

ผลของการแปรรูปและการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารและ
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์จากเมา

Effect of Processing and Storage on Nutrient Contents and
Antioxidant activity of Mao products

อมรรัตน์ โมรราราช¹ และ ศุภฤชญา เหมะธูลิน^{2*}

Amonrut Morarach¹ and Sukrichaya Hemathulin^{2*}

¹สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก

²สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร

¹Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology,

Rajamangala University of Technology Tawan-ok

²Department of Food Science and Technology, Faculty of Natural Resources,

Rajamangala University of Technology ISan, Sakon Nakhon Campus

*E-mail: sukrichaya@hotmail.com

Received: Jun 21, 2021

Revised: Nov 24, 2021

Accepted: Dec 27, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาต่อปริมาณสารอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เมา (*Antidesma bunius*) โดยในงานวิจัยนี้ใช้ผลิตภัณฑ์จากเมาทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ น้ำเมาแท้ (100%), น้ำเมาพร้อมดื่ม (30%), น้ำเมาเข้มข้น และไวน์เมา น้ำเมาดำ 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 80 กิโลแคลอรี มีความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดรวมใยอาหาร ใยอาหาร โปรตีน เท่ากับ 80.30, 0.00, 20.00, 0.53, และ น้อยกว่า 1.25 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำน้ำเมาดำเข้าสู่กระบวนการพาสเจอร์ไรส์เพื่อให้ได้เป็นน้ำเมาแท้ พบว่าน้ำเมาแท้ (100%) 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน และปริมาณ คาร์โบไฮเดรตเพิ่มขึ้น ส่วนวิตามิน A, B1 และ B2 มีปริมาณลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ วิตามิน C ลดลงมาก ส่วนแร่ธาตุต่าง ๆ มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก นอกจากนี้ยังพบว่ากระบวนการพาสเจอร์ไรส์น้ำเมาพร้อมดื่ม (30%) และน้ำเมาเข้มข้นทำให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น แต่ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่อ DPPH ลดลง ส่วนการเก็บรักษาไวน์เมาที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน ไม่มีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่ากระบวนการแปรรูปมีผลต่อปริมาณสารอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เมาทั้งหมด 4 ชนิดระดับที่ยอมรับได้

คำสำคัญ: ผลิตภัณฑ์เมา ปริมาณสารอาหาร ปริมาณสารฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

The objective of this research was to study the effect of processing and storage on nutrient contents and antioxidant activity of Mao (*Antidesma bunius*) products. There were four types of Mao products used in this research including pure Mao juice (100%), ready to drink Mao juice (30%), Mao squash and Mao wine. In 100 mL, black Mao juice contained energy of 80 kilocalorie and moisture, fat, carbohydrate, crude fiber and protein were 80.30, 0.00, 20.00, 0.53 and less than 1.25 g, respectively. When black Mao juice underwent pasteurization to obtain pure Mao juice (100%), it was found that in 100 mL, pure Mao juice had increased energy and carbohydrate contents but slightly decreased vitamins A, B 1 and B2 contents and significantly decreased vitamin C content. Slightly change in trace

mineral contents was also observed. Furthermore, it was found that pasteurization of ready to drink Mao juice (30%) and Mao squash caused the increase in phenolic contents but the decrease in antioxidant activity against DPPH. The storage of Mao wine at 30°C had no effect on its phenolic contents and antioxidant activity. The results from this research demonstrated that processing and storage had effect on nutrient content and antioxidant activity of all 4 types of Mao products in an acceptable level.

Keywords: Mao products, Nutrient contents, Phenolic contents, Antioxidant activity

1. บทนำ

เม่าหลวง (*Antidesma bunius*) เป็นผลไม้พื้นเมืองสายพันธุ์เบอร์รี่ พบมากในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยเฉพาะเขตเทือกเขาภูพานและป่าธรรมชาติในพื้นที่ต่างๆ ของประเทศไทย เม่าสายพันธุ์นี้มีขนาดผลใหญ่และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยผลเม่าสุกเป็นแหล่งของแร่ธาตุ โดยเฉพาะแคลเซียมและเหล็ก ประกอบด้วยวิตามิน B1 B2 B3 C และ E อีกทั้งมีกรดอะมิโนมากถึง 18 ชนิด [1] โดยสารอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญหลักในเม่า คือ วิตามินซี (ascorbic acid) แอนโทไซยานิน (anthocyanin) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) [2] อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำเม่าดำ 100 มิลลิลิตร มีใยอาหาร (dietary fiber) ทั้งชนิดที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำ 0.79 กรัม อีกทั้งน้ำเม่าดำสดให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยค่า ORAC Score (Oxygen radical absorbance capacity) หรือ ปริมาณการดูดจับอนุมูลออกซิเจนทำให้อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น กลายเป็นกลาง ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการรับประทานน้ำเม่าดำ ที่มีค่า ORAC Score สูงถึง 9,611 $\mu\text{mol TE}/100\text{ g}$ สามารถ ปกป้องเซลล์ และองค์ประกอบของเซลล์ให้ปลอดภัยจากการ ถูกทำลายเสียหายจากกระบวนการออกซิเดชัน (oxidative damage) ได้ดี [3] จากคุณค่าทางโภชนาการดังกล่าวจึงมีการ นำเม่ามาแปรรูปและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น น้ำเม่าแช่ น้ำเม่าเข้มข้น น้ำเม่าพร้อมดื่ม แยมเม่า ขนมหินับ เคี้ยว และไวน์ เป็นต้น เม่าเมื่อผ่านขั้นตอนการแปรรูป ด้วย กรรมวิธีและส่วนผสมที่แตกต่างกัน ทำให้ผลิตภัณฑ์จากเม่าแต่ละชนิดมีคุณค่าทางโภชนาการที่ต่างกันไป ดังนั้นกระบวนการแปรรูปจึงมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารอาหารในผลิตภัณฑ์จาก เม่า โดยเฉพาะวิตามินซีจะสูญเสียมากที่สุดทั้งในรูปผลสด ในระหว่างการแปรรูปและการเก็บรักษา โดยส่วนใหญ่จะ สูญเสียในขั้นตอนการคัดแยกเม่าดำออกจากเม่าแดง และการ ล้างทำความสะอาด ส่วนแอนโทไซยานินและสารประกอบ ฟีนอลิกจะคงตัวต่อการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการแปรรูปสูง กว่าวิตามินซี ทั้งนี้ขึ้นกับสภาพแวดล้อมในการแปรรูปและ

การเก็บรักษา เช่น ระดับการให้ความร้อนในขั้นตอนการ ฆ่าเชื้อ การสัมผัสอากาศและแสง [3] ดังนั้นการติดตามผล การเปลี่ยนแปลงสารอาหารในผลิตภัณฑ์จากเม่า อีกทั้งศึกษา ปัจจัยและแนวโน้มที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารอาหารและ สารต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการผลิต เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง การสัมผัสแสงและออกซิเจนของ ผลิตภัณฑ์ เป็นต้น ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงในระหว่าง การเก็บรักษาจึงมีความจำเป็น และสามารถให้ผลการวิจัยเป็น แนวทางในการลดการเปลี่ยนแปลงของสารอาหารดังกล่าว ในระหว่างแปรรูปและการเก็บรักษา เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ จากเม่าที่ได้อุดมด้วยสารอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1. เตรียมวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์เม่า

ใช้วัตถุดิบเม่าหลวงสายพันธุ์ฟ้าประทานในเขต เทือกเขาภูพาน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร เข้าสู่กระบวนการ คัดแยกเม่าดำ-แดง ล้างทำความสะอาด ตีปั่นแยกเมล็ดด้วย เครื่อง pulper finisher ยี่ห้อ KEWEI รุ่น MDJ 4-7.5 บีบคั้น และกรองโดยเครื่อง hydraulic press (LAFA 60 TOSCANA ENOLOGICA MORI) ได้น้ำเม่าดำและแดง เข้าสู่ขั้นตอนในการ ผลิตผลิตภัณฑ์จากเม่า 4 ผลิตภัณฑ์ ได้แก่ น้ำเม่าแท้ (100%), น้ำเม่าเข้มข้น, น้ำเม่าพร้อมดื่ม (30%) และไวน์เม่า โดย กรรมวิธีในการผลิตผลิตภัณฑ์จากเม่ามีรายละเอียดดังนี้

2.1.1. การผลิตน้ำเม่าแท้ (Pure Mao juice)

คัดแยกเม่าแดงและดำ คั้นเอาเฉพาะน้ำเม่าดำ วัดคุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบน้ำเม่าดำ ได้แก่ ปริมาณของแข็ง ที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรด ทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) ปรับคุณภาพของ น้ำเม่าดำให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำเม่าแท้ ซึ่ง กำหนดให้มีปริมาณกรด (TA) ไม่เกิน ร้อยละ 1 ปริมาณ ของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ไม่ต่ำกว่า 15 องศา บริกซ์ (°Brix) ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที วัดคุณภาพ

ทางเคมีของน้ำเมาแท้ที่ผลิตได้ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) เพื่อให้ได้คุณภาพมาตรฐานตามที่กำหนดไว้ บรรจุน้ำเมาเข้มข้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อขณะร้อนในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (180 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง) และปิดฝาทันที (ฝาต้องผ่านการล้างให้สะอาดและลวกน้ำร้อนก่อนใช้) ลดอุณหภูมิน้ำเมาแท้ที่ผ่านการบรรจุขวดแล้ว (cooling) โดยใช้น้ำเย็นที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และใช้ระบบน้ำไหลวน ให้อุณหภูมิน้ำเมาเข้มข้นที่ใจกลางขวดมีอุณหภูมิประมาณ 40 - 45 องศาเซลเซียส เช็ดขวดให้แห้ง

2.1.2. การผลิตน้ำเมาเข้มข้น (Mao squash)

คัดแยกเมาแดงและดำ คั้นเอาเฉพาะน้ำ ใช้น้ำเมาดำและแดง ร้อยละ 85 และ 15 ตามลำดับ วัดคุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบน้ำเมาดำ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) ปรับคุณภาพของน้ำเมาดำให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำเมาเข้มข้น ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณกรด (TA) ไม่เกิน ร้อยละ 1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ไม่ต่ำกว่า 42 องศาบริกซ์ (°Brix) และน้ำเมาที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ร้อยละ 25 คำนวณส่วนผสม จากคุณภาพของวัตถุดิบในข้อ 2 คำนวณส่วนผสมตามวิธีเพียร์สันสแควร์ (Pearson's square method) ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที วัดคุณภาพทางเคมีของน้ำเมาเข้มข้นที่ผลิตได้ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) เพื่อให้ได้คุณภาพมาตรฐานตามที่กำหนดไว้ บรรจุน้ำเมาเข้มข้นที่ผ่านการฆ่าเชื้อขณะร้อนในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (180 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง) และปิดฝาทันที (ฝาที่ผ่านการล้างสะอาดและลวกน้ำร้อน) ลดอุณหภูมิน้ำเมาเข้มข้นที่ผ่านการบรรจุขวดแล้ว (cooling) โดยใช้น้ำเย็นที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และใช้ระบบน้ำไหลวน ให้อุณหภูมิน้ำเมาเข้มข้นที่ใจกลางขวดมีอุณหภูมิประมาณ 40 - 45 องศาเซลเซียส เช็ดขวดให้แห้ง

2.1.3. การผลิตน้ำเมาพร้อมดื่ม (Ready to drink Mao juice)

คัดแยกเมาแดงและดำ คั้นเอาเฉพาะน้ำ ใช้น้ำเมาดำและแดง ร้อยละ 85 และ 15 ตามลำดับ วัดคุณภาพทางเคมีของวัตถุดิบน้ำเมาดำ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ของวัตถุดิบน้ำเมาดำ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) ปรับคุณภาพของน้ำเมาดำให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์น้ำเมาพร้อมดื่ม ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณกรด (TA) ไม่เกิน ร้อยละ 0.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (TSS) ไม่ต่ำกว่า 15 องศา บริกซ์ (°Brix) และน้ำเมาที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ร้อยละ 25 คำนวณส่วนผสม จากคุณภาพของวัตถุดิบในข้อ 2 คำนวณส่วนผสมตามวิธีเพียร์สันสแควร์ (Pearson's square method) ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที วัดคุณภาพทางเคมีของน้ำเมาพร้อมดื่มที่ผลิตได้ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid, °Brix) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดซิตริก (Total acid, %) เพื่อให้ได้คุณภาพมาตรฐานตามที่กำหนดไว้ บรรจุน้ำเมาพร้อมดื่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อขณะร้อนในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ (180 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง) และปิดฝาทันที (ฝาที่ผ่านการล้างสะอาดและลวกน้ำร้อน) ลดอุณหภูมิน้ำเมาพร้อมดื่มที่ผ่านการบรรจุขวดแล้ว (cooling) โดยใช้น้ำเย็นที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และใช้ระบบน้ำไหลวน ให้อุณหภูมิน้ำเมาพร้อมดื่มที่ใจกลางขวดมีอุณหภูมิประมาณ 40 - 45 องศาเซลเซียส เช็ดขวดให้แห้ง

2.1.4. การผลิตไวน์เมา (Mao wine)

เตรียมวัตถุดิบ โดยคัดแยกผลเมาดำและแดง นำเมาดำมาล้างทำความสะอาด ผึ่งให้สะเด็ดน้ำ จากนั้นทำการปั่น บีบคั้นและกรองโดยเครื่อง pulper finisher และ hydrolic press เพื่อให้ได้น้ำเมาดำเข้มข้น เตรียมหมัก โดยปรับปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นทั้งหมด เท่ากับ 20-22 องศาบริกซ์ ปรับปริมาณกรดเริ่มต้นทั้งหมด เท่ากับ 0.5 เปอร์เซ็นต์ของกรดซิตริก เติมน้ำเมาดำ ได้แก่ วิตามินซี และ Di-Ammonium Hydrogen phosphate ยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในน้ำหมัก โดยเติม Potassium metabisulfite (KMS, $K_2S_2O_5$) ประมาณ 150-200 ppm จากนั้นเตรียมกล้าเชื้อ (Starter Preparation) ใช้ยีสต์ผงสายพันธุ์ทางการค้า (*Saccharomyces cerevisiae* V1116) หมักไวน์เมา โดยถ่ายหัวเชื้อ (Starter Inoculation) ลงสู่ถังหมัก หมักไวน์เมาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 สัปดาห์ บ่มไวน์เมาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ประมาณ 3-6 เดือน บรรจุขวด

2.2. ศึกษาผลของกระบวนการแปรรูปต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

2.2.1. การเตรียมและสกัดตัวอย่าง

1) การสกัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี (ascorbic acid) [4] ทำโดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เม่า 3 กรัม ผสมกับสารละลายผสมระหว่างกรดออกซาลิก (oxalic acid) ความเข้มข้น ร้อยละ 3 (w/v) และกรดอะซิติก (glacial acetic) ความเข้มข้น ร้อยละ 8 (v/v) นำไป homogenize ให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้น centrifuge ที่ความเร็วรอบ 15,000 rpm นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส รับประทานส่วนใสไปวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี รายงานหน่วยเป็นมิลลิกรัม

2) การสกัดตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการสกัดสารทำโดยนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์เม่า 3 กรัม ผสมกับเมทานอล 25 มิลลิลิตร นำไป homogenize ด้วยเครื่อง Ultra-Turrax homogenizer จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นนำไป centrifuge รับประทานส่วนใสที่ได้ไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เรียกส่วนที่สกัดได้นี้ว่า antioxidant activity measured in methanol extract (AOAM) ส่วนที่ตกตะกอนจากการสกัดครั้งที่ 1 นำไปละลายใหม่ด้วย dichloromethane ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และทำการ homogenize จากนั้นเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ เรียกส่วนที่สกัดได้นี้ว่า antioxidant activity measured in dichloromethane extract (AOAD) จากนั้นนำตัวอย่าง AOAM และ AOAD มารวมกันเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอวิเคราะห์ต่อไป

2.2.2. การศึกษาปริมาณสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

1) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolics content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method [5] โดยใช้ตัวอย่างที่สกัดจากผลิตภัณฑ์เม่าในข้อย่อยที่ 1) ของข้อ 2.1.2 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เติมน้ำบริสุทธิ์ (nanopure) 2,400 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 0.25 N ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex ปล่อยให้ทำปฏิกิริยานาน 3 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 1 N ปริมาตร 300 มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ใช้ gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน ที่ความเข้มข้น 0-0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สร้างกราฟมาตรฐาน รายงานหน่วยเป็น gallic acid equivalents (mg GAE/100 mL)

2) วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ วิเคราะห์ปริมาณวิตามิน ได้แก่ วิตามิน B1 (Thiamine) วิตามิน B2 (Riboflavin) วิตามิน C และวิตามิน A วิเคราะห์ปริมาณเกลือแร่ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม โซเดียม ฟอสฟอรัส และสังกะสี วิเคราะห์กรดอะมิโน (Amino Acids) ทั้งหมด 18 ชนิด ได้แก่ Alanine, Arginine, Aspartic acid, Cystine, Glutamic acid, Glycine, Histidine, Isoleucine, Leucine, Lysin, Methionine, Phenylalanine, Proline, Serine, Threonine, Tryptophan, Tyrosine และ Valine

2.2.3. การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์จากเม่า ด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ

1) วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay [6] เป็นวิธีการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (free radical scavenging) โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen donor) โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer เนื่องจากเมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมกับ DPPH ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีจากม่วงเข้มเป็นสีเหลือง [9] โดยใช้สารละลาย DPPH ความเข้มข้น 300 μM โดยเตรียมได้จาก ชั่ง DPPH 2.34 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมลงในภาชนะขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมตัวอย่างผลิตภัณฑ์เม่า 2.5 ไมโครลิตร จาก stock solutions ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน ทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง automated plate reader และรายงานค่าเป็น mg ascorbic acid/L

2) วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay [7] เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันตามหลักการถ่ายเทอิเล็กตรอนที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง $\text{Fe}(\text{III})$ ($\text{TPTZ})_2\text{Cl}_3$ ($\text{TPTZ}=2,4,6\text{-tripyridyl-s-triazine}$) ซึ่งทำหน้าที่ถ่ายเทอิเล็กตรอนให้แก่ $[\text{Fe}(\text{III}) (\text{TPTZ})_2]^{3+}$ จะทำให้เกิดการ

เปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ที่ความเป็นกรด-ด่างต่ำ ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงินเข้ม วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้ FRAP reagent ปริมาตร 95 ไมโครลิตร ผสมกับ acetate buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (pH 3.6) และ ferric chloride ปริมาณ 4.9 มิลลิกรัม และเติม TPTZ ปริมาตร 910 ไมโครลิตร ลงในภาชนะขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมผลิตภัณฑ์เอนไซม์ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 5 ไมโครลิตร และใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน ที่ใช้ 6 นาที่ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง automated plate reader คำนวณผลเป็น μM $FeSO_4/L$

2.3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพและสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ไวน์เอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษา

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของผลิตภัณฑ์จากเอนไซม์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจวัดค่าทุก 1 เดือน เป็นเวลานาน 6 เดือน โดยใช้ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไวน์เอนไซม์ โดยจัดแผนการทดลองแบบ CRD โดยวัดค่าสี L^* , a^* , b^* และ C^* ด้วยเครื่องวัดสี ColorFlex รุ่น CX 1498 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก (%TA) โดยการไทเทรต ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) โดยใช้ Hand Refractometer ความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter และร้อยละของแอลกอฮอล์ ด้วย Ebulliometer

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วย วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ตามวิธีการในข้อ 2.3.3

2.4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทุกขั้นตอนการทดลองวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) จากโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.26

3. ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

3.1. คุณภาพทางกายภาพเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำเอนไซม์

น้ำเอนไซม์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบหลักจะประกอบไปด้วย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำเอนไซม์ดำ และน้ำเอนไซม์แดง จากผลการทดลอง พบว่า

น้ำเอนไซม์แดง มีความชื้นสูงสุด ร้อยละ 94.29 ในขณะที่น้ำเอนไซม์ดำมี water activity (a_w) เท่ากับ 1.00 และ 0.99 ตามลำดับ (Table 1) ทั้งนี้ น้ำเอนไซม์ดำ น้ำเอนไซม์แดง ให้ค่า pH อยู่ในช่วง 23.85-350.02 ให้ค่าสีแดงไปจนถึงม่วงแดง ซึ่งเกิดจากสีของรงควัตถุแอนโทไซยานิน ซึ่งให้สีในช่วงแดง ม่วง และน้ำเงิน [8] โดยพบว่า น้ำเอนไซม์ดำให้ค่าสีม่วงแดงที่มีความสว่าง (L^*) และความเข้มสี (C^*) ต่ำเมื่อเทียบกับน้ำเอนไซม์ดำอย่างเห็นได้ชัด โดยให้ค่าสีเท่ากับ 0.24 และ 42.19 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า น้ำเอนไซม์ดำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) เทียบกับวิตามินซี และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (FRAP) สูงกว่าน้ำเอนไซม์แดง โดยมีค่าเท่ากับ 111.63 mg GAE/100 mL, 275.68 mg ascorbic acid/L, และ 737.52 μM $FeSO_4/L$ ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Wichana et al. [9] ซึ่งได้รายงานผลการวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถการต้านออกซิเดชันโดยวิธี FRAP ในน้ำเอนไซม์คั้นมีค่าระหว่าง 229.5 ถึง 478.1 mg GAE/g FW และ 12576.1 ถึง 22495.2 μM TEAC/g FW และรายงานของ Krongyut and Sutthanut [10] ที่ศึกษาในน้ำเอนไซม์หลวง พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) 21.8 mg Vit C eq/g และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 11.6 mg GA eq/g สารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานิน จะสามารถให้ไฮโดรเจนแก่ DPPH ที่เป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรมีสีม่วงจนเกิดการฟอกจางสีไปเป็นสีเหลือง ทำให้อนุมูลอิสระหมดสภาพไป [11] อีกทั้ง น้ำเอนไซม์ดำความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าน้ำเอนไซม์แดง เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันโดยเกิดการถ่ายเทอิเล็กตรอน (electron donor) ให้แก่ $[Fe(III)(TPTZ)_2]^{3+}$ ได้ดีกว่าทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$ ได้สูง

3.2. ผลของกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอาหารและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์เอนไซม์

จากการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของน้ำเอนไซม์ดำ ให้ผลใกล้เคียงกับคุณค่าทางโภชนาการของผลไม้สุก [12] เมื่อนำน้ำเอนไซม์ดำเข้าสู่กระบวนการผลิตน้ำเอนไซม์แดง โดยผ่านกระบวนการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ (85 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) พบว่า น้ำเอนไซม์ดำที่ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 80.4 กิโลแคลอรี มีปริมาณองค์ประกอบของอาหารเบื้องต้น คือ ความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน โยใยอาหาร และเถ้า คิดเป็น 79.20, 0.00, 20.10, 0.51 1.25 และ 0.72 ตามลำดับ อีกทั้งพบปริมาณน้ำตาลสูงถึง ร้อยละ

15.8 พบวิตามิน C 12.37 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง และพบวิตามิน B1 และ B2 ในปริมาณน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม ในขณะที่ไม่พบปริมาณวิตามิน A นอกจากนี้พบแร่ธาตุแคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม โซเดียม ฟอสฟอรัส และสังกะสี ในปริมาณ 22.5, 0.07, 52.9, 0.40, 34.60, 0.27 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 2 โดยพบว่าเมื่อนำมาดำเข้าสู่กระบวนการคั้นน้ำจนได้เป็นน้ำมาดำ พบว่า น้ำมาดำ 100 มิลลิลิตร ให้พลังงาน 80.00 กิโลแคลอรี มีความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดรวมใยอาหาร ใยอาหาร โปรตีน เท่ากับ 80.30, 0.00, 20.00, 0.53, <0.12 กรัม ตามลำดับ และเมื่อนำน้ำมาดำเข้าสู่กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ได้เป็นน้ำมาดำแท้ พบว่า ให้พลังงานมากขึ้น เป็น 80.4 กิโลแคลอรี อาจเนื่องมาจากกระบวนการให้ความร้อนในขั้นตอนการต้มฆ่าเชื้อทำให้น้ำบางส่วนระเหยไป เห็นได้จาก ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดรวมใยอาหารเพิ่มขึ้นเป็น 20.10 กรัม ส่วนวิตามิน ได้แก่ วิตามิน A, B1 และวิตามิน B2 พบว่ามีปริมาณลดลงเล็กน้อย ในขณะที่ วิตามิน C ลดลงสูงมาก คิดเป็น ร้อยละ 43.57 ส่วนแร่ธาตุ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม โซเดียม ฟอสฟอรัส สังกะสี และกรดเพนโทเทนิคพบการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

จากผลการทดลองใน Table 3 พบว่า น้ำมาดำ 100% หรือน้ำมาดำแท้ก่อนพาสเจอร์ไรส์และหลังการพาสเจอร์ไรส์ ให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบกับ

ความสามารถของวิตามินซี ให้ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการ FRAP ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) และค่าสีที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แสดงว่าการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำมาดำในด้านค่าสี ค่าทางเคมี และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่ยังพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี มีค่าลดลง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรส์ คือ 93.28 และ 93.04 mg ascorbic acid/L ตามลำดับ และฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการ FRAP ก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรส์ คือ 892.59 และ 885.88 $\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$ ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) จาก 137.99 เป็น 129.43 mg GAE/100 mL ตามลำดับ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการให้ความร้อนในกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ ส่งผลให้สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น lactic acid, tartaric acid, malic acid, gallic acid, caffeic acid, ellagic acid และ anthocyanin เป็นต้น สูญเสียสภาพ ส่งผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง การลดลงอาจเนื่องมาจากแอนโทไซยานินที่เป็นสารประกอบฟีนอลและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ ไม่เสถียร จึงสลายตัวได้ง่ายเมื่อได้รับความร้อน ออกซิเจน และแสง [13]

Table 1 The physico-chemical properties, phenolic contents and antioxidant activity of the black and red Mao Luang juice

Quality values	Black Mao juice	Red Mao juice
Moisture content (%)	85.38 $\pm$ 0.04	94.29 $\pm$ 0.05
Water activity (a_w)	0.99 $\pm$ 0.03	1.00 $\pm$ 0.09
L*	0.24 $\pm$ 0.19	11.46 $\pm$ 0.53
a*	0.42 $\pm$ 0.18	38.58 $\pm$ 0.23
b*	-0.10 $\pm$ 0.14	17.06 $\pm$ 0.34
C*	0.43 $\pm$ 0.16	42.19 $\pm$ 0.28
h°	350.02 $\pm$ 0.53	23.85 $\pm$ 0.43
phenolic contents (mg GAE/100 mL)	111.63 $\pm$ 0.50	16.36 $\pm$ 2.43
DPPH (mg ascorbic acid/L)	275.68 $\pm$ 1.31	240.15 $\pm$ 0.59
FRAP ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$)	737.52 $\pm$ 1.58	251.66 $\pm$ 0.15

Table 2 Nutritional values of 100 mL of black Mao juice and Pure Mao juice (100%)

Nutritional values	Black Mao Juice	Pure Mao juice (100%)
Energy (Kcal)	80.00	80.4
Moisture (g)	80.30	79.20
Fat (g)	0.00	0.00
total carbohydrates (g)	20.00	20.10
Crude fiber (g)	0.53	0.51
Protein (g)	< 1.25	< 1.25
Ash (g)	0.69	0.72
Sugar (g)	15.65	15.80
Vitamin A (ug RE)	Not Detected	Not Detected
Vitamin B1 (mg)	< 0.01	< 0.01
Vitamin B2 (mg)	< 0.01	< 0.01
Vitamin C (mg)	12.37	6.98
Calcium (mg)	22.5	20.00
Iron (mg)	0.10	0.07
Magnesium (mg)	53.25	52.9
Sodium	0.45	0.40
Phosphorus (mg)	35.12	34.60
Zinc (mg)	0.29	0.27
Pantothenic acid (mg)	0.97	0.82

Table 3 Changes in physico-chemical properties and antioxidant activity of pure Mao Juice (100%) during processing (pasteurization at 85°C for 20 minutes)

Quality values	Before Pasteurization	After Pasteurization
Color		
L* ^{ns}	0.34±0.04	0.30±0.03
a* ^{ns}	0.50±0.05	0.41±0.06
b* ^{ns}	0.12±0.06	0.09±0.08
C* ^{ns}	0.52 ±0.04	0.48±0.08
h° ^{ns}	344.64±14.15	338.95±11.38
Chemical contents		
Titrateable acidity (%) ^{ns}	0.82±0.04	0.77±0.04
pH ^{ns}	3.02±0.02	3.05±0.01
Total soluble solid (°Brix) ^{ns}	15.66±0.30	16.73±0.11
Phenolic contents (mg GAE/100 mL)	137.99 ^a ±18.69	129.43 ^b ±4.54
Antioxidant activity; DPPH (mg ascorbic acid/L) ^{ns}	93.28±0.12	93.04±0.37
FRAP (μM FeSO ₄ /L) ^{ns}	892.59± 6.01	885.88±0.96

^{a,b} different superscript letters for each parameter in a row indicate significant difference at P<0.05; ^{ns} not significant difference at P≥0.05

จากผลการทดลองใน Table 4 พบว่า น้ำเฒ่าเข้มข้น ที่มีปริมาณน้ำเฒ่าต่ำผสมร้อยละ 30 ก่อนพาสเจอร์ไรส์และความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid) ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) นอกจากนี้น้ำเฒ่าเข้มข้นเข้าสู่กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ (อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที) พบว่า น้ำเฒ่าเข้มข้นมีสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) จาก 37.22 mg GAE/100 mL เป็น 46.95 mg GAE/100 mL อาจเป็นผลมาจากกระบวนการใช้ความร้อนไปทำลายผนังเซลล์ของโครงสร้างพืชและส่วนผสมของน้ำตาลซูโครส ซึ่งจะถูกละลายด้วยความร้อนร่วมกับสภาวะเป็นกรด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างสารพฤษเคมีที่ซับซ้อนให้กลายเป็นโครงสร้างในรูปอนุพันธ์ต่าง ๆ หรือการรวมตัวกันเกิดโครงสร้างอนุพันธ์ของสารพฤษเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้มากขึ้น [14] ผลจากการกล่าวนั้น ส่งผลให้ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธี FRAP ที่เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ซึ่งเป็นสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอน [15] ทำให้ฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการ FRAP มีค่าเพิ่มสูงขึ้น แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) แสดงว่าในผลิตภัณฑ์น้ำเฒ่าเข้มข้นมีแนวโน้มการเกิดริ้วหรือมีการให้อิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้ พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง จาก 69.68 mg ascorbic acid/L เป็น 44.99 mg ascorbic acid/L เนื่องจากอาจเกิด

หลังการพาสเจอร์ไรส์ ให้คุณภาพทางกายภาพค่าสี และคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณกรด (%Titratable acidity) การรีดิวซ์หรือการรวมตัวกันของสารพฤษเคมี (ที่กล่าวมาข้างต้น) ทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระลดลง [14] ส่งผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลงเช่นกัน ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับน้ำเฒ่าพร้อมดื่มใน Table 5

ไวน์เฒ่าที่ผ่านการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลาประมาณ 2 สัปดาห์ บ่มต่อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสประมาณ 3-6 เดือน นำมาบรรจุขวดแล้วศึกษาอายุการเก็บที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจ วัดค่าทุก 1 เดือน เป็นเวลานาน 6 เดือน ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) assay และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay จาก Figure 1 พบว่า ระหว่างการเก็บรักษาใน 2 เดือนแรก ค่าสี L^* และ C^* มีค่าลดลง นั้นแสดงว่าสีของไวน์เฒ่ามีความสว่างลดลงหรือมีสีที่เข้มขึ้น และคุณภาพทางเคมี Titratable acidity (%) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) Total soluble solid ($^{\circ}$ Brix) และแอลกอฮอล์ (%) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (mg ascorbic acid/L) และสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/100 mL) ตลอดจนการเก็บรักษาเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP (μ M $FeSO_4/L$) มีปริมาณลดลงในระหว่างการเก็บรักษา

Table 4 Changes in physico-chemical properties and antioxidant activity of Mao squash processing (pasteurization at 85°C for 20 minutes)

Quality values	Before Pasteurization	After Pasteurization
Color		
L^* ns	4.02±0.77	4.77±0.30
a^* ns	9.42±4.15	10.61±1.36
b^* ns	3.70±0.69	4.99±0.61
C^* ns	10.16±4.08	11.72±1.50
h° ns	330.18±0.95	325.20±0.40
Chemical contents		
Titratable acidity (%) ns	0.72±0.06	0.78±0.04
pH ns	2.49±0.00	2.44±0.01
Total soluble solid ($^{\circ}$ Brix) ^{ns}	39.76±0.05	42.86±0.11
Phenolic contents (mg GAE/100 mL)	37.22 ^b ±4.24	46.95 ^a ±2.33
Antioxidant activity; DPPH (mg ascorbic acid/L)	69.68 ^a ±1.00	44.99 ^b ±1.19
FRAP (μ M $FeSO_4/L$) ^{ns}	849.11± 0.61	851.45± 4.16

^{ab} different superscript letters for each parameter in a row indicate significant difference at $P < 0.05$; ^{ns} not significant difference at $P \geq 0.05$

Table 5 Changes in physico-chemical properties and antioxidant activity of ready to drink Mao Juice (30%) during processing (pasteurization at 85°C for 20 minutes)

Quality values	Before Pasteurization	After Pasteurization
color		
L* ^{ns}	3.66±2.23	6.55±1.11
a*	9.53 ^b ±8.23	18.79 ^a ±2.58
b*	3.43 ^b ±2.27	7.33 ^a ±1.44
C*	10.37 ^b ±8.09	20.17 ^a ±2.91
h° ^{ns}	304.52±22.00	321.19±1.59
Chemical contents		
Titrateable acidity (%) ^{ns}	0.55±0.03	0.56±0.04
pH ^{ns}	2.66 ±0.005	2.66 ±0.01
Total soluble solid (°Brix) ^{ns}	14.53±0.11	14.73±0.11
Phenolic contents (mg GAE/100 mL)	33.52 ^b ±2.72	37.79 ^a ±2.67
Antioxidant activity; DPPH (mg ascorbic acid/L)	51.37 ^a ±1.71	40.34 ^b ±2.11
FRAP (μM FeSO ₄ /L) ^{ns}	846.32± 4.39	838.52± 19.54

^{a,b} different superscript letters for each parameter in a row indicate significant difference at P<0.05; ^{ns} not significant difference at P≥0.05

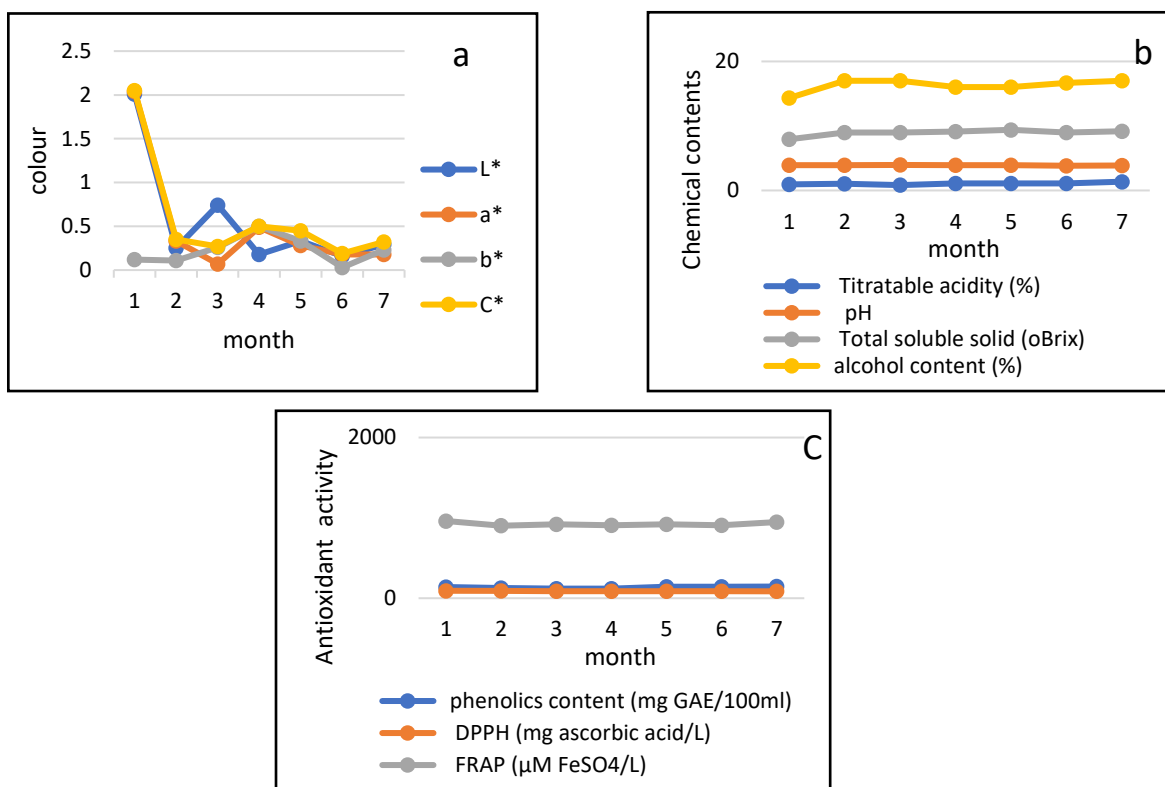


Figure 1 (a) Color (L*, a*, b* and C*), (b) chemical contents (titratable acidity, pH, total soluble solid and alcohol content) and (c) phenolics content and antioxidant activity

4. บทสรุป

เมื่อนำผลมาเข้าสู่กระบวนการคั้นน้ำจนได้เป็นน้ำเฒ่าดำ และน้ำเฒ่าแดง ซึ่งน้ำเฒ่าแดง มีความชื้น water activity (aw) ค่าสี ค่าสี (L* a* b* C* h°) เท่ากับ 94.29, 1.00, 0.24, 0.42, -0.10, 0.43, 350 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำเฒ่าดำมีความชื้น water activity (aw) ค่าสี ค่าสี (L* a* b* C* h°) เท่ากับ 94.29, 1.00, 11.46, 38.58, 17.06, 42.19, 23.85 ตามลำดับ ซึ่งน้ำเฒ่าแดงและดำให้เฉดสีแดงไปจนถึงม่วงแดง นอกจากนี้พบว่าในน้ำเฒ่าดำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) เทียบกับวิตามินซี และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (FRAP) สูงกว่าน้ำเฒ่าแดง โดยมีค่าเท่ากับ 111.63 mg GAE/100 mL, 275.68 mg ascorbic acid/L, และ 737.52 $\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$ ตามลำดับ ยังพบอีกว่า น้ำเฒ่าดำ 100 มิลลิกรัม ให้พลังงาน 80.00 กิโลแคลอรี มีความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรตทั้งหมดรวมใยอาหาร ใยอาหาร โปรตีน เท่ากับ 80.30, 0.00, 20.00, 0.53, <01.2 กรัม ตามลำดับ

เมื่อนำน้ำเฒ่าดำเข้าสู่กระบวนการพาสเจอร์ไรส์ได้เป็นน้ำเฒ่าแท้ พบว่า ให้พลังงานมากขึ้น เป็น 80.4 แคลอรี มีปริมาณองค์ประกอบของอาหารเบื้องต้น คือ ความชื้น ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ใยอาหาร และเถ้า คิดเป็น 79.20, 0.00, 20.10, 0.51 1.25 และ 0.72 ตามลำดับ อีกทั้งพบปริมาณน้ำตาลสูงถึง ร้อยละ 15.8 พบวิตามินซี 12.37 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง และพบวิตามิน B1 และ B2 ในปริมาณน้อยกว่า 0.01 มิลลิกรัม นอกจากนี้พบแร่ธาตุ แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม โซเดียม ฟอสฟอรัส และสังกะสี ในปริมาณ 22.5, 0.07, 52.9, 0.40, 34.60, 0.27 ตามลำดับ

ทั้งนี้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดรวมใยอาหาร เพิ่มขึ้นเป็น 20.10 กรัม ส่วนวิตามิน ได้แก่ วิตามิน A, B1 และ B2 พบว่ามีปริมาณลดลงเล็กน้อย ในขณะที่เกิดการสูญเสียวิตามิน C สูงมาก คิดเป็นร้อยละ 43.57 ส่วนแร่ธาตุ

ส่วนผลิตภัณฑ์น้ำเฒ่าเข้มข้นที่มีปริมาณน้ำเฒ่าดำผสม ร้อยละ 30 เมื่อผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรส์มีสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น 46.95 mg GAE/100 mL ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง เท่ากับ 44.99 mg ascorbic acid/L ในขณะที่ให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธีการ FRAP 851.45 $\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$ ที่ให้ผลใกล้เคียงกับน้ำเฒ่าพร้อมดื่มที่มีสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/100 mL), ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (mg ascorbic acid/L) และฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

ด้วยวิธี FRAP ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$) เท่ากับ 37.79, 40.34b และ 838.5 ตามลำดับ

นอกจากนี้ น้ำเฒ่าเข้มข้นและน้ำเฒ่าพร้อมดื่มมีความเป็นกรดต่าง (pH) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid) และค่าสี ที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ

ดังนั้น การให้ความร้อนด้วยกระบวนการพาสเจอร์ไรส์ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์จากน้ำเฒ่า (น้ำเฒ่าแท้ (100%), น้ำเฒ่าเข้มข้น และน้ำเฒ่าพร้อมดื่ม (30%) ในด้านค่าสี คุณภาพทางเคมี และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธีการ FRAP ช่วยคงคุณภาพและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์น้ำเฒ่าในระดับที่ยอมรับได้

นอกจากนี้ คุณภาพของไวน์เฒ่าที่ไม่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเก็บรักษานาน 6 เดือน ในระหว่างการเก็บรักษา ใน 2 เดือนแรก ค่าสี L* และ C* มีค่าลดลง ทำให้ไวน์เฒ่ามีสีที่เข้มข้น และคุณภาพทางเคมี Titratable acidity (%) ความเป็นกรดต่าง (pH) Total soluble solid (°Brix) และแอลกอฮอล์ (%) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH (mg ascorbic acid/L) สารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/100 mL) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วย วิธี FRAP ($\mu\text{M FeSO}_4/\text{L}$) ตลอดการเก็บรักษาเกิดการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ดังนั้นผลิตภัณฑ์จากน้ำเฒ่าทั้ง 4 ผลิตภัณฑ์ อาทิ น้ำเฒ่าแท้ (100%), น้ำเฒ่าเข้มข้น, น้ำเฒ่าพร้อมดื่ม (30%) และไวน์เฒ่า ที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนและไม่ให้ความร้อน ส่งผลต่อคุณภาพด้านค่าสี คุณภาพด้านเคมี และมีสารประกอบฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ด้วยวิธี FRAP ที่ช่วยคงคุณภาพและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์น้ำเฒ่าในระดับที่ยอมรับได้

5. References

- [1] Kumklang, A. and Sangkaew, W. 2000. **The Invention of Products from the Mao**. Bangkok: Khurusapha. (in Thai)
- [2] Butkhup, L. and Samappito, S. 2008. Analysis of anthocyanin, flavonoids, and phenolic acids in tropical bignay berries. **International Journal of Fruit Science**. 8(1-2): 15-34.
- [3] Hemathulin, S. and Sombun, K. 2015. The functional Mao (*Antidesma bunius*) jelly drink with mucilage, biological extracts from hairy basil seed. **Khon Kaen Agriculture Journal**. 43(Suppl. 1): 299-304. (in Thai)
- [4] Wilhelmina, K. 2006. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science** 70(1): R11-R19.
- [5] Morarach, A. and Hemathulin, S. 2021. Physical properties, phenolic contents and antioxidant activity of Mao Luang. **Journal of Science and Technology, Ubon Ratchathani University**. 23(3): 70-79. (in Thai)
- [6] Ferreira, V.B. and et al. 2015. Total phenolic compounds and antioxidant activity of organic vegetables consumed in Brazil. **Food and Nutrition Sciences**. 6(9): 798-804.
- [7] Schmidt, M., John, W.J. and Mary, A. 2006. Effects of food processing on blueberry antiproliferation and antioxidant activity. **Journal of Food Science**. 70(6): 389-394.
- [8] Eichhorn, S. and Winterhalter, P. 2005. Antocyanins from pigmentrd potato (*Solanum tuberosum* L.) varieties. **Food Research International**. 38: 943-948.
- [9] Wichana, W., Songsri P. and Sripui, J. 2017. Evaluation of genetic diversity in Mameo luang (*Antidesma thwaitesianum* Muell. Arg.). **Khon Kaen Agriculture Journal**. 45(1): 15-24. (in Thai)
- [10] Krongyut, O. and Sutthanut, K. 2019. Phenolic profile, antioxidant activity, and anti-obesogenic bioactivity of Mao Luang fruits (*Antidesma bunius* L.). **Molecules**. 24(22): 4109.
- [11] Butkhup, L. 2012. Dietary polyphenols and their biological effects. **Journal of Science and Technology, Mahasarakham University**. 31(4): 443-445. (in Thai)
- [12] Promkhan, S., Sappaso, S. and Saythi, S. 2008. Effect of vacuum drying conditions on Mao powder quality. In: **Proceedings of the 5th Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus Conference**, 8-9 December 2008. Nakhon Pathom, Thailand. (in Thai)
- [13] Jongjitt, K. and et al. 2017. Determination of antioxidant, total phenolic compounds and facial cream formulation from *Antidesma bunius* extract. **Isan Journal of Pharmaceutical Sciences**. 13(Suppl.): 209-218.
- [14] Potisate, Y. and Wutthinithisanand, N. 2021. Type and sucrose content on antioxidant activity of mulberry jam. **King Mongkut's Agricultural Journal**. 39(2) : 165-171.
- [15] Cushnie, B. and et al. 2018. Alpha-amylase inhibition and antioxidant activities of ethanolic crude extract of *Ficus racemosa* Linn. fruit. **Thai Science and Technology Journal**. 27(5): 951-963. (in Thai)