วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี | Agriculture and Technology Journal

ปีที่ 2 ฉบับที่ 3 กันยายน – ธันวาคม 2564 | Vol.2 No.3 September – December 2021

Received: September 22, 2021; Revised: November 27, 2021; Accepted: November 27, 2021

ผลของพาสเจอไรส์และน้ำตาลต่อปริมาณฟีนอลิก กรดแอสคอร์บิก และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านาง

Effect of pasteurization and sugar on phenolic content, ascorbic acid and antioxidant activity of Ya-Nang (*Tiliacora triandra* Diels) juice

อริสรา โพธิ์สนาม[1*] จิราวรรณ ทองมหา[1] ดาราวรรณ อุทาวงศ์[1] พัชราภรณ์ ถิ่นจันทร์[2] และกุลวดี แก้วก่า[1]

Arissara Phosanam[1*], Jirawan Thongmaha[1], Darawan Utawong[1], Patcharaporn Tinchan[2] and Kunwadee Kaewka[1]

[1]คณะทรัพยากรธรรมชาติและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร

[2]คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยากำแพงแสน จังหวัดนครปฐม

[*]Corresponding Author E-mail Address: arissara.p@ku.th

บทคัดย่อ

ย่านางเป็นผักพื้นบ้านที่มีคุณค่าทางโภชนาการหลากหลาย ปัจจุบันมีการนำใบย่านางมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ซึ่งการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมน้ำตาล การพาสเจอไรส์ และการเติมน้ำตาลร่วมกับการพาสเจอไรส์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับเครื่องดื่มน้ำใบย่านางคั้นสด การทดลองแบ่งออกเป็น 4 ตัวอย่างการทดลอง (Treatment) ได้แก่ น้ำใบย่านางที่ไม่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน (YC) น้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน (YS) น้ำใบย่ายางที่ไม่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน (YP) และน้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน (YSP) ผลการทดลองพบว่าการพาสเจอไรส์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านเคมีและกายภาพของน้ำใบย่านาง โดยน้ำใบย่านางที่ผ่านการให้ความร้อนมีค่าความสว่าง (L*) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง เมื่อพิจารณาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ฟีนอลิกทั้งหมด และกรดแอสคอร์บิก) ในน้ำใบย่านางที่ไม่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ทั้งที่ไม่เติมและเติมน้ำตาล (YC และ YS) มีปริมาณเริ่มต้นใกล้เคียงกันและหลังการพาสเจอร์ไรส์น้ำใบย่านางมีปริมาณฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิกลดลง นอกจากนี้น้ำใบย่านางที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ทั้งที่ไม่เติมและเติมน้ำตาลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิระลดลง โดยมีค่าลดลงจาก 0.47% (YC) และ 0.79% (YS) เป็น 0.33% (YP) และ 0.67% (YSP) ตามลำดับ โดยสรุปการเติมน้ำตาลและการพาสเจอไรส์ส่งผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านาง

คำสำคัญ: น้ำใบย่านาง พาสเจอไรส์ กรดแอสคอร์บิก ฟีนอลิก กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Ya-Nang is a local plant that has many nutritional values such as protein, dietary fiber, vitamins, and minerals. Presently, Ya-Nang leaves are processed into healthy or functional drinks. Therefore, this research aimed to study the effect of sugar added and pasteurization on bioactive compounds and antioxidant activities by comparing with fresh Ya-Nang leaf juice. The experiments were divided into 4 experimental samples (treatments) which were Ya-Nang juice without sugar added and no pasteurized (YC), Ya-Nang juice with sugar added and no pasteurized (YS), Ya-Nang juice without sugar added and pasteurized (YP), and Ya-Nang juice with sugar added and pasteurized (YSP). The result revealed that pasteurization affects the chemical and physical changes of the Ya-Nang juice. Pasteurized Ya-Nang juice decreased in lightness value (L*) and pH. When considering bioactive compounds (total phenolics and ascorbic acid) in both unpasteurized of Ya-Nang juice without and with sugar (YC and YS) had similar initial content ($p>0.05$). After pasteurization of Ya-Nang juice, the content of phenolics and ascorbic acid was reduced. In addition, the pasteurized Ya-Nang juice, both without and with sugar reduced antioxidant capacity, by the values decreased from 0.47% (YC) and 0.79% (YS) to 0.33% (YP) and 0.67% (YSP), respectively. From the results of this research, it was concluded that the sugar added or pasteurization, and sugar added combined with pasteurization affects the content of bioactive compounds and antioxidant activity of Ya-Nang juice.

Keywords: Ya-Nang leave juice, Pasteurization, Ascorbic acid, Phenolic, Antioxidant activity

บทนำ

ย่านาง เป็นพืชพวกไม้เถาเลื้อยพาดพันต้นไม้อื่น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels. อยู่ในวงศ์ Menispermaceae เป็นพืชที่ใช้ประโยชน์ได้ทุกส่วนไม่ว่าจะเป็น ราก เถา แต่ส่วนที่ใช้ประโยชน์มากที่สุด คือ ใบ ย่านางสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด เช่น นำน้ำคั้นจากใบใส่ในแกงหน่อไม้ แกงขี้เหล็ก ชุบหน่อไม้ ทำให้อาหารมีรสชาติดีและยังช่วยทำให้ผู้บริโภคไม่ปวดข้อหรือปวดเข่าจากกรดยูริคที่มีในหน่อไม้ (นิตยา, ม.ป.ป.). จากคุณค่าทางโภชนาการคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และประโยชน์ที่หลากหลายของของใบย่านางดังที่กล่าวข้างต้น ย่านางจึงได้รับความสนใจในการศึกษาวิจัยเป็นอย่างมากทั้งภายในประเทศและต่างประเทศ อาทิเช่น การศึกษาวิจัยวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากใบย่านางและหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบย่านาง (ศรินทร์ และคณะ, 2557) การพัฒนาชาสมุนไพรย่านางและสมบัติด้านเคมี-กายภาพ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (จิรภัทร และคณะ, 2558) การใช้ใบย่านางเพื่อเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตหน่อไม้อบแห้ง (ปานฤทัย และคณะ, 2562) และการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกระบวนการเอนแคปซูเลชั่นใบย่านาง (Singthong et al., 2014) เป็นต้น

ปัจจุบันผู้บริโภคทั่วโลกให้ความสำคัญกับการดูแลเอาใจใส่สุขภาพเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากปัจจุบันมีการเกิดโรคที่สัมพันธ์กับการบริโภคอาหารมากขึ้น เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคไต ไขมันและคลอเลสเตอรอลในเลือดสูง เป็นต้น ดังนั้น ผู้บริโภคจึงหันมาบริโภคอาหารและเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และเสริมหน้าที่การทำงานบางอย่างในร่างกาย (Functional food หรือ Healthy food) เช่น อาหารและเครื่องดื่มที่มีองค์ประกอบของวิตามิน เกลือแร่และสารที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) เนื่องจากอนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นสารที่มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยา

ออกซิเดชันกับโมเลกุลชีวภาพที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ และอนุมูลอิสระนับเป็นอีกสาเหตุสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคและความผิดปกติต่าง ๆ ในมนุษย์ เช่น โรคมะเร็ง ภาวะความแก่ชรา โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคความจำเสื่อม โรคข้ออักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคความดันโลหิต โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา เกิดความผิดปกติของปอด และระบบประสาท เป็นต้น (บุหรัน, 2556; ศรมน, 2559) สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ดังนั้นอาหารและเครื่องดื่มที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระจึงได้รับการสนใจและเป็นอีกหนึ่งตัวเลือกในการบริโภคสำหรับผู้บริโภคที่ห่วงใยสุขภาพ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของกระบวนการให้ความร้อนที่มีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์จากธรรมชาติและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่หลากหลาย เช่น เครื่องดื่มข้าวมอลต์จากข้าวพันธุ์ไรซ์เบอรี่ (สุนัน และจตุรงค์, 2563) น้ำกีวี่สดและน้ำกีวี่ (Khiralla and Ali, 2020) น้ำทับทิม (Vegara et al., 2012) น้ำเคพกูสเบอร์รี่ (Rabie et al., 2015) น้ำส้ม (Benattouche et al., 2020) ซึ่งเครื่องดื่มที่ผ่านกระบวนการกระบวนพาสเจอร์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์แตกต่างกัน Nwozo et el. (2015) ศึกษาผลของการให้ความร้อนต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผักใบในพื้นที่เขตอบอุ่น (Tropical leafy vegetables) 7 ชนิด พบว่าการให้ความร้อนที่ระยะเวลาสั้น (5 นาที ที่ 80 องศาเซลเซียส) ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง ส่วนปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น ส่วนผลการให้ความร้อนในระยะเวลานาน (20 นาที ที่ 80 องศาเซลเซียส) ส่งผลต่อการทำลายสารพฤกษเคมีในผัก นอกจากนี้ Laslo et al. (2018) รายงานว่า การพาสเจอไรส์น้ำแอปเปิลนานขึ้นส่งผลต่อปริมาณวิตามินซีลดลงมากขึ้น และปริมาณฟีนอลิกมีปริมาณลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ แต่ระยะเวลาในการให้ความร้อนที่ต่างกันไม่ทำให้ปริมาณฟีนอลิกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

จากกระแสการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เครื่องดื่มจากผักและผลไม้ได้รับความนิยมมากขึ้น ซึ่งในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มจากผักและผลไม้บางชนิดอาจจะมีการเติมน้ำตาลเพื่อให้ได้เครื่องดื่มที่มีรสชาติหวาน ดื่มง่ายขึ้นและเพิ่มความต้องการของผู้บริโภค เช่น น้ำใบบัวบก น้ำฟ้าทะลายโจร น้ำใบเตย น้ำอัญชัน เครื่องดื่มชาเขียว และน้ำใบย่านาง เป็นต้น น้ำผักและผลไม้คั้นสดสามารถเสื่อมเสียได้ง่ายเนื่องจากอาจจะมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นการใช้ความร้อนระดับพาสเจอไรส์สามารถช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์ที่ก่อโรคและจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำผักและผลไม้ได้ร่วมกับการเก็บรักษาที่อุณภูมิต่ำ (เก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) อย่างไรก็ตามจากการตรวจเอกสารการวิจัยที่ผ่านมายังไม่มีการรายงานการศึกษาผลของการพาสเจอไรส์และน้ำตาลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มน้ำใบย่านาง ดังนั้นการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมน้ำตาล การพาสเจอไรส์ และการเติมน้ำตาลร่วมกับการพาสเจอไรส์ต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับเครื่องดื่มน้ำใบย่านางคั้นสด

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

การเตรียมน้ำใบย่านาง

เก็บใบย่านางจากหมู่บ้านในพื้นที่ใกล้เคียงมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร โดยคัดเลือกเก็บเฉพาะใบที่แก่สีเขียวเข้มเพื่อนำมาใช้ในการทดลอง หลังจากเก็บใบย่านางเสร็จ นำไปล้างทำความสะอาดทันทีที่อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร จากนั้นพักไว้ให้สะเด็ดน้ำบนตะแกรงนาน 20 นาที แล้วนำใบย่านางไปปั่นผสมกับน้ำโดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 ตัวอย่างการทดลอง (Treatment) ดังนี้ ตัวอย่างที่ 1 ใบย่านางปั่นผสมกับน้ำโดยใช้อัตราส่วน 1:10 (w/v) ซึ่งอัตราส่วน 1:10 (w/v) ที่เลือกใช้มาจากการทดลองเบื้องต้น (Pre-Lab) ปั่นผสมโดยใช้เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Philip 600W, ประเทศไทย) ที่ระดับความเร็วสูงสุด

นาน 5 นาที แยกกากใบย่านางโดยกรองผ่านผ้าขาวบางจะได้น้ำใบย่านางที่ใช้ในการทดลอง (YC) ตัวอย่างที่ 2 นำน้ำใบย่านางที่ได้ตามวิธีการในการเตรียมตัวอย่างที่ 1 มาเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 คนผสมจนกระทั่งน้ำตาลละลายนานประมาณ 5 นาที (YS) ตัวอย่างที่ 3 นำน้ำใบย่านางที่จากการเตรียมตามตัวอย่างที่ 1 ไปต้มให้ความร้อนที่ระดับพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิและเวลาที่อยู่ในเกณฑ์ของการพาสเจอไรส์แบบอุณหภูมิสูงเวลาสั้น (High Temperature Short Time, HTST) หลังจากครบเวลาที่กำหนดทำให้เย็นโดยการหล่อในน้ำเย็น จนอุณหภูมิลดลงเหลือ 25 องศาเซลเซียส (YP) และตัวอย่างที่ 4 นำตัวอย่างน้ำใบย่านางที่ผสมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 ที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างตามตัวอย่างที่ 2 ไปให้ความร้อนตามวิธีการเช่นเดียวกับการให้ความร้อนในตัวอย่างที่ 3 (YSP) จากนั้นนำน้ำใบย่านางไปวิเคราะห์ค่าต่าง ๆ ต่อไป

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

นำน้ำใบย่านางปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter รุ่น Metrohm 744, ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การวัดค่าสี

นำน้ำใบย่านาง 10 มิลลิลิตร มาวัดค่าสีโดยใช้เครื่องวัดสี (Hunterlab รุ่น Miniscan XE Plus, ประเทศสหรัฐอเมริกา) บันทึกค่า L* a* และ b* โดย L* ใช้กำหนดค่าความสว่าง (Lightness) โดย L* = 0 สีที่ได้จะมืดเป็นสีดำ L* = 100 สีที่ได้จะสว่างเป็นสีขาว a* ใช้กำหนดสีแดง หรือสีเขียว (a* เป็น + วัตถุมีสีแดง a* เป็น – วัตถุมีสีเขียว) b* ใช้กำหนดสีเหลือง หรือสีน้ำเงิน (b* เป็น + วัตถุมีสีเหลือง b* เป็น – วัตถุมีสีน้ำเงิน) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอช (DPPH)

วิธีดีพีพีเอช (1, 1-Diphenyl-2- Picrylhydrazyl radical scavenging assay) (DPPH) โดยดัดแปลงตามวิธีการของ Brand-Williams et al. (1995) โดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH$^{\bullet}$, 1,1-diphenyl–2–picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วง เมื่อ DPPH$^{\bullet}$ ทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันที่ละลายด้วยเอทานอลจะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง เตรียมสารละลายดีพีพีเอช (Stock solution) โดยชั่งสารดีพีพีเอช 24 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมตัวอย่างสารละลายดีพีพีเอชที่ใช้สำหรับการวิเคราะห์ โดยการนำสารละลายดีพีพีเอช (Stock solution) มา 10 มิลลิลิตร แล้วเติมเอทานอล 45 มิลลิลิตร การวิเคราะห์ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านางโดยนำน้ำใบย่านาง 1 มิลลิลิตร เติมเอทานอล 50 มิลลิลิตร กรองโดยใช้กระดาษกรองเพื่อให้ได้สารละลายส่วนใส จากนั้นนำสารละลายส่วนใสที่ได้มาทำปฏิกิริยากับสารละลายดีพีพีเอชที่เตรียมไว้ 3 มิลลิลิตร พักไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

$$\text{การต้านอนุมูลอิสระ (\%)} = [1 - (A_{sample} / A_{control}] \times 100 \quad \text{.....(1)}$$

เมื่อ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง และ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายดีพีพีเอช

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นที่แตกต่างกัน คือ (20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตร) วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำใบย่านางโดยนำสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteau reagent ความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 อิ่มตัว ปริมาตร 2

มิลลิลิตร ตั้งพักไว้ 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างสารละลายมาตรฐานก็วิเคราะห์โดยวิธีเดียวกันโดยเปลี่ยนจากน้ำใบย่านางเป็นสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดคำนวณจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกแสดงผลเป็นหน่วยไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร (ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตร) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแอสคอร์บิกทั้งหมด

ดัดแปลงวิธีการตามการทดลองของ Sukporn et al. (2019) โดยปิเปตน้ำใบย่านาง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดเมตาฟอสฟอริกความเข้มข้นร้อยละ 5 (5% metaphosphoric acid) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองเพื่อให้ได้สารละลายส่วนใส จากนั้นนำสารละลายที่ได้ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย 2,6 ไดคลอโรฟีนอลอินโดฟีนอลร้อยละ 1 ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร (1% 2,6-dichlorophenolindophenol) พักไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จากนั้นเติมกรดซัลฟิวริกความเข้มข้นร้อยละ 85 (85% H_2SO_4) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร พักไว้ 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างสารละลายมาตรฐานก็วิเคราะห์โดยวิธีเดียวกันโดยเปลี่ยนจากน้ำใบย่านางเป็นสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ การหาปริมาณกรดแอสคอร์บิกของน้ำใบย่านางคำนวณจากกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกแสดงผลเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (สารละลายกรดแอสคอร์บิกมาตรฐาน 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ออกแบบแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ของค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณกรดแอสคอร์บิก ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชั่น 23 (IBM Corp., Melbourne, Australia) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย และการอภิปรายผล

น้ำใบย่านางที่ได้จากการปั่นผสมกับน้ำโดยใช้อัตราส่วนของใบย่านางต่อน้ำ 1:10 (w/v) และแยกกากใบย่านางออกโดยใช้ผ้าขาวบาง น้ำใบย่านางมีสีเขียวเข้ม โดยมีความสว่าง L* อยู่ที่ 21.08 ค่าความเป็นสีเขียว a* อยู่ที่ 3.23 และค่าความเป็นสีเหลือง b* อยู่ที่ 17.65 (ตารางที่ 1) เมื่อนำน้ำใบย่านาง (YC) และน้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลซูโครส (YS) ไปให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อในระดับพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที พบว่าความสว่างของน้ำใบย่านางลดลง (18-20) ค่าความเป็นสีเขียวลดลง ค่าความเป็นสีเหลืองลดลง และค่าความเป็นสีแดงเพิ่มขึ้น การที่น้ำใบย่านางมีค่าความสว่างลดลงและค่าความเป็นสีเขียวลดลงเนื่องจากสารคลอโรฟิลล์ไม่คงตัวต่อความร้อน เมื่อได้รับความร้อนจะเปลี่ยนเป็นฟีโอไฟติน (Pheophytin) ทำให้สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีเขียวน้ำตาล จึงทำให้น้ำใบย่านางมีสีคล้ำขึ้นเนื่องจากคลอโรฟิลล์มีการสูญเสียแมกนีเซียมไอออน (Gaur et al., 2007; Vongsawasdi et al., 2010; Aamir et al., 2013; Hanh et al., 2016) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Weemaes et al. (1999) ที่ศึกษากลไกการสลายตัวของคลอโรฟิลล์และการเสื่อมสลายของสีของเครื่องดื่มน้ำบล็อคโคลี่ที่ผ่านการให้ความร้อน ผลการทดลองรายงานว่าปริมาณของคลอโรฟิลล์และค่าความเป็นสีเขียวของเครื่องดื่มน้ำบล็อคโคลี่ลดลง เนื่องจากมีปริมาณของฟีโอไฟตินเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Mashiane et al. (2021) รายงานว่าเทคนิคการประกอบอาหารโดยให้ความร้อนส่งผลต่อการลดลงของค่าสีทั้งค่า L*, a* และ b* ของใบฟักทองเมื่อเปรียบเทียบกับใบฟักทองสด การไมโครเวฟผักเคลล์ (*Brassica oleracea* var. *acephala*) และบล็อกโคลี่ในน้ำ ทำให้เกิดการสูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์สูงกว่าวิธีการต้ม โดยอธิบายไว้ว่าการสูญเสียคลอโรฟิลล์ในระหว่างการต้มหรือการไมโครเวฟผักในน้ำอาจ

เนื่องมาจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ไปเป็นฟีโอไฟตินและปลดปล่อยออกจากเซลล์สู่น้ำร้อน (Pellegrini et al., 2010; Akdaş et al., 2017) การเติมน้ำตาลทำให้ค่าความสว่างของน้ำใบย่านางลดลงในตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน แต่สำหรับตัวอย่างที่ผ่านความร้อนการเติมน้ำตาลไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่างที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำใบย่านางที่ผ่านการให้ความร้อนทั้งที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาลมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) เนื่องจากผักเมื่อนำไปผ่านการให้ความร้อนค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) จะมีค่าลดลงเนื่องจากความร้อนทำให้ปฏิกิริยาเคมีทำเกิดการรวมตัวเป็นกรดอินทรีย์, primary 2-pyrrolidone -5- carboxylic acid ซึ่งให้โปรตอนทำให้น้ำผักมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น หรือ pH ลดลง ในระหว่างการให้ความร้อนผักและน้ำผักค่าความเป็นกรด-ด่างจะมีการเปลี่ยนแปลง แต่การเปลี่ยนแปลงจะมากหรือน้อยจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ความเป็นกรดด่างเริ่มต้น อุณหภูมิ และเวลาในการให้ความร้อน (Ryan-Stoneham and Tong, 2000) การเติมน้ำตาลซูโครสลงไปในน้ำใบย่านางไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำใบย่านางทั้งที่ผ่านการให้ความร้อนและไม่ผ่านความร้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

ตารางที่ 1 ค่าสีและความเป็นกรด-ด่างของน้ำใบย่านาง

การวิเคราะห์	ตัวอย่างการทดลอง			
	YC	YS	YP	YSP
ค่าสี				
L*	21.08±0.84^{a}	20.37±0.86^{b}	18.88±0.37^{c}	18.67±1.13^{c}
a*	-3.23±0.27^{c}	-5.22±0.28^{d}	0.10±0.02^{b}	0.73±0.18^{a}
b*	17.65±1.25^{a}	19.44±1.14^{a}	14.92±0.02^{b}	14.83±0.90^{b}
ค่าความเป็นกรด-ด่าง	5.13±0.04^{a}	5.12±0.01^{a}	5.04±0.03^{b}	5.01±0.04^{b}

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ
ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษยกกำลังที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq0.05$)
YC คือ น้ำใบย่านางที่ไม่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน YS คือ น้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน
YP คือ น้ำใบย่ายางที่ไม่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน YSP คือ น้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน

ค่าการต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด และกรดแอสคอร์บิกของน้ำใบย่านางแสดงในตารางที่ 2 จากค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ตัวอย่างน้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำตาล อาจเนื่องมาจากน้ำตาลซูโครสอาจมีการเกิดอันตรกิริยา (Interaction) กันกับสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบของน้ำใบย่านาง ซึ่งกลไกการเกิดอันตรกิริยากันยังไม่ทราบแน่ชัด แต่มีรายงานการวิจัยของ Shalaby et al. (2016) รายงานว่าการเติมน้ำตาลซูโครสลงในชาดำมีผลต่อการเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของชาดำ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างสารประกอบออกซิไดซ์ฟีนอลิก (Oxidized phenolic compounds) และโมเลกุลของน้ำตาลซูโครสเกิดเป็นสารประกอบรีดิวซ์ฟีนอลิก (Reduced phenolic compounds) สารประกอบฟีนอลิกในรูปรีดิวซ์สามารถจับกับอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTH ให้อยู่ในรูปที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (Non-radical products) ซึ่งผู้วิจัยรายงานว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) หลังจากการเติมน้ำตาลซูโครส 0.5-2% ในชาดำ ซึ่งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น 86.8–92.1% ด้วยการทดสอบโดยวิธี DPPH และ 87.0-91.9% โดยวิธี ABTS นอกจากนี้ Mohammadzadeh et al. (2020) ศึกษาผลของการเติมสารแต่งเติม (Additives) ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาดำ โดยผู้วิจัยรายงานว่าการเติมน้ำตาล 0.5 และ 1 กรัม (ต่อชาดำ 100 มิลลิลิตร) ไม่มีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาดำ แต่การเพิ่ม

ปริมาณน้ำตาลในปริมาณ 2 กรัม (ต่อชาดำ 100 มิลลิลิตร) สามารถเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของชาดำได้ และสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Sharma et al. (2008) ที่ระบุว่าการเติมน้ำตาลลงไปในชาดำทำให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของชาสูงกว่าชาที่ไม่เติมน้ำตาล ซึ่งให้ผลที่ตรงกันข้ามกับรายงานการวิจัยของ Korir et al. (2014) รายงานไว้ว่าการเติมน้ำตาลทำให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของชาลดน้อยลง และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลงมากขึ้นเมื่อปริมาณน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้น (0.1, 0.3 และ 3 กรัม) ผลการทดลองที่แตกต่างกันอาจเนื่องมาจากการเติมสารเติมแต่งต่างชนิดกัน การเติมในขั้นตอนที่ต่างกัน รวมทั้งอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ นอกจากนี้ Lončarić et al. (2018) ศึกษาผลอิทธิพลของการเกิดอันตรกิริยากันของฟีนอลและน้ำตาลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำทับทิม จากผลการทดลองผู้วิจัยสรุปไว้ว่าการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างสารประกอบฟีนอลและฟีนอล สารประกอบฟีนอลและน้ำตาล มีผลต่อทุกค่าพารามิเตอร์ที่มีการศึกษา เช่น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแอนโทไซยานิน และกิจกรรมการต้านนอนุมูลอิสระ ซึ่งกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารผสมเหล่านี้อาจแสดงถึงการเกิดการต้านหรือการส่งเสริมกันซึ่งขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารที่เกิดอันตรกิริยากันที่เกิดขึ้น นอกจากนี้การใช้วิธีการทดสอบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่ต่างกันก็ส่งผลต่อค่าที่ได้แตกต่างกัน กล่าวคือ การเติมน้ำตาลมีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีกลไกการเกิดยังไม่มีการรายงานที่ระบุแน่ชัด ซึ่งมีทั้งรายงานว่าสามารถเพิ่มหรือลดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของชาและเครื่องดื่มจากผักและผลไม้

จากผลการทดลองนี้การเติมน้ำตาลไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งในตัวอย่างน้ำใบย่านางที่ให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อน เมื่อนำตัวอย่างน้ำใบย่านางทั้งที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาล (YC และ YS) ไปผ่านกระบวนการให้ความร้อน (YP และ YPS) พบว่าค่าการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และวิตามินซีลดลง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากกระบวนการให้ความร้อนไปทำลายสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำใบย่านาง เช่น วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากผลการทดลองกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในน้ำใบย่านางมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและกรดแอสคอร์บิก ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการวิจัยของ Nwozo et al. (2015) ที่ศึกษาผลของความร้อนต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผักกินใบในเขตอบอุ่น 7 ชนิด และรายงานว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 5 และ 20 นาที ทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงในผักทุกชนิด และทั้งสองระยะเวลาในการให้ความร้อน รวมทั้งในการวิจัยของ Laslo et al. (2018) ที่ศึกษาผลของการพาสเจอไรส์ต่อองค์ประกอบของสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำแอปเปิ้ลจากแอปเปิ้ล 2 สายพันธุ์ โดยพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15, 20 และ 25 นาที ระบุว่าการพาสเจอไรส์น้ำแอปเปิ้ลทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลง และลดลงมากขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้ความร้อน นอกจากนี้ Aguilar-Rosas et al. (2007) การให้ความร้อนแบบพาสเจอไรส์ 90 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ของน้ำแอปเปิ้ลทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกลดลงประมาณ 32% เมื่อเทียบกับน้ำแอปเปิ้ลที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการวิจัยของ Norhayati et al. (2019) ผลการทดลองแสดงถึงการพาสเจอไรส์เครื่องดื่มน้ำผึ้งที่มีการเติมแซนแทนกัมที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที ทำให้ปริมาณฟีนอลิกในเครื่องดื่มน้ำผึ้งลดลง

ตารางที่ 2 การต้านอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด และกรดแอสคอร์บิกทั้งหมดของน้ำใบย่านาง

การวิเคราะห์	ตัวอย่างการทดลอง			
	YC	YS	YP	YSP
การต้านอนุมูลอิสระ (%)	0.47±0.05^{c}	0.79±0.05^{a}	0.33±0.05^{d}	0.67±0.01^{b}
ฟีนอลิกทั้งหมด (µg/mL)	0.11±0.01^{a}	0.13±0.01^{a}	0.06±0.01^{b}	0.08±0.01^{b}
กรดแอสคอร์บิกทั้งหมด (µg/mL)	1.37±0.20^{a}	1.35±0.20^{a}	1.28±0.16^{b}	1.24±0.24^{b}

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงในตารางคือค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรภาษาอังกฤษยกกำลังที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

YC คือ น้ำใบย่านางที่ไม่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน YS คือ น้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและไม่ผ่านความร้อน YP คือ น้ำใบย่ายางที่ไม่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน YSP คือ น้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและผ่านความร้อน

บทสรุป

การพาสเจอไรส์และการเติมน้ำตาลในน้ำใบย่านางส่งผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านาง การพาสเจอไรส์ส่งผลทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิกลดลง เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น กรดแอสคอร์บิกและสารประกอบฟีนอลิก สามารถถูกทำลายหรือเปลี่ยนสภาพได้ง่ายด้วยความร้อน ซึ่งสารเหล่านี้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นเมื่อมีปริมาณลดลงจึงส่งผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระลดลง กล่าวคือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิกมีความพันธ์เชิงบวกกับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านาง เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างน้ำใบย่านางที่เติมน้ำตาลและไม่เติมน้ำตาล พบว่าตัวอย่างน้ำใบย่านางที่มีการเติมน้ำตาลมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำใบย่านางที่ไม่เติมน้ำตาลทั้งในน้ำใบย่านางที่ผ่านและไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเกิดอันตรกิริยากันระหว่างน้ำตาลและสารประกอบฟีนอลิกในน้ำใบย่านาง ซึ่งสารประกอบที่เกิดขึ้นอาจช่วยส่งเสริมกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำใบย่านางแต่กลไกการเกิดยังไม่ทราบแน่ชัดและเสนอแนะควรมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไปสำหรับผู้ที่สนใจ จากผลการทดลองนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้หรือต่อยอดในเชิงพาณิชย์เพื่อผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย

เอกสารอ้างอิง

จิรภัทร โอทอง, จิราภรณ์ ทองตัน และทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ. (2558). การพัฒนาชาสมุนไพรย่านางและสมบัติด้านเคมีกายภาพฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์.กรุงเทพมหานคร. 1544-1551.

นิตยา บุญทิม. (ม.ป.ป.). ย่านางสุดยอดอาหารและยา. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ค้นเมื่อ 3 พฤศจิกายน 2564. https://stri.cmu.ac.th/pages/about_org.php

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21: 275-286.

ปานฤทัย พุทธทองศรี, อภิรดี พันธ์สิงห์ และมะลิวัล ผะสมพืช. (2562). การใช้ใบย่านางและขมิ้นชันเพื่อเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในกระบวนการผลิตหน่อไม้อบแห้ง. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 21(3): 49-55.

สุนัน ปานสาคร และจตุรงค์ ลังกาพินธุ์. (2563). ผลของการแปรรูปและการให้ความร้อนต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ และคุณภาพของเครื่องดื่มข้าวมอลต์จากข้าวพันธุ์ไรซ์เบอรี่. วารสารวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี. 29: 119-133.

ศรมน สุทิน. (2559). วิตามินกับอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 2: 80-92.

ศรินทร์ ทองธรรมชาติ, สุชนา วานิช และนงลักษณ์ ศรีแก้ว. (2557). การศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดใบย่านาง. รายงานการวิจัย. สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม. มหาสารคาม.

Aamir M., Ovissipour M., Sablani S.S. and Rasco B. (2013). Predicting the quality of pasteurized vegetables using kinetic models: a review. International journal of food science. 1-30.

Aguilar-Rosas S., Ballinas-Casarrubias F., Nevarez-Moorillon M. L., Martin-Belloso G. V. and Ortega-Rivas E. O. (2007). Thermal and pulsed electric fields pasteurization of apple juice: Effects on physicochemical properties and flavour compounds. Journal of Food Engineering. 83(1): 41-46.

Akdaş Z.Z. and Bakkalbaşı E. (2017). Influence of different cooking methods on color, bioactive compounds, and antioxidant activity of kale. International Journal of Food Properties. 20(4): 877-887.

Brand-Williams W., Cuvelier M.E. and Berset C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT-Food science and Technology. 28(1): 25-30.

Benattouche Z., Bouhadi D., Hariri A. and Benchohra M. (2020). Effect of thermal pasteurization on phytochemical characteristics and antioxidant capacity of orange juice. Nature and Technology Journal. 50-53.

Gaur S., Shivhare U.S., Sarkar B.C. and Ahmed J. (2007). Thermal chlorophyll degradation kinetics of mint leaves puree. International Journal of Food Properties. 10(4): 853-865.

Hanh N.T., Hoang N.V. and Tao P.T.P. (2016). Change of chlorophyll and vitamin C In green peas (*Pisum Sativum*) during thermal processing. Vietnam Journal of Agricultural Sciences. 14(7): 1068-1074.

Khiralla G. and Ali H.M. (2020). Bioavailability and antioxidant potentials of fresh and pasteurized kiwi juice before and after *in vitro* gastrointestinal digestion. Journal of Food Science and Technology. 57(11): 4277-4285.

Korir M.W., Wachira F.N., Wanyoko J.K., Ngure R.M. and Khalid R. (2014). The fortification of tea with sweeteners and milk and its effect on *in vitro* antioxidant potential of tea product and glutathione levels in an animal model. Food Chemistry. 145: 145-153.

Laslo V., Socaci S., Teusdea A., Timar A., Tofana M. and Ioana-Vicas S. (2018). The effect of pasteurization time on phytochemical composition and antioxidant capacity of two apple cultivars juices. Bulletin UASVM Food Science and Technology. 75(1): 67-77.

Mashiane P., Mashitoa F.M., Slabbert R.M. and Sivakumar D. (2021). Impact of household cooking techniques on colour, antioxidant and sensory properties of African pumpkin and pumpkin leaves. International Journal of Gastronomy and Food Science. 23: 1-7.

Mohammadzadeh M.J., Amuzadeh A. and Moetamedzadegan A. (2020). Effect of different additives on antioxidant capacity of black tea. Journal of Culinary Science and Technology. 18(2): 67-76.

Norhayati H., Izzreen I. and Hooi P.T. (2019). Effects of pasteurization and different concentrations of xanthan gum on honey beverage. Journal of Food Science. 3: 325-332.

Nwozo S.O., Oso B.J. and Oyinloye B.E. (2015). Effect of heat on antioxidant activity of some tropical leafy vegetables. Nigerian Journal of Basic and Applied Sciences. 23(2): 93-101.

Pellegrini N., Chiavaro E., Gardana C., Mazzeo T., Contino D., Gallo M., Riso P., Fogliano V. and Porrini M. (2010). Effect of different cooking methods on color, phytochemical concentration, and antioxidant capacity of raw and frozen brassica vegetables. Journal of Agricultural and food chemistry. 58(7): 4310-4321.

Rabie M.A., Soliman A.Z., Diaconeasa Z.S. and Constantin B. (2015). Effect of Pasteurization and Shelf Life on the Physicochemical Properties of Physalis (*Physalis peruviana* L.) Juice. Journal of Food Processing and Preservation. 39(6): 1051-1060.

Ryan-Stoneham T. and Tong C.H. (2000). Degradation kinetics of chlorophyll in peas as a function of pH. Journal of Food Science. 65(8): 1296-1302.

Shalaby E.A., Mahmoud G.I. and Shanab S.M. (2016). Suggested mechanism for the effect of sweeteners on radical scavenging activity of phenolic compounds in black and green tea. Frontiers in Life Science. 9(4): 241-251.

Sharma V., Kumar H.V. and Rao L.J.M. (2008). Influence of milk and sugar on antioxidant potential of black tea. Food Research International. 41(2): 124-129.

Singthong J., Oonsivilai R., Oonmetta-Aree J. and Ningsanond S. (2014). Bioactive compounds and encapsulation of Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. 11(3): 76-84.

Sukporn S., Sirimuangmoon C., Kondo S. and Setha S. (2019). Effect of harvesting season, maturity stage and storage temperature on internal browning and postharvest quality of 'Phulae'pineapple. Journal of Food Science and Agricultural Technology. 5: 212-219.

Vegara S., Funes L., Mena P., Martí N., Saura D. and Valero M. (2012) Influence of pasteurization treatment and storage in antioxidant activity of pomegranate juice. International Symposium on the Pomegranate. Zaragoza: CIHEAM / Universidad Miguel Hernández. No. 103: 321-323.

Lončarić A., Pichler A., Rašić N., Vukoja I., Leventić A. and Kopjar M. (2018). Influence of phenol and sugar interactions on antioxidant activity of pomegranate juice. Acta Alimentaria. 47(2): 203-209.

Vongsawasdi P., Nopharatana M., Sasaeng K., Tantek P. and Wongphaisitpisan S. (2010). Kinetics of chlorophyll degradation in pandanus juice during pasteurization. Asian Journal of Food and Agro-Industry. 3(1): 44-51.

Weemaes C.A., Ooms V., Van Loey A.M. and Hendrickx M.E. (1999). Kinetics of chlorophyll degradation and color loss in heated broccoli juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 47(6): 2404-2409.