ปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน และการต้านออกซิเดชันของข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงแผ่นอบแห้ง

Phenolics flavonoids anthocyanins and antioxidant contents of baked white and purple waxy corn products

หทัยกาญจน์ กกแก้ว[1*], นิสากร ศรีธัญรัตน์[1] และ เทพฤทธิ์ ปิติฤทธิ์[2]

Hathaigan Kokkaew[1*], Nisakorn Srithanyarat[1] and Theparit Pitirit[2]

บทคัดย่อ: สารไฟโตเคมิคอลเป็นรงควัตถุที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติที่มีประโยชน์ อย่างไรก็ตามรงควัตถุเหล่านี้ ถูกทำลายได้ง่ายด้วยพีเอช แสง และอุณหภูมิสูง ข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงมีปริมาณสารไฟโตเคมิคอลสูง โดยขนมขบเคี้ยวที่ผลิตจากข้าวโพดเป็นที่นิยมบริโภคและมีความเป็นได้ที่จะเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง ดังนั้น การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อสารฟีนอลิก (TPN) สารฟลาโวนอยด์ (TFN) สารแอนโทไซยานิน (ACN) ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH (DPPH-RSA) การต้านอนุมูล ABTS (ABTS-RSA) และการจับกับเฟอร์รัสไอออน (FCA) ของข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วง และผลของการปรับสภาพโดเป็นกรดเพื่อลดการสูญเสียของสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมีปริมาณ DPPH-RSA ABTS-RSA และ FCA [2.3 6.9 mg Trolox equivalents (TE)/g และ 77 μg EDTA/g] สูงกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว (2.0 6.2 mg TE/g และ 36 μg EDTA/g) แต่มีปริมาณ TPN และ TFN (1.9 mg GE/g และ 1.6 mg QE/g) น้อยกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว (2.1 mg GE/g และ 1.8 mg QE/g) ไม่พบ ACN ในข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว ในขณะที่พบในข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง 270 μg CE/g การต้มเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวด้วยสารละลายด่างมีผลทางลบต่อความคงตัวของ TPN TFN ACN DPPH-RSA ABTS-RSA และ FCA มากที่สุด การปรับสภาพเป็นกรดของโดข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงด้วยกรดฟิวมาริก สามารถลดการสูญเสียของ TPN (5 และ 9%) TFN (4 และ 4%) DPPH-RSA (5 และ 2%) ABTS-RSA (5 และ 6%) และ FCA (6 และ 12%) เช่นเดียวกัน พบการสูญเสียของ ACN ที่ลดลงในโดข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (16%) และข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงแผ่นอบแห้ง (13%) นอกจากนี้ การปรับสภาพผลิตภัณฑ์เป็นกรดยังมีผลในการลดการเจริญของจุลินทรีย์อีกด้วย พบว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงแผ่นอบแห้งมีค่า TPC และ TFC (1,030 และ 25 CFU/g) ต่ำกว่าของข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวแผ่นอบแห้ง (3,100 และ 26 CFU/g) การศึกษานี้ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณสารไฟโตเคมิคอลและการต้านออกซิเดชันระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงและสีขาวและยืนยันได้ว่าการปรับสภาพโดให้เป็นกรด สามารถลดการสูญเสียของ TPN TFN ACN DPPH-RSA ABTS-RSA และ FCA

คำสำคัญ: รงควัตถุ, ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ, อาหารขบเคี้ยวจากข้าวโพด, สารไฟโตเคมิคอล

ABSTRACT: Phytochemical compounds are naturally occurring pigments with claimed benefits. However, these pigments are sensitive to degradation by high pH, light and temperature. Waxy corn (maize) contains high phytochemical compounds. Corn snacks are popular snacks, and possibly functional foods with high antioxidant capacities. Therefore, the objective of this study was to investigate the TPN, TFN, ACN, DPPH-RSA, ABTS-RSA and FCA of white and purple waxy corn processed

[1] สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม นครพนม 48000
Department of Food Technology, Faculty of Agriculture and Technology, Nakhon Phanom University, Nakhon Phanom 48000

[2] ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002
Department of Food Technology, Faculty of Technology, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* Corresponding author: hathaikk@yahoo.com

into baked corn products. Dough acidification treatment with fumaric acid was assessed as a means to reduce phytochemical compounds and antioxidant losses. Purple waxy corn contained higher DPPH-RSA, ABTS-RSA and FCA [2.3, 6.9 mg Trolox equivalents (TE)/g, and 77 µg EDTA/g] than those of white waxy corn (2.0, 6.2 mg TE/g, and 36 µg EDTA/g); however, it had lower TPN and TFN levels (1.9 mg GE/g and 1.6 mg QE/g) than those of white waxy corn (2.1 mg GE/g and 1.8 mg QE/g). White waxy corn did not have a detectable amount of ACN, while purple waxy corn kernels contained 270 µg CE/g. Lime cooking had the greatest negative impact on the stability of TPN, TFN, ACN, DPPH-RSA, ABTS-RSA and FCA. However, dough acidification of white and purple waxy corn reduced TPN (5 and 9%), TFN (4 and 4%), DPPH-RSA (5 and 2%), ABTS-RSA (5 and 6%), and FCA (6 and 12%) losses. Similarly, ACN losses were observed for purple waxy corn kernels when processed into dough (16%) and baked waxy corn products (13%). Acidified treatment of baked waxy corn products also significantly reduced microbial growth. Acidified baked purple waxy corn products contained lower amounts of TPC and TFC (1,030 and 25 CFU/g) than those of acidified baked white waxy corn products (3,100 and 26 CFU/g). This study compared phytochemical compounds and antioxidant contents among corn genotypes and confirmed that dough acidification could reduce TPN, TFN, ACN, DPPH-RSA, ABTS-RSA and FCA losses.

Keywords: pigment, functional food, corn snack, phytochemical compound

บทนำ

ปัจจุบัน คนไทยมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ หลอดเลือดสมองอุดตัน และมะเร็งชนิดต่างๆ สูงขึ้น เนื่องจากน้ำหนักตัวเกินมาตรฐานซึ่งเป็นผลจากพฤติกรรมการบริโภคอาหารและขาดออกกำลังกายที่เหมาะสม (กรมอนามัย, 2556) จากปัญหาดังกล่าวรัฐบาลจึงตระหนักและรณรงค์ให้คนไทยหันมาดูแลสุขภาพโดยเน้นการออกกำลังกายควบคู่กับการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ

ข้าวโพดข้าวเหนียว (*Zea mays ceratina)* มีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกที่มักพบในบริเวณเปลือกหุ้มเมล็ดทั้งในรูปอิสระและเอสเทอร์ของกรดเฟรูลิกและกรดพาราคูมาริก (Pascual-Teresa et al., 2002) โดยอนุพันธ์เหล่านี้จับกับผนังเซลล์โพลิแซคคาร์ไรด์ด้วยพันธะโควาเลนซ์ (Bily et al., 2004) ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างร่างแหเพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับผนังเซลล์ของเมล็ด และมีบทบาทสำคัญในการสร้างลิกนินที่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ และเนื้อสัมผัสของพืช (Kroon and Williamson, 1999) ขณะที่ข้าวโพดสีม่วง (*Zea mays L.*) เป็นแหล่งสำคัญของสารแอนโทไซยานินปริมาณมากโดยมีสารไซยานิดินและสารพีโอนิดินไกลโคไซด์เป็นองค์ประกอบหลัก สารเหล่านี้ส่วนใหญ่พบที่ชั้นอัลลูโรนของเอนโดสเปิร์ม (Pascual-Teresa et al., 2002) สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และสารแอนโทไซยานินเป็นกลุ่มของสารไฟโตเคมิคอลที่สังเคราะห์ขึ้น โดยกระบวนการเมตาบอลิซึมของพืช แม้ว่ารงควัตถุเหล่านี้จะไม่มีคุณค่าทางโภชนาการแต่กลับได้รับความสนใจอย่างมาก เนื่องจากความสามารถในการต้านออกซิเดชันและคุณสมบัติทางชีวภาพต่างๆ ซึ่งมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อสุขภาพรวมถึงมีผลทางการรักษาที่หลากหลาย (Setchell and Aedin, 1999) มีรายงานทางระบาดวิทยาว่าการบริโภคสารไฟโตเคมิคอลมีความสัมพันธ์ผกผันกับอัตราการเกิดโรคเรื้อรังและเสื่อมสภาพต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ การผิดปกติของทางเดินปัสสาวะ และมะเร็งชนิดต่างๆ (Matsumoto et al., 2004)

ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมีการเพาะปลูกอย่างแพร่หลายในประเทศไทย สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี และมีการปรับปรุงพัฒนาสายพันธุ์อย่างต่อเนื่องเพื่อเพิ่มผลผลิตและความต้านทานโรคและแมลง (จินตน์กานต์, 2554) สารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และสารแอนโทไซยานินในข้าวโพดที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง

ขนมขบเคี้ยวหรือขนมขึ้นรูปจากข้าวโพดได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นและตลาดมีความต้องการในด้านรูปร่าง ขนาด สี และลักษณะเนื้อสัมผัสที่หลากหลาย (ปิติรัตน์ และคณะ, 2553) อย่างไรก็ตามกระบวนการ

ผลิตอาหาร เช่น การผสม การทำให้สุก การทำให้เกิดรูปร่าง และการทำให้พอง ส่งผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพและคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์จากธัญชาติ (Zazueta-Morales et al., 2002) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Camire et al. (2002) พบว่าสารไฟโตเคมิคอลถูกทำลายได้ง่ายด้วย pH แสง และอุณหภูมิสูงในระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งส่งผลต่อการลดลงของปริมาณสารฟีนอลิกและสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์สุดท้าย เช่นเดียวกับการศึกษาของ Del Pozo-Insfran et al. (2006) พบว่าเมื่อต้มเมล็ดข้าวโพดด้วยสารละลายแคลเซียมไฮดรอกไซด์ในการผลิตทอร์ทิลลา มีผลต่อการสูญเสียสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันอย่างมาก อย่างไรก็ตาม Del Pozo-Insfran et al. (2007) รายงานว่า การเติมกรดฟิวมาริกลงในโดทั้งข้าวโพดสีม่วงและสีขาวจะช่วยลดการสูญเสียของสารไฟโตเคมิคอล และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ดังนั้นด้วยเอกลักษณ์ที่โดดเด่นและรสชาติที่จำเพาะของข้าวโพดข้าวเหนียวที่มีปริมาณสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง คณะผู้วิจัยจึงได้ศึกษาผลของกระบวนการผลิตต่อสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน และผลของการปรับสภาพโดให้เป็นกรดเพื่อลดการสูญเสียสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน รวมถึงความสามารถในการยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้ง การวิจัยนี้นับว่ามีประโยชน์ในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและประโยชน์ต่อสุขภาพแก่ผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ข้าวโพด

วิธีการศึกษา

ในการทดลองครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการที่สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเกษตรและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนครพนม โดยดำเนินการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้งเพื่อศึกษาผลของกระบวนการและผลของการเติมกรดฟิวมาริกต่อสารไฟโตเคมิคอล ความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่อผลิตภัณฑ์และความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ตามแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completed randomized design; CRD) โดยมีทั้งหมด 8 ทรีตเมนต์ ประกอบด้วย โดข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วง ไม่เติมและเติมกรดฟิวมาริก ผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงแผ่นอบแห้งไม่เติมและเติมกรดฟิวมาริก กำหนดให้แต่ละทรีตเมนต์ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

การเตรียมเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียว

ในงานวิจัยนี้ใช้เมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงในระยะเก็บเกี่ยว และนำไปตากแดดจนแห้งสนิทจากตำบลขามเฒ่า อำเภอเมือง จังหวัดนครพนม เป็นวัตถุดิบในการทดลอง โดยบรรจุเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวแห้งแบบสุญญากาศและเก็บที่อุณหภูมิ -18°C เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของวัตถุดิบก่อนนำไปผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้ง

การผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้ง

ขั้นตอนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้ง โดยเริ่มจากนำเมล็ดข้าวโพดสีขาวและสีม่วงไปต้มในสารละลาย CaOH เข้มข้น 0.3% ในอัตราส่วน 1:3 ที่อุณหภูมิ 90°C นาน 20 นาที จากนั้นเทสารละลายด่างทิ้งและล้างเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวให้สะอาดด้วยน้ำเย็น บดเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวให้ละเอียดด้วยด้วยเครื่องโม่ที่มีหินขนาด 15 cm เพื่อผลิตโดข้าวโพด จากนั้นแบ่งโดออกเป็น 2 ส่วนคือ โดที่ไม่ปรับสภาพให้เป็นกรดและโดที่ปรับสภาพเป็นกรดโดยการเติมกรดฟิวมาริกเข้มข้น 0.2% (w/w) (Del Pozo-Insfran et al., 2006) นำโดไปรีดให้แผ่นบางมีความหนาประมาณ 1 mm. จากนั้นนำไปอบแห้งด้วยตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 220°C นาน 90 วินาที พลิกกลับไปมาทุกๆ 30 วินาที ทิ้งให้เย็นและตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาด 2 x 2 cm^2 นำตัวอย่างเมล็ดข้าวโพดแห้ง โดและผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวและสีม่วงแผ่นอบแห้งไปบรรจุแบบสุญญากาศและเก็บที่อุณหภูมิ -18°C ก่อนนำไปทดลองในขั้นต่อไป

การสกัดสารไฟโตเคมิคอล

สกัดสารไฟโตเคมิคอลลตามวิธีของ Abdel-Aal and Hucl (1999) โดยนำตัวอย่างมาสกัดด้วยสารละลายเอทธานอลที่เป็นกรด (เอทธานอลต่อสารละลาย HCl เข้มข้น 1.0 N เท่ากับ 85:15 (V/V)) ในอัตราส่วน 1:8 ที่อุณหภูมิ 25°C นาน 30 นาที จากนั้นเขย่าอย่างต่อเนื่อง แยกส่วนสารผสมด้วยเครื่องเหวี่ยงแยกที่ 27,200 × g นาน 15 นาที (Centrifuge refrigerator, AVANTI ™ J25, Beckman Ltd., USA.) นำส่วนสารละลายใสด้านบนไปทำให้เข้มข้นด้วยเครื่องสุญญากาศโรตารี่ (Rotary evaporator, BUCHI R-114, BUCHI Corp., USA.) ที่อุณหภูมิ 50°C เก็บสารสกัดที่อุณหภูมิ -18°C ก่อนนำไปทดลองขั้นต่อไป

การหาปริมาณสารฟีนอลิก

วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกตามวิธีของ Inglett et al. (2011) นำสารตัวอย่างปริมาตร 1 mL มาผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent (1:1) ปริมาตร 0.5 mL เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย $NaCO_3$ เข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1.5 mL ปรับปริมาตรเป็น 10 mL ด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชม. ในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารผสมที่ 765 nm ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid และคำนวณเป็น mg GE/g dry sample

การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ตามวิธีของ Nurhanan and Wan Roli (2012) โดยพิจารณาการเกิดสีของ Aluminium chloride นำสารสกัดปริมาตร 0.25 mL มาเติมสารละลาย Sodium nitrate เข้มข้น 5% (w/v) ปริมาตร 75 μL ทิ้งให้ทำปฏิกิริยานาน 6 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Aluminium chloride เข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 150 μL ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เติมสารละลาย NaOH เข้มข้น 1 M ปริมาตร 0.5 μL และปรับปริมาตรสารผสมเป็น 2 mL ด้วยน้ำกลั่น วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 nm ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) ใช้ Quercetin เป็นสารมาตรฐานและคำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์เป็น mg QE/g dry sample

การหาปริมาณสารแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยการเจือจางตัวอย่างที่ pH แตกต่างกัน ตามวิธีของ Wrolstad (1982) นำสารตัวอย่างปริมาตร 0.2 μL ใส่ในหลอดทดลอง จำนวน 2 หลอด โดยหลอดที่ 1 เจือจางด้วยสารละลาย KCl buffer ที่ pH 1.0 ปริมาตร 2.8 μL และหลอดที่ 2 เจือจางด้วยสารละลาย CH_3COONa ที่ pH 4.5 ปริมาตร 2.8 μL เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 และ 700 nm ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) ใช้น้ำกลั่นเป็น Blank จากนั้นเตรียมสารแอนโทไซยานินและวัดค่าภายใน 15 นาที ถึง 1 ชั่วโมง หาปริมาณสารแอนโทไซยานินเทียบกับสาร cyanidin-3-glucoside โดยเริ่มต้นคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสง (A) ของตัวอย่างจากสูตร $A = (A_{520} - A_{700})$ pH 1.0 - $(A_{520} - A_{700})$pH 4.5 กำหนดให้ A_{520} เป็นความยาวคลื่นที่ตัวอย่างดูดกลืนแสงได้สูงสุด จากนั้นคำนวณหาปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดจากสูตร $ACN = (A \times MW \times DF \times 1000)/(\varepsilon \times 1)$ กำหนดให้ DF คือ ค่าการเจือจาง (Dilution factor) MW คือ น้ำหนักโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside (449.2) และ ε คือค่า Molar absorptivity (26,900) และรายงานผลเป็น μg CE/g dry sample

การหาปริมาณการต้านอนุมูล DPPH

วิเคราะห์ปริมาณการต้านอนุมูล DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ตามวิธีของ Aluko and Monu (2003) เติมสารตัวอย่างปริมาตร 2.0 μL ลงในสารละลาย DPPH เข้มข้น 100 μM ในเมธานอล ปริมาตร 2.0 mL จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงของ

สารละลายที่ 517 nm ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) หาปริมาณการต้านอนุมูล DPPH โดยสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ Trolox กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH

การหาปริมาณการต้านอนุมูล ABTS

วิเคราะห์ปริมาณการต้านอนุมูล ABTS (2,2′-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) ตามวิธีของ Yin et al. (2005) เตรียมอนุมูล ABTS โดยนำสารละลาย ABTS เข้มข้น 2 mM ใน phosphate buffer เข้มข้น 0.1 M ที่ pH 7.0 มาผสมกับ $K_2S_4O_8$ เข้มข้น 70 mM ในปริมาตรที่เท่ากัน เติมสารตัวอย่างปริมาตร 5 mL ลงในสารละลาย ABTS ที่เตรียมไว้ปริมาตร 0.3 mL ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง นาน 6 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm ด้วย สเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) หาปริมาณการต้านอนุมูล ABTS โดยสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ Trolox กับความสามารถในการยับยั้งของอนุมูล ABTS

การหาปริมาณการจับกับเฟอร์รัสไอออน

วิเคราะห์ปริมาณการจับกับเฟอร์รัสไอออน ตามวิธีของ Yin et al. (2005) โดยนำสารละลายตัวอย่างหรือตัวควบคุมปริมาตร 1.0 mL มาเติมด้วยเมธานอล ปริมาตร 3.7 mL และสารละลาย $FeCl_2.4H_2O$ เข้มข้น 2 mM ปริมาตร 0.1 mL ผสมให้เข้ากันจากนั้นเติมสารละลาย Ferrozine (3-(2-Pyridyl)-5,6-diphenyl-1,2,4-triazine-4′,4″-disulfonic acid monosodium salt)เข้มข้น 5 mM ปริมาตร 0.1 mL ทิ้งไว้นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำสารผสมมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 562 nm ด้วยสเปกโตโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer; LAMBDA 25, Perkin Elmer, Inc., Germany) หาปริมาณความสามารถในการจับกับ Fe^{2+} โดยสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ EDTA กับความสามารถในการยับยั้ง Fe^{2+}

การหาปริมาณจุลินทรีย์และเชื้อราทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณเชื้อราทั้งหมด โดยวิธีการ Pour plate ใช้อาหาร Plate count agar (PCA) และ Potato dextrose agar (PDA) ตามวิธี AOAC (2000) รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะที่ศึกษาตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS statistic program (Version 17) แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน จุลินทรีย์และเชื้อราทั้งหมด

ข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวมีปริมาณ TPN และ TFN (2.1 mg GE/g และ 1.7 mg QE/g) สูงกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (1.9 mg GE/g และ 1.6 mg QE/g) (P<0.05) โดยพบ ACN ซึ่งเป็นรงควัตถุสีม่วงพบเฉพาะในข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (270 µg CE/g) เท่านั้น (**Table 1**) สอดคล้องกับการวิจัยของ Del Pozo-Insfran et al. (2007) พบว่า ข้าวโพดเม็กซิกันสีขาวมีปริมาณ TPN สูงกว่าข้าวโพดเม็กซิกันและอเมริกาสีม่วงถึง 4 เท่า และรงควัตถุสีม่วงในเมล็ดข้าวโพดเป็นแหล่งสำคัญของสารแอนโทไซยานิน โดยส่วนใหญ่อยู่ที่ชั้นอัลลูโรนของเอนโดสเปิร์ม (Pascual-Teresa et al., 2002) ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมีปริมาณ DPPH-RSA ABTS-RSA และ FCA (2.1, 6.3 mg TE/g และ 0.8 µg EDTA/g) สูงกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว (1.7, 5.8 mg TE/g และ 0.2 µg EDTA/g) (P<0.05) (**Table 1**) ความแตกต่างของความสามารถในต้านออกซิเดชันระหว่างข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงและสีขาวเป็นผลจาก ACN ที่พบเฉพาะ

ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง เนื่องจากข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวจะมีปริมาณ TPN และ TFN สูงกว่า แต่กลับแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ต่ำกว่า เช่นเดียวกับรายงานของ Meyer et al. (1998) พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ต่างกันระหว่างข้าวโพดสีขาวและสีม่วงเป็นอิทธิพลจากปริมาณสารแอนโทไซยานินในรงควัตถุ ขณะที่ความแตกต่างของความสามารถในการต้านออกซิเดชันระหว่างพันธุ์ข้าวโพดสีม่วงมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นและองค์ประกอบที่จำเพาะของอนุพันธ์แอนโทไซยานิน (Stintzing et al., 2002) ซึ่งเป็นอิทธิพลจากสิ่งแวดล้อม ฤดูกาล และสภาวะภูมิศาสตร์ในการเจริญเติบโตของข้าวโพด (Adom et al., 2002)

Table 1 Initial levels (dwb) of total phenolics, flavoniods, anthocyanins, DPPH radical scavenging ability, ABTS radical scavenging ability, ferrous chelating ability, total plate count, and total fungi count[1/, 2/]

Analysis items	Corn genotypes	
	White waxy corn	Purple waxy corn
Total phenolics (mg GE/g)	2.1 ± 0.1a	1.9 ± 0.1b
Total flavonoids (mg QE/g)	1.8 ± 0.1a	1.6 ± 0.1b
Total anthocyanins (µg CE/g)	nd[3/]	270 ± 20
DPPH radical scavenging ability (mg TE/g)	2.0 ± 0.0b	2.3 ± 0.0a
ABTS radical scavenging ability (mg TE/g)	6.2 ± 0.1b	6.9 ± 0.1a
Ferrous chelating ability (µg EDTA/g)	360 ± 20b	770 ± 13a
Total plate count (CFU/g)	310 ± 21a	103 ± 10b
Total fungi count (CFU/g)	25 ± 4a	22 ± 2a

[1/] Mean ± SD obtained from two replications

[2/] Values followed by different letters within rows are significantly different (Duncan multiple range test, $P < 0.05$)

[3/] nd mean not detected

ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมี TPC และ TFC (103 และ 28 CFU/g) ต่ำกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว (310 และ 32 CFU/g) (P>0.05) แสดงให้เห็นว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ดีกว่า ซึ่งน่าจะเป็นอิทธิพลของ ACN (Stintzing et al., 2002) สอดคล้องกับรายงานของ Burdulis et al. (2009) ปริมาณสารแอนโทไซยานินพบมากที่สุดที่พื้นผิวของบลูเบอร์รี่ ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์และความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูง กลไกการยับยั้งจุลินทรีย์ได้แก่ ลดความคงตัวของไซโตพลาสซึมเมมเบรน และลดการแพร่ผ่านของพลาสมาเมมเบรน ยับยั้งเอนไซม์ในจุลินทรีย์ มีผลต่อเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์โดยตรง และลดสับสเทรตที่ใช้เพื่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Häkkinen, 2000)

ผลของกระบวนการผลิตต่อปริมาณไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

การสูญเสียของ TPN, TFN, ACN, DPPH-RSA, ABTS-RSA และ FCA ได้ทำการศึกษาในทุกขั้นตอนผลิต พบว่า ขั้นตอนการผลิตโดจะสูญเสียสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันมากที่สุด ซึ่งเป็นผลจากการต้มด้วยด่างและใช้อุณหภูมิสูง สอดคล้องกับรายงานของ Bridle and Timberlake (1997) พบว่า เมื่อต้มเมล็ดข้าวโพดในด่างที่อุณหภูมิ

มากกว่า 90°C จะทำลายสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มมากขึ้น ข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวที่ต้มด้วยด่างจะสูญเสีย TPN และ TFN (26 และ 18%) มากกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (16 และ 12%) และสูญเสีย ACN ในข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงประมาณ 33% และเพิ่มขึ้นในขั้นตอนการอบแห้ง (42%) (**Table 2**) การปรับสภาพผลิตภัณฑ์ให้เป็นกรดจึงนำมาใช้เพื่อลดการสูญเสียและเพิ่มความคงตัวของสารไฟโตเคมิคอลและความสามารถในการต้านออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดเนื่องจากภายใต้สภาวะกรดจะส่งเสริมให้สารเหล่านี้มีความคงตัวมากขึ้น (Del Pozo-Insfran et al., 2006) โดที่ปรับสภาพเป็นกรดลดการสูญเสีย ACN (17%) และข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงแผ่นอบแห้ง (29%) จากการศึกษาพันธุ์ข้าวโพดและการปรับสภาพให้เป็นกรดของ Del Pozo-Insfran et al. (2007) พบว่าการสูญเสียของ ACN มีความสัมพันธ์อย่างยิ่งกับการสูญเสียของสารประกอบฟีนอลิก (r = 0.91) และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (r = 0.94) การปรับสภาพโดให้เป็นกรดช่วยลดการสูญเสีย TPN, FVN และ ACN ในข้าวโพดสีขาวและสีม่วงในข้าวโพดทุกสายพันธุ์

โดข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวที่ไม่ปรับสภาพเป็นกรดจะสูญเสีย DPPH-RSA ABTS-RSA และ FCA ถึง 23, 13 และ 28% และเพิ่มขึ้นเป็น 28, 15 และ 48% ในขั้นตอนการอบแห้ง ขณะที่โดที่ปรับสภาพเป็นกรดลดสูญเสียลงเป็น 18, 8 และ 22% และหลังการอบแห้งเป็น 28, 15 และ 44% ขณะที่การสูญเสียของ DPPH-RSA ABTS-RSAและ FCA ในโดข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงที่ไม่ถูกปรับสภาพเป็นกรดประมาณ 15, 11 และ 27% และหลังการอบแห้งประมาณ 24, 18 และ 48% ซึ่งมากกว่าการสูญเสียของโดที่ปรับสภาพเป็นกรดที่สูญเสียประมาณ 13, 6 และ 12% และประมาณ 17, 9 และ 22% หลังการอบแห้ง การปรับสภาพของผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงเป็นกรดช่วยลดการสูญเสียของ DPPH-RSA, ABTS-RSA และ FCA ในการผลิตโด (2, 6 และ16%) และขั้นตอนการอบ (7, 10 และ 26%) ได้ดีกว่าขั้นตอนการผลิตโดข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว (5, 5 และ 6%) และขั้นตอนการอบแห้ง (6 5 และ 14%) (**Table 2**) Del Pozo-Insfran et al. (2006) รายงานว่า การปรับสภาพโดให้เป็นกรดจะลดอัตราการทำลายของ TPN TFN และ ACN ในทั้งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงและสีขาว เนื่องจากภายใต้สภาวะที่เป็นกรดจะส่งเสริมให้ TPN TFN และ ACN มีความคงตัวมากขึ้น ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงและสีขาวเกิดขึ้น เนื่องจากความสามารถในการการรักษาระดับกรดฟีริวริกอิสระและเอสเทอร์ของมัน (Bily et al., 2004) ความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงของผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงและสีขาว เป็นผลจากองค์ประกอบของแอนโทไซยานินและ/หรือสารฟีนอลิกที่เป็นสารต้านออกออกซิเดชัน โดยทำหน้าที่เป็นสารรีดิวซ์สารให้ไฮโดรเจนและจับกับซิงเกลทออกซิเจน (Chang et al., 2001) และสารฟลาโวนอยด์ประกอบด้วยกลุ่มไฮดรอกซิล ซึ่งแสดงความสามารถในการต้านออกซิเดชันผ่านกระบวนการ scavenging หรือ chelating

Table 2 Retention (%) of total phenolics, flavonoids, anthocyanins, DPPH radical scarvenging ability, ABTS radical scarvenging ability, and ferrous chelating ability in processed waxy corn products (dough, bake waxy corn product) as affected by genotype (white, purple waxy corn) and acidification of dough (reduction of dough by addition of 0.2% w/w fumaric acid)[1/,2/]

Retention (%)[3/]	White waxy corn				Purple waxy corn			
	Nonacidified dough	Acidified dough	Nonacidified baked corn product	Acidified baked corn product	Nonacidified dough	Acidified dough	Nonacidified baked corn product	Acidified baked corn product
Toal phenolics	73.8 ± 3.1d	79.0 ± 2.2c	68.1 ± 1.9e	74.3 ± 2.2d	84.2 ± 3.1b	93.2 ± 4.1a	78.9 ± 3.1c	84.2 ± 3.2b
Total Flavonoids	82.1 ± 4.1d	85.9 ± 1.8c	73.9 ± 2.4e	80.4 ± 2.6d	88.4 ± 3.5b	92.7 ± 3.8a	80.5 ± 3.4d	86.6 ± 2.2c
Total Anthocyanins	nd[4/]	nd[4/]	nd[4/]	nd[4/]	66.7 ± 2.1c	83.3 ± 1.8a	58.5 ± 1.6d	71.1 ± 1.6b
DPPH radical scavenging activity	77.0 ± 3.2d	82.5 ± 2.1c	72.5 ± 2.8e	78.0 ± 2.9d	84.8 ± 2.8b	87.0 ± 3.2a	76.1 ± 2.4d	82.6 ± 2.8c
ABTS radical scavenging activity	86.6 ± 2.5d	91.8 ± 3.1b	84.9 ± 2.1d	90.2 ± 3.2b	88.5 ± 3.1c	94.3 ± 3.4a	81.9 ± 2.8e	91.4 ± 2.8b
Ferrous chelating ability	72.2 ± 3.1c	77.8 ± 2.8b	55.6 ± 2.5e	69.4 ± 1.8d	72.7 ± 2.3c	88.3 ± 2.8a	51.9 ± 1.3f	77.9 ± 2.9b

[1/]Mean ± SD obtained from two replications

[2/] Values followed by different letters within rows are significantly different (Duncan multiple range test, $P < 0.05$)

[3/] Retention (%) calculated from initial concentration in raw kernels

[4/] nd mean not detected

ผลของกระบวนการผลิตต่อปริมาณจุลินทรีย์และเชื้อราทั้งหมด

พบปริมาณ TPC และ TFC ในผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงแผ่นอบแห้ง (403 และ 32 CFU/g) ต่ำกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวแผ่นอบแห้ง (1,376 และ 44 CFU/g) (**Figure 1a,b**) แสดงให้เห็นว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูงกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว ดังนั้น คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียวแผ่นอบแห้งขึ้นกับปริมาณ TPN, FVN และ ACN มีความสัมพันธ์ทางตรงระหว่างปริมาณของสารฟีนอลิกที่สกัดจากพืชและผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ (Alberto et al., 2006) โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอนโทไซยานิน-ไกลโคไซด์ แอนโทไซยานินเป็นสารสีม่วงที่ละลายน้ำได้ (Kokotkiewicz et al., 2010) การเติมกรดฟีวมาริกช่วยป้องกันและลดการสูญเสียของสารไฟโตเคมิคอลได้เป็นอย่างดีและยังมีผลในการลดการเพิ่มขึ้นของ TPC และ TFC ในข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงแผ่นอบแห้ง (520 และ 25 CFU/g) และข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาวแผ่นอบแห้ง (352 และ 28 CFU/g) ได้ดีขึ้นเช่นเดียวกัน (**Figure 1a,b**) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Tajkarimi (2011) พบว่ากรดอินทรีย์มีผล

ในการยับยั้งจุลินทรีย์อย่างมาก และในสภาวะ pH ต่ำจะช่วยส่งเสริมความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์และการต้านออกซิเดชัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Friedmann (2000) พบว่ากิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของสารฟีนอลิกในน้ำผลไม้ขึ้นกับค่า pH และกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ของ rowanberries เป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกและกรดซอร์บิกซึ่งมีผลในการยับยั้งยีสต์และรา (Brunnen, 1985)

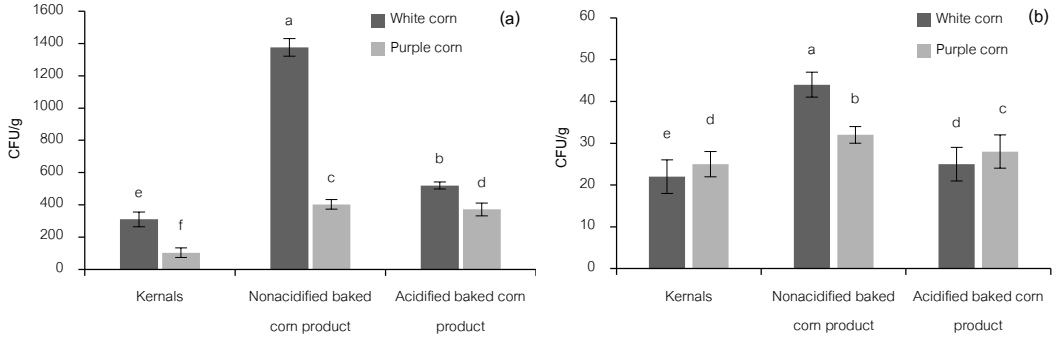

Figure 1 CFU/g of total plate count; TPC (a) and total fungi count; TFC (b) in processed waxy corn products as affected by genotype (white, purple corn) and acidification of productsby addition of 0.2% w/w fumaric acid. Bars with different letters for each processing treatment are significantly different ($P < 0.05$).

สรุป

คณะผู้วิจัยพบว่า มีการทำลายสารไฟโตเคมิคอลในระหว่างขั้นตอนการต้มด้วยด่างและการอบแห้ง การสูญเสียปริมาณ TPN, TFN, ACN, DPPH-RSA, ABTS-RSA และ FCA ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปรับสภาพผลิตภัณฑ์ให้เป็นกรด ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวและโดที่ได้จากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าข้าวโพดข้าวเหนียวสีขาว เนื่องจาก ACN ซึ่งพบได้เฉพาะข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง การศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มปริมาณสารไฟโตเคมิคอลและคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความชอบและทางเลือกให้กับผู้บริโภคผลิตภัณฑ์ข้าวโพดข้าวเหนียว และยังเป็นสารอาหารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันและมีศักยภาพในการรักษาโรคอีกด้วย

คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยนครพนม เป็นอย่างยิ่งที่ให้ทุนสนับสนุน ประเภทเงินอุดหนุน ปีงบประมาณ 2556 ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมอนามัย, กองโภชนาการ-กองออกกำลังกาย. 2556. แผนยุทธศาสตร์ แก้ไขปัญหาโรคอ้วนคนไทย (คนไทยไร้พุง) กรมอนามัย พ.ศ. 2553 – 2556. กรมอนามัย, นนทบุรี.

จินตน์กานต์ งามสุทธา. 2554. ธัญพืชมากประโยชน์ ข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง. จดหมายข่าวผลิใบ. 14(11): 13-15.

ปิติวัฒน์ ศรีเหนี่ยง, พัทธดนย์ เฉลยถิ่น, ประจักษ์ วัชรตระกูล และกิตติพงษ์ ห่วงรักษ์. 2553. การใช้ประโยชน์จากเศษขนมขบเคี้ยวในการผลิตขนมขบเคี้ยวและคอร์นชิพ. วารสารอุตสาหกรรมเกษตรพระจอมเกล้า. 2(2): 66-76.

Abdel-Aal, E.S.M., and P. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. Cereal Chem. 76(3): 350-354.

Alberto, M.R., M.A.R. Canavosio, and M.C.M. Nadra. 2006. Antimicrobial effect of polyphenols from apple skins on human bacterial pathogens. Electron. J. Biotechnol. 9: 205-209.

Aluko, R.E., and E. Monu. 2003. Functional and bioactive properties of quinoa seed protein hydrolysates. Food Chem. Toxicol. 68: 1254-1258.

AOAC. 2000. Official method of analysis association of AOAC international. 16th. Maryland, USA.

Bily, A.C., A.J. Burt, A. Ramputh, J. Livesey, C. Regnault-Roger, and B.R. Philogene. 2004. HPLC-PAD-APCI/MS assay of phenylpropanoids in cereals. Phytochem. Analysis. 15: 9-15.

Bridle, P., and C.F. Timberlake. 1997. Anthocyanins as natural food colours-selected aspects. Food Chem. 58: 103-109.

Brunnen, U. 1985. Some antifungal properties of sorbic acid extracted from berries of rowan (*Sorbus aucuparia*). J. Biol. Educ. 19: 41-47.

Burdulis, D., A. Sarkinas, I. Jasutiené, E. Stackevicené, L. Nikolajevas, and V. Janulis. 2009. Comperative study of anthocyanin composition, antimicrobial and antioxidant activity in Biberry (*Vaccinium Myrtillus* L.) and Blueberry (*Vaccinium Corymbosum* L.) fruits. Acta. Pol. Pharm. 66(4): 399-408.

Camire, M.E., A. Chaovanalikit, M.P. Dougherty, and J. Briggs. 2002. Blueberry and grape anthocyanins as breakfast cereal colorants. J. Food Sci. 67(1): 438–441.

Chang, C., M. Yang, H. Wen, and J. Chern. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J. Food Drug Anal. 10: 178-182.

Del Pozo-Insfran, D., C.H. Brenes, S.O. Serna Saldivar, and S.T. Talcott. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. Food Res. Int. 39: 696–703.

Del Pozo-Insfran, D., C.H. Brenes, S.O. Serna Saldivar, and S.T. Talcott. 2007. Polyphenolics and antioxidant capacity of white and blue corns processed into tortillas and chips. Cereal Chem. 84(2): 162–168.

Friedman, M., and H.S. Jürgens. 2000. Effect of pH on the stability of plant phenolic compounds. J. Agr. Food Chem. 48: 2101–2110.

Häkkinen, S. 2000. Flavonols and phenolic acids in berries and berry products. Dissertation. Kuopio University, Kuopio.

Inglett, G.E., D. Chen, and M. Berhow. 2011. Influence of jet- cooking corn bran on its antioxidant activities, phenolic contents and viscoelastic properties. Food Sci. Nutr. 2: 521-529.

Kokotkiewicz, A., Z. Jaremicz, and M. Luczkiewicz. 2010. Aronia plants: a review of traditional use, biological activities, and perspectives for modern medicine. J. Med. Food. 13: 255–269.

Kroon, P.A., and G. Williamson. 1999. Hydroxinnamates in plants and food: current and future perspectives. J. Sci. Food Agric. 79: 355–361.

Matsumoto, M., H. Hara, H. Chiji, and T. Kasai. 2004. Gastroprotective effect of red pigments in black chokeberry fruit (*Aronia melanocarpa Elliot*) on acute gastric hemorrhagic lesions in rats. J. Agr. Food Chem. 52: 2226–2229.

Meyer, A.S., M. Heinonen, and E.N. Frankel. 1998. Antioxidant interactions of catechin, cyanidin, caffeic acid, quercetin, and ellagic acid on human LDL oxidation. Food Chem. 861: 71-75.

Nurhanan, A.R., and W.I. Wan Rosli. 2012. Evaluation of polyphenol content and antioxidant activities of some selected organic and aqueous extracts of cornsilk (*Zea Mays* Hairs) J. Med. Biol. Eng. 1(1): 48-51.

Pascual-Teresa, S., C. Santos-Buelga, and J.C. Rivas-Gonzalo. 2002 LC–MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. J. Sci. Food Agric. 82: 1003–1006.

Rooney, L.W., and S.O. Serna Saldivar. 2003. Food uses of whole corn and dry-milled fractions. P.495-535. in: P. White and P. Johnson. Corn chemistry and technology. AACC International: St. Paul, MN.

Setchell, K.D.R., and C. Aedin. 1999. Dietary isoflavones biological effects and relevance to human health. J. Nutr. 129: 7585-7675.

Stintzing, F.C., A.S. Stintzing, R. Carle, B. Frei, and R.E. Wrolstad. 2002. Color and antioxidant properties of cyanidin-based anthocyanin pigments. J. Agr. Food Chem. 50: 6172-6181.

Tajkarimi, M., and S.A. Ibrahim. 2011. Antimicrobial activity of ascorbic acid alone or in combination with lactic acid on *Escherichia coli* O157:H7 in laboratory medium and carrot juice. Food Control. 22: 801–804.

Wrolstad, R.E., J.D. Culbertson, C.J. Comwell, and L.R. Mattick. 1982. Detection of adulteration in blackberry juice concentrates and wines. J. Assn. Off. Anal. Chem. 65: 1417-1423.

Yin, L.J, Y.L.Tong, and S.T. Jlang. 2005. Improvement of the functionality of minced mackerel by hydrolysis and subsequent lactic acid bacterial fermentation. J. Food Sci. 70(3): 172-178.

Zazueta-Morales, J.J., F. Martinez-Bustos, N. Jacobo-Valenzuela, C. Ordorica-Falomir, and O. Paredes-Lopez. 2002. Effects of calcium hydroxide and screw speed on physicochemical characteristics of extruded blue maize. J. Food Sci. 67: 3350-3358.