การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่าและคุณสมบัติเชิงหน้าที่

Preparation of Protein Hydrolysates from *Spirulina* and Their Functional Properties

สุพรรณี เบเชกู่[1] และ วนิดา ปานอุทัย[2*]

[1]ภาควิชาจุลชีววิทยาและปรสิตวิทยา คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก 65000

[2]ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร 10900

Supannee Bachaku[1] and Wanida Pan-utai[2*]

[1]Department of Microbiology and Parasitology, Faculty of Medical Science, Naresuan University, Phitsanulok 65000

[2]Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Bangkok 10900

***Corresponding author**: ifrwdp@ku.ac.th

Received: 21 February 2024 / Revised: 26 April 2024/ Accepted: 29 April 2024

บทคัดย่อ

โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าถือเป็นโปรตีนทางเลือกอุดมไปด้วยเพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น การต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง ต้านการอักเสบ ลดความดันโลหิตหรือต้านโรคอ้วน เป็นต้น ดังนั้นโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่าจึงมีคุณสมบัติที่เหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ ซึ่งนอกจากคุณค่าทางโภชนาการที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคแล้วยังมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหารที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูปในแง่ของผู้ผลิต การรายงานในบทความก่อนหน้ามักรายงานถึงโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าและการประยุกต์ใช้ชีวมวลสไปรูลิน่าในอาหารโดยไม่ผ่านการย่อย บทความนี้จึงได้รวบรวมข้อมูลที่สำคัญสำหรับการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยครอบคลุมเนื้อหาความสำคัญของโปรตีนไฮโดรไลเสต กระบวนการเพาะเลี้ยง การเก็บเกี่ยว และกระบวนการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสต ตลอดจนกรณีศึกษาการประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่าในปัจจุบัน

คำสำคัญ: สไปรูลิน่า โปรตีนไฮโดรไลเสต เพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ คุณสมบัติเชิงหน้าที่

Abstract

Protein from *Spirulina* is an alternative protein with abundant bioactive peptides that benefit human health, such as antioxidant, anticancer, anti-inflammatory, antihypertensive, anti-obesity, etc. Therefore, protein hydrolysate from *Spirulina* has functional properties that can be applied to healthy food products. In addition, protein hydrolysates have nutritional benefits for consumers and suitable techno-functional

properties for processing manufacturers. Previous articles have reported protein and application from Spirulina, which was non-hydrolysed. In this review, we compiled information related to protein hydrolysate that covered the importance of protein hydrolysate, culture process, harvesting, and hydrolysis protein, including illustrated examples of case studies in the current application of protein hydrolysates from *Spirulina* microalgae.

Keywords: *Spirulina*, protein hydrolysates, bioactive peptides, functional properties

บทนำ

โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นโปรตีนที่ผ่านการย่อยให้มีขนาดโมเลกุลลดลง ประกอบด้วยกรดอะมิโน เพปไทด์ โอลิโกเพปไทด์และพอลิเพปไทด์ ทำให้ง่ายต่อการดูดซึมและส่งผลต่อสุขภาพร่างกายได้มากกว่าโปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อย เนื่องจากโปรตีนที่สามารถออกฤทธิ์ในร่างกายต้องมีความยาวของกรดอะมิโนอยู่ในช่วง 3-50 พันธะ แต่ร่างกายสามารถย่อยโปรตีนให้มีโมเลกุลขนาดเล็กได้ในปริมาณที่ต่ำ ดังนั้นการรับประทานโปรตีนไฮโดรไลเสตที่มีโมเลกุลขนาดเล็กส่งผลให้ร่ายกายสามารถย่อยและดูดซึมได้ง่ายมากขึ้น [1-3] นอกจากนี้การใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นส่วนผสมในอาหารยังเพิ่มคุณสมบัติที่ดีให้กับอาหาร เช่น ความสามารถในการละลาย การเกิดเจล การเกิดอิมัลชันและการเกิดโฟม คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ได้เนื้อสัมผัส กลิ่น รสชาติที่ดีของอาหาร [4] สาหร่ายสไปรูลิน่าอุดมไปด้วยโปรตีนมากถึงร้อยละ 60-70 ของน้ำหนักแห้ง และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง จึงได้รับความสนใจสำหรับการผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและยังมีคุณสมบัติในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า เช่น การต้านอนุมูลอิสระ การลดความดันโลหิต ต้านการอักเสบ ต้านมะเร็ง รวมถึงการต้านจุลชีพ เป็นต้น [5, 6]

โดยทั่วไปแล้วผู้บริโภคอาหารในกลุ่มรักสุขภาพจะพิจารณาการเลือกซื้ออาหารเพื่อสุขภาพจากคุณค่าทางโภชนาการและมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อลดความเสี่ยงต่อกลุ่มโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable diseases, NCDs) ที่เกิดได้จากพฤติกรรมการรับประทานอาหาร ดังนั้นในภาคอุตสาหกรรมจึงมีการคิดค้นและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณสมบัติดังกล่าวเพื่อตอบโจทย์ความต้องการของผู้บริโภค [7] ในบทความนี้ได้รวบรวมข้อมูลโดยเน้นเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า ตั้งแต่การเพาะเลี้ยงสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตโปรตีน การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาด้านอาหารตลอดจนแนวทางการประยุกต์ใช้

1. สาหร่ายสไปรูลิน่า

สาหร่ายสไปรูลิน่า (*Spirulina* หรือ *Arthrospira*) เป็นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินหรือไซยาโนแบคทีเรียในกลุ่มโปรคาริโอต สาหร่ายสไปรูลิน่ามีการสังเคราะห์แสงและผลิตออกซิเจน [8] พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนโดยสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมมีค่า pH เป็นด่าง (pH อาจสูงถึง 11) มีคาร์บอเนตและไบคาร์บอเนตในปริมาณสูง [9] ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของสไปรูลิน่าโดยทั่วไปมีลักษณะเป็นสายเกลียววนทางซ้ายมือซึ่งเกิดจากการเรียงตัวของไตรโคม (trichome) ทรงกระบอกสั้นหลายเซลล์ดังแสดงในภาพที่ 1 มีรัศมีของทรงกระบอกตั้งแต่ 6 ถึง 12 ไมโครเมตร ระยะห่างระหว่างเกลียวมีความแตกต่างกันตามสายพันธุ์โดยอยู่ในช่วง 12-72 ไมโครเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลางของเกลียวประมาณ 30-70 ไมโครเมตร [9] พื้นผิวของเซลล์สาหร่ายสไปรูลิน่ามีลักษณะเรียบและไม่มีสิ่งปกคลุมส่งผลให้สามารถทำลายผนังเซลล์ได้ด้วยวิธีการที่ง่าย [10] สาหร่ายสไปรูลิน่าได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe, GRAS) โดยองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration, FDA) สไปรูลิน่าที่นิยมนำมาใช้เป็นอาหารและศึกษาในงานวิจัย ได้แก่ *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis, A. maxima* และ *A. fusiformis* ซึ่งชีวมวลสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนที่ย่อยง่ายจึงมีการใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับนักบินอวกาศโดยองค์การอวกาศสหรัฐฯ และจัดสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็น “อาหารแห่งอนาคต” [11] สไปรูลิน่าอุดมไปด้วยโปรตีนสูงถึงร้อยละ 60-70 ของน้ำหนักแห้ง มีกรดอะมิโนจำเป็นสูง

ภาพที่ 1 ลักษณะรูปร่างของสาหร่ายสไปรูลิน่า

ที่มา : Matufi and Choopani [13]

มีคาร์โบไฮเดรตปริมาณร้อยละ 13.5 นอกจากนี้ยังมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (polyunsaturated fatty acids, PUFAs) สูงถึงร้อยละ 1.5-2.0 โดยเฉพาะอย่างยิ่ง γ-linolenic acid (พบร้อยละ 35 ของ PUFAs ทั้งหมด) นอกจากนี้ยังพบวิตามินและแร่ธาตุในสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยเช่นกัน ปัจจุบันสาหร่ายสไปรูลิน่าที่มีการผลิตเชิงพาณิชย์ส่วนใหญ่ใช้เป็นอาหารสำหรับการบริโภคของมนุษย์ มักอยู่ในรูปแบบอาหารเพื่อสุขภาพหรืออาหารเสริม [10, 12]

โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าประกอบด้วยไฟโคบิลิโปรตีนสองชนิดหลัก ได้แก่ ซี-ไฟโคไซยานินและแอลโลไฟโคไซยานิน สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อป้องกันและรักษาโรคบางชนิดได้ [11, 14] คุณภาพของโปรตีนสัมพันธ์กับปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นที่มีปริมาณสูง โดยโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นร้อยละ 38.81 - 47.00 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด [11] จากการเปรียบเทียบชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่พบในแหล่งวัตถุดิบที่มีโปรตีนต่างชนิดกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่ากรดอะมิโนจำเป็นที่พบปริมาณสูงในสาหร่ายสไปรูลิน่าประกอบด้วยลิวซีนร้อยละ 40 ไอโซลิวซีนร้อยละ 40 วาลีนร้อยละ 28 และฮีสติดีนร้อยละ 27 ส่งผลให้โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีคุณภาพดีกว่าโปรตีนจากพืชบางชนิด เช่น อัลมอนด์และถั่วแดง เป็นต้น นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณกรดอะมิโนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ายังสูงกว่ากรดอะมิโนจากสาหร่ายสายพันธุ์อื่น เช่น *Hormophysa cuneiformis* และ *Ulva fasciata* เป็นต้น มีความใกล้เคียงกับโปรตีนจากถั่วเหลือง นอกจากนี้โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ายังเป็นแหล่งของเพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตารางที่ 1 ชนิดและปริมาณกรดอะมิโนที่พบในแหล่งวัตถุดิบแตกต่างกัน

ประเภทของกรดอะมิโน	กรดอะมิโน	องค์ประกอบกรดอะมิโนอิสระจากโปรตีนแหล่งต่างๆ (มก./ก.)										
		ไข่เป็ด (DW)	เนื้อวัว (WW)	เนื้อหมู (WW)	ถั่วเหลือง (DW)	ถั่วแดง	อัลมอนด์	มัยคอโปรตีน (DW)	*H. cuneiformis* (DW)	*U. fasciata* (DW)	*S. platensis* (DW)	*C. vulgaris* (DW)
กรดอะมิโนจำเป็น	Phenylalanine	49	40	41	32	5	11	23	5	2	19	55
	Valine	40	57	50	22	5	9	28	2	4	28	66
	Tryptophan	-	11	13	-	1	2	8	-	-	-	23
	Threonine	36	40	51	23	3	6	25	4	9	40	52
	Isoleucine	32	51	49	19	4	8	24	5	7	25	44
	Methionine	40	23	25	3	1	2	10	15	6	8	12
	Histidine	22	29	32	15	2	5	16	3	2	27	20
	Leucine	65	84	75	50	7	15	39	6	13	40	94
	Lysine	67	84	78	34	6	6	38	6	8	23	67

ประเภทของกรดอะมิโน	กรดอะมิโน	องค์ประกอบกรดอะมิโนอิสระจากโปรตีนแหล่งต่างๆ (มก./ก.)										
		ไข่เป็ด (DW)	เนื้อวัว (WW)	เนื้อหมู (WW)	ถั่วเหลือง (DW)	ถั่วแดง	อัลมอนด์	มัยคอโปรตีน (DW)	*H. cuneiformis* (DW)	*U. fasciata* (DW)	*S. platensis* (DW)	*C. vulgaris* (DW)
กรดอะมิโนไม่จำเป็น	Alanine	42	64	63	28	4	10	28	1	4	12	83
	Arginine	59	66	64	48	4	25	33	10	1	26	62
	Aspartic acid	89	88	89	-	10	26	46	13	16	31	98
	Cysteine	12	14	13	2	1	2	4	2	0.4	5	13
	Glutamic acid	131	144	145	124	13	62	56	16	19	50	127
	Glycine	39	71	61	27	3	14	20	1	2	21	61
	Proline	30	54	46	33	5	10	20	3	2	23	49
	Serine	38	38	40	34	5	9	23	3	3	20	43
	Tyrosine	31	32	30	22	2	5	18	4	1	20	31
เอกสารอ้างอิง		[16]	[17]		[18]		[19]		[20]		[21]	[22]

หมายเหตุ (DW): dry weight, (WW): wet weight

ในปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเพปไทด์ที่ได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่ามากขึ้นอย่างต่อเนื่อง เพื่อหากระบวนการย่อยหรือการทำให้บริสุทธิ์ของโปรตีนไฮโดรไลเสต และได้มาซึ่งลำดับเพปไทด์ที่จำเพาะเจาะจงกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ มีการนำเสนอกลไกที่เป็นไปได้สำหรับการใช้ประโยชน์ในด้านอาหารและยา [15] เพปไทด์ที่ได้จากโปรตีนไฮโดรไลเสตบางชนิดมีความจำเพาะกับการออกฤทธิ์ทางชีวภาพและได้รับการศึกษาถึงลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน เช่น เพปไทด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง Angiotensin-Converting Enzyme (ACE) มีลำดับ IRDLDYY หรือเพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ต้านการอักเสบมีลำดับ LDAVNR และ MMLDF เป็นต้น ดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ลำดับเพปไทด์ที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากแหล่งโปรตีนชนิดต่าง ๆ

กิจกรรมทางชีวภาพ	ลำดับเพปไทด์	แหล่งโปรตีน	เอกสารอ้างอิง
ยับยั้งเอนไซม์ ACE (ลดความดันโลหิต)	VLIVP, SPYP, WL, NWGPLV	ถั่วเหลือง	[23]
	RPKHPI, RPKHPIKHQ, ENLLRF, PFP	เนยแข็ง	[24]
	FPGPIPK, IPPK, IVPN, QPPQ	นมกระบือ	[25]
	WSK	ข้าว	[26]
	IRDLDYY	สไปรูลิน่า	[27]
ต้านอนุมูลอิสระ	YPSG, HPFA, KFQ	นมกระบือ	[25]
	RPNYTDA, TSQLLSDQ, TRTGDPFF, NFHPQ	ข้าว	[28]
	LHT, GALAAH, GAWA	ปลาซาร์ดีน	[29]
ต้านมะเร็ง	ILGKLLSTAAGLLSNL, GFKDLLKGAAKALVKTVLF	สารคัดหลั่งจากผิวหนังกบ	[30]
	HVLSRAPR	สาหร่ายสไปรูลิน่า	[31]
ต้านจุลชีพ	RPKHPIK, VLNENLLR, LKKISQ	เนยแข็ง	[24]
ต้านการอักเสบ	LDAVNR, MMLDF	สาหร่ายสไปรูลิน่า	[32]
ต้านโรคอ้วน	IAVPGEVA, IAVPTGVA, LPYP	ถั่วเหลือง	[23]

หมายเหตุ Phe (F), Val (V), Trp (W), Thr (T), Ile (I), Met (M), His (H), Leu (L), Lys (K), Ala (A), Arg (R), Asp (D), Cys (C). Glu (E), Gly (G), Pro (P), Ser(S), Tyr (Y), กลูตามีน (glutamine, Gln/Q), แอสพาราจีน (asparagine, Asn/N)

2. การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าเพื่อผลิตโปรตีน

สาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถเจริญได้ในทุกสภาพแวดล้อมที่มีความชื้น แต่จะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วภายใต้สภาวะที่เหมาะสม สามารถพบสไปรูลิน่าได้ในดิน บึง น้ำจืด น้ำกร่อย น้ำทะเล บ่อน้ำพุร้อนที่มีสภาวะเป็นด่าง (pH 8.5 - 11) เนื่องจากสไปรูลิน่าเป็นโฟโตออโตโทรป (photoautotroph) จึงเจริญได้ดีบริเวณที่มีความเข้มแสงสูง การเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าต้องใช้ความเข้มแสงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตในช่วง 20-30 ลักซ์ และต้องมีคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการสังเคราะห์แสง อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 35-39 องศาเซลเซียส อาหารสำหรับเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่าต้องเป็นอาหารที่มีความเป็นด่างสูงและมีอิออนของไบคาร์บอเนตในปริมาณที่เหมาะสม โดยสูตรอาหารเหลวที่ได้รับการยอมรับและนำมาปรับใช้ในการเพาะเลี้ยง คือ อาหารเหลวสูตร Zarrouk [10, 33] การเก็บเกี่ยวสไปรูลิน่าทำได้ในช่วงเช้าซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมกับการเก็บ เนื่องจากสาหร่ายสไปรูลิน่าจะมีปริมาณโปรตีนสูงสุดในช่วงเช้าตรู่ และความเย็นของน้ำจะทำให้ง่ายต่อการเก็บเกี่ยว [8] วิธีที่นิยมใช้ในการเก็บเกี่ยวผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงสไปรูลิน่า เช่น การปั่นเหวี่ยง หรือการกรอง โดยการปั่นเหวี่ยงเป็นวิธีแยกสาหร่ายออกจากน้ำหรืออาหารเลี้ยง ทำให้สาหร่ายตกตะกอนด้วยแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลางของเครื่องปั่นเหวี่ยง วิธีนี้เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพแต่เซลล์สาหร่ายบางส่วนอาจได้รับความเสียหายจากการเกาะเป็นก้อน [8] ขณะที่ในกระบวนการผลิตเชิงพาณิชย์ใช้วิธีการกรองในการเก็บเกี่ยวโดยแบ่งออกเป็นการกรองแบบเอียง (inclined screens) และการกรองแบบสั่น (vibrating screens) อย่างไรก็ตามการกรองแบบเอียงให้ประสิทธิภาพในการกรองมากกว่าการกรองแบบสั่น [8] ในการศึกษาของ Ismail, Kurnia [34] ได้รายงานถึงประสิทธิภาพและการประหยัดพลังงานในเก็บเกี่ยวโดยวิธีการกรองสาหร่ายสไปรูลิน่าแบบเอียงโดยใช้กระดาษกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.04 ไมโครเมตร และ 0.42 ไมโครเมตร ความสามารถในการกรองสูงสุดอยู่ที่การเอียง 45 องศา และการเพิ่มประสิทธิภาพการกรองโดยการเติมอากาศมีอัตราการเติมที่เหมาะสมที่สุดอยู่ในช่วง 0.5-1.0 ลิตร/นาที

3. การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่าย

หลังจากการเก็บเกี่ยวสไปรูลิน่าจำเป็นต้องมีการทำให้แห้งเพื่อป้องกันการเน่าเสียของชีวมวลเซลล์ โดยมีค่าความชื้นสุดท้ายน้อยกว่าร้อยละ 10 วิธีการทำแห้งที่ได้รับความนิยมคือ การพ่นฝอยเพื่อให้ได้ผงละเอียดหรืออบแห้งให้ได้แผ่นบาง [35] ในการศึกษาของ Stramarkou, Papadaki [36] ได้ทำการเปรียบเทียบการทำแห้งด้วยวิธีการต่าง ๆ ได้แก่ การอบแห้งที่ชั้นบรรยากาศปกติ (atmospheric drying) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) การทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying) และการอบแห้งแบบเร่งด้วยแสงอาทิตย์ (accelerated solar drying) จากการเปรียบเทียบวิธีการทำแห้งสไปรูลิน่าพบว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศสามารถลดความชื้นได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งตรงข้ามกับวิธีการทำแห้งที่ชั้นบรรยากาศปกติที่ใช้เวลาในการระเหยน้ำเป็นเวลานานจึงไม่สามารถนำมาใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ อย่างไรก็ตามวิธีการนี้สามารถรักษาปริมาณซี-ไฟโคไซยานินได้สูงสุดโดยมีค่าร้อยละ 9.56 วิธีการทำแห้งแบบเร่งด้วยแสงอาทิตย์ให้ค่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับร้อยละ 31.28 ส่วนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุดต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนที่เหลืออยู่ แต่วิธีการนี้ต้องใช้ต้นทุนค่อนข้างสูงในการผลิต [36] ซึ่งส่งผลต่อราคาโดยรวมของชีวมวลสไปรูลิน่าที่เตรียมได้ ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการทำแห้งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ต้นทุนการผลิต การขนส่ง และผลิตภัณฑ์สุดท้าย

โปรตีนไฮโดรไลเสตประกอบด้วยพอลิเพปไทด์ โอลิโกเพปไทด์ และกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งได้จากการย่อยให้เกิดการแตกพันธะเพปไทด์ภายในโครงสร้างโปรตีนเพื่อให้ได้เพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยพื้นฐานแล้วพันธะจะถูกทำลายจากความร้อนระหว่างการแปรรูปอาหารหรือระหว่างการย่อยในระบบทางเดินอาหาร [3, 6] การย่อยโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถทำได้ด้วยหลากหลายวิธี โดยมีวิธีการหลักดังนี้

การย่อยทางเคมี เป็นการใช้สารเคมีที่มีความเป็นกรดหรือด่างในการย่อยที่อุณหภูมิสูง [37] จากการศึกษาการย่อยโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 3 โมลาร์ ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 60 นาที พบว่าให้ความเข้มข้นของรสชาติอูมามิมากกว่าสาหร่ายที่ไม่ผ่านการย่อย ทำการแยกส่วนที่ผ่านการย่อยโดยอาศัยเทคนิคการกรองอัลตราฟิลเตรชัน (ultrafiltration) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 3 กิโลดาลตัน ร่วมด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (chromatography) จะได้ส่วนที่

เป็นสารประกอบรสชาติอูมามิ ซึ่งพบว่าประกอบด้วยกรดซัคซินิก 522.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และกรดกลูตามิก 488.06 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [38]

การย่อยโดยวิธีทางเอนไซม์ มีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาการออกฤทธิ์ของเพปไทด์ที่ได้จากการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตโดยใช้วิธีทางเอนไซม์พบว่ามีศักยภาพในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้น และการย่อยโปรตีนจากสไปรูลิน่าโดยวิธีทางเอนไซม์พบว่ามีฤทธิ์ในการต้านเซลล์มะเร็ง ต้านโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น นอกจากนี้การย่อยด้วยเอนไซม์สามารถเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหาร สามารถใช้เป็นสารเติมแต่งที่ปลอดภัยและมีคุณค่าทางโภชนาการในอุตสาหกรรมอาหาร [39]

การย่อยด้วยกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ได้แก่ การหมักชีวมวลสาหร่ายสไปรูลิน่าโดยใช้เซลล์ยีสต์ 3 สายพันธุ์ พบว่าน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนลดลงหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง และพบแถบโปรตีนที่มีขนาดต่ำกว่า 10 กิโลดาลตัน เมื่อเทียบกับชุดควบคุมซึ่งน้ำหนักโมเลกุลในช่วงนี้เป็นเพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ นอกจากนี้ยังพบกรดอะมิโนกลูตามิก เมทไทโอนีน ไลซีน ไอโซลิวซีนและวาลีน เพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัดเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก [40]

4. คุณสมบัติเชิงสุขภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า

เพปไทด์บางชนิดที่พบในโปรตีนไฮโดรไลเสตสามารถออกฤทธิ์โดยทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท ฮอร์โมน ยาปฏิชีวนะ บางชนิดสามารถเปลี่ยนสรีรวิทยาเพื่อจับกับตัวรับเฉพาะของเซลล์เป้าหมาย ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้เองจึงเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพและลดความเสี่ยงของโรคได้ [15] ปัจจุบันมีการรายงานถึงคุณสมบัติเชิงสุขภาพของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า โดยเฉพาะเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพปไทด์กลุ่มนี้มักจะมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (0-3 กิโลดาลตัน) [41] เช่น เพปไทด์ที่มีลำดับ PNN ขนาด 343.15 ดาลตัน พบว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ได้ถึงร้อยละ 81.44 ± 0.43 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเทียบเท่ากับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของกลูตาไธโอน (ร้อยละ 82.63 ± 0.56) [42] อีกทั้งคุณสมบัติการออกฤทธิ์ที่โดดเด่นของโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าคือศักยภาพในการลดความดันโลหิต โดยเน้นที่การยับยั้งเอนไซม์ ACE รายงานของ Zhang, Li [43] ได้พบเพปไทด์ชนิดใหม่ที่ยับยั้ง ACE เพิ่มอีก2 ชนิด โดยมีลำดับกรดอะมิโนคือ VTY และ LGVP ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 23.39 ไมโครโมลาร์ และ 45.76 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ นอกจากนี้เพปไทด์จากสาหร่ายสไปรูลิน่ายังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* โดยยับยั้งที่ความเข้มข้นขั้นต่ำ 8 และ 16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ [44] ที่น่าสนใจคือสาหร่ายสไปรูลิน่ามีเพปไทด์ 5 ชนิด ที่สามารถต้านไวรัสโคโรน่าสายพันธุ์ใหม่ 2019 โดยสามารถจับกับโปรตีนแอนติเจนส่วนหนามของไวรัสได้ [45]

การเลือกใช้เอนไซม์ในการย่อยเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของโปรตีนไฮโดรไลเสต จากการเปรียบเทียบการยับยั้งเซลล์มะเร็ง 5 ชนิด (HepG-2 MCF-7 SGC-7901 A549 และ HT-29) พบว่าโปรตีนที่ย่อยด้วยเอนไซม์ปาเปนแสดงฤทธิ์การยับยั้งเซลล์มะเร็ง A549 (เซลล์มะเร็งปอด) สูงสุด [46] นอกจากนี้คุณสมบัติการต้านการอักเสบของเพปไทด์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ซีสเทอีนโปรตีเอส พบว่าเนื้อเยื่อที่อักเสบในลำไส้ของหนูมีการสร้างเนื้อเยื่อและเยื่อบุลำไส้อย่างสมบูรณ์ในระหว่างการทดสอบที่ความเข้มข้นเพปไทด์เท่ากับ 3.8 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม [47] การออกฤทธิ์ที่น่าสนใจสำหรับผู้บริโภคในกลุ่มที่ลดน้ำหนักและรักษารูปร่างคือฤทธิ์การต้านโรคอ้วน จากการศึกษาผลการต้านโรคอ้วนในหนูของ Bingli, Cui [48] พบว่าโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือดและระดับคลอเลสเตอรอลโดยรวมโดยการปรับการแสดงออกระดับยีนที่สำคัญ ได้แก่ *Acadm Retn Fabp4 Ppard* และ *Slc27a1* เป็นต้น ยีนเหล่านี้พบในสมองและตับโดยมีความเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของไขมัน นอกจากการลดน้ำหนักโดยไม่เกิดผลเสียต่อร่างกายแล้วยังสามารถลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังที่เป็นผลข้างเคียงจากโรคอ้วน เช่น เบาหวาน ไขมันอุดตันเส้นเลือด เป็นต้น การออกฤทธิ์ที่เหมาะสำหรับผู้บริโภคสูงวัยหรือผู้มีปัญหาเกี่ยวกับกล้ามเนื้อคือการออกฤทธิ์ในการยับยั้งกล้ามเนื้อฝ่อ ตัวอย่างการฝ่อของกล้ามเนื้อที่มีสาเหตุมาจากเดกซาเมทาโซน (DEX) โดยการศึกษาในเซลล์ C2C12 พบว่าโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่าสามารถยับยั้ง mRNA

และลดการสร้างโปรตีนของยีน Atrogin-1 และ MuRF1 ที่ถูกกระตุ้นจาก DEX ซึ่งเป็นกลไกที่เกี่ยวข้องกับการฝ่อของกล้ามเนื้อ [49]

5. คุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่าย

คุณสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหารของโปรตีนคือ การทำงานของโปรตีนในอาหารระหว่างกระบวนการแปรรูป การเก็บรักษาและการบริโภค โดยคุณสมบัติของโปรตีน เช่น การเกิดอิมัลชัน การเกิดฟอง การเกิดเจล ความหนืด การจับกับน้ำและน้ำมันและคุณสมบัติการละลาย เป็นต้น การทำโปรตีนไฮโดรไลเสตได้รับการพิสูจน์แล้วว่าสามารถเพิ่มคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนได้ [4] โดยมีรายละเอียดกรณีศึกษาดังตารางที่ 3

5.1 คุณสมบัติการละลาย

ความสามารถในการละลายหมายถึง การจัดเรียงหมู่ที่มีขั้วและไม่มีขั้วของโปรตีน ทำให้โปรตีนมีปฏิกิริยากับโมเลกุลของน้ำยังคงอยู่ในรูปสารละลาย [50] ความสามารถในการละลายถือว่ามีความสำคัญที่สุดเนื่องจากสามารถส่งผลต่อคุณสมบัติอื่นได้ เช่น การเกิดโฟม การเกิดอิมัลชัน เป็นต้น จึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณสมบัติโดยรวมที่ดีของโปรตีน [4] สาหร่ายสไปรูลิน่าที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลสมีความสามารถในการละลายช่วง pH 4-11 โดยโปรตีนไฮโดรไลเสตมีความสามารถในการละลายได้ดีในช่วง pH เป็นด่าง เช่น ที่ pH 4 มีความสามารถในการละลายร้อยละ 5 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 54 ที่ pH เป็นด่าง [2, 51-52]

5.2 คุณสมบัติการจับกับน้ำและไขมัน

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water-holding capacity, WHC) คือปริมาณน้ำที่ถูกดูดซึมโดยพอลิเมอร์ในอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรตและโปรตีนที่ไม่ละลาย ซึ่งส่งผลต่อปริมาณกรดอะมิโน pH อุณหภูมิ และความเข้มข้นของโปรตีน ส่วนความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (oil-holding capacity, OHC) มีความเกี่ยวข้องกับความคงตัวและความสามารถในการจับไขมันได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับปริมาณกรดอะมิโนที่มีขั้วหรือชอบน้ำในสายโซ่ของโปรตีน [50] จากการย่อยสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ อัลคาเลส ทริปซิน แพนครีเอตินและเปปซินพบว่าความสามารถในการอุ้มน้ำอยู่ในช่วง 1.2 - 5.4 กรัมของน้ำหนักน้ำต่อโปรตีนหนึ่งกรัม และความสามารถในการอุ้มน้ำมันอยู่ในช่วง 5.3 - 7 กรัมของน้ำหนักน้ำมันต่อโปรตีนหนึ่งกรัม [2]

5.3 คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน

ความสามารถในการเกิดอิมัลชัน คือความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของโปรตีนไฮโดรไลเสต ช่วยในการจับกับพื้นผิวของน้ำและน้ำมันทำให้เกิดการรวมกัน โดยปัจจัยที่สำคัญในการเกิดอิมัลชันคือ อัตราส่วนของกรดอะมิโนที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ และโครงสร้างทุติยภูมิของโปรตีน [50] การย่อยโปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าด้วยเปปซินมีคุณสมบัติการเกิดอิมัลชันสูงกว่าการย่อยด้วยเอนไซม์แพนครีเอติน พบว่ามีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันจากการย่อยด้วยเปปซินเท่ากับ 35 ตารางเมตรต่อกรัม และความคงตัวร้อยละ 75 ในขณะที่การย่อยด้วยแพนครีเอตินมีค่าดัชนีการเกิดอิมัลชันเท่ากับ 25 ตารางเมตรต่อกรัม และความคงตัวร้อยละ 35 ตามลำดับ [39]

5.4 คุณสมบัติการเกิดโฟม

กลไกการเกิดฟองหรือโฟมเกิดจากการลดแรงตึงผิวของของเหลวโดยแผ่โครงสร้างห่อหุ้มอากาศไว้ คุณสมบัตินี้มีความสำคัญโดยตรงกับเนื้อสัมผัสและรูปลักษณ์ของอาหาร ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดฟองคือ ความเป็นไฮโดรโฟบิกของโปรตีนโดยเฉพาะการมีหมู่ไทออลและกรดอะมิโนที่ไม่ชอบน้ำ [50] โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าที่ย่อยด้วยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ อัลคาเลส ทริปซิน แพนครีเอตินและเปปซิน พบว่าเอนไซม์เปปซินส่งผลให้โปรตีนไฮโดรไลเสตมีคุณสมบัติการเกิดโฟมสูงสุดและมีค่าความคงตัวของโฟมสูงสุดที่ค่า pH 3 และมีค่าลดลงตามลำดับเมื่อมีค่า pH ที่เพิ่มขึ้น [2]

5.5 คุณสมบัติการเกิดเจล

คือความสามารถในการก่อตัวเป็นเจลของโปรตีน เกิดจากการสร้างพันธะใหม่จากการเสียสภาพของโปรตีนด้วยพันธะไดซัลไฟด์ ซึ่งไม่สามารถคืนสภาพได้ ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเกิดเจลคือ ความเข้มข้นของโปรตีน ค่า pH การแปรรูป เป็นต้น [50]

ตารางที่ 3 กระบวนการเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า คุณสมบัติเชิงหน้าที่ และการประยุกต์ใช้

สาหร่าย	ผลิตภัณฑ์	ปัจจัย/กระบวนการ	โปรตีนไฮโดรไลเสต	คุณสมบัติเชิงหน้าที่	เอกสารอ้างอิง
Spirulina platensis	โปรตีนไฮโดรไลเสต	- ย่อยด้วยเอนไซม์เปปซิน อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 6, pH 2, ที่ 37 องศาเซลเซียส - ย่อยด้วยเอนไซม์แพนครีเอติน อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2.5, pH 7.4, ที่ 37 องศาเซลเซียส เวลาการย่อย = 240 นาที	ระดับการย่อยสลาย (ร้อยละ) - เปปซิน ร้อยละ 16 - แพนครีเอตินร้อยละ 11 กรดอะมิโนรวม - เปปซินร้อยละ 67 -แพนครีเอตินร้อยละ 55 น้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 10 กิโลดาลตัน ในโปรตีนไฮโดรไลเสตจากทั้งสองเอนไซม์	การทนความร้อน - เปปซิน ร้อยละ 99.7 - แพนครีเอติน ร้อยละ 98.2 คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน ดัชนีกิจกรรมอิมัลชัน: - เปปซิน 35 ตร.ม./ก - แพนครีเอติน 25 ตร.ม./ก ความคงตัวของอิมัลชัน: - เปปซินร้อยละ 75 - แพนครีเอตินร้อยละ 35 ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องที่ค่า pH 5-9	[39]
Spirulina sp. LEB 18	โปรตีนไฮโดรไลเสต	ย่อยด้วยเอนไซม์ - อัลคาเลส pH 8 - ทริปซิน pH 8 - แพนครีเอติน pH 8 - เปปซิน pH 2 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ยกเว้น อัลคาเลส 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2 เก็บตัวอย่าง ณ เวลา : 30, 60, 120 และ 180 นาที	ระดับการย่อยสลาย -อัลคาเลสร้อยละ 42.4 -แพนครีเอตินร้อยละ 47.1 -ทริปซินร้อยละ 44.3 -เปปซินร้อยละ 37.2 กรดอะมิโน (ยกตัวอย่างการย่อยด้วยอัลคาเลส) - กรดอะมิโนจำเป็นร้อยละ 30 - กรดอะมิโนไม่ชอบน้ำร้อยละ 44 - กรดกลุ่มอะมิโนต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 17	การย่อยด้วยอัลคาเลส: มีความสามารถในการละลายอยู่ในช่วง pH 5-11 คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน ดัชนีกิจกรรมอิมัลชันที่ค่า pH 7 มีค่า เท่ากับ 75 ตร.ม./ก โดยประมาณ ความคงตัวของอิมัลชัน ที่ pH 7 มีค่าเท่ากับร้อยละ 75 โดยประมาณ ความสามารถในการอุ้มน้ำอยู่ในช่วง 1.2-5.4 กรัมของน้ำหนักน้ำต่อโปรตีนหนึ่งกรัม ความสามารถในการอุ้มน้ำมันอยู่ในช่วง 5.3-7 กรัมของน้ำหนักน้ำมันต่อโปรตีนหนึ่งกรัม	[2]
Arthrospira platensis	โปรตีนไฮโดรไลเสต	ปรับสภาพชีวมวลสาหร่ายด้วยคลื่นเสียงอัลตราโซนิกก่อนการย่อย 10 - 40 นาที และย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส (pH 8) อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2 เป็นเวลา 30 - 120 นาที	ระดับการย่อยสลาย ร้อยละ 41.9 ปริมาณกรดอะมิโน - กรดอะมิโนไม่ชอบน้ำร้อยละ 34.8 - กรดอะมิโนต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 54.7	ความสามารถในการละลายเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 5 ที่ pH 4 และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนสูงสุดถึงร้อยละ 54 ที่ค่า pH เป็นด่าง ความสามารถในการอุ้มน้ำเท่ากับ 5.2 กรัมของน้ำหนักน้ำต่อโปรตีนหนึ่งกรัม ความสามารถในการอุ้มน้ำมันเท่ากับ 7 กรัมของน้ำหนักน้ำมันต่อโปรตีนหนึ่งกรัม	[51]

สาหร่าย	ผลิตภัณฑ์	ปัจจัย/กระบวนการ	โปรตีนไฮโดรไลเสต	คุณสมบัติเชิงหน้าที่	เอกสารอ้างอิง
Spirulina sp. LEB 18	ขนมอบกรอบ	ย่อยด้วยเอนไซม์โปรตีเอส pH 9.5 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นกรองแยกขนาดด้วยอัลตราเมมเบรน 4 กิโลดาลตัน ตัวอย่างขนมอบกรอบ - เติมโปรตีนที่ไม่ผ่านการย่อย - เติมเพปไทด์ขนาดใหญ่กว่า 4 กิโลดาลตัน - เติมเพปไทด์ขนาดเล็กกว่า 4 กิโลดาลตัน	ความเข้มข้นโปรตีน - โปรตีนไฮโดรไลเสต 14 กรัมต่อลิตร - เพปไทด์ขนาด >4 กิโลดาลตัน 16.3 กรัมต่อลิตร - เพปไทด์ขนาด <4 กิโลดาลตัน 9.4 กรัมต่อลิตร	การทนความร้อน - โปรตีนไฮโดรไลเสต = 102 องศาเซลเซียส - เพปไทด์ขนาด >4 กิโลดาลตัน = 102 องศาเซลเซียส - เพปไทด์ขนาด <4 กิโลดาลตัน = 141 องศาเซลเซียส กิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระของขนมอบกรอบ การเติมเพปไทด์ขนาด <4 กิโลดาลตัน มีกิจกรรมยับยั้ง ABTS radical สูงสุด (7.45 ไมโครโมล. TEAC/กรัม)	[7]
Spirulina platensis	ขนมปัง	ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส pH 8 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2 เก็บตัวอย่าง ณ เวลา : 30, 60, 90, 120 และ 180 นาที ตัวอย่างขนมปังที่เติม -เพปไทด์บริสุทธิ์ ร้อยละ 1 -เพปไทด์ที่ห่อหุ้ม ร้อยละ 1 -เพปไทด์ที่ห่อหุ้ม ร้อยละ 2 -เพปไทด์ที่ห่อหุ้ม ร้อยละ 4 (ห่อหุ้มด้วยมอลโตเด็กตริน-WPC)	ระดับการย่อยสลาย ร้อยละ 47.87 กรดอะมิโน - กรดอะมิโนไม่ชอบน้ำร้อยละ 43.6 - กรดอะมิโนต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 15.6 - กรดอะมิโนรสขมร้อยละ 34.3	ความชื้น: ขนมปังที่เติมเพปไทด์บริสุทธิ์ 1 กรัม ร้อยละ 51.3 ซึ่งมีค่าความชื้นสูงกว่าตัวควบคุมร้อยละ 9 อย่างไรก็ตาม ค่าความชื้นลดลงเหลือร้อยละ 32.9 ในขนมปังที่เติมโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ห่อหุ้มร้อยละ 4 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของขนมปัง: การเติมโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ห่อหุ้มร้อยละ 4 ให้ค่าการยับยั้ง DPPH และ ABTS สูงกว่าตัวอย่างควบคุม 4 เท่า และร้อยละ 35 ตามลำดับ	[12]
Spirulina platensis	เพปไทด์ที่ให้รสชาติอูมามิ	-ย่อยทางเคมีโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3 โมลาร์ อัตราส่วนปริมาตรต่อชีวมวล 1:5 ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส หลังการย่อยทำให้เป็นกลางโดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 3 โมลาร์ และคัดแยกขนาดการกรองโดยใช้อัลตราเมมเบรนขนาด <3000 ดาลตัน	เพปไทด์ที่ละลายน้ำรวม - ขนาด <3,000 ดาลตัน 2.06 มก./มล. - ขนาด >3,000 ดาลตัน 2.42 มก./มล. ระดับการเจือจางที่บ่งบอกรสชาติอูมามิ - ขนาด <3,000 ดาลตัน = 1024 - ขนาด >3,000 ดาลตัน = 256	เพปไทด์รสชาติอูมามิประกอบด้วยกรดซัคซินิกและกรดแอล-กลูตามิกอิสระที่ความเข้มข้นสูง รสชาติ อูมามิ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ พาสต้า บิสกิต และผลิตภัณฑ์ขนมอัดขึ้นรูปได้	[38]
Spirulina platensis	โปรตีนไฮโดรไลเสต	ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส pH 8 ที่อุณหภูมิ 45 องศา	ระดับการย่อยสลาย - ชั่วโมงที่ 2 ร้อยละ 4	ความสามารถในการละลาย	[53]

สาหร่าย	ผลิตภัณฑ์	ปัจจัย/กระบวนการ	โปรตีนไฮโดรไลเสต	คุณสมบัติเชิงหน้าที่	เอกสารอ้างอิง
		เซลเซียส อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2 เก็บตัวอย่าง ณ เวลา : 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 ชั่วโมง	- ชั่วโมงที่ 10 ร้อยละ14 น้ำหนักโมเลกุล : น้ำหนักโปรตีนส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 15-20 กิโลดาลตัน และในช่วง 37-50 กิโลดาลตัน	ทั้งระดับการย่อยร้อยละ 4 และ 14 พบว่าสามารถละลายได้ต่ำสุดที่ pH 4 และละลายได้สูงสุดที่ pH 8 ความสามารถ ในการละลายของระดับการย่อยร้อยละ 14 ดีกว่าร้อยละ 4 คุณสมบัติการเกิดอิมัลชัน ดัชนีกิจกรรมอิมัลชันที่ค่า pH 9 - ร้อยละ 4 = 45.73 ตม./ก - ร้อยละ 14 = 46.9 ตม./ก ความคงตัวของอิมัลชัน ที่ pH 7 - ร้อยละ 4 = 23.13 นาที - ร้อยละ 14 = 22.4 นาที	
Spirulina platensis	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ห่อหุ้มด้วยนาโนไลโปโซม	ย่อยด้วยเอนไซม์อัลคาเลส pH 8 ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส น้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรตร้อยละ 2 เวลาที่ใช้ในการย่อย 10 ชั่วโมง การห่อหุ้มลงในแคปซูล : - ไคโตซานหุ้มนาโนไลโปโซม ร้อยละ 0.5 - ไคโตซานหุ้มนาโนไลโปโซม ร้อยละ 1	ระดับการย่อยสลาย ร้อยละ 14% ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม : - ไคโตซาน (0.5) = ร้อยละ 84.70 - ไคโตซาน (1) = ร้อยละ 73.10 ขนาดนาโนไลโปโซม : - ไคโตซาน (0.5) = 552 นาโนเมตร - ไคโตซาน (1) = 644 นาโนเมตร	ความคงตัวของเหลวทางเดินอาหารจำลอง : ศักย์ไฟฟ้าซีตา (มิลลิโวลต์) - ไคโตซาน (0.5) = 13.26 มิลลิโวลต์ - ไคโตซาน (1) = 14.00 ดัชนีการกระจายของน้ำหนักโมเลกุล (PDI) - ไคโตซาน (0.5) = 0.30 - ไคโตซาน (1) = 0.27	[54]
Spirulina sp. LEB 18	โปรตีนไฮโดรไลเสต	ย่อยโดยใช้ Proteomax 580 L pH 9.5 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส	ระดับการย่อยสลาย - ต่ำสุด = ร้อยละ 38.0 - สูงสุด = ร้อยละ 62.8 เพปไทด์มีขนาดโมเลกุลขนาดเล็กกว่า 20 กิโลดาลตัน	ความสามารถในการละลาย ละลายได้ต่ำสุดที่ pH 3 และ 5 และเพิ่มขึ้นที่ pH เป็นด่าง โดยความสามารถในการละลายสูงสุดเท่ากับร้อยละ 81 ความสามารถในการอุ้มน้ำ = 3-3.5 กรัมของน้ำหนักน้ำต่อโปรตีนหนึ่งกรัม	[52]
Arthrospira platensis	โปรตีนไฮโดรไลเสตที่ห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูล	ย่อยโดยใช้เอนไซม์ promod 184 MDP pH 7 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส อัตราส่วนน้ำหนักเอนไซม์ต่อซับสเตรต	ปริมาณโปรตีน : ผงสไปรูลิน่าและโปรตีนไฮโดรไลเสตที่ไม่มีการห่อหุ้มแคปซูล = ร้อยละ 67.33 และ 64.71 ตามลำดับ	ความสามารถในการละลาย ตัวอย่าง ESP-MD1:4 มีความสามารถในการละลายสูงสุด (ร้อยละ 83) ตามด้วย SP-MD1:2 (ร้อยละ 79.28)	[55]

สาหร่าย	ผลิตภัณฑ์	ปัจจัย/กระบวนการ	โปรตีนไฮโดรไลเสต	คุณสมบัติเชิงหน้าที่	เอกสารอ้างอิง
		ร้อยละ 2 ใช้เวลา 60 นาทีในการย่อย ปัจจัยการห่อหุ้ม: E = Enzymatic treat SP = *Spirulina* MD = Maltodextrin GA = Gum Arabic MDGA = Moltodextrin + Gum Arabic (1:1) อัตตราส่วนการห่อหุ้ม (SP:MD/GA/MDGA) 1:2 และ 1:4		การย่อยได้ของโปรตีน ค่าการย่อยได้สูงสุดคือร้อยละ 90.12 และ 84.23 จากตัวอย่าง ESP-MD1:2 และ ESP-MDGA1:2 ตามลำดับ	

6. การประยุกต์ใช้โปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายสไปรูลิน่า

การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตเป็นวิธีการเสริมศักยภาพในด้านคุณสมบัติเชิงสุขภาพและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ในอาหารของโปรตีน จากการที่สาหร่ายสไปรูลิน่าอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ จึงเริ่มเป็นที่สนใจจากนักวิจัยและผู้ผลิตอาหารในการใช้โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อผลิตโปรตีนไฮโดรไลเสตและใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ [2] ในปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิดที่มีส่วนผสมของผงสาหร่ายสไปรูลิน่าและประสบความสำเร็จในเชิงพาณิชย์ ผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสาหร่ายสไปรูลิน่าในระดับอุตสาหกรรมอาหาร เช่น โยเกิร์ต ไอศกรีม ขนมปัง พาสตา เป็นต้น [56] ซึ่งส่วนใหญ่มักใช้ผงสาหร่ายหรือผงโปรตีนเป็นส่วนประกอบ ส่วนการใช้โปรตีนไฮโดรไลเสต จากสาหร่ายสไปรูลิน่าในผลิตภัณฑ์อาหารยังมีให้เห็นไม่มากนัก บางส่วนอาจยังอยู่ในกระบวนการคิดค้นและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร อย่างไรก็ตามคาดว่ามีแนวโน้มที่จะได้รับความนิยมในการประยุกต์ใช้เพิ่มมากขึ้นในอนาคต

นวัตกรรมการห่อหุ้มเพปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยไมโครหรือนาโนแคปซูลถือเป็นอีกวิธีการที่สามารถป้องกันเพปไทด์จากการถูกทำลายระหว่างที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นประโยชน์สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในด้านอาหารหลายประเภทได้ [57] จากรายงานการใช้นาโนไลโปโซมขนาด 348.33 นาโนเมตร หุ้มด้วยไคโตซานร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1 ทำให้นาโนไลโปโซมมีขนาด 552 นาโนเมตร และ 644 นาโนเมตร ตามลำดับ เมื่อทดสอบความคงตัวของนาโนแคปซูลในระบบทางเดินอาหาร พบว่านาโนไลโปโซมที่หุ้มด้วยไคโตซานร้อยละ 1 มีความคงตัวสูงสุด แต่อัตราการปลดปล่อยโปรตีนจากนาโนไลโปโซมต่ำสุด ทั้งนี้อัตราการปลดปล่อยโปรตีนจะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่สัมผัสกับของเหลวในระบบทางเดินอาหาร [54]

นอกจากนี้แนวโน้มการวิจัยในปัจจุบันคือ คุณสมบัติเชิงสุขภาพของเพปไทด์ที่ได้จากโปรตีนไฮโดรไลเสตเพื่อประยุกต์ใช้ในทางการแพทย์ เคมี เครื่องสำอาง เภสัชกรรมและอุตสาหกรรมอาหารเสริมได้ ทั้งในรูปแบบอาหารเสริม (ผง เม็ด แคปซูล) หรือในรูปแบบของการดัดแปลงให้เข้ากับผลิตภัณฑ์โดยใช้ไมโครแคปซูล เป็นต้น [1, 56] อย่างไรก็ตามโดยทั่วไปแล้วในผลิตภัณฑ์อาหารมักนิยมใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นส่วนผสมเพื่อให้เกิดสีที่ต้องการ หรือใช้ประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่าเป็นจุดขายของผลิตภัณฑ์ แต่ความเข้มข้นที่ผสมลงไปค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้มีสาเหตุมาจากปัจจัยต่างๆ เช่น 1) ต้นทุนการผลิตที่ค่อนข้างสูง 2) ปริมาณการสั่งซื้อต่ำกว่าส่วนผสมอื่นๆ 3) กลิ่นและรสชาติ และ 4) ข้อจำกัดของความรู้ผู้บริโภคในเรื่องประโยชน์ของสาหร่ายสไปรูลิน่า [56]

บทสรุป

โปรตีนจากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ และคุณค่าทางโภชนาการที่ได้จากสาหร่ายสไปรูลิน่ามีความคุ้มค่าสำหรับการศึกษาเพื่อให้การรับประทานสาหร่ายสไปรูลิน่าเกิดประโยชน์สูงสุด การเตรียมโปรตีนไฮโดรไลเสตถือเป็นอีกวิธีที่สามารถเพิ่มมูลค่าให้กับสาหร่ายสไปรูลิน่าได้ นอกจากสามารถปรับปรุงคุณสมบัติที่ส่งผลดีต่อสุขภาพแล้วการแปรรูปอาหารในระดับอุตสาหกรรมโดยโปรตีนไฮโดรไลเสตจากสาหร่ายเป็นวัตถุดิบสามารถสร้างจุดเด่นให้กับผลิตภัณฑ์อาหารนั้นได้ ถึงแม้ว่าต้นทุนการผลิตที่สูงและการขาดความเข้าใจในเรื่องประโยชน์จากสาหร่ายสไปรูลิน่าของผู้บริโภคยังคงเป็นข้อจำกัดที่ต้องได้รับการแก้ไข แต่ด้วยคุณประโยชน์ที่โดดเด่นและการศึกษาที่เปิดกว้างมากขึ้นในปัจจุบันทำให้สาหร่ายสไปรูลิน่ามีแนวโน้มที่จะเป็นที่รู้จักมากขึ้นในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Bortolini DG, Maciel GM, Fernandes IAA, Pedro AC, Rubio FTV, Branco IG, et al. Functional properties of bioactive compounds from *Spirulina* spp.: Current status and future trends. Food Chem: Mol Sci 2022;5:100134.
2. Akbarbaglu Z, Ayaseh A, Ghanbarzadeh B, Sarabandi K. Techno-functional, biological and structural properties of *Spirulina platensis* peptides from different proteases. Algal Res 2022;66:102755.
3. Nasri M. Chapter Four - Protein hydrolysates and biopeptides: production, biological activities, and applications in foods and health benefits. A review. Adv Food Nutr Res. 2017;81:109-59.
4. Liceaga A, Hall F. Nutritional, Functional and Bioactive Protein Hydrolysates. Encyclo Food Chem. 2019:456-64.
5. Aiello G, Li Y, Boschin G, Bollati C, Arnoldi A, Lammi C. Chemical and biological characterization of spirulina protein hydrolysates: Focus on ACE and DPP-IV activities modulation. J Functi Foods 2019;63:103592.
6. McCarthy AL, Callaghan YC, Brien NM. Protein Hydrolysates from agricultural crops—bioactivity and potential for functional food development. Agriculture 2013;3(1):112-30.
7. Silva PCd, Toledo T, Brião V, Bertolin TE, Costa JAV. Development of extruded snacks enriched by bioactive peptides from microalga *Spirulina* sp. LEB 18. Food Biosci 2021;42:101031.
8. Soni RA, Sudhakar K, Rana RS. *Spirulina* – From growth to nutritional product: A review. Trends Food Sci 2017;69:157-71.
9. Venkataraman LV. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): physiology, cell biology and biotechnologym, edited by Avigad Vonshak. J Appl Phycol 1997;9(3):295-6.
10. Vo TS, Ngo DH, Kim SK. Chapter 19 - Nutritional and pharmaceutical properties of microalgal *Spirulina.* Handbook of Marine Microalgae. 2015:299-308.
11. AlFadhly NKZ, Alhelfi N, Altemimi AB, Verma DK, Cacciola F, Narayanankutty A. Trends and technological advancements in the possible food applications of *Spirulina* and their health benefits: A Review. Molecules 2022;27(17):5584.
12. Akbarbaglu Z, Ayaseh A, Ghanbarzadeh B, Sarabandi K. Biological stabilization of *Arthrospira* bioactive-peptides within biopolymers: Functional food formulation; bitterness-masking and nutritional aspects. LWT 2024;191:115653.

13. Matufi F, Choopani A. *Spirulina*, food of past, present and future. Health Biotechnol Biopharm 2020;3(4):1-20.
14. Li Y, Aiello G, Bollati C, Bartolomei M, Arnoldi A, Lammi C. Phycobiliproteins from A*rthrospira platensis* (*Spirulina*): A new source of peptides with dipeptidyl peptidase-IV inhibitory activity. Nutrients 2020;12(3):794.
15. Ovando CA, Carvalho JC, Pereira GVM, Jacques P, Soccol VT, Soccol CR. Functional properties and health benefits of bioactive peptides derived from *Spirulina*: A review. Food Rev Int 2018;34(1):34-51.
16. Adeyeye E, Ayeni S. Comparability of the amino acid composition of whole egg and two fancy meats (heart and liver) of domestic duck (Anas platyrhynchos) consumed in Nigeria. OJACR 2014;2(1):16-28.
17. Anaeto M, Adeyeye JA, Chioma G, Olarinmoye A, Tayo O. Goat Products: Meeting the challenges of human health and nutrition. Agric Biol J N Am 2010;1(6):1231-6.
18. Gorissen SHM, Crombag JJR, Senden JMG, Waterval WAH, Bierau J, Verdijk LB, et al. Protein content and amino acid composition of commercially available plant-based protein isolates. Amino Acids 2018;50(12):1685-95.
19. Derbyshire E. Food-Based dietary guidelines and protein quality definitions-Time to move forward and encompass mycoprotein? Foods 2022;11(5):647.
20. Ward FM, Deyab MA. Comparative study of nutritional importance of some marine macroalgae as a novel natural source of amino acids. Russ J Mar Biol 2021;47:39-46.
21. Raczyk M, Polanowska K, Kruszewski B, Grygier A, Michałowska D. Effect of *Spirulina* (*Arthrospira platensis)* supplementation on physical and chemical properties of semolina (*Triticum durum*) based fresh pasta. Molecules 2022;27(2):355.
22. Tiong I, Yeong ys, Jusoh M, Wahid E, Nagappan T. *Chlorella vulgaris* : a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. Appl Phycol 2020;1(1):2-11.
23. Chatterjee C, Gleddie S, Xiao CW. Soybean bioactive peptides and their functional properties. Nutrients 2018;10(9):1211.
24. Helal A, Tagliazucchi D. Peptidomics profile, bioactive peptides identification and biological activities of six different cheese varieties. Biology 2023;12(1):78.
25. Abdel-Hamid M, Otte J, De Gobba C, Osman A, Hamad E. Angiotensin I-converting enzyme inhibitory activity and antioxidant capacity of bioactive peptides derived from enzymatic hydrolysis of buffalo milk proteins. Int Dairy J 2017;66:91-8.
26. Wang X, Chen H, Fu X, Li S, Wei J. A novel antioxidant and ACE inhibitory peptide from rice bran protein: Biochemical characterization and molecular docking study. LWT 2017;75:93-9.
27. Anekthanakul K, Senachak J, Hongsthong A, Charoonratana T, Ruengjitchatchawalya M. Natural ACE inhibitory peptides discovery from *Spirulina* (*Arthrospira platensis*) strain C1. Peptides 2019;118:170107.
28. Yan QJ, Huang LH, Sun Q, Jiang ZQ, Wu X. Isolation, identification and synthesis of four novel antioxidant peptides from rice residue protein hydrolyzed by multiple proteases. Food Chem 2015;179:290-5.

29. Bougatef A, Nedjar-Arroume N, Manni L, Ravallec R, Barkia A, Guillochon D, et al. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins. Food Chem 2010;118(3):559-65.
30. Wang L, Dong C, Li X, Han W, Su X. Anticancer potential of bioactive peptides from animal sources (Review). Oncol Rep 2017;38(2):637-51.
31. Wang Z, Zhang X. Isolation and identification of anti-proliferative peptides from *Spirulina platensis* using three-step hydrolysis. J Sci Food Agric 2017;97(3):918-22.
32. Vo TS, Ngo DH, Kang KH, Park SJ, Kim SK. The role of peptides derived from *Spirulina maxima* in downregulation of FcεRI-mediated allergic responses. Mol Nutr Food Res 2014;58(11):2226-34.
33. Usharani G, Saranraj P, Kanchana D. Spirulina Cultivation: A Review. IJPBA. 2012;3(6):1327-41.
34. Ismail I, Kurnia KA, Samsuri S, Bilad MR, Marbelia L, Ismail NM, et al. Energy efficient harvesting of *Spirulina* sp. from the growth medium using a tilted panel membrane filtration. Bioresour Technol Rep 2021;15:100697.
35. Stunda-Zujeva A, Vegere K. Growing and drying *Spirulina/Arthrospira* for producing food and nutraceuticals: A Review. KEM 2018;762:134-40.
36. Stramarkou M, Papadaki S, Kyriakopoulou K, Tzovenis I, Chronis M, Krokida M. Comparative analysis of different drying techniques based on the qualitative characteristics of *Spirulina platensis* biomass. J Aquat Food Prod 2021;30(5):498-516.
37. Ashaolu TJ. Applications of soy protein hydrolysates in the emerging functional foods: A Review. Int J Food Sci Technol 2019;55(2):421-8.
38. Pratama AI, Lioe HN, Yuliana ND, Ogawa M. Umami compounds present in umami fraction of acid-hydrolyzed *Spirulina* (*Spirulina platensis*). Algal Res 2022;66:102764.
39. Mohammadi M, Soltanzadeh M, Ebrahimi AR, Hamishehkar H. *Spirulina platensis* protein hydrolysates: Techno-functional, nutritional and antioxidant properties. Algal Res 2022;65:102739.
40. Sahin B, Hosoglu MI, Guneser O, Karagul-Yuceer Y. Fermented *Spirulina* products with *Saccharomyces* and non- *Saccharomyces* yeasts: Special reference to their microbial, physico-chemical and sensory characterizations. Food Biosci 2022;47:101691.
41. Ma J, Zeng X, Zhou M, Cheng L, Ren D. Inhibitory effect of low-molecular-weight peptides (0–3 kDa) from *Spirulina platensis* on H2O2-induced oxidative damage in L02 human liver cells. Bioresour Bioprocess 2021;8(1):36.
42. Jie Y, Yuanliang H, Mingxiong X, Yaohao D, Shenao L, Nan P, et al. Purification and identification of antioxidant peptides from enzymatic hydrolysate of *Spirulina platensis*. J Microbiol Biotechnol 2016;26(7):1216-23.
43. Zhang N, Li F, Zhang T, Li C-Y, Zhu L, Yan S. Isolation, identification, and molecular docking analysis of novel ACE inhibitory peptides from *Spirulina platensis*. Eur Food Res Technol 2022;248(4):1107-15.
44. Sun Y, Chang R, Li Q, Li B. Isolation and characterization of an antibacterial peptide from protein hydrolysates of *Spirulina platensis*. Eur Food Res Technol 2016;242(5):685-92.

45. MubarakAli D, MohamedSaalis J, Sathya R, Irfan N, Kim JW. An evidence of microalgal peptides to target spike protein of COVID-19: In silico approach. Microb Pathog 2021;160:105189.
46. Wang Z, Zhang X. Inhibitory effects of small molecular peptides from *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* on cancer cell growth. Food Funct 2016;7(2):781-8.
47. Moghadamzadegan S, Emtyazjoo M, Sadeghi M, Rabbani M. Evaluation of anti-inflammatory effects of bioactive peptides of *Spirulina platensis* extracted by animal cysteine protease enzyme in mice Balb/C. J Anim Biol 2021;13(4):119-32.
48. Bingli Z, Cui Y, Xiaodan F, Qi P, Liu C, Zhou X, et al. Anti-obesity effects of *Spirulina platensis* protein hydrolysate by modulating brain-liver axis in high-fat diet fed mice. PLoS One 2019;14(6):e0218543.
49. Lee C-W, Chang YB, Park CW, Han SH, Suh HJ, Ahn Y. Protein hydrolysate from *Spirulina platensis* prevents dexamethasone-induced muscle atrophy via Akt/Foxo3 signaling in C2C12 myotubes. Mar Drugs 2022;20(6):365.
50. Villaseñor VM, Enriquez-Vara JN, Urías-Silva JE, Mojica L. Edible Insects: Techno-functional properties food and feed applications and biological potential. Food Rev Int 2022;38(sup1):866-92.
51. Akbarbaglu Z, Ayaseh A, Ghanbarzadeh B, Sarabandi K, Kharazmi MS, Jafari SM. Chemical structure and bio-functional properties of *Arthrospira platensis* peptides produced by ultrasonication-enzymolysis: their emulsification capabilities. Process Biochem 2023;132:191-9.
52. Cristiane R, Pereira A, Costa JA. Biopeptides with antioxidant activity extracted from the biomass of *Spirulina* sp. LEB 18. Afr J Microbiol Res 2016;10(3):79-86.
53. Forutan M, Hasani M, Hasani S, Salehi N. Antioxidative activity and functional properties of enzymatic protein hydrolysate of *Spirulina platensis*. J Food Biosci Technol 2023;13(1):75-89.
54. Forutan M, Hasani M, Hasani S, Salehi N, Sabbagh F. Liposome system for encapsulation of *Spirulina platensis* protein hydrolysates: controlled-release in simulated gastrointestinal conditions, structural and functional Properties. Materials 2022;15(23):8581.
55. Maag P, Dirr S, Özmutlu Karslioglu Ö. Investigation of bioavailability and food-processing properties of *Arthrospira platensis* by enzymatic treatment and micro-encapsulation by spray drying. Foods 2022; 11(13):1922.
56. Villaró-Cos S, Guzmán Sánchez JL, Acién G, Lafarga T. Research trends and current requirements and challenges in the industrial production of *Spirulina* as a food source. Trends Food Sci Technol 2024;143:104280.
57. Mohammadi M, Hamishehkar H, McClements DJ, Shahvalizadeh R, Barri A. Encapsulation of *Spirulina* protein hydrolysates in liposomes: Impact on antioxidant activity and gastrointestinal behavior. Food Chem 2023;400:133973.