์ในแต่ละอัตราส่วนและหาค่าที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ

**4. การวิเคราะห์ค่าระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis ; DH)**

ทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี 2,4,6-Trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) ดัดแปลงเล็กน้อยตามวิธีการของ Benjakul & Morriss (1997) โดย TNBS จะทำปฏิกิริยากับหมู่เอมีนเหล่านี้และเกิดเป็นสารประกอบที่มีสีเหลืองเข้ม ความเข้มของสีเหลืองที่เกิดขึ้นมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณ $\alpha$-amino group ที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากผำ ซึ่งดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm โดยใช้กรดอะมิโน Leucine เป็นสารมาตรฐานสำหรับเทียบปริมาณหมู่อะมิโน เริ่มจากบ่มส่วนใสที่ได้จากขั้นตอนการย่อยด้วยเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากนั้นดูดส่วนใสปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมกับ Phosphate Buffer pH 8.2 ความเข้มข้น 0.2 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย TNBS ความเข้มข้น 0.01% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้ในที่มืดและรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เติม Sodium Sulfite ความเข้มข้น 0.1 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิห้องทันที และบ่มไว้ 15 นาที นำไปวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร (รุ่น Multiskan GO, Thermo Fisher Scientific Inc, USA) เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงกับกราฟมาตรฐาน L-Leucine ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 และ 5.0 mM (หรือทำการคำนวณด้วยสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน) โดยคำนวณหาค่าระดับการย่อยสลายในหน่วย %DH ด้วยสมการต่อไปนี้

$$\%DH = [(Lt-L0) / (Lmax-L0)] \times 100$$

โดยกำหนดให้ Lt = ปริมาณ $\alpha$-amino acid (mM) ที่ได้จากการย่อยสลายโปรตีนที่เวลาต่าง ๆ ในการทดลอง

L0 = ปริมาณ $\alpha$-amino acid (mM) ในสารละลายเริ่มต้น

Lmax = ปริมาณ $\alpha$-amino acid (mM) ทั้งหมดในสารละลายโปรตีนซึ่งได้จากการย่อยสลายโปรตีนด้วย 6M HCL (ส่วนผสมของโปรตีน: HCl = 1:10 หรือ 500 ไมโครลิตร : 4.5 มิลลิลิตร) ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หลังจากการย่อยให้นำไปกรองผ่านกระดาษกรอง และทำการปรับสภาพให้เป็นกลางด้วย 6M NaOH จน pH อยู่ในค่าประมาณ 8.2-8.5

**5. การแปรรูปโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำด้วยกระบวนการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน (drum dryer)**

ดำเนินการโดยบดปลายข้าวหอมมะลิให้ละเอียด จากนั้นนำมาผสมกับสารละลายโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำในอัตราส่วน 1 กิโลกรัมต่อ 500 มิลลิลิตร นำส่วนผสมที่ได้ไปต้มจนเดือดพร้อมเติมน้ำและกวนผสมอย่างต่อเนื่อง โดยควบคุมความหนืดของสารละลายโดยใช้เครื่องวิเคราะห์ค่าความหนืด (Bostwick Consistometer, USA) จนกระทั่งสารละลายมีค่าความหนืดเท่ากับ 9.5 ± 0.2 เซนติเมตร ที่เวลา 30 วินาที จึงยุติการกวนเพื่อนำไปเข้าสู่กระบวนการทำแห้ง จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้ป้อนเข้าสู่เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งคู่ (Euro Best Technology, Thailand) โดยใช้อุณหภูมิผิวลูกกลิ้งที่ 130 องศาเซลเซียส และปรับความเร็วการหมุนที่ 1 รอบต่อนาที แผ่นแห้งที่ได้ถูกขูดออกและนำไปทำให้แห้งต่อในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง (Euro Best Technology, Thailand) เพื่อกำจัดความชื้นตกค้าง จากนั้นนำไปบดด้วยลูกกลิ้งนวดแป้งสแตนเลสและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 20 mesh เพื่อให้ได้เกล็ดโจ๊กที่มีขนาดสม่ำเสมอ จะได้ผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ นำไปบรรจุในซองอลูมิเนียมฟอยล์ภายใต้บรรยากาศไนโตรเจน โดยแบ่งบรรจุซองละ 50 กรัม และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 120 วัน

**6. ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ**

คุณภาพของผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำถูกประเมินทั้งด้านกายภาพและจุลินทรีย์ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนโจ๊กข้าวกล้องกึ่งสำเร็จรูป (มผช. 689/2547) โดยวัดค่าสีในระบบ L*a*b* ด้วยเครื่องวัดสี (HunterLab, รุ่น UltraScan VIS, USA) ความชื้นวัดโดยใช้เครื่อง Moisture Analyzer (Shimadzu, รุ่น MOC63U, Japan) การตรวจสอบด้านจุลินทรีย์ประกอบด้วยการนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) การตรวจหา *Escherichia coli* และการนับยีสต์และรา ผลิตภัณฑ์ถูกประเมินคุณภาพในวันที่ผลิต (day 0) และทุก ๆ 30 วันจนถึง 120 วันของการเก็บรักษา (day 120)

**7. สถิติที่ใช้**

การทดลองวิเคราะห์ค่าต่างๆ ให้ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (ความเชื่อมั่น 95%) และใช้ Tukey’s HSD เป็นการทดสอบเปรียบเทียบผลการทดลองรายคู่ โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์สถิติ PSPP Freeware

## ผลการวิจัย

**1. ผลการวิเคราะห์การย่อยโปรตีนจากผำด้วยเอนไซม์โปรตีเอสและระดับการย่อยสลาย**

ผลการทดลองวิเคราะห์การย่อยโปรตีนจากผำด้วยเอนไซม์โปรตีเอสสามชนิดดังตารางที่ 1 (Table 1) พบว่า เอนไซม์โปรตีเอสที่ใช้ในการย่อยโปรตีนจากผำมีประสิทธิภาพแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย alkaline protease ที่ pH 9.0 ให้ค่าระดับการย่อยสลาย (%DH) สูงที่สุดที่

78.55% รองลงมาคือ acid protease ที่ pH 4.0 มีค่า %DH เท่ากับ 68.94% ส่วน bromelain ที่ pH 7.0 ให้ค่า %DH ต่ำที่สุดเท่ากับ 64.25% ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่า alkaline protease เป็นเอนไซม์ที่มีศักยภาพสูงสุดสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ และการได้ %DH ที่สูงกว่าจึงหมายความว่าในสารละลายที่ถูกปั่นเหวี่ยงแยกออกมาหลังจากการย่อย (supernatant) มีปริมาณเปปไทด์และกรดอะมิโนในปริมาณที่สูงกว่าการทดลองอื่น

**Table 1** Degree of hydrolysis (%DH) of *Wolffia globosa* protein by different proteases enzyme.

| Enzyme | Hydrolysis pH | Degree of Hydrolysis (%DH) |
|---|---|---|
| Acid protease | 4.0 | $68.94 \pm 0.22^{b}$ |
| Bromelain | 7.0 | $64.25 \pm 0.14^{c}$ |
| Alkaline protease | 9.0 | $78.55 \pm 0.30^{a}$ |

**Remark** Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different superscript letters (a-c) within the same column indicate significant differences ($p<0.05$) according to Tukey's HSD test.

**2. ผลการศึกษาปริมาณของเอนไซม์โปรตีเอสที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีน**

ผลของปริมาณเอนไซม์โปรตีเอสที่ใช้ต่อระดับการย่อยสลายโปรตีนจากผำ ดังภาพที่ 1 (Figure 1) พบว่า การเพิ่มปริมาณเอนไซม์จาก 10 เป็น 20 และ 30 มิลลิลิตร ส่งผลให้ค่า %DH เพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับเอนไซม์ทุกชนิดที่ศึกษา โดย alkaline protease ให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงที่สุดเมื่อเทียบกับเอนไซม์อื่นในทุกระดับปริมาณ โดยเฉพาะที่ 30 มิลลิลิตร พบค่า %DH เท่ากับ 89.20% ซึ่งสูงกว่าที่ปริมาณ 20 มิลลิลิตร (78.55%) และ 10 มิลลิลิตร (70.08%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) สำหรับ acid protease พบว่าค่า %DH เพิ่มขึ้นตามปริมาณที่ใช้ โดยที่ 10, 20 และ 30 มิลลิลิตร มีค่าเท่ากับ 55.94, 68.94 และ 74.55% ตามลำดับ ขณะที่เอนไซม์ bromelain แม้จะให้ค่า %DH ต่ำกว่า alkaline protease และ acid protease แต่ยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณที่ใช้ โดยที่ 10 มิลลิลิตรให้ค่า 60.15% ส่วน 20 มิลลิลิตรให้ค่า 64.25% และที่ 30 มิลลิลิตรให้ค่า 67.09% ตามลำดับ ดังนั้นผลการศึกษาปริมาณของเอนไซม์โปรตีเอสที่เหมาะสมต่อการย่อยโปรตีนจึงสรุปได้ว่า ปริมาณเอนไซม์ที่มากขึ้นช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนจากผำ และ alkaline protease ที่ปริมาณ 30 มิลลิลิตร เป็นชนิดและปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการให้ค่าระดับการย่อยสลายสูงสุด โดยจะถูกนำไปใช้เป็นเอนไซม์โปรตีเอสในกระบวนการผลิตโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำในขั้นตอนต่อไป

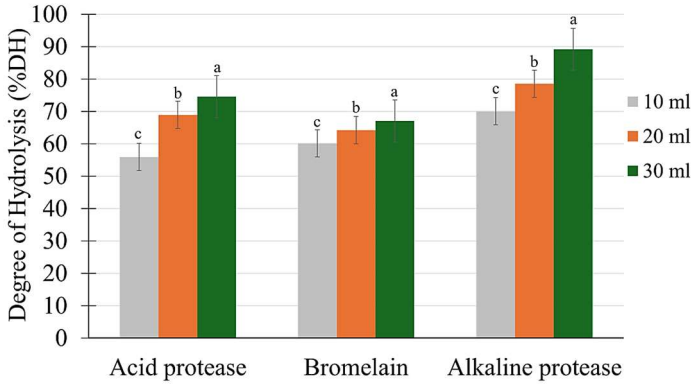



**Figure 1** Effect of protease dosages on the degree of hydrolysis (%DH) of *Wolffia globosa* protein. Different superscript letters (a-c) above the bars indicate significant differences ($p$<0.05) among treatments according to Tukey's HSD test.

**3. ผลการศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ**

เทคนิคการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนในงานวิจัยนี้ มีประสิทธิภาพที่ดีสำหรับการผลิตโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะเป็นเกล็ดและผงสีเขียวเข้ม บรรจุอยู่ในซองอลูมิเนียมฟอยล์และเติมไนโตรเจนทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัว ในด้านค่าสี ผลการทดลองชี้ว่าค่า L* มีค่าสูงที่สุดในวันเริ่มต้นของการเก็บรักษา (28.50) และค่อย ๆ ลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 90 ของการเก็บรักษา (21.19) แสดงว่าผลิตภัณฑ์มีสีเข้มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาไปจนถึงวันที่ 120 ของการเก็บรักษา (23.24) สำหรับค่า a* พบว่ามีค่าเป็นลบทั้งหมด ซึ่งแสดงถึงการมีโทนสีเขียวที่คงอยู่ตลอดการเก็บรักษา โดยแม้จะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) แต่มีแนวโน้มว่าผลิตภัณฑ์มีความเขียวเข้มมากขึ้นเล็กน้อยในช่วงท้ายของการเก็บ (-2.0 ถึง -3.10) ส่วนค่า b* มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจากวันแรกจนถึงวันที่ 120 ของการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเฉดสีไปทางเหลืองเข้มขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาเก็บรักษา และพบความแตกต่างระหว่างทุกช่วงเวลา (8.12 ถึง 19.83) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p$<0.05) นอกจากนี้ค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยเริ่มจากวันแรกมีค่าความชื้น 7.53% และสูงสุดในวันที่ 120 ซึ่งมีค่าความชื้น 9.17% ซึ่งแตกต่างจากช่วงเวลาก่อนหน้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลลัพธ์เหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าการเก็บรักษามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านสีและความชื้นของผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะเมื่อเก็บไว้นานทำให้สีเข้มขึ้น โดยเฉดสีเหลืองและเขียวจะเด่นชัดขึ้น ดังภาพที่ 2 (Figure 2) และมีความชื้นสูงขึ้นซึ่งอาจส่งผลต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่จะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อมีการเก็บรักษาที่ยาวนานมากกว่านี้

**Table 2** Changes in color parameters and moisture content of protein hydrolysate–fortified porridge from *Wolffia globosa* during storage.

| Properties | Value | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Day 0 | Day 30 | Day 60 | Day 90 | Day 120 |
| Color | | | | | |
| L* | 28.50 ± 0.45[a] | 27.23 ± 0.35[a] | 24.89 ± 0.62[b] | 21.19 ± 1.04[b] | 23.24 ± 1.02[c] |
| a* | -2.00 ± 0.08[a] | -1.81 ± 0.22[a] | -2.56 ± 0.78[a] | -3..10 ± 0.50[a] | -3.10 ± 0.50[a] |
| b* | 8.12 ± 0.12[e] | 10.22 ± 0.34[d] | 14.80 ± 0.38[c] | 18.23 ± 0.86[b] | 19.83 ± 0.59[a] |
| Moisture content (%) | 7.53 ± 0.32[b] | 7.64 ± 0.21[b] | 7.23 ± 0.29[b] | 8.15 ± 0.10[b] | 9.17 ± 0.08[a] |

**Remark** Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3). Different superscript letters (a–c) within the same row indicate significant differences ($p$<0.05) according to Tukey's HSD test.

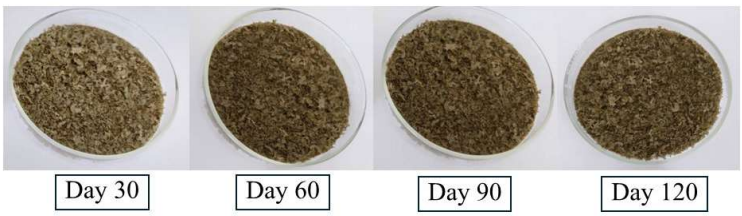



**Figure 2** Color changes of protein hydrolysate–fortified porridge from *Wolffia globosa* produced by drum drying during storage at room temperature for 30, 60, 90 and 120 days.

ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ของโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำ ดังตารางที่ 3 (Table 3) พบว่าในช่วงเก็บรักษาตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 90 ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ทุกกลุ่ม ได้แก่ จุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count: TPC) ยีสต์และรา และ *E. coli* แสดงถึงความสะอาดของกระบวนการผลิต การบรรจุ และคุณภาพของวัตถุดิบผำที่นำมาใช้ ขณะที่ในวันที่ 120 พบเฉพาะค่า TPC เท่ากับ 1.85±0.20 ×10³ cfu/g ซึ่งยังอยู่ในระดับต่ำมาก โดยไม่พบการปนเปื้อนของยีสต์และรา รวมถึง *E. coli* ตลอดการเก็บรักษา ในขณะเดียวกันเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนโจ๊กข้าวกล้องกึ่งสำเร็จรูป (มผช. 689/2547) ที่กำหนดให้ TPC ไม่เกิน 1 × $10^5$ cfu/g ส่วน *E. coli* ต้องน้อยกว่า 3 MPN/g และยีสต์รา ไม่เกิน 100 cfu/g พบว่า ผลการทดลองทุกช่วงเวลาผ่านเกณฑ์มาตรฐานอย่างชัดเจน แม้จะตรวจพบ TPC ในวันที่ 120 แต่ยังต่ำกว่าเกณฑ์ไม่ปลอดภัยถึง 50 เท่า และการตรวจไม่พบ *E. coli* และยีสต์รา จากผลการทดลองนี้เป็นการยืนยันถึงความปลอดภัยทางจุลินทรีย์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำที่ผลิตด้วยกระบวนการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนในงานวิจัยนี้ เป็นต้นแบบที่มีความปลอดภัยตามเกณฑ์มาตรฐานและสามารถคงคุณภาพได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 120 วัน

**Table 3** Microbiological quality of protein hydrolysate-fortified porridge from *Wolffia globosa* during storage.

| Microbials | Value | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | Day 0 | Day 30 | Day 60 | Day 90 | Day 120 |
| Total plate count (cfu/g) | ND | ND | ND | ND | $1.85\pm0.20\times10^3$ |
| Yeast and mold (cfu/g) | ND | ND | ND | ND | ND |
| *Escherichia coli* (MPN/g) | ND | ND | ND | ND | ND |

**Remark** Values are expressed as mean ± standard deviation (n=3).

## อภิปรายผล

ผลการศึกษาในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า alkaline protease มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยโปรตีนจากผำ โดยให้ค่าระดับการย่อยสลาย (%DH) ที่สูงกว่าเอนไซม์ acid protease และ bromelain อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) การที่ alkaline protease แสดงประสิทธิภาพเหนือกว่าอธิบายได้จากกลไกการทำงานในสภาวะเบสที่ส่งผลให้โครงสร้างโปรตีนเกิดการคลายตัว พันธะไฮโดรเจนและแรงยึดเหนี่ยวในโครงสร้างสามมิติลดความเสถียรลง จึงส่งผลให้เอนไซม์เข้าถึงพันธะเปปไทด์ได้ง่ายขึ้น จึงเร่งการย่อยสลายโปรตีนและปลดปล่อยเปปไทด์สายสั้นหรือกรดอะมิโนอิสระออกมาได้มากกว่าเอนไซม์ในสภาวะกรดหรือสภาวะกลาง ทั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Figueroa-Salcido et al. (2024) ที่รายงานว่า alcalase ซึ่งเป็นเอนไซม์โปรตีเอสในสภาวะเบสสามารถผลิตไฮโดรไลเซตจากวัตถุดิบถั่วชิกพีที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ACE ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยลดความดันโลหิตในสัตว์ทดลองได้ดี ในอีกทางหนึ่งรายงานของ López-Moreno et al. (2023) ที่แสดงว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตจากควิโนอาสีแดงที่ย่อยด้วยเอนไซม์ในสภาวะเบส มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและสามารถช่วยปรับปรุงสุขภาพผนังหลอดเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ จะเห็นได้ว่างานวิจัยที่ผ่านมาได้สนับสนุนผลจากงานวิจัยนี้ว่าเอนไซม์โปรตีเอสในสภาวะเบส มีศักยภาพสูงทั้งในเชิงการย่อยสลายโปรตีนและการเลือกตัดสายโปรตีนให้ได้เปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เมื่อพิจารณาการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ bromelain ซึ่งทำงานได้ดีในสภาวะกลาง แต่ให้ค่า %DH ต่ำที่สุด ชี้ให้ว่าเอนไซม์ bromelain ไม่มีความจำเพาะต่อโปรตีนจากผำ อย่างไรก็ตามแม้ค่าการย่อยจะต่ำกว่า แต่เคยมีรายงานวิจัยก่อนหน้านี้กล่าวว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ bromelain มีความสามารถในการละลายน้ำและการเกิดโฟมที่ดี และไม่มีรสขมเมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์โปรตีเอสชนิดอื่น ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่มีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร (Ospina-Quiroga et al., 2022) ส่วน acid protease ซึ่งแม้จะให้ค่า %DH สูงกว่าเอนไซม์ bromelain แต่ยังต่ำกว่า alkaline protease อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ผลิตจากเอนไซม์ในสภาวะกรดได้มีรายงานว่าสามารถสร้างเปปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านเบาหวาน ต้านอนุมูลอิสระ และต้านเอนไซม์ก่อโรคได้หลากหลาย (Girgih et al., 2016; López-Moreno et al., 2023; Mudgil et al., 2023)

ข้อมูลเหล่านี้มีประโยชน์สำหรับสนับสนุนงานวิจัยนี้อย่างมาก ซึ่งในงานวิจัยนี้แม้เอนไซม์โปรตีเอสทั้งสามชนิดที่นำมาใช้จะมีประสิทธิภาพการย่อยโปรตีนจากผำต่างกัน และแน่นอนว่าโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้ย่อมมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน แต่สามารถนำโปรตีนไฮโดรไลเซตที่ได้จากการย่อยของเอนไซม์ทั้งสามชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้ได้หลากหลายอุตสาหกรรมตามความเหมาะสมในอนาคต อีกประเด็นที่น่าสนใจคือผลของปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ (10, 20 และ 30 มิลลิลิตร) โดยพบว่าการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ส่งผลให้ค่า %DH เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยที่ 30 มิลลิลิตรให้ค่า %DH สูงสุดที่ 89.20% อย่างไรก็ตามตามหลักจลนศาสตร์ของเอนไซม์ตามแบบจำลอง Michaelis–Menten เมื่อปริมาณซับสเตรตมีจำกัด อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเข้าใกล้ค่าสูงสุด ($V_{max}$) และการเพิ่มเอนไซม์ต่อไปอาจไม่ทำให้อัตราการย่อยเพิ่มขึ้น เนื่องจากเมื่อมีเอนไซม์มากเพียงพอเพื่อจับกับซับสเตรตได้เกือบหมด ปัจจัยที่จำกัดความเร็วของปฏิกิริยาจะไม่ใช่ปริมาณเอนไซม์อีกต่อไป แต่จะกลายเป็นปริมาณซับสเตรตที่กำลังหมดไป ดังนั้นแม้การเพิ่มเอนไซม์เกิน 30 มิลลิลิตร (เช่น 40 มิลลิลิตร) อาจทำให้ค่า %DH เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับต้นทุนที่สูงขึ้น นอกจากนี้ การย่อยสลายในระดับสูงมากอาจทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เปปไทด์สายสั้นจำนวนมาก ซึ่งอาจก่อให้เกิดรสขม และส่งผลต่อคุณสมบัติทางฟังก์ชันของโปรตีนเปลี่ยนไป เช่น ความสามารถในการละลายน้ำ ความสามารถในการเกิดโฟม ตลอดจนความสามารถในการเกิดและคงตัวของอิมัลชัน (Ospina-Quiroga et al., 2022) ดังนั้น ภายใต้ขอบเขตการทดลองนี้ การใช้ alkaline protease ที่ 30 มิลลิลิตรจึงถือเป็นระดับที่ให้ค่า %DH สูงสุดในช่วงที่ศึกษา และมีความสมดุลระหว่างประสิทธิภาพการย่อย ต้นทุน และการคงไว้ซึ่งคุณสมบัติทางฟังก์ชันของผลิตภัณฑ์ อย่างไรก็ตามการศึกษาปริมาณเอนไซม์ที่สูงกว่านี้ เช่น 40 มิลลิลิตร ควรดำเนินการเพิ่มเติมในอนาคตเพื่อยืนยันแนวโน้มเชิงจลนศาสตร์และผลกระทบต่อคุณภาพเชิงประสาทสัมผัสและสมบัติทางฟังก์ชันอย่างครบถ้วน

ผลการทดลองการแปรรูปผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำพบว่า เกิดการเปลี่ยนสีเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 วัน โดยความเข้มของสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตั้งแต่วันที่ 30 ไปจนถึงวันที่ 120 ของการเก็บรักษา ปรากฏการณ์นี้สามารถอธิบายได้จากการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) การเกิดออกซิเดชันของสารอาหารบางอย่าง รวมถึงสารตั้งต้นสำคัญของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลแบบไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ การเกิดสีน้ำตาลดังกล่าวเป็นกลไกที่พบทั่วไปในผลิตภัณฑ์ธัญพืช (Adgidzi & Ani, 2021) หรือผลิตภัณฑ์พืชอาหารโปรตีนสูงที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนและเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน (Wiriyawattana et al., 2018) ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสีในโจ๊กผสมโปรตีนจากผำจึงชี้ให้เห็นถึงปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ยังคงเกิดขึ้นต่อเนื่องจากอิทธิพลของชีวโมเลกุลของโปรตีนจากผำในระหว่างการเก็บ โดยมีสภาวะความชื้น อุณหภูมิ และปริมาณน้ำอิสระ ($a_w$) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา อย่างไรก็ตามมีรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องก่อนนี้ได้กล่าวว่า การใช้เทคโนโลยีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนเพื่อผลิตโจ๊กพร้อมบริโภค มีบทบาทสำคัญต่อคุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์ งานวิจัยของ Jittanit et al. (2012) รายงานว่าโจ๊กที่ผ่านการอบแห้งด้วยกรรมวิธีการทำแห้งแบบ

ลูกกลิ้งร้อนมีค่าความสว่างและสีที่แตกต่างกันไปตามอุณหภูมิและความเร็วของลูกกลิ้ง โดยกระบวนการที่ใช้ความร้อนสูงสามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด และปฏิกิริยา lipid oxidation ได้มากขึ้น แม้กระบวนการนี้จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษา แต่ในระยะยาวกลับทำให้ผลิตภัณฑ์มีแนวโน้มที่จะเปลี่ยนสีเข้มขึ้นเรื่อย ๆ ตามเวลา เช่นเดียวกับผลที่พบในโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำในงานวิจัยนี้ ในทำนองเดียวกัน รายงานวิจัยของ Siriwat et al. (2023) ชี้ว่าโครงสร้างโปรตีนจากผำที่ผ่านการดัดแปรด้วยเอนไซม์มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีสูง ทำให้เปปไทด์และกรดอะมิโนที่ถูกปลดปล่อยออกมามีแนวโน้มเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ง่ายขึ้น ส่งผลให้โปรตีนจากผำเปลี่ยนสีอย่างเด่นชัดตลอดการเก็บรักษา แม้สีที่เข้มขึ้นอาจไม่ได้กระทบคุณค่าทางโภชนาการโดยตรง แต่มีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นการควบคุมการเปลี่ยนแปลงสีจึงเป็นประเด็นสำคัญที่ต้องพิจารณาในเชิงอุตสาหกรรม เช่น การเลือกสภาวะการอบแห้งที่เหมาะสม การใช้เติมสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ หรือการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่ลดการสัมผัสออกซิเจน เพื่อลดความรุนแรงของการเปลี่ยนสีและเพิ่มเสถียรภาพของผลิตภัณฑ์ในระยะยาว (Turck et al., 2021)

ผลการวิเคราะห์จุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำตลอดการเก็บรักษา 120 วัน ชี้ให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยในเชิงจุลชีววิทยา โดยตั้งแต่วันแรกไปจนถึงวันที่ 90 ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์รา รวมทั้ง *E. coli* แต่เมื่อถึงวันที่ 120 ตรวจพบค่า TPC ในระดับต่ำกว่าเกณฑ์ไม่ปลอดภัยของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (Thailand Industrial Standards Institute., 2004) ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากมีอากาศและความชื้นซึมผ่านเข้าไปในถุงอลูมิเนียมฟอยล์ได้ เพราะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและไม่ได้ใส่สารดูดซับความชื้นเข้าไปในซอง จึงทำให้มีความชื้นเพิ่มมากขึ้น แต่ก็ใช้เวลานานมากกว่า 120 วันจึงเริ่มเห็นการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นผลิตภัณฑ์โจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผำที่ได้จากกรรมวิธีการผลิตด้วยการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนในงานวิจัยนี้สามารถคงความปลอดภัยทางจุลินทรีย์แม้เก็บรักษาไว้นาน 120 วัน การที่ตรวจไม่พบจุลินทรีย์ปนเปื้อนในช่วง 0–90 วัน และมีเพียงปริมาณ TPC ในวันที่ 120 ของการเก็บรักษา บ่งบอกถึงความเหมาะสมของกระบวนการแปรรูปด้วยวิธีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน วิธีนี้สามารถลดความชื้นให้อยู่ในระดับที่ไม่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ กระบวนการนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โจ๊กกึ่งสำเร็จรูปให้อยู่ในเกณฑ์ปลอดภัย

จากผลการศึกษาทั้งหมดในงานวิจัยนี้ โปรตีนจากผำที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอสในสภาวะเบส สามารถนำมาใช้เสริมในโจ๊กสำเร็จรูปได้ ทำให้ได้นวัตกรรมผลิตภัณฑ์โจ๊กที่มีเปปไทด์และกรดอะมิโนผสมอยู่ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ประสบความสำเร็จในการผลิตโจ๊กด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ โดยเสริมสารสำคัญที่หลากหลายจากพืชอาหารเข้าไป (Khuenpet et al., 2020; Niyomwet et al., 2018; Nuryanto et al., 2022) เปปไทด์ที่เสริมเข้าไปมีคุณสมบัติย่อยง่าย และสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้รวดเร็วซึ่งสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาอาหารสำหรับผู้สูงอายุที่ระบบการย่อยโปรตีนเสื่อมถอยลงตามวัย (Charoensri et al., 2025) นอกเหนือจากนี้เปปไทด์ที่ได้รับเข้าไป

ยังมีหลักฐานงานวิจัยที่ชี้ชัดแล้วว่ามีศักยภาพทางชีวภาพด้านอื่นอีก เช่น การเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเอนไซม์ ACE (angiotensin-converting enzyme) เพื่อการควบคุมความดันโลหิต (Girgih et al., 2016; López-Moreno et al., 2023; Mudgil et al., 2023) อย่างไรก็ตาม กระบวนการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส อาจส่งผลต่อความคงตัวของกรดอะมิโนบางชนิด โดยเฉพาะไลซีน ซึ่งอาจเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดกับน้ำตาลรีดิวซ์ หรือเมไทโอนีนซึ่งไวต่อการออกซิเดชัน ทั้งนี้การเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ดดังกล่าวยังสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงค่าสีที่พบในผลิตภัณฑ์ระหว่างการเก็บรักษา (Jittanit et al., 2012; Wiriyawattana et al., 2018) แม้ความร้อนอาจลดคุณค่าทางโภชนาการบางส่วน แต่ในบางกรณีผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดสามารถแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เพิ่มขึ้น จึงสะท้อนว่าผลกระทบของความร้อนมีทั้งด้านบวกและด้านลบ ขึ้นกับสภาวะกระบวนการผลิต สำหรับสารออกฤทธิ์ชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งสารกลุ่มดังกล่าวมีความไวต่อความร้อนและออกซิเจน การทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนอาจทำให้ปริมาณสารเหล่านี้ลดลงบางส่วน (Akcicek et al., 2023) แม้หลังการผลิตผลิตภัณฑ์มีความชื้นต่ำและบรรจุภายใต้ไนโตรเจน ซึ่งช่วยชะลอการเสื่อมเสียระหว่างการเก็บรักษาได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตาม อายุการเก็บรักษาในเชิงคุณภาพควรพิจารณาร่วมกับการเปลี่ยนแปลงสี ความชื้น และความเป็นไปได้ของการเกิดออกซิเดชันที่อาจส่งผลต่อสารออกฤทธิ์และคุณค่าทางโภชนาการในระยะยาว ดังนั้น ประเด็นด้านองค์ประกอบกรดอะมิโนสาระสำคัญต่าง ๆ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โจ๊กสำเร็จรูปควรได้รับการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตเพื่อสนับสนุนศักยภาพการพัฒนาเป็นอาหารฟังก์ชัน (functional food) และนิวทราซูติคอล (nutraceuticals) ได้ในอนาคต

## สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาโจ๊กเสริมโปรตีนไฮโดรไลเซตจากผ้ำโดยใช้เทคโนโลยีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อน เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและพัฒนาต้นแบบอาหารฟังก์ชันจากโปรตีนจากผ้ำ ผลการทดลอง พบว่า alkaline protease มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการย่อยโปรตีนจากผ้ำ โดยให้ค่าระดับการย่อยสลาย (%DH) สูงถึง 78.55% และเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 30 มิลลิลิตร ส่งผลให้มีค่า %DH สูงสุดถึง 89.20% ผลิตภัณฑ์โจ๊กที่ได้ผ่านการประเมินคุณภาพหลังเก็บรักษาไว้ 120 วัน พบการเปลี่ยนแปลงด้านสีและความชื้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยสีมีแนวโน้มเข้มขึ้นจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด และมีความชื้นเพิ่มขึ้นตามเวลาการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ยังคงความปลอดภัยทางจุลินทรีย์ โดยตรวจไม่พบ *E. coli* ยีสต์ และราตลอดการเก็บรักษา และแม้ผ่านการเก็บรักษาไปแล้ว 120 วัน จะพบค่า TPC ในระดับต่ำ แต่ยังต่ำกว่าค่ามาตรฐานตาม มผช.689/2547 ถึง 50 เท่า งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของผ้ำในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชันที่มีโปรตีนคุณภาพสูง การเลือกใช้ alkaline protease และเทคโนโลยีการทำแห้งแบบลูกกลิ้งร้อนมีส่วนสำคัญในการสร้าง

ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัย เก็บรักษาได้นาน และมีคุณสมบัติที่เอื้อต่อการยกระดับผำสู่โปรตีนทางเลือกเชิงพาณิชย์ในอนาคตต่อไป

## กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 (ทุนวิจัยเลขที่ 67A161000001) ขอขอบคุณวิสาหกิจชุมชนและเกษตรกรในจ.ราชบุรี ที่ให้ความอนุเคราะห์ผำสดและแห้งจำนวนหนึ่งสำหรับใช้ในการวิจัย และขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร ที่อำนวยความสะดวกสถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์และทรัพยากรในการวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Adgidzi EA, Ani JC. Effect of drum drying on the physical and chemical characteristics of instant cereal mixes from the blends of millet and sesame fortified with moringa leaf powder. ADAN Journal of Agriculture 2021;2(1):212-225.

Akcicek A, Avci E, Tekin-Cakmak ZH, Kasapoglu MZ, Sagdic O, Karasu S. Influence of different drying techniques on the drying kinetics, total bioactive compounds, anthocyanin profile, color, and microstructural properties of blueberry fruit. *ACS Omega Journal* 2023;8(44):41603-41611.

Benjakul S, Morrissey MT. Protein hydrolysates from Pacific whiting solid wastes. Journal of Agricultural and Food Chemistry 1997;45(9):3423-3430.

Boonarsa P, Bunyatratchata A, Chumroenphat T, Thammapat P, Chaikwang T, Siripan T, Li H, et al. Nutritional quality, functional properties, and biological characterization of watermeal (*Wolffia globosa*). Horticulturae 2024;10(11):1171.

Charoensri P, Kijroongrojana K, Sukkwai S, Nilsuwan K, Benjakul S. Physical, sensory, antioxidant and nutritional properties on Riceberry rice porridge fortified with bio-calcium and protein hydrolysate from salmon (*Salmo salar*) frame for elderly. Journal of Agriculture and Food Research 2025;19:101679.

Duangjarus N, Chaiworapuek W, Rachtanapun C, Ritthiruangdej P, Charoensiddhi S. Antimicrobial and functional properties of duckweed (*Wolffia globosa*) protein and peptide extracts prepared by ultrasound-assisted extraction. Foods 2022;11(15):2348.

European Food Safety Authority (EFSA). Safety of *Wolffia globosa* as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. Efsa journal 2021;19(7):e06545.

Figueroa-Salcido OG, Arámburo-Gálvez JG, Mora-Melgem JA, Camacho-Cervantes DL, Gracia-Valenzuela MH, Cuevas-Rodríguez EO, Ontiveros N. Alcalase-based chickpea (Cicer arietinum L.) protein hydrolysates efficiently reduce systolic blood pressure in spontaneously hypertensive rats. Foods 2024;13(8):1216.

Girgih AT, Nwachukwu ID, Onuh JO, Malomo SA, Aluko RE. Antihypertensive properties of a pea protein hydrolysate during short- and long-term oral administration to spontaneously hypertensive rats. Journal of Food Science 2016;81(5):H1281-H1287.

Jittanit W, Lalitmassakul C, Charn-Utsah P. Quality of instant congee and energy consumption in the drying process by using drum dryer. The Journal of King Mongkut's University of Technology North Bangkok 2012;22(2):255-264.

Khuenpet K, Polpued R, Leevanichayakul K, Kaveekiew S. Effect of different rice varieties and drying methods on the quality of instant Riceberry porridge fortified with Jerusalem artichoke. Thai Science and Technology Journal 2020;28(10):1813-1833.

López-Moreno M, Jiménez-Moreno E, Márquez Gallego A, Vera Pasamontes G, Uranga Ocio JA, Garcés-Rimón M, Miguel-Castro M. Red quinoa hydrolysates with antioxidant properties improve cardiovascular health in spontaneously hypertensive rats. Antioxidants 2023;12(6):1291.

Mudgil P, Ajayi FF, Alkaabi A, Alsubousi M, Singh BP, Maqsood S. Flaxseed and chia seed-derived protein hydrolysates exhibiting enhanced in vitro antidiabetic, anti-obesity, and antioxidant properties. Frontiers in Sustainable Food Systems 2023;7:1223884.

Niyomwet P, Sappasit P, Waree A, Khongsit P. Product development of instant Riceberry porridge. Burapha Science Journal 2018;23(3):1638-1645.

Nuryanto, Chasanah E, Afifah DN, Fawzya YN, Suryaningrum TD, Martosuyono P, Putri YI, et al. Characteristics of product complementary feeding with fortified fish protein hydrolysate (FPH). Food Research International 2022;6(1):78-89.

On-Nom N, Promdang P, Inthachat W, Kanoongon P, Sahasakul Y, Chupeerach C, Suttisansanee U. et al. Wolffia globosa-based nutritious snack formulation with high protein and dietary fiber contents. Foods 2023;12(14):2647.

Ospina-Quiroga JL, García-Moreno PJ, Guadix A, Guadix EM, Almécija-Rodríguez MC, Pérez-Gálvez R. Evaluation of plant protein hydrolysates as natural antioxidants in fish oil-in-water emulsions. Antioxidants 2022;11(8):1612.

Peighambardoust SH, Karami Z, Pateiro M, Lorenzo JM. A Review on Health-Promoting, Biological, and Functional Aspects of Bioactive Peptides in Food Applications. Biomolecules 2021;11(5):631.

Sa-nguanpong P, Wetprasit P, Inchan A, Chaichana C, Kaewkong W, Charoenphon N, Adthapanyawanich K, et al. Sacha inchi meal protein hydrolysate mitigates lipid dysmetabolism in L-NAME-induced hypertensive rats. Journal of Functional Foods 2025;127:106772.

Sai-o T. *Effects of pretreatments and proteolytic enzymes on physico-chemical properties and bioactivities of Wolffia globosa extracts*. Phitsanulok, Thailand: Naresuan University; 2022.

Seephua N, Liu Y, Li H, Bunyatratchata A, Phuseerit O, Siriamornpun S. Nutritional enhancement of rice noodles with watermeal (*Wolffia globosa*). Foods 2025;14(7):1096.

Siriwat W, Ungwiwatkul S, Unban K, Laokuldilok T, Klunklin W, Tangjaidee P, Potikanond S. et al. Extraction, enzymatic modification, and anti-cancer potential of an alternative plant-based protein from *Wolffia globosa*. Foods 2023;12(19):3815.

Thailand Industrial Standards Institute. Instant brown rice porridge: TCP standard no. 689/2547. 2004.

Turck D, Bohn T, Castenmiller J, De Henauw S, Hirsch-Ernst KI, Maciuk A, Mangelsdorf I, et al. Scientific opinion on the safety of *Wolffia globosa* powder as a novel food pursuant to Regulation (EU) 2015/2283. EFSA Journal 2021;19(12):e06938.

Wiriyawattana P, Suwonsichon S, Suwonsichon T. Effects of drum drying on physical and antioxidant properties of Riceberry flour. Agriculture and Natural Resources 2018;52(5):445-450.

Yadav NK, Patel AB, Debbarma S, Priyadarshini MB, Priyadarshi H. Characterization of bioactive metabolites and antioxidant activities in solid and liquid fractions of fresh duckweed (*Wolffia globosa*) subjected to different cell wall rupture methods. ACS Omega 2024;9(18):19940-19955.