ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ระหว่างการเก็บรักษา

Antioxidant Activities and Phenolic Acids Profile of Pasteurized Mulberry Juice During Storage

วิภาวดี พันธ์หนองหว้า[1*]

Wipavadee Punnongwa[1*]

Received: *October 1, 2021;* ***Revised:*** *March 12, 2022;* ***Accepted:*** *March 16, 2022*

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน ที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale พบว่าน้ำลูกหม่อนสายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ความเข้มข้นร้อยละ 40 และร้อยละ 50 มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 13 ^{o}Brix ได้รับคะแนนความชอบสูงสุดด้านสี รสชาติ กลิ่น และความชอบรวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leqslant 0.05$) ผลของการเก็บรักษาน้ำลูกหม่อนปริมาณสารแอนโทไซยานินลดลง สารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C เป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่าปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินมีปริมาณลดลงร้อยละ 55.57 55.16 และ 65.64 ตามลำดับ การสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ทำการทดสอบด้วยวิธี FRAP และวิธี ABTS Radical Scavenging Activity มีปริมาณลดลงร้อยละ 34.18 และ 65.91 ($p \leqslant 0.05$) เมื่อทำการทดสอบชนิดและปริมาณสารฟีนอลิกด้วยเทคนิค Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC) เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบ Photo Diode Array พบว่าน้ำลูกหม่อนมีปริมาณกรดแกลลิก กรดไฮดรอกซิลเบนโซอิก กรดวาลิลิก กรดทรานส์เฟอรูริก รูทิน และกรดซิเนปิก ลดลงร้อยละ 97.67 94.61 78.33 96.99 53 และ 29.13 ตามลำดับ ($p \leqslant 0.05$) จากการศึกษานี้ช่วยเป็นแนวทางปรับปรุงขบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์เพื่อคงคุณค่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสำหรับอุตสาหกรรมการแปรรูปน้ำลูกหม่อนต่อไป

คำสำคัญ : น้ำลูกหม่อน; สารฟีนอลิก; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

[1] *คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์*

[1] *Faculty of Agricultural and Technology, University of Rajamangkala University of Technology Isan, Surin Campus*

[*] *Corresponding Author, Tel. 09 1471 0050, E - mail: punnongwa05@gmail.com*

Abstract

This study aimed to investigate changes in the bioactive compounds of mulberry juice by pasteurization treatments during 3 months of storage at 4±2 °C. The results of sensory evaluation, using a 9-point hedonic scale, showed that the highest color score, taste, odor, and overall appearance of mulberry juice (Buriram 60 containing 40 and 50 %, 13 °Brix) was statistically significant ($p \leqslant 0.05$). The effect of 3 months storage at temperatures of 4±2 °C on degradation of anthocyanin content, phenolic compounds and flavonoids in mulberry juice was determined. The total phenolic, flavonoids, anthocyanin content decreased by 55.57, 55.16, and 65.64 %, respectively. The losses of antioxidant activity in mulberry juice during storage determined by FRAP and ABTS were 34.18 and 65.91 %, respectively. The mulberry juice samples were analyzed by Ultra-performance liquid chromatography (UPLC) with a diode-array detector to identify the polyphenols. The UPLC detected a decrease in gallic acid, hydroxy-benzoic acid, vanillic acid, trans-ferulic acid, rutin, and sinapic acid (97.67, 94.61, 78.33, 96.99, 53, and 29.13 %, respectively) ($p \leqslant 0.05$). This study could be applied as a guide to improving the bioactive compound stability and antioxidant activity of mulberry juice, thereby improving and promoting the development of the mulberry juice processing industry.

Keywords: Mulberry Juice; Phenolic Acids; Antioxidant Activity

บทนำ

หม่อนเป็นผลไม้กินได้อยู่ในตระกูล Moraceae พบปลูกโดยทั่วไปในเอเชียตะวันออก ตอนเหนือทวีปแอฟริกาตอนใต้ของทวีปยุโรป และทวีปอเมริกา และในประเทศไทย หม่อนมีหลายสายพันธุ์ได้แก่ หม่อนสีขาว (*Morus alba*) หม่อนสีดำ (*Morus nigra*) และหม่อนสีแดง (*Morus rubra*) [1] ในอุตสาหกรรมอาหารมีการแปรรูปผลิตภัณฑ์อาหารจากลูกหม่อนมากมาย อาทิเช่น ลูกหม่อนอบแห้ง ไวน์ลูกหม่อน น้ำลูกหม่อน แยมลูกหม่อน และเยลลี่ลูกหม่อน [2] ลูกหม่อนยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญเช่น สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน ป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด สภาวะไขมันในเส้นเลือดสูง ลดการเกิดแอลดีแอลออกซิเดชั่น (LDL Oxidation) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity และวิธี Total Antioxidant Capacity ยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลเรดิคัล (Hydroxyl Radical, $OH^{\bullet}$) ปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชั่น (Lipid Oxidation, $LOO^{\bullet}$, $LO^{\bullet}$, $L^{\bullet}$) ไนตริกออกไซด์ (Nitric Oxide, $NO^{\bullet}$) และซุปเปอร์ออกไซด์เรดิคัล (Superoxide Radical, $O\bullet_2$) งานวิจัยของ [3] ได้ทดลองหาอนุพันธุ์ของแอนโทไซยานินชนิดต่าง ๆ ในลูกหม่อนที่มีสีม่วงแดง สารฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานิน เช่น สารไซยานิดินทรีไกลโคไซค์ และไซยานิดินเซเว่นกลูโคไพราโนไซด์ (cyanidine 3-0 - glucopyranoside และ cyanidine 7-0-d-glucopyanoside) วิตามินซี พบกรดไขมันชนิดต่าง ๆ เช่น กรดไขมันลิโนเลอิก และกรดไขมันปาล์มิติก และกรดอินทรีย์บางชนิด เช่นกรดมาลิก กรดซิตริก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีสารไทอะมีน (วิตามินบี 1) และไนอะซีน กรดแพนโทเทนิค (วิตามินบี 5) และไพริดรอกซิน (วิตามินบี 6) วิตามินอี (α - tocopherol) สารประกอบฟีนอลิก [4] - [5] ทั้งยังมีผลต่อสุขภาพ เช่น ลดการอักเสบของเซลล์ ลดการเกิดโรคมะเร็ง กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโรค ป้องกันโรคเบาหวาน พบกรดไขมัน กรดอะมิโน แร่ธาตุอื่น ๆ [6] ต้านการเจริญของจุลินทรีย์ ต้านการอักเสบ ลดการเกิดปฏิกิริยาลิพิดออกซิเดชั่น ลดการอักเสบของตับ ลดการแพ้

ISSN 2672-9369 (Online)

ป้องกันโรคความดันโลหิต ป้องกันโรคหัวใจ ตลอดจนป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น [7] นอกจากนั้นยังพบสารฟีนอลิกบางชนิด ได้แก่ สารโฟโตคัทชูอิกแอซิค (Photo-Catechuic Acid) สารพาราไฮดรอกซิลเบนโซอิกแอซิค (P-Hydroxybenzoic Acid) สารวาลิลิกแอซิค (Vanillic Acid) สารพาราคูมาริกแอซิค (P-Coumaric Acid) สารเฟอรูริกแอซิค (Ferulic Acid) [8] สารคลอโรเจนิกแอซิค (Chlorogenic Acid) และสารคาเฟอิกแอซิค (Caffeic Acid) พบกรดแกลลิกแอซิค (Gallic Acid) สารคัทเทซิน (Catechin) สารรูทิน (Rutin) กรดเฟอรูริก (Ferulic Acid) สารเคอซิทิน (Quercetin) สารนาริเจนนิน (Naringenin) [9] เป็นต้น

น้ำผลไม้นับเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมรับประทานมากในประชากรทั่วโลกทั้งรูปแบบการบริโภคแบบคั้นน้ำสด เช่น น้ำส้มคั้น น้ำแอปเปิ้ล น้ำกลุ่มตระกูลเบอรี น้ำสตรอว์เบอร์รี น้ำลูกหม่อน น้ำราสป์เบอร์รี น้ำบลูเบอร์รี น้ำสับปะรด เป็นต้น โดยน้ำผลไม้มีประโยชน์กับสุขภาพมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ สารแคโรทีนอยด์ สารแอนโทไซยานิน สารฟลาโวนอยด์ สารฟีนอลิก วิตามินชนิดต่าง ๆ เช่น วิตามินเอ วิตามินอี วิตามินบี ที่มีส่วนสำคัญในกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ และป้องกันโรค ในอุตสาหกรรมอาหารมีกระบวนการแปรรูปน้ำผลไม้หลายชนิด ในฤดูกาลที่ผลไม้มีมากล้นตลาด การส่งออกไปยังต่างประเทศ เช่น การทำน้ำผลไม้พาสเจอร์ไรซ์ น้ำผลไม้ยูเอชที น้ำผลไม้กระป๋อง เป็นต้น [10] การผลิตน้ำผลไม้ด้วยการพาสเจอร์ไรซ์เป็นกระบวนการที่เหมาะสมช่วยในการยืดอายุการเก็บรักษาทั้งยังช่วยถนอมคุณค่าทางสารอาหาร ถนอมรสชาติ สี กลิ่น ให้มีกลิ่นรสที่ดี [11] ในอุตสาหกรรมอาหารได้มีการนำผลหม่อนมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น การทำน้ำผลไม้ การทำน้ำผลไม้เข้มข้น ในระหว่างการเก็บรักษาสีของน้ำลูกหม่อนจะเกิดการเสื่อมสลายเกิดความขุ่นเนื่องจากมีตะกอนและการเน่าเสีย เนื่องจากจุลินทรีย์เกิดการสลายตัวของสารฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานิน ในอุตสาหกรรมอาหารยังมีกระบวนการแปรรูป ด้วยการใช้ความดันสูง (High Pressure Processing) การใช้กระแสไฟฟ้า (Pulsed Electric Field) การใช้คลื่นความถี่แบบอัลตร้าซาวน์ การใช้คลื่นไมโครเวฟ การกรองด้วยเยื่อกรองแบบไมโครฟิวเตชั่น การกรองแบบอัลตร้าฟิวเตชั่นเพื่อกรองจุลินทรีย์ออกจากน้ำผลไม้โดยไม่ใช้ความร้อน ช่วยถนอมวิตามิน สี กลิ่น รสชาติของน้ำผลไม้ได้ดี [12] กระบวนการใช้ความร้อนต่ำด้วยกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์เพื่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์และยับยั้งจุลินทรีย์ที่เกิดโรคในอาหารแต่ไม่ได้ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร สามารถช่วยถนอมคุณค่าสารอาหาร เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน วิตามินชนิดต่าง ๆ ในน้ำผลไม้ได้ดี และทำการเก็บรักษาด้วยวิธีการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C [13]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการศึกษาอายุการเก็บรักษาเป็นงานวิจัยต่อเนื่องจากงานวิจัยเรื่ององค์ประกอบด้านเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อน ดังนั้นแล้วจึงได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น สารแอนโทไซยานิน สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ รวมถึงชนิดและปริมาณของสารฟีนอลิกที่ลดลงในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับอุตสาหกรรมน้ำลูกหม่อนต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. **การเตรียมตัวอย่างน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์**

หม่อนสายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 แปลงศูนย์วิจัยหม่อนไหม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ อายุการเก็บเกี่ยว 60 วันหลังการตัดกิ่ง ความเข้มข้นร้อยละ 30 40 และ 50 ทำการพาสเจอร์ไรซ์ตามวิธีของ [12] ที่อุณหภูมิ 72 ^{o}C เวลา 30 วินาที ก่อนการบรรจุลงในขวดแก้วฝาจีบชนิดใสแล้วให้ความร้อนอีกครั้งที่อุณหภูมิ 72 ^{o}C เวลา 30 วินาที

2. **การวิเคราะห์ด้านประสาทสัมผัส**

ผลิตภัณฑ์น้ำลูกหม่อนมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส ตามวิธีทดลองของ [14] ทางด้านสี

กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม โดยวิธี 9-Hedonic Scaling Test วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ ทำการประเมินโดยผู้ชิมไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน

3. การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของน้ำลูกหม่อน

3.1 **ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด** การศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีการทำให้เกิดสี ดัดแปลงจากวิธี [15] นำน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 2.25 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไนเตรทความเข้มข้นร้อยละ 5 ($NaNO_2$) จำนวน 0.15 มิลลิลิตร เขย่าทิ้งให้เกิดปฏิกิริยา 6 นาที เติมสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3.6H_2O$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 0.3 มิลลิลิตร เขย่าและทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมล จำนวน 1 มิลลิลิตร วัดด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 510 นาโนเมตร (UV 1800 Shimadzu Spectrophotometer, Shimazu, Japan) โดยทำการใช้สาร Quercetin เป็นสารมาตรฐาน (mg/g)

3.2 **ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด** การวิเคราะห์สารฟีนอลิกทั้งหมดในอาหารโดยวิธีการเกิดสีกับสาร Folin-Ciocalteau Method ดัดแปลงจากวิธีของ [16] นำน้ำลูกหม่อนจำนวน 0.2 มิลลิลิตร เติมลงไปในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu: น้ำ (1:10 v/v) จำนวน 2.5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 30 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.75 (w/v) เขย่าและตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยา 120 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ใช้กรดแกลลิกความเข้มข้น 0 - 1.0 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นสารมาตรฐาน

3.3 **แอนโทไซยานินทั้งหมด** การวัดปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีของ [17] ทำการสกัดสารตัวอย่างโดยการนำเอาตัวอย่างน้ำลูกหม่อน 1 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายโพแทสเซียมคลอไรค์ 1.86 กรัม ผสมในน้ำกลั่น 980 มิลลิเมตร ปรับ pH 1.0 ด้วยไฮโดรคลอลิก และปรับให้เป็น pH 4.5 ด้วยโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปิเปตตัวอย่างน้ำลูกหม่อน 1.0 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรกับ NaH_2Po_4 (Sodium Phosphate) pH 1.0 และปรับด้วย KCl (Potassium Chloride) pH 4.5 ปรับปริมาตรให้ได้ 25 มิลลิลิตร นำไปหาค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 520 และ 700 นาโนเมตร คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินจากสมการที่ (1)

$$\text{Total Anthocyanin} = \frac{\text{Acorrection x MW x DF x 1000}}{\varepsilon \text{ x L}} \quad (1)$$

เมื่อ

Acorrection คือ ค่าการดูดกลืนแสง = (A520-A700) pH 1.0 - A520-A700) pH 4.5

A520 และ A700 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และที่ 700 นาโนเมตร

MW = น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน (เทียบกับ Cyaninin -3-glucoside 449.2 กรัมต่อโมล)

DF = สัดส่วนที่ทำการเจือจาง

L = ความกว้างของ Cuvette (1 cm)

ε = โมลาร์แอบซอบติวิตี้ (Molar Absorptivity) มีค่า 26,900 (M^{-1} cm^{-1})

4. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4.1 **การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)** การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) เป็นการวัดความสามารถในการรับอิเล็คตรอนของ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ในรูปแบบสารประกอบเชิงซ้อนสีฟ้า Fe^{2+} - TPTZ Complex (Fe^{2+} Tripyridyltriazine) ที่เพิ่มขึ้นตามวิธีของ [18] สารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมล pH 3.6 (ปรับโดยใช้สารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 โมล)

ISSN 2672-9369 (Online)

สาร TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมล ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 40 มิลลิโมล และสารละลายเฟอริกคลอไรด์ ($FeCl_3.6H_2O$) เตรียมการผสมสารใหม่ก่อนการทดลองทุกครั้งโดยที่ผสมโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ 25 มิลลิลิตร สารละลาย TPTZ จำนวน 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอริกคลอไรด์ 2.5 มิลลิลิตร เติมสารสกัดตัวอย่างจำนวน 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารผสมจำนวน 4.75 มิลลิลิตร เขย่าและบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Shimazu 1800 UV Detector (Shimazu, Japan) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ การคำนวน % การยับยั้งเทียบสารควบคุมเชิงบวกคือ สารละลายมาตรฐาน Trolox

4.2 **การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ Scavenging Activity** การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ Scavenging Activity ตามวิธีของ [18] สาร $ABTS^{\bullet+}$ หรือ The 2,2′-azino-bis-3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid เป็นสารที่สามารถให้อนุมูลอิสระที่สามารถใช้ทดสอบได้ดีในระบบที่ทำละลายจากน้ำ การทำสาร Stock Solutions ของสารละลาย 2 mM of $ABTS^{\bullet+}$ Solution ในสารละลาย 70 mM Potassium Persulfate นำสารละลาย Stock Solutions บ่มที่ 24 - 48 ชั่วโมง (ควรใช้ที่ 48 ชั่วโมงเพราะมีความเสถียรมากกว่า) ที่อุณหภูมิห้องและบัฟเฟอร์ Na_2HPO_4 $12.H_2O$ (0.1 M) + NaCl (0.818 %) + KCl (0.0015 %) ผสมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ และบัฟเฟอร์ใหม่ทุกครั้งก่อนทำการทดลอง โพแทสเซียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ KH_2PO_4 0.1 M ปรับ pH 7.4 จากนั้นทำการเจือจางสารละลาย ABTS (1:6 v/v) ทำการปิเปตตัวอย่างจำนวน 0.1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วเก็บในที่มืด 6 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ด้วยสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ ยี่ห้อ Shimazu 1800 UV Detector (Shimazu, Japan) ควรผสมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ และบัฟเฟอร์ที่เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนทำการทดลองเสมอทำการทดลอง 3 ซ้ำ การคำนวน % inhibition ดังสมการที่ (2) เทียบสารควบคุมเชิงบวกคือ สารละลายมาตรฐาน Trolox

$$(\%\ \text{inhibition} = \frac{(Abs_{control} - Abs_{sample}) \times 100\ \%}{Abs_{control}} \qquad (2)$$

$Abs_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม
Abs_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

5. **การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟีนอลิกในน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ด้วยเครื่อง Ultraperformance Liquid Chromatography (UPLC)**

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารฟีนอลิกด้วยวิธียูพีแอลซี (Ultraperformance Liquid Chromatography; UPLC) รุ่น AcquityTM Ultra Performance Liquid Chromatography ใช้ที่ตรวจวัดสัญญาณแบบโฟโตไดโอดอัลเลย์ Photodiode Array (Water Corporation, USA) ทำตามวิธีวิเคราะห์ดัดแปลงจากวิธีของ [19] นำน้ำลูกหม่อนมาทำการเซนติฟิวส์ที่ 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อทำให้สารละลายใส จากนั้นนำมาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องทำระเหยแบบหมุนได้ Rotary Evaporator (Buchi R124, B480, Japan) ที่อุณหภูมิ 50 °C ทำการละลายกลับด้วยสารน้ำขจัดอิออนจำนวน 5 มิลลิลิตร เก็บไว้ -20 °C ก่อนการทดสอบทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างด้วยการใช้การ์ดคอลัมน์ (Gard Column) ชนิด C18 ขนาด (Waters, Symmetry ชนิด C18 ขนาดรูพรุน 5 ไมโครเมตร ขนาดความยาว 3.9 × 20 มิลลิเมตร) ด้วยคอลัมน์สำหรับวิเคราะห์ชนิด C18 ยี่ห้อ Water ขนาดความยาว 150 × 4.6 มิลลิเมตร ที่มีขนาดรูพรุน 5 ไมโครเมตร ก่อนทำการวิเคราะห์กรองด้วยเยื่อกรองขนาดรูพรุน 0.2 ไมโครเมตร ฉีดตัวอย่างที่ 10 ไมโครลิตร ด้วยระบบฉีดตัวอย่างแบบอัตโนมัติให้เฟสเคลื่อนที่เป็นสาร A คือ กรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 0.1 สาร B

สารอะซิโตนไนไตรทมีอัตราการไหลเป็น 0.8 มล/นาที เริ่มต้นให้สาร B ที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 จากนั้นเพิ่มความเข้มข้นของสาร B เป็นร้อยละ 15 (ที่เวลา 0 - 10 นาที) เพิ่มความเข้มข้นของสาร B เป็นร้อยละ 35 (ที่เวลา 10 - 15 นาที) และเพิ่มความเข้มข้นของสาร B เป็นร้อยละ 55 (ที่เวลา 15 - 20 นาที) หลังจากนั้นเพิ่มความเข้มข้นของสาร B เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 100 (ที่เวลา 20 - 25 นาที) ปล่อยทิ้งไว้ 15 นาที เพื่อทำการล้างคอลัมน์ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ใช้การทดสอบชนิดของสารฟีนอลิกด้วยสารมาตรฐาน ทดสอบแบบใช้สารมาตรฐานภายนอก (External Standard) และตรวจยืนยันชนิดของกรดฟีนอลิกด้วยการเติมสารมาตรฐานลงไปในตัวอย่าง (Spike Test)

6. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติที่ใช้ในการทดสอบด้านประสาทสัมผัส ได้แก่ F-Test โดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorials in RCBD และการทดสอบด้านเคมีด้วยการวางแผนการทดลองแบบ CBD วิเคราะห์แบบแปรปรวนทางเดียว (One - Way ANOVA) การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่ตามวิธีของ Duncan s′ Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทำการทดลอง 2 ซ้ำการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. สูตรการผลิตน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์

การผลิตน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสม ทดสอบชิมโดยวิธี 9-Hedonic Scale โดยใช้ผู้ทดสอบโดยไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน ดังแสดงในตารางที่ 1 พบว่าน้ำลูกหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ความเข้มข้นร้อยละ 40 และร้อยละ 50 ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับในด้านความชอบกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงสุด ($p \leqslant 0.05$) เนื่องจากการใช้น้ำลูกหม่อนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 40 มีความประหยัดในด้านจุดคุ้มทุนที่ดีกว่า เพราะใช้ลูกหม่อนในปริมาณน้อยในการผลิตกว่าน้ำลูกหม่อนความเข้มข้นร้อยละ 50 ดังนั้นทางผู้ทดลองจึงได้มีการนำน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ความเข้มข้นร้อยละ 40 นำมาทดสอบขั้นต่อไป พบว่าน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ด้วยขวดแก้วปิดฝาจีบเป็นเวลานาน 3 เดือน มีจุลินทรีย์ทั้งหมดในอาหาร (Total Plate Count Agar; PCA) และปริมาณยีสต์ราทั้งหมด (Potato Dextrose Agar; PDA) ไม่เกิน 30 CFU/ml และไม่พบแบคทีเรียโคลิฟอร์ม (ไม่ได้แสดงข้อมูล)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale

สิ่งทดลอง	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
น้ำหม่อนร้อยละ 30	6.53±0.68^{b}	6.53±0.63^{b}	6.57±0.63^{b}	6.57±0.57^{a}	6.57±0.57^{b}
น้ำหม่อนร้อยละ 40	7.00±0.79^{a}	6.97±0.81^{a}	7.10±0.84^{a}	7.10±0.84^{a}	6.93±0.78^{ab}
น้ำหม่อนร้อยละ 50	7.17±0.87^{a}	7.00±0.79^{a}	7.27±0.58^{a}	7.27±0.58^{a}	7.07±0.83^{a}

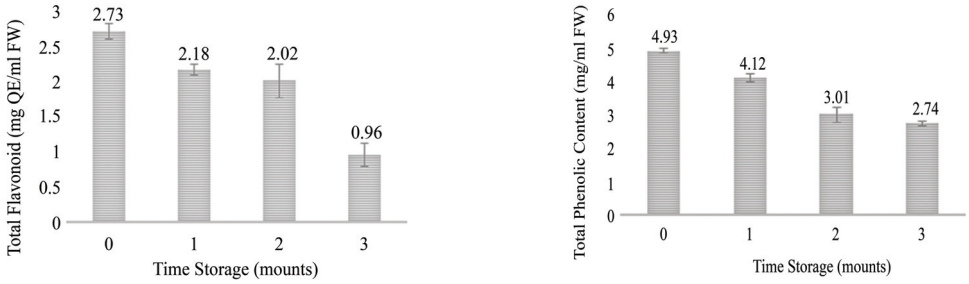
หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวตั้งมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p \leqslant 0.05$)

2. องค์ประกอบทางเคมีของน้ำลูกหม่อน

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในตัวอย่างน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ที่ 0 เดือนมีค่าเท่ากับ 2.73±0.11 mg QE/ml FW (Fresh Weigh) เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าน้ำลูกหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leqslant 0.05$) เหลือ 0.96±0.16 mg QE /ml FW (ลดลงร้อยละ 35.16) ดังรูปที่ 1(ก) ปริมาณฟีนอลิกที่ 0 เดือนมีปริมาณ 4.93±0.07 mg GAE/ ml FW

ISSN 2672-9369 (Online)

เมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่าน้ำลูกหม่อนมีปริมาณสารฟีนอลิกลดลง ($p \leq 0.05$) 2.74±0.06 mg GAE/ ml FW (ลดลงร้อยละ 55.57) ดังรูปที่ 1(ข) สอดคล้องกับผลการทดลองของ [4] พบว่าปริมาณสารฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ปริมาณแอนโทไซยานินในผลสดน้ำลูกหม่อนเมื่อผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มีปริมาณลดลงเนื่องจากความร้อน และเก็บรักษาไว้เป็นเวลานาน ความร้อน แสง ออกซิเจนทำให้อนุพันธ์ของสารฟลาโวนอยด์เกิดการแตกออกของพันธะระหว่างไฮโดรเจนอะตอมและวงแหวนเบนซินริง ทำให้สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ และสารฟีนอลิกเกิดการสลายตัวเนื่องจากแสง ความร้อน โลหะ ในช่วงเดือนแรกอัตราการสลายตัวค่อนข้างต่ำ ในขณะที่ช่วงเดือนที่ 3 ลดปริมาณในอัตราที่สูง สารฟลาโวนอยด์ที่พบในลูกหม่อน เช่น สารรูทีน (Rutin) สารเคอซิทินทรีไกลโคไซด์ (Quercethin -3-glucoside) สารเคอซิทินมาโลนิลไกลโคไซด์ (Quercetin-Malonyl-Glucoside) และสารคาเฟโลคลินิก แอซิค Caffeoylquinic Acids ในปริมาณสูง



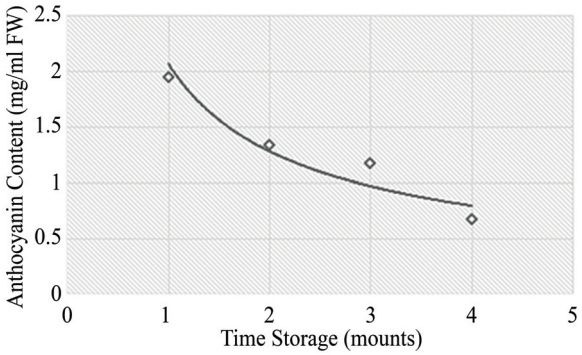
(ก) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoids) (ข) ฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content)

รูปที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำลูกหม่อนระหว่างการเก็บรักษา

3. การเปลี่ยนแปลงแอนโทไซยานิน

น้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ เมื่อทำการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส ทดลองในสภาวะเดียวในข้อ 2 ในเดือนที่ 0 น้ำลูกหม่อนมีปริมาณสารแอนโทไซยานิน 1.95±0.35 mg/ml FW เดือนที่ 1 ปริมาณแอนโทไซยานินคงเหลือ 1.34±0.44 mg/ml FW เดือนที่ 2 ปริมาณแอนโทไซยานิน 1.17±0.33 mg/ml FW และในเดือนสุดท้าย 0.67±0.58 mg/ml FW ลดลงร้อยละ 65.64 ดังรูปที่ 2 ทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินมีปริมาณลดลง สอดคล้องกับผลการทดลองของ [8] ได้ทำการทดสอบการเสื่อมสลายของสารแอนโธไซยานินระหว่างกระบวนการแปรรูปและกระบวนการเก็บรักษา พบว่าการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินในน้ำลูกหม่อนพันธุ์สีดำที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 เดือน ที่อุณหภูมิ 5 ^{o}C พบว่าอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินของน้ำลูกหม่อนเข้มข้น 56.48 และ 49.75 kJ mol^{-1} นอกจากนั้นยังสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาร้อยละ 4.87 - 16.01 และ 4.47 - 33.57 งานวิจัยของ [8] ได้ทำการทดสอบการสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อนและน้ำลูกหม่อนเข้มข้นที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าเกิดการสูญเสียฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 20 30 และ 40 ^{o}C เป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่าเกิดการสลายตัวของปริมาณแอนโทไซยานินสลายระหว่างการเก็บรักษาโดยมีปริมาณลดลงร้อยละ 1.96 - 74.55 และลดลงร้อยละ 1.26 - 98.12 นอกจากนั้นมีงานวิจัยของ [20] การสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน ของลูกหม่อนระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 70 ^{o}C การสลายตัวของสารแอนโทไซยานินในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา เนื่องจากกระบวนการแปรรูปด้วยความร้อนคือ การพาสเจอร์ไรซ์ และการเก็บรักษา เกิดการสลายตัวจากแสง ออกซิเจน และความร้อน การแตกออกของพันธะในโมเลกุลสารแอนโทไซยานินส่งผลให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินมีปริมาณลดลง สารแอนโทไซยานินที่พบในน้ำหม่อนได้แก่ สารไซยานิดินทรีแรมโนไพราโนไซด์เบต้ากลูโคไพราโนไซด์ (cyanidin 3 - 0 - C (6″-0-a- rhamnopyranosyl-β -d-glucopyranoside) สารไซยานิดินทรีเบต้ากลูโคไพราโนไซด์ (cyanidin 3 - 0-β -d- glucopyranoside)

[4] นอกจากนั้นยังพบสารไซยานิดินทรีไกลโคไซด์ (cyanidin - 3 - o glucoside) สารไซยานิดินทรีรูทินโนไซด์ (cyanidin - 3 - o rutinoside) สารพรีโอนิดินทรีไกลโคไซน์ (pelagonidin -3 - o- glucoside) สารพรีโอนิดินทรีรูทินโนไซด์ (pelagonidin -3 - o- rutinoside) [21]



รูปที่ 2 การลดลงของสารแอนโทไซยานินระหว่างการเก็บรักษาน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์

4. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อน

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษาที่ทำการศึกษาด้วยวิธี FRAP ที่ทำการเก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C ในเดือนที่ 0 น้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ร้อยละ 95.53±0.93 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงในเดือนที่ 1 ร้อยละ 79.96±1.59 จากนั้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเดือนที่ 2 ร้อยละ 58.39±1.34 เดือนที่ 3 ลดลงร้อยละ 32.47±0.05 (ลดลงจากเดือนแรกร้อยละ 34.18) ดังรูปที่ 3(ก) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ด้วยวิธี ABTS Radical Scavenging Activity ในเดือนที่ 0 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ร้อยละ 79.01±1.08 ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระลดลงในเดือนที่ 1 ร้อยละ 70.46±0.85 เดือนที่ 2 ร้อยละ 61.72±1.3 และเดือนที่ 3 ร้อยละ 52.07±1.35 ตามลำดับ (ลดลงจากเดือนแรกร้อยละ 65.91) ($p<0.05$) ดังรูปที่ 3(ข) สอดคล้องกับผลการทดลองของ [7] ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อนเข้มข้นมีปริมาณลดลงเมื่อทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 35 ^{o}C ค่าความเข้มข้นครึ่งหนึ่งที่ใช้ยับยั้งปฏิกิริยาด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity หรือค่า IC50 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 90 วัน มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย [21] พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อนด้วย ABTS Radical Scavenging Activity มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3.84 - 20.73 mg Trolox g และวิธี DPPH Radical Scavenging Activity มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 3.62 - 12.91 mg Trolox [22] น้ำลูกหม่อนที่แปรรูปด้วยกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ เนื่องจากระหว่างกระบวนการเก็บรักษา มีการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี สารฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน สารฟลาโวนอยด์ เมื่อเจอแสง ความร้อน และออกซิเจน เป็นต้น กลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน เนื่องจากสารพฤษภเคมีดังกล่าวสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมต่อสารที่เป็นอนุมูลอิสระและถ่ายโอนอิเล็คตรอน สามารถยับยั้งอนุมูลของสารอนุมูลอิสระในระบบ ABTS และวิธี FRAP นอกจากนั้นแล้วสารกลุ่มฟีนอลิกยังสามารถเกิดเรโซแนนของสารฟีนอกซิลทำให้เกิดการเสถียรไม่ให้ทำอันตรายต่อสารอื่น [23]

5. การเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณสารฟีนอลิก

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของสารฟีนอลิกในน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 ^{o}C เป็นระยะเวลา 3 เดือน ดังตารางที่ 2 พบว่าสาร Gallic Acid ปริมาณเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 35.16±0.18 μg/ml FW เมื่อทำการเก็บรักษาน้ำลูกหม่อนพบว่ามีปริมาณ Gallic Acid ลดลงเหลือ 0.82±0.02 μg/ml FW ($p<0.05$) (ลดลงร้อยละ 97.67) สาร Hydroxy-Benzoic Acid มีปริมาณ

ISSN 2672-9369 (Online)

39.14±0.26 μg/ml FW เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 3 เดือน มีปริมาณลดลงเหลือ 2.11±0.08 μg/ml FW (ลดลงร้อยละ 94.67) ปริมาณสาร Vanillic Acid มีปริมาณเริ่มต้น 9.43±0.07 μg/ml FW ในเดือนที่ 3 มีปริมาณลดลง 8.48±0.09 μg/ml (ลดลงร้อยละ 78.33) ปริมาณสาร Trans-Ferulic Acid ปริมาณเริ่มต้น 3.29±0.58 μg/ml FW ในเดือนที่ 3 มีปริมาณลดลง 0.99±0.05 μg/ml FW (ลดลงร้อยละ 96.99) ปริมาณสาร Rutin 7.34±0.07 μg/ml FW ในเดือนที่ 3 มีปริมาณลดลง 3.45±0.12 μg/ml FW (ลดลงร้อยละ 53) และสาร Sinapic Acid มีปริมาณเริ่มต้นเท่ากับปริมาณ 38.21±0.73 ในเดือนที่ 3 มีปริมาณลดลง 27.08±0.29 μg/ml FW (ลดลงร้อยละ 29.13) สอดคล้องกับผลการทดลองของ [21] พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกที่มีในน้ำลูกหม่อน ได้แก่ สาร P-Catechuic Acid ในน้ำลูกหม่อนจากผลหม่อนพันธุ์สีขาว พบว่าปริมาณลดลงร้อยละ 66.18 ในน้ำลูกหม่อนจากผลหม่อนพันธุ์สีดำ พบว่าสาร P-Catechuic Acid ลดลงร้อยละ 75.88 ในเดือนที่ 3 ด้านสาร P-Hydroxybenzoic Acid ในน้ำลูกหม่อนสีขาวและน้ำลูกหม่อนดำลดลงร้อยละ 61.11 ด้านสาร Vanillic Acid ในน้ำลูกหม่อนขาวลดลงจาก 61.11 ในน้ำลูกหม่อนดำลดลงร้อยละ 57.14 สาร P-Coumaric Acid ในขณะที่สาร Ferulic Acid นอกจากนั้นยังพบสาร Chlorogenic Acid และสาร Caffeic Acid เพียงเล็กน้อย [4] พบกรดฟีนอลิก 2 ชนิด (3- และกรดคาเฟออยล์ควินิก) และฟลาโวนอยด์ ได้แก่ สาร Rutin สาร Glucoside สาร Quercetin-Malonyl-Glucoside และสาร Caffeoylquinic Acids ในปริมาณสูง งานวิจัยของ [21] พบชนิดของสารฟีนอลิกในผลหม่อน ได้แก่ สาร Chlorogenic Acid สาร Ferulic Acid สาร P-Coumaric Acid สาร Sinamic Acid และสาร Caffeic Acid นอกจากนั้นยังพบสาร Hydroxy-Benzoic Acid สาร Gallic Acid สาร Vanillic Acid และ [3], [24] พบว่าชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกในลูกหม่อน พบสาร Gallic Acid สาร P-Catechuic Acid สาร Catechin สาร Epigallicatechin Gallate สาร Caffeic Acid สาร Epicatechin สาร P-Coumaric Acid สาร Rutin สาร Ferulic Acid สาร Quercetin สาร Naringenin ตามลำดับ จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าสารฟีนอลิกหลายชนิดมีปริมาณลดน้อยลง เนื่องจากสารฟีนอลิกเมื่อเจอแสง ความร้อน โลหะ ออกซิเจน สามารถเกิดการแตกออกของโมเลกุล ทำให้มีปริมาณลดลง [25]

(ก) ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

(ข) ร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี $ABTS^+$

รูปที่ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำลูกหม่อน

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารฟีนอลิกของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ระหว่างการเก็บรักษา

ชนิดของสารฟีนอลิก	0 เดือน (μg/ml FW)	1 เดือน (μg/ml FW)	2 เดือน (μg/ml FW)	3 เดือน (μg/ml FW)
Gallic Acid	35.16±0.18[a]	24.40±0.22[b]	6.20±0.10[c]	0.82±0.02[d]
Proto-Catechuic Acid,	nd	nd	nd	nd
Hydroxy-Benzoic Acid	39.14±0.26[a]	36.13±0.14[b]	14.27±0.79[c]	2.11±0.08[d]

ตารางที่ 2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารฟีนอลิกของน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ระหว่างการเก็บรักษา (ต่อ)

ชนิดของสารฟีนอลิก	0 เดือน (μg/ml FW)	1 เดือน (μg/ml FW)	2 เดือน (μg/ml FW)	3 เดือน (μg/ml FW)
Vanillic Acid	9.43±0.07[a]	9.27±0.08[b]	8.61±0.03[c]	8.48±0.09[c]
Syringic Acid	nd	nd	nd	nd
Trans-Ferulic Acid	3.29±0.58[a]	1.98±0.07[b]	1.10±0.05[c]	0.99±0.05[c]
Rutin	7.34±0.07[a]	5.92±0.06[b]	3.94±0.19[c]	3.45±0.12[d]
P-Coumaric Acid,	nd	nd	nd	nd
Naringin,	nd	nd	nd	nd
Sinapic Acid	38.21±0.73[a]	35.76±0.67[b]	29.59±1.61[c]	27.08±0.29[d]

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ไม่เหมือนกันในแนวนอนมีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p<0.05$)

สรุปผลและอภิปรายผล

การเก็บรักษาน้ำลูกหม่อนพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 4±2 °C ในขวดแก้วฝาจีบแบบใส ทำให้สามารถเก็บรักษาน้ำลูกหม่อนได้เป็นระยะเวลา 3 เดือนโดยไม่เน่าเสีย มีผลให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดน้อยลง เช่น สารฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน สารฟลาโวนอยด์ นอกจากนั้นแล้วฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงด้วย การศึกษาชนิดและปริมาณสารฟีนอลิกด้วยเทคนิค UPLC พบว่าสาร Gallic Acid สาร Hydroxyl- Benzoic Acid สาร Vanillic Acid สาร Trans-Ferulic Acid สาร Rutin และสาร Sinapic Acid ลดลงในปริมาณสูง เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับอุตสาหกรรมน้ำลูกหม่อนต่อไป ดังนั้นในอุตสาหกรรมการแปรรูปน้ำลูกหม่อนควรมีการใช้บรรจุภัณฑ์เพื่อป้องกันแสง ออกซิเจนและความร้อน เพื่อหลีกเลี่ยงการลดลงของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระ ลดการสูญเสียสารฟีนอลิกในน้ำลูกหม่อนในระหว่างการเก็บรักษา

References

[1] Yuan, Q. and Zhao, L. (2017). The Mulberry (*Morus alba* L.). Fruit-A Review of Characteristic Components and Health Benefits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 65, No. 48, pp. 10383-10394. DOI: 10.1021/acs.jafc.7b03614

[2] Ramesh, L., Sivaram, V., and Yogananda Murthy, V. N. (2014). Antioxidant and Medicinal Properties of Mulberry (*Morus* sp.): A Review. **World Journal of Pharmaceutical Research**. Vol. 3, Issue 6, pp. 320-343

[3] Sanchez-Salcedo, E. M., Mena, P., García-Viguera, C., Martínez, J. J., and Hernández, F. (2015). Phytochemical Evaluation of White (**Morus alba** L.) and Black (*Morus nigra* L.) Mulberry Fruits, a Starting Point for the Assessment of Their Beneficial Properties. **Journal of Functional Foods**. Vol. 12, pp. 399-408. DOI: 10.1016/j.jff.2014.12.010

[4] Du, Q., Zheng, J., and Xu, Y. (2008). Composition of Anthocyanins in Mulberry and Their Antioxidant Activity. **Journal of Food Composition and Analysis**. Vol. 21, Issue 5, pp. 390-395. DOI: 10.1016/j.jfca.2008.02.007

ISSN 2672-9369 (Online)

[5] Punnongwa, W., Jumpamee, N., Sakunnamrat, K., Toomtong, P., Deungsri, K., and Moongnargm, A. (2013). Comparison of Important Chemical Compositions and Antioxidant Activities of Mulbeery Fruits Provided from Tree Varieties. **RMUTI Journal Science and Technology**. Vol. 6, No. 2, pp. 69-81 (in Thai)

[6] Song, W., Wang, H., Bucheli, P., Zhang, P. F., Wei, D. Z., and Lu, Y. H. (2009). Phytochemical Profiles of Different Mulberry (*Morus* sp.) Species from China. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 57, pp. 9133-9140. DOI: 10.1021/jf9022228

[7] Dincer, C., Tontulb, I., and Topuz, A. (2016). A Comparative Study of Black Mulberry Juice Concentrates by Thermal Evaporation and Osmotic Distillation as Influenced by Storage. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. Vol. 38, Part A, pp. 57-64. DOI: 10.1016/j.ifset.2016.09.012

[8] Boranbayeva, T., Karadeniz, F., and Ylmaz, E. (2014). Effect of Storage on Anthocyanin Degradation in Black Mulberry Juice and Concentrates. **Food and Bioprocess Technology**. Vol. 7, No. 7, pp. 1894-1902. DOI: 10.1007/s11947-014-1296-8

[9] Huang, H., Ting-Tsz Ou, and Wang, C.J. (2013). Mulberry (桑葚子 Sang Shèn Zǐ) and its Bioactive Compounds, the Chemoprevention Effects and Molecular Mechanisms *In Vitro* and *In Vivo*. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**. Vol. 3, Issue 1, pp. 7-15. DOI: 10.4103/2225-4110.106535

[10] Sinha, N. K., Sidhu, J. S., Barta, J. Wu, J. S. B., and Cano, M. P. (2012). **Handbook of Fruits and Fruit Processing**. (2th). New York: Wiley-Blackwell A John Wiley & Sons, Ltd, Publication

[11] Zou, H., Lin, T., Bi, X., Zhao, L., Wang, Y., and Liao, X. (2016). Comparison of High Hydrostatic Pressure, High-Pressure Carbon Dioxide and High-Temperature Short-Time Processing on Quality of Mulberry Juice. **Food Bioprocess Technology**. Vol. 9, No. 2, pp. 217-231. DOI: 10.1007/s11947-015-1606-9

[12] You, Y., Han, N. X., Guo, J. L., Zhao, Y., Liu, G., Huang, W., and Zhan, J. (2018). Influence of Different Sterilization Treatments on the Color and Anthocyanin Contents of Mulberry Juice During Refrigerated Storage. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. Vol. 48, pp. 1-10. DOI: 10.1016/j.ifset.2018.05.007

[13] Fellow, P. J. (2009). **Food Processing**. (3th). New York: CRC Press Taylor & Francis Group

[14] Anprung, P. (2004). **Principle of Sensory Evaluation**. Chulalongkorn University (in Thai)

[15] Wanyo, P., Meeso. N., and Siriamornpun, S. (2014). Effects of Different Treatments on the Antioxidant Properties and Phenolic Compounds of Rice Bran and Rice Husk. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. Vol. 157, pp. 457-463. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.02.061

[16] Yodmanee, S., Karrila, T. T., and Pakdeechanuan, P. (2011). Physical, Chemical and Antioxidant Properties of Pigmented Rice Grown in Southern Thailand. **International Food Research Journal**. Vol. 18, No. 3, pp. 901-906

[17] AOAC. (2005). **Offical Methods of Analysis**. (14 th ed). Washington, D.C: Association of official Analytical Analytical Chemist

[18] Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L., and Hawkins, D. (2006). Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC Assays for Estimating Antioxidant Activity from Guava Fruit Extracts. **Journal of Food Composition and Analysis**. Vol. 19, Issue 6-7, pp. 669-675. DOI: 10.1016/j.jfca.2006.01.003

[19] Vichapong, J., Sookserm, M., Srijesdaruk, V., Swatsitang, P., and Srijaranai, S. (2010). High Performance Liquid Chromatographic Analysis of Phenolic Compounds and Their Antioxidant Activities in Rice Varieties. **LWT - Food Science and Technology**. Vol. 43, Issue 9, pp. 1325-1330. DOI: 10.1016/j.lwt.2010.05.007

[20] Tomas, M., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Hall, R., Beekwilder, J., and Capanoglu, E. (2015). The Effects of Juice Processing on Black Mulberry Antioxidants. **Food Chemistry**. Vol. 186, pp. 277-284. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.11.151

[21] Aramwit, P., Bang, N., and Srichana, T. (2010). The Properties and Stability of Anthocyanins in Mulberry Fruits. **Food Research International**. Vol. 43, Issue 4, pp. 1093-1097. DOI: 10.1016/j.foodres.2010.01.022

[22] Wang, Z., Lin, Y., Li, T., Dai, F., Luo, G., Xiao, G., and Tang, C. (2019). Phenolic Profiles and Antioxidant Capacities of Mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) Juices from Different Cultivars. **International Journal of Food Properties**. Vol. 22, Issue 1, pp. 1340-1352. DOI: 10.1080/10942912.2019.1646272

[23] Shahidi, F. and Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and Polyphenolics in Foods, Beverages and Spices: Antioxidant Activity and Health Effects: A Review. **Journal of Functional Foods**. Vol. 18, Part B, pp. 820-897. DOI: 10.1016/j.jff.2015.06.018

[24] Nguyen, C. L. and Nguyen, H. V. H. (2018). Ultrasonic Effects on the Quality of Mulberry Juice. **Beverages**. Vol. 4, Issue 3, pp. 1-12. DOI: 10.3390/beverages4030056

[25] Kamiloglu, S., Serali, O., Unal, N., and Capanoglu, E. (2013). Antioxidant Activity and Polyphenol Composition of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) Products. **Journal of Berry Research**. Vol. 3, No. 1, pp. 41-51. DOI: 10.3233/JBR-130045

ISSN 2672-9369 (Online)