

นิพนธ์ต้นฉบับ

ผลของน้ำผึ้งต่อการรักษาคุณสมบัติของสารแอนโทไซยานิน วิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ในน้ำลูกหม่อนเนกต้าศรศักดิ์ พันเกาะ⁽¹⁾, รัฐพล ไกรกลาง^{(2)*}

วันที่ได้รับต้นฉบับ: 12 กันยายน 2565

บทคัดย่อ

วันที่ตอบรับการตีพิมพ์: 10 ตุลาคม 2565

* ผู้รับผิดชอบบทความ

(1) นักศึกษาหลักสูตรสาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาโภชนศาสตร์เพื่อสุขภาพ

คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(2) สาขาวิชาการบริหารสาธารณสุข การส่งเสริมสุขภาพ

โภชนาการ คณะสาธารณสุขศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ณ ปัจจุบันประชาชนให้ความสนใจเลือกบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น ผักและผลไม้จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจนำมาแปรรูปเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค น้ำผลไม้เนกต้าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยม โดยมีการเติมสารให้ความหวานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา รวมทั้งช่วยให้สารที่มีประโยชน์ เช่น สารฟลาโวนอยด์ต่างๆ ในผลิตภัณฑ์มีความเสถียรมากขึ้น ถึงแม้ว่าสารให้ความหวานที่นำมาใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมอาหารจะได้รับรองความปลอดภัย แต่อาจจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวได้ การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลของสารทดแทนความหวานระหว่างน้ำผึ้งและแซ็กคาริน ที่เติมลงในน้ำลูกหม่อนผงสกัดหยาบ ในแง่ของการรักษาสารแอนโทไซยานิน วิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิในการเก็บรักษา 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วันซึ่งพบว่า ความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 7.5% (H-1) และแซ็กคาริน 0.008% (S-1) ทำให้มีสารแอนโทไซยานินคงอยู่ได้ดีที่สุดคือ 1774.30 ± 31.43 และ 1886.37 ± 27.14 มิลลิกรัม/ลิตร ตามลำดับ และช่วยให้ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินมีอายุที่ยาวขึ้นคือ 83.01 และ 97.83 วัน ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น ความเข้มข้นของสารให้ความหวานดังกล่าวยังช่วยรักษ ปริมาณวิตามินซีได้ที่ 12.99 ± 0.44 และ 6.09 ± 0.12 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร และรักษาฤทธิ์คุณลักษณะในการเก็บกักอนุมูลอิสระ (DPPH•EC₅₀) มีค่า 24.91 ± 0.11 และ 33.67 ± 0.18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ (FRAP assay) พบว่าความเข้มข้นของสารให้ความหวานดังกล่าวมีค่าเท่ากับ 118.44 ± 2.79 และ 163.31 ± 2.64 มิลลิกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร จากข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นสูงสุดของน้ำผึ้ง (7.5%) สามารถรักษาสารสำคัญในน้ำผลไม้เนกต้าได้ ซึ่งให้ผลคล้ายกับความเข้มข้นสูงสุดของแซ็กคาริน (0.008%) ที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ฉะนั้นการนำน้ำผึ้งซึ่งเป็นสารทดแทนความหวานที่พบในธรรมชาติ ทดแทนการใช้สารให้ความหวานประเภทสารสังเคราะห์ในอุตสาหกรรมน้ำดื่มผลไม้ จึงเป็นสิ่งที่ควรตระหนักในแง่ของการลดความเสี่ยงต่อสุขภาพมนุษย์ในกรณีที่มีการใช้อย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน

คำสำคัญ: สารทดแทนความหวาน, น้ำผลไม้เนกต้า, ลูกหม่อน, แอนโทไซยานิน, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Original Article

The Effect of Honey on the Persistence Properties of Anthocyanin Vitamin C and Antioxidant Activity in Mulberry Nectar

Sorasak Phuenko⁽¹⁾, Ratthaphol Kraiklang^{(2)*}

Received Date: September 12, 2022

Accepted Date: October 10, 2022

Abstract

At the present, people are more interested in healthy food choices. Vegetables and fruits are an alternative processed for consumers need. Nectar juice is a popular product with the addition of sweeteners to extend the shelf life as well as protecting of active compounds, such as phytochemicals, in the product more stable. Although the sweeteners used in the food industry are guaranteed to be safe, but may effect on long term human health. The purpose of this study was to compare the effects of sweeteners between honey and saccharin which added to the crude extracted mulberry juice, in terms of the treatment of anthocyanin, vitamin C and antioxidant activity. The experiments were conducted at storage temperatures of 25 to 30°C for 42 days. The results found that the concentration of 7.5% honey (H-1) and 0.008% saccharine (S-1) was able to slow down the decomposition of anthocyanin were 1774.30 ± 31.43 and 1886.37 ± 27.14 mg/L, respectively, and extended the half-life of anthocyanin were 83.01 and 97.83 days, respectively. These concentrations of the sweetener also maintained the vitamin C content at 12.99 ± 0.44 and 6.09 ± 0.12 mg/100 mL, respectively, and the antioxidant scavenging activity (DPPH EC₅₀) was 24.91 ± 0.11 and 33.67 ± 0.18 mg/mL, respectively. For the FRAP assay, the sweetener concentrations were 118.44 ± 2.79 and 163.31 ± 2.64 mg ascorbic acid equivalent/mL, respectively. The data also show that the highest concentration of honey (7.5%) can preserve the active substances in the nectar juice, which is similar to the highest concentration of saccharin (0.008%) used in the food industry. Therefore, the use of honey (which is a substitute for sweetness found in nature) instance of synthetic sweeteners in the fruit juice industry, should be concerned, in terms of reducing the risks to human health in case of long term consumed.

Keywords: Sweetener, Fruit Necta, Mulberry, Anthocyanin, Antioxidant Activity

* Corresponding author

(1) Master of Public Health Student in

Nutrition for Health, Faculty of Public Health,
Khon Kaen University

(2) Department of Public Health Administration,

Health Promotion, and Nutrition,
Faculty of Public Health,
Khon Kaen University

บทนำ

สารแอนโทไซยานิน (anthocyanin) คือ กลุ่มของสารพฤกษเคมี มีสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นองค์ประกอบ มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นรูปร่างวงแหวน และมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่อกับอนุพันธวงแหวนเบนซีน ทำให้เกิดโครงสร้างสารประกอบพื้นฐานคือ สารฟีนอล (Reinisalo et al., 2015) ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) (Alan et al., 1981) ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ (Maria et al., 2004) ลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและเส้นเลือดอุดตันในสมองด้วยการยับยั้งไม่ให้เลือดจับตัวเป็นก้อน (Lien-Ai et al., 2008) ชะลอความเสื่อมของดวงตา (Michael & Arpita, 2008) รวมทั้งช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคท้องร่วงและอาหารเป็นพิษ (Sonia et al., 2008) แอนโทไซยานินพบมากในผักหรือผลไม้ ที่มีสีน้ำเงิน ม่วง เช่น ลูกหม่อน (mulberry) ซึ่งจากการศึกษาพบว่ามีสรรพคุณในการลดน้ำตาลในเลือดโดยช่วยชะลอการย่อยสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในลำไส้เล็ก จึงส่งผลให้ระดับน้ำตาลในเลือดไม่เพิ่มสูงอย่างรวดเร็ว (Maria et al., 2004)

หม่อน หรือมัลเบอร์รี่ (mulberry) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morus spp.* อยู่ในตระกูล Moraceae ซึ่งหม่อนเป็นพืชในเขตกึ่งร้อน เพาะปลูกอยู่ในเอเชียใต้ แก่ กัมพูชา จีน ญี่ปุ่น เกาหลีและไทย (Pisey et al., 2017; Qingxia et al., 2015) มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในฤดูฝน ลูกหม่อนจะมีสารแอนโทไซยานินที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และโรคมะเร็ง (Maria et al., 2004) จึงมีการนำลูกหม่อนไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ รวมทั้งผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ แยม (Pawlowska et al., 2008) ทั้งในรูปแบบผงลูกหม่อน น้ำลูกหม่อนสกัด และน้ำผลไม้ในรูปแบบของ น้ำผลไม้เนกต้า (fruit nectar) ซึ่งหากเป็นการผลิตในระดับโรงงานอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ จำเป็นต้องมีการเติมสารปรุงแต่งอาหาร เพื่อให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ซึ่ง

การเติมสารให้ความหวานก็เป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้เนกต้า (Kübra et al., 2018; Kübra et al., 2020) และยังช่วยชะลอการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินที่มีอยู่ในลูกหม่อนได้อีกด้วย

น้ำผลไม้เนกต้า เป็นผลิตภัณฑ์จากน้ำผลไม้ที่มีการผสม น้ำเปล่า น้ำตาลหรือสารให้ความหวาน หัวเชื้อน้ำผลไม้หรือเนื้อผลไม้เข้มข้น โดยสารให้ความหวานที่เติมลงไปเป็นผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีวัตถุประสงค์เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายและลดปริมาณพลังงานส่วนเกินที่ได้รับจากน้ำตาลทราย ซึ่งสารให้ความหวานที่สังเคราะห์และนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นมีความหวานเทียบเท่ากับน้ำตาลทราย แม้ว่าสารให้ความหวานดังกล่าวที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารของประเทศไทย ได้รับการรับรองว่ามีความปลอดภัย แต่โดยส่วนมากแล้วสารดังกล่าวที่ผลิตขึ้นมานั้นล้วนแต่เป็นสารสังเคราะห์ ซึ่งอาจจะก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้ (ชยันต์ พิเชียรสุทนต์ และวิเชียร จีรวงส์, 2556) การศึกษาในครั้งนี้จึงทำการทดลองโดยนำน้ำผึ้ง ซึ่งเป็นสารให้ความหวานที่พบในธรรมชาติและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Nele et al., 2002; Khalil & Sulaiman, 2010; Mamdouh et al., 2012; Shawn et al., 2009) เป็นอย่างมากเมื่อเทียบกับการบริโภคน้ำตาลทรายขาว (Shawn et al., 2009) โดยนำมาเติมลงในน้ำลูกหม่อนผงสกัดหยาบ ที่ความเข้มข้นต่างๆ เพื่อเปรียบเทียบกับสารให้ความหวานที่ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องดื่ม น้ำผลไม้ คือแซ็กคาริน ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้เป็นสารทดแทนความหวานในลำดับต้นๆ (กองอาหารสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2561) โดยผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าการเติมสารให้ความหวานมีผลต่อการคงอยู่หรือช่วยชะลอการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณ และอัตราคงอยู่ของสารแอนโทไซยานินในน้ำลูกหม่อน ที่เติมสารให้ความหวานชนิดน้ำผึ้งและแซ็กคาริน

2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณวิตามินซี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำลูกหม่อน ที่เติมสารให้ความหวานชนิดน้ำผึ้งและแซกคารีน

วิธีดำเนินการวิจัย

• วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

น้ำผึ้ง จากการเลี้ยงผึ้งด้วยดอกลำไย ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตและจำหน่ายโดยอานาจเจริญฟาร์มผึ้ง ซึ่งถูกผลิต ณ วันที่ 30 พฤษภาคม พ.ศ. 2564 และได้ทำการทดสอบหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิคซ์ (reducing sugar) และมีน้ำตาลซูโครส ในห้องปฏิบัติการ โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 79 ± 1 กรัม/100 กรัม น้ำตาลรีดิคซ์ 75 ± 3 กรัม/100 กรัม และมีน้ำตาลซูโครส 3 ± 2 กรัม/100 กรัม

ลูกหม่อน (ผงสำเร็จรูป พร้อมละลาย) โดยนำเอาผลของลูกหม่อนสดมาทำการคั้นเอาน้ำ เมื่อได้น้ำของลูกหม่อนจึงนำไปเข้าสู่กระบวนการทำแห้งด้วยวิธีแบบแช่เยือกแข็ง (lyophilization) นำผงลูกหม่อนที่ได้ไปเก็บในภาชนะปราศจากความชื้นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

• การเตรียมตัวอย่าง

โดยความเข้มข้นของน้ำผลไม้ลูกหม่อนเมื่อถูกเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์จะมีความเข้มข้น 2.50% (w/v) ในปริมาตร 200 มิลลิลิตร โดยตัวอย่างความเข้มข้นคือ ผงลูกหม่อนที่ถูกละลายด้วยน้ำ (CT) สำหรับน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้ง ซึ่งปริมาณสูงสุดของการศึกษาคือ 1 ซ่อนโตะ หรือ 15 มิลลิลิตร หรือเทียบเป็นน้ำหนักเท่ากับ 21 กรัม หรือ 7.50% (H-1) ซึ่งอ้างอิงตามเอกสารประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 182) พ.ศ.2541 ระบุความเข้มข้นดังกล่าวมีค่าเท่ากับ “หนึ่งหน่วยบริโภค” และได้ทำการเตรียมสารละลายน้ำผึ้งอีก 2 ระดับเพื่อศึกษาความแตกต่าง คือ 3.75% (H-2) และ 2.50% (H-3) (สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2564) ส่วนตัวอย่างน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่เติมสารแซกคารีน ซึ่งปริมาณสูงสุดของการศึกษาคือ 0.008% (S-1) โดยปริมาณดังกล่าวอ้างอิงจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 389 พ.ศ. 2561 เรื่องวัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 5) และได้ทำการ

เตรียมสารละลายแซกคารีนความเข้มข้นอีก 2 ระดับเพื่อศึกษาความแตกต่าง คือ 0.004% (S-2) และ 0.0027% (S-3) (สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2564) จากนั้นทำการเก็บรักษาตัวอย่างทั้งหมดที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ 20-30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 42 วัน โดยวันที่ 0, 28, และ 42 วัน จะถูกนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานิน วิตามินซี ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ทั้งนี้เมื่อครบ 42 วัน จะนำไปคำนวณหาอัตราการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตเพื่อทำนายถึงแนวโน้มของการคงอยู่ของสารแอนโทไซยานินต่อไป

• การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวม (Total anthocyanin content)

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวมในตัวอย่างสารสกัดโดยวิธี pH-differential method จากวิธีการของ The Association of Official Analytical Chemists (AOAC 2005.02 2019) รายงานผลให้อยู่ในรูปแบบมิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/กรัมสารสกัด นำตัวอย่างดูมาหลอดละ 1,000 ไมโครลิตร จำนวน 2 หลอด จากนั้นเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.025 โมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์ (pH=1.0) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแรก และเติมสารละลายบัฟเฟอร์ 0.4 โมลาร์ โซเดียมอะซิเตท (pH=4.5) ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่สอง เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้งและคำนวณให้อยู่ในรูปแบบมิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/กรัมสารสกัด คำนวณได้ดังสมการ

ปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินรวม (mg/L) =

$$[(A \times MW \times DF \times 1000) / (\epsilon \times 1)]$$

A คือ $[(A_{520nm} - A_{700nm})$ บัฟเฟอร์ pH=1.0] - $[(A_{520nm} - A_{700nm})$ บัฟเฟอร์ pH=4.5]

MW คือ 442.9 กรัม/โมลไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์

ϵ คือ molar extinction coefficient = 26,900, (ลิตร/โมล/เซนติเมตร)

1000 คือ การเปลี่ยนหน่วยจากกรัมเป็นมิลลิกรัม

$$DF \quad \text{คือ} \quad \frac{200}{5} \times \frac{9}{1} = 360$$

• การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีรวม (Total Vitamin C content)

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีทั้งหมดในน้ำลูกหม่อน (Compendium of Methods for Foods., 2003) โดยนำตัวอย่างมากรองด้วย PVDF ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และนำไปวิเคราะห์โดยเครื่อง HPLC (รุ่น Agilent HP 1100) โดยใช้ Column: 5 ไมโครเมตร Lichrocard lichrospher 100RP 18 ขนาด 125 × 4 มิลลิเมตร พร้อม guard column ทำการวิเคราะห์ภายใต้สภาวะดังต่อไปนี้

Mobile phase: 0.408 กรัม KH_2PO_4 ใน 0.35% (v/v) H_3PO_4

Detector: UV ที่ 248 นาโนเมตร

Flow rate: 0.4 มิลลิลิตร/นาที

Injection Volume: 50 ไมโครลิตร

Run time: 10 นาที

Column temperature: 25 องศาเซลเซียส

คำนวณจากสมการ $y = ax + b$ ($r^2 \geq 0.995$)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Abs)

a คือ Slope

x คือ ความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ($\mu\text{g/mL}$)

b คือ Intercept

วิตามินซีทั้งหมด (mg/100 g) =

$$\frac{\left[\frac{(C_{\text{sample}} \times 10 \times 1000)}{50} \right] \times 0.001 \times 100}{1}$$

C_{sample} คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างในปริมาตร 50 ไมโครลิตร มีหน่วย (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

$\frac{10 \times 1000}{50}$ คือ factor เปลี่ยนหน่วยจากปริมาตร 50 ไมโครลิตร เป็น 10 มิลลิลิตร

$\frac{0.001 \times 100}{1}$ คือ factor เปลี่ยนหน่วยจาก ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็น มิลลิกรัม/100 กรัม

• การวิเคราะห์หาการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี

DPPH assay

ดัดแปลงจากวิธี DPPH assay (Shimamura et.al, 2014) โดยนำตัวอย่างของน้ำลูกหม่อนที่ผสมสารทดแทนความหวานแต่ละชนิด มาเจือจางเพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 5 ความเข้มข้น ดังนี้ 5, 10, 15, 20 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และแทนตัวแปรดังนี้

A_e ปีเปตสารตัวอย่างมา 350 ไมโครลิตร

A_o ส่วน Blank คือสารเอทานอล 350 ไมโครลิตร

จากนั้นเติม DPPH 3,150 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งที่ไว้ในที่มืดอย่างน้อย 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

$$\text{ร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ} = ((A_o - A_e) / A_o) \times 100$$

A_o คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่เป็นตัวอย่าง Blank

A_e คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

• การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย

FRAP assay

ดัดแปลงจากวิธี FRAP assay (Li et.al, 2006) โดยการเตรียมสาร FRAP reagent ในอัตราส่วน A:B:C = 10:1:1

- สารละลาย 0.3 โมลาร์ (acetate buffer pH 3.6)

(A)

- สารละลาย Iron(III) chloride hexahydrate

($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) 0.02 โมลาร์ (B)

- สารละลาย TPTZ 0.01 โมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริก

0.04 โมลาร์ (C)

จากนั้นนำตัวอย่างมาเตรียมความเจือจาง 3 ระดับ ความเข้มข้นและแทนตัวแปรดังนี้

สารละลาย คือ ปีเปตน้ำกลั่น 315 ไมโครลิตร

ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่ถูกการเจือจาง 3 ความเข้มข้น ที่ 15, 20 และ 25 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปีเปตมา 315 ไมโครลิตร

สารมาตรฐาน คือ สารมาตรฐานในการวิเคราะห์โดยการเตรียมสาร L-Ascorbic acid ที่ 5 ระดับความเข้มข้นคือ 0, 10, 20, 30, 40, และ 50 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปีเปตมา 315 ไมโครลิตร

จากนั้นเติมสาร FRAP reagent 3,185 ไมโครลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ l-ascorbic acid เป็นสารมาตรฐานและค่า FRAP value คำนวณได้โดยอยู่ในหน่วย ไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตรสารสกัด และคำนวณ FRAP assay (ไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตรสารสกัด) จากสมการ $y = ax + b$ ($r^2 \geq 0.995$)

y คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Abs) = สารละลาย - ตัวอย่าง - และสารมาตรฐาน

x คือ ความเข้มข้นของ l-ascorbic acid ในหน่วย ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

a คือ Slope

b คือ Intercept

● การวิเคราะห์หาปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่าง ใน น้ำผลไม้ลูกหม่อน

การวัดความเป็นกรด-ด่าง ในตัวอย่างโดยใช้เครื่อง pH Meter โดยทำการทวนสอบเครื่องมือ (Calibrate) ด้วย สารละลายบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิประมาณ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ 2 จุดที่ค่า pH 4.01 และ 7.00 ฉีดล้างหัววัดให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นและซับให้แห้งด้วยทิชชู เพื่อเป็นการทวนสอบเครื่องมือก่อนการใช้งาน จากนั้นนำตัวอย่างที่อุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ 20-30 องศาเซลเซียส และกวนตัวอย่างตลอดเวลาด้วยเครื่องกวนสาร (Magnetic stirrer) ซึ่งในขณะวัด ค่าที่วัดได้จะแสดงบนเครื่องวัด จากนั้นทำการบันทึกค่าที่ได้ และทำการวัด 3 ซ้ำ ต่อจำนวนตัวอย่าง

● การวิเคราะห์หาอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินและค่าครึ่งชีวิต

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น

แอนโทไซยานิน ($\ln[A]$) และเวลา เพื่อคำนวณหาอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (the first order kinetic constant, k) (Kirca & Cemeroglu. 2003)

สมการ

$$A_t - A_0 = -kt \text{ (zero order reaction model)} \quad (1)$$

$$\ln(A_t/A_0) = -kt \text{ (first order reaction model)} \quad (2)$$

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln[k]$ และ $1/T$ และจึงคำนวณค่าเวลาที่ทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินลดลงครึ่งหนึ่ง (half - life, $t_{1/2}$)

สมการ

$$t_{1/2} = -\ln 0.5/k \quad (3)$$

● สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาครั้งนี้ ตัวอย่างแต่ละตัวอย่างทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ($n=3$) ต่อรายการทดสอบ จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm S.D.$) พร้อมทั้งนำผลการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA และทดสอบหาความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ด้วยโปรแกรม SPSS V.28

ผลการวิจัย

● ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมในน้ำผลไม้ลูกหม่อน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมในตัวอย่างน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่ถูกเติมสารให้ความหวานทั้งสองชนิดในระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกันและเก็บรักษาตัวอย่างในระยะเวลา 42 วัน ณ วันแรก (Day 0) พบว่า ตัวอย่างน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่มีปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมมากที่สุดได้แก่ น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้ง 7.5% ($3,619.14 \pm 18.47$ มิลลิกรัมสมมูลไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตร) ส่วนวันที่ 28 และ 42 พบว่าลูกหม่อนที่ถูกเติมสารแซ็กคาริน 0.008% มีปริมาณแอนโทไซยานินรวมมากที่สุด ($2,841.48 \pm 14.15$ และ $1,886.37 \pm 27.14$ มิลลิกรัมสมมูลไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตร ตามลำดับ) สำหรับน้ำลูกหม่อนที่ถูกเติมน้ำผึ้ง พบว่าที่ความเข้มข้น 7.5% สามารถรักษาปริมาณแอนโทไซยานินรวมได้ดี

ที่สุดทั้งในวันที่ 28 และ 42 ($2,382.79 \pm 36.8$ และ $1,774.30 \pm 31.43$ มิลลิกรัมสมมูลไฮยานินดิน-3-กลูโคไซด์/ลิตร ตามลำดับ) (ตารางที่ 1 และภาพที่ 1)

● อัตราการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของสารแอนโทไฮยานินในน้ำผลไม้ลูกหม่อน

การคำนวณหาอัตราการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของสารแอนโทไฮยานินในน้ำผลไม้ลูกหม่อน โดยนำเอาข้อมูลจากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไฮยานินมาคำนวณหาปฏิกิริยาอันดับศูนย์ (zero order reaction) และปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (first-order reaction) จากนั้นได้ทำการวิเคราะห์หาค่าครึ่งชีวิตของสารแอนโทไฮยานิน ซึ่งจากค่าครึ่งที่คำนวณได้พบว่า น้ำลูกหม่อนที่มีสารแทรกคาร์ความเข้มข้น 0.008% มีค่าที่ดีที่สุด คือ 97.83 วัน หรือ 3.26 เดือน ในขณะที่น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% ให้ค่าครึ่งชีวิตของสารแอนโทไฮยานินเท่ากับ 83.01 วัน หรือ 2.77 เดือน (ตารางที่ 2)

● ปริมาณวิตามินซี (L-Ascorbic acid)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไฮยานินรวมในตัวอย่างน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่ถูกเติมสารให้ความหวานทั้งสองชนิด ณ วันที่ 0 พบว่า ตัวอย่างน้ำผลไม้ลูกหม่อนที่มีปริมาณวิตามินซีมากที่สุดได้แก่ น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% (46.09 ± 0.45 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/100 มิลลิลิตร) ส่วนวันที่ 28 พบว่า น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% และ 2.5% มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุดในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (16.50 ± 0.11 และ 16.54 ± 0.14 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ) และในวันที่ 42 น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% มีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด (12.99 ± 0.44 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/100 มิลลิลิตร) (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 2)

● ความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำผลไม้ลูกหม่อน

จากการเก็บข้อมูลทั้ง 42 วันพบว่า ณ วันที่ 28 น้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% (ค่า pH 3.62 ± 0.01) สามารถรักษาความเป็นกรด-ด่างได้มากที่สุด และใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม (3.65 ± 0.01) แต่เมื่อระยะเวลาครบ 42

วันกลับพบว่า ตัวอย่างควบคุมมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ต่ำที่สุดและพบว่า น้ำลูกหม่อนที่ผสมแซกคารีนความเข้มข้น 0.0027% สามารถรักษาความเป็นกรดต่างได้ดีที่สุด (3.63 ± 0.01) ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับน้ำลูกหม่อนที่ผสมน้ำผึ้งความเข้มข้น 2.5% (3.60 ± 0.01) (ตารางที่ 4 และ ภาพที่ 3)

● ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำผลไม้ลูกหม่อน

เมื่อพิจารณาจากค่า EC_{50} จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ซึ่งจะบอกถึงฤทธิ์ในการเก็บกักอนุมูลอิสระ ณ วันที่ 28 และ 42 พบว่าน้ำลูกหม่อนที่เติมน้ำผึ้งความเข้มข้น 7.5% ให้ค่าในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด (6.26 ± 0.01 และ 24.91 ± 0.11 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) (ตารางที่ 5 และภาพที่ 4) สำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระ ณ วันที่ 28 พบว่าน้ำลูกหม่อนที่ผสมน้ำผึ้งทั้ง 3 ความเข้มข้น และน้ำลูกหม่อนผสมแซกคารีนที่ความเข้มข้น 0.0027% มีค่าที่สูงสุดใกล้เคียงกัน (200.00 ± 4.38 ถึง 204.04 ± 0.77 ไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร) แต่เมื่อตรวจวัด ณ วันที่ 42 กลับพบว่า น้ำลูกหม่อนผสมแซกคารีนความเข้มข้น 0.008% มีค่าที่สูงที่สุด (163.31 ± 2.64 ไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร) (ตารางที่ 6 และภาพที่ 5)

บทสรุปและอภิปรายผล

การทดสอบในครั้งนี้ เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับผู้สนใจในการผลิตน้ำผลไม้ โดยผลการทดลองเป็นเพียงการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสารสำคัญอย่างเช่น สารแอนโทไฮยานินในลูกหม่อนเมื่อถูกแปรรูปอยู่เป็นน้ำผลไม้เนคต้า โดยมีการเติมสารให้ความหวานในระดับปริมาณสารอาหารที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน จึงทำให้สารแอนโทไฮยานินคงอยู่ได้ดีกว่าการที่ไม่ได้เติมสารให้ความหวาน เมื่อถูกเติมด้วยแซกคารีน (0.008% w/v) นั้นจะมีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 87.53 ถึง 97.83 วัน และถ้าเติมน้ำผึ้ง (7.50% w/v) มีค่าครึ่งชีวิตประมาณ 80.31 ถึง 83.01 วัน จะเห็นได้ว่าสารให้ความหวานทั้งสองชนิดล้วนช่วยชะลอการสลายตัวของสารแอนโทไฮยานินและส่งผลต่ออัตราการสลายตัวช้าลงของสารแอนโทไฮ

ยานินอีกด้วย ซึ่งจากเปรียบเทียบประสิทธิภาพดังกล่าวในสารให้ความหวาน 3 ชนิด คือ ซูโครส น้ำเชื่อมมอลโตส และน้ำผึ้ง ในน้ำผลไม้เชอร์รี่และสตอเบอร์รี่ พบว่าน้ำเชื่อมมอลโตสสามารถช่วยชะลอการสลายตัวของแอสโคอร์บิกในไซยานินได้ดีกว่าสารให้ความหวานอีก 2 ชนิด (Kübra et al., 2018) แต่หากมีการเติมสารรบกวนร่วมกับสารให้ความหวานดังกล่าวมาข้างต้น กลับพบว่าน้ำผึ้งสามารถชะลอการสลายตัวได้ดีที่สุด (Kübra et al., 2020) เหตุผลที่ทำให้ น้ำเชื่อมมอลโตสเมื่อเติมร่วมกับรงควัตถุมีประสิทธิภาพลดลง เนื่องจากน้ำเชื่อมมอลโตสเป็นที่ต้องการสำหรับความคงตัวของไซยานินและรูตินในน้ำผลไม้เชอร์รี่และสตอเบอร์รี่ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของสารแอนโทไซยานิน (Kübra et al., 2018) ในขณะที่น้ำผึ้งเมื่อถูกเติมร่วมกับรงควัตถุอื่น เนื่องจากรงควัตถุจะเร่งจับกับสารแอนโทไซยานินได้เร็วกว่าในน้ำผึ้ง จึงทำให้เกิดการป้องกันการสร้างพันธะระหว่างน้ำผึ้งกับสารแอนโทไซยานิน นั่นหมายความว่า การเติมสารให้ความหวานกับรงควัตถุร่วมกัน แต่ตัวสารให้ความหวานจะไม่ส่งผลต่อการรักษาสารแอนโทไซยานินในตัวอย่าง (Kübra et al., 2020)

วิตามินซี เป็นสารสำคัญอีกชนิดที่พบในลูกหม่อน ซึ่งช่วยชะลอการสลายตัวของแอสโคอร์บิกในไซยานิน (Clegg & Morton, 1968; กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2553) ดังนั้นหากในน้ำลูกหม่อนเนคต้ามียูโรบินในปริมาณมากก็จะเป็นตัวช่วยในการรักษาสีและรสชาติของสารแอนโทไซยานินได้ และการเติมน้ำผึ้งนั้นสามารถช่วยชะลอการสลายของวิตามินซีได้ เนื่องจากในน้ำผึ้งมีน้ำตาลในกลุ่มฟรุกโตสและกลูโคสที่จะช่วยป้องกันไม่ให้วิตามินซีถูกออกซิไดส์ (Herbig et al., 2017; Joslyn & Supplee, 1949) นอกจากนี้ยังอุดมด้วยวิตามินซีเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการสลายวิตามินซีด้วย ซึ่งวิตามินซีจะคงสภาพได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ (น้อยกว่า 45 องศาเซลเซียส) และการที่จะสลายวิตามินซีได้นั้นจะต้องมีอุณหภูมิมากกว่า 70 องศาเซลเซียส (Rojas & Gerschenson, 2001) ในการศึกษาในครั้งนี้ได้ทดลองภายใต้ช่วงอุณหภูมิ 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิช่วงดังกล่าวสามารถช่วยชะลอ

การสลายตัวของสารแอนโทไซยานินและวิตามินซีได้อย่างเหมาะสม

มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมและจัดอยู่ในกลุ่มอาหารประเภทกรด (acid food) เพราะมีองค์ประกอบของจำพวกกรดอินทรีย์ต่างๆ อย่างเช่น กรดซิตริก กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก กรดแลคติก กรดฟumaric กรดอะซิติก และกรดอื่นๆ เป็นต้น (Gundogdu et al., 2011) ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH radical scavenging activity และ Ferric reducing antioxidant power ที่ถูกเติมแซกคารินมีปริมาณ 3.85 ถึง 3.99 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร และ 175.89 ถึง 197.56 ไมโครกรัมเทียบเท่ากรดแอสคอร์บิก (AAE)/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างที่ถูกเติมน้ำผึ้งจะมีปริมาณ 1.97 ถึง 2.38 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร และ 189.35 ถึง 202.58 ไมโครกรัมเทียบเท่ากรดแอสคอร์บิก (AAE)/มิลลิลิตร ตามลำดับ เพราะชนิดของสารให้ความหวานมีผลต่อการรักษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ดังรายงานวิจัยของ Jukkrapan et al. (2016) พบว่าการเติมน้ำตาลทรายกับน้ำผึ้งให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิในการเก็บรักษาที่เปลี่ยนแปลงไปรวมทั้งระยะเวลาการเก็บรักษาล้วนส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยพบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้น และระยะเวลาในการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น จะทำให้สารสำคัญที่ส่งผลต่อการต้านอนุมูลอิสระลดลง (วรวิทย์ อารีกุล และคณะ, 2553; Jukkrapan et al., 2016) และเมื่อระยะเวลาผ่านไปปริมาณสารสำคัญต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสารแอนโทไซยานิน วิตามินซี ฤทธิ์ในการอนุมูลอิสระจะลดลงและจะมีความเป็นกรดมากยิ่งขึ้น

ถึงแม้ว่าผลของแซกคารินจะช่วยชะลอการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินได้ดีที่สุดก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาในส่วนของการชะลอของวิตามินซี และภาพรวมของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กลับพบว่าน้ำผึ้งที่เติมลงไปนั้นน้ำลูกหม่อนให้ผลที่ดีกว่า แสดงให้เห็นว่าหากบริโภคผลไม้ที่เติมน้ำผึ้งลงไป นอกจากจะช่วยชะลอสารสำคัญต่างๆ แล้วน้ำผึ้งยังเป็นสาร

ให้ความหวานที่ให้อาหารและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ คือ มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญมากมาย ซึ่งรวมถึงกรดอินทรีย์และสารประกอบฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ (Simona et al., 2020) ส่งผลให้น้ำผึ้งสามารถช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ (Nele et al., 2002) ช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจวายโรคหลอดเลือดสมองและมะเร็งบางชนิด นอกจากนี้ยังอาจส่งเสริมสุขภาพตา (Khalil & Sulaiman, 2010) และยังสามารถช่วยป้องกันความเสี่ยงหลายประการสำหรับโรคหัวใจที่พบบ่อยในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่สอง เช่น ลดปริมาณไตรกลีเซอไรด์คอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (low density lipoprotein; LDL) ในขณะที่ช่วยเพิ่มคอเลสเตอรอลดีในเลือด (high density lipoprotein; HDL) (Mamdouh et al., 2012; Shawnr et al., 2009) แต่อย่างไรก็ตามการบริโภคน้ำผึ้งก็เป็นสาเหตุหนึ่งของการสามารถเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือดได้เช่นกัน แต่อยู่ในระดับที่น้อยกว่าการบริโภคน้ำตาลทรายขาว (Shawn et al., 2009) และถึงแม้ว่า ณ ปัจจุบันยังไม่มีความหลักฐานแสดงเชิงประจักษ์ ที่บ่งชี้ได้ว่าสารทดแทนความหวานประเภทสารสังเคราะห์จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพ และหากบริโภคอย่างต่อเนื่องเป็นประจำก็ไม่สามารถทำนายได้ว่า จะส่งผลกระทบต่อในระยะยาวได้หรือไม่ ฉะนั้นการบริโภคสารให้ความหวานจากธรรมชาติที่มีประโยชน์อย่างน้ำผึ้งก็เป็นอีกทางเลือกที่ดีต่อผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพ

เอกสารอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2553). แอนโทไซยานิน (Anthocyanin). กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์บริการ.
- กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2541). ฉลากโภชนาการ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (เลขที่ 182) พ.ศ. 2541. ค้นเมื่อ 1 เมษายน 2564, จาก <http://www.ratchakitcha.soc.go.th/DATA/PDF/2541/D/047/23.PDF>
- กองอาหาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2561). วัตถุเจือปนอาหาร (ฉบับที่ 5) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (เลขที่ 389) พ.ศ. 2561. ค้นเมื่อ 1 เมษายน 2564, จาก https://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_moph/P389-cut.pdf
- ชยันต์ พิเชียรสุนทร, & วิเชียร จีรวงส์. (2556). คู่มือเภสัชกรรมแผนไทย เล่ม 1 น้ำกระสายยา (พิมพ์ครั้งที่ 30). กรุงเทพฯ: อมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง.
- วริทธิ์ อารีกุล, สิริพรรณ กิตติพรพัฒน์, & กษัติน วงศ์ณรัตน์. (2553). ผลของอุณหภูมิแช่เย็นต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในน้ำบลูเบอร์รี่และ บลูเบอร์รี่เข้มข้น. วารสารมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 48, 245-251.

ข้อเสนอแนะหรือการนำไปใช้ประโยชน์

1. ควรศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิต่างๆ ในการผลิตระยะเวลาในการฆ่าเชื้อและควบคุมสภาวะแวดล้อม เพื่อลดการเกิดการเน่าเสีย
2. ควรศึกษาปริมาณสารสำคัญทั้งก่อนและหลังในกระบวนการแปรรูป เพื่อที่จะต้องลดการทดแทนสารสำคัญที่อาจจะสูญเสียไปในกระบวนการแปรรูปน้ำผลไม้เนคต้า หรือค่าใช้จ่ายในกระบวนการผลิตที่ต้องศึกษาความคุ้มค่าต่อผลกำไร หรือการหาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราของการคงอยู่ของสารแอนโทไซยานินในสภาวะอื่นๆ เป็นต้น
3. ควรศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการบริโภคเพื่อให้ประสาทสัมผัสที่ดี พร้อมทั้งเป็นมิตรต่อร่างกาย เช่น การบริโภคผลิตภัณฑ์น้ำลูกหม่อนเนคต้าที่ถูกเติมสารให้ความหวานทั้ง 2 ชนิด เพื่อศึกษาทางด้านประสาทสัมผัส (กลิ่นรสชาติ หรือลักษณะโดยรวม) การศึกษาการเกิดกลไกที่มีผลต่อระบบร่างกายในผู้ป่วยที่มีสภาวะโรคเบาหวานต่อการดื่มน้ำผลไม้เนคต้า เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชฎามาต สกลศิลป์ศิริ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่อง rotary evaporator และห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ และครุภัณฑ์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

- สถาบันโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล. (2564). โครงการสัญลักษณ์โภชนาการ “ทางเลือกสุขภาพ” เป็นเครื่องมือใช้สำหรับการตัดสินใจเลือกผลิตภัณฑ์อาหารของผู้บริโภคเพื่อลดการบริโภคน้ำตาล โซเดียม และไขมัน: หน่วยรับรองการใช้สัญลักษณ์โภชนาการทางเลือกสุขภาพ มูลนิธิส่งเสริมโภชนาการ. ค้นเมื่อ 1 เมษายน 2564, <http://healthierlogo.com/version-thai/#top>
- Alan, H. M., & Geza, H. (1981). Vacuolar contents of fruit subepidermal cells from vitis species. *Plant Physiology*, 68(3), 686-692.
- Association of Official Analytical Chemists [AOAC]. (2019). *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (21st ed.). Washington, DC: AOAC.
- Clegg, K. M., & Morton, A. D. (1968). The phenolic compounds of blackcurrant juice and their protective effect on ascorbic acid. *International Journal of Food Science & Technology*, 3(3), 277-284.
- Compendium of Methods for Foods. (2003). **Total vitamin C content, Thailand 1st Edition 2-112 to 2-114.** [s.n.].
- Gundogdu, M., Muradoglu, F., Gazioglu-Sensoy, R.I. & Yilmaz, H. (2011). Determination of fruit chemical properties of *Morus nigra* L., *Morus alba* L. and *Morus rubra* L. by HPLC. *Scientia Horticulturae*, 132, 37-41.
- Herbig, A. L., & Catherine, M. G. C. (2017). Factors that impact the stability of vitamin C at intermediate temperatures in a food matrix. *Food Chemistry*, 220, 444-451.
- Joslyn, M. A., & Supplee, H. (1949). Solubility of oxygen in solutions of various sugars. *Food research*, 14(3), 209-215.
- Jukkrapan, K., Marisa, P., & Patcharee, T. (2016). An analysis of nutritional values and antioxidants of mulberry (*Morus nigra* Linn.) puree. *Economics Journal*, 59(1), 28-38.
- Kirca, A., & Cemeroglu, B. (2003). Degradation kinetics of anthocyanins in blood orange juice and concentrate. *Food Chemistry*, 81(4), 583-587.
- Kübra, E., Meltem, T., & Mehmet, Ö. (2018). Effect of sweeteners on anthocyanin stability and colour properties of sour cherry and strawberry nectars during storage. *Journal of Food Science and Technology*, 55(10), 4346-4355.
- Kübra, E., Meltem, T., & Mehmet, Ö. (2020). Color and stability of anthocyanins in strawberry nectars containing various co-pigment sources and sweeteners. *Food Chemistry*, 310, 125856.
- Li, Y., Guo, C., Yang, J., Wei, J., Xu, J., & Cheng, S. (2006). Evaluation of antioxidant properties of pomegranate peel extract in comparison with pomegranate pulp extract. *Food Chemistry*, 96(2), 254-260.
- Lien-Ai, P. H., Hua, H., & Chuong, P. H. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89-96.
- Maria, C. L., Monica, S., Roberto, P., Ornella, C., Paola, P., Anna, I. S., et al. (2004). Anthocyanins induce cell cycle perturbations and apoptosis in different human cell lines. *Carcinogenesis*, 25(8), 1427-1433.
- Michael, R., & Arpita, B. (2008). Phytochemicals and age-related eye diseases. *Emerging Science*, 66(8), 465-472.
- Pawlowska, A. M. Oleszek, W., & Braca, A. (2008). Quali-quantitative Analyses of Flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 3377-3380.
- Pisey, P., Chae, H. S., Nhoek, P., Kim, Y. M., & Chin, Y. W. (2017). Chemical constituents with proprotein convertase subtilisin/ kexin type 9 mrna expression inhibitory activity from dried immature morus alba fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(26), 5316-5321.
- Qingxia, Y., Yufeng, X., Wei, W., Yuhua, Y., Hong, Y., Saqib, J., et al. (2015). Extraction optimization, characterization and antioxidant activity in vitro of polysaccharides from mulberry (*Morus alba* L.) leaves. *Carbohydrate Polymers*, 128, 52-62.

- Reinisalo, M., Karlund, A., Koskela, A., Kaarniranta, K., & Reijo, O. K. (2015). Polyphenol Stilbenes: Molecular Mechanisms of Defence against Oxidative Stress and Aging-Related Diseases. *Hindawi Publishing Corporation*, 1, 1-24.
- Rojas, A. M., & Gerschenson, L. A. (2001). Ascorbic acid destruction in aqueous model systems: An additional discussion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 1433–1439.
- Shimamura, T., Sumikura, Y., Yamazaki, T., Tada, A., Kashiwagi, T., Ishikawa, H., et al. (2014). Applicability of the DPPH assay for evaluating the antioxidant capacity of food additives - inter-laboratory evaluation study. *The Japan Society for Analytical Chemistry*, 30, 717-721.
- Sonia de, P. T., & Maria, T. S. B. (2008). Anthocyanins: From plant to health. *Phytochemistry Reviews*, 7, 281–299.

ตารางที่ 1 ปริมาณแอนโทไซยานินรวม

ตัวอย่าง	แอนโทไซยานินรวม (มิลลิกรัมสมมูลไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร)		
	วันที่ 0	วันที่ 28	วันที่ 42
CT	3537.87 ± 69.30 ^{Ab}	1831.27 ± 6.65 ^{Be}	1381.56 ± 24.81 ^{Ce}
S-1	3541.73 ± 43.53 ^{Ab}	2841.48 ± 14.15 ^{Ba}	1886.37 ± 27.14 ^{Ca}
S-2	3466.87 ± 30.09 ^{Abc}	2596.11 ± 35.41 ^{Bb}	1816.54 ± 70.19 ^{Cab}
S-3	3383.64 ± 113.55 ^{Ac}	2286.65 ± 7.67 ^{Bcd}	1745.07 ± 9.64 ^{Cc}
H-1	3619.14 ± 18.47 ^{Aa}	2382.79 ± 36.8 ^{Bc}	1774.30 ± 31.43 ^{Cbc}
H-2	3479.47 ± 50.65 ^{Abc}	2326.43 ± 52.11 ^{Bc}	1671.52 ± 117.96 ^{Ccd}
H-3	3419.81 ± 36.03 ^{Ac}	2225.43 ± 124.81 ^{Bd}	1607.48 ± 49.13 ^{Cd}

(A-C) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างวันในการเก็บรักษาตัวอย่าง (p-value<0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(a-e) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างตัวอย่าง (p-value<0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 2 อัตราการสลายตัวและค่าครึ่งชีวิตของสารแอนโทไซยานิน

ข้อมูลทางจลนพลศาสตร์	CT	S-1	S-2	S-3	H-1	H-2	H-3
ปฏิกิริยาอันดับศูนย์ $-k \times 10^1$ (1/วัน)	11.88 ^e	16.28 ^a	15.75 ^{ab}	15.16 ^{bc}	14.27 ^{cd}	14.21 ^{cd}	13.93 ^d
ปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง $-k \times 10^4$ (1/วัน)	3.39 ^c	4.64 ^a	4.58 ^a	4.53 ^a	3.98 ^b	4.12 ^b	4.11 ^b
ค่าครึ่งชีวิต							
$t_{1/2}$ (วัน)	66.74 ^e	97.83 ^{ab}	93.03 ^{bc}	87.53 ^{bc}	83.01 ^{cd}	82.49 ^{cd}	80.31 ^d
95%CI	(64.15, 69.32)	(95.32, 100.35)	(84.11, 101.94)	(78.09, 96.97)	(79.91, 86.11)	(71.08, 93.89)	(69.65, 90.97)
$t_{1/2}$ (เดือน)	2.22 ^d	3.26 ^a	3.10 ^a	2.92 ^b	2.77 ^{bc}	2.75 ^{bc}	2.68 ^c

ตารางที่ 3 ปริมาณวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก)

ตัวอย่าง	กรดแอสคอร์บิก (มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร)		
	วันที่ 0	วันที่ 28	วันที่ 42
CT	42.29 ± 0.15 ^{Ab}	13.83 ± 0.09 ^{Bc}	2.82 ± 0.42 ^{Cf}
S-1	40.37 ± 0.18 ^{Ac}	13.57 ± 0.12 ^{Bc}	6.09 ± 0.12 ^{Ce}
S-2	40.45 ± 0.06 ^{Ac}	12.32 ± 0.25 ^{Be}	9.05 ± 0.55 ^{Cc}
S-3	41.21 ± 0.09 ^{Abc}	13.24 ± 0.17 ^{Bd}	7.38 ± 0.48 ^{Cd}
H-1	46.09 ± 0.45 ^{Aa}	16.50 ± 0.11 ^{Ba}	12.99 ± 0.44 ^{Ca}
H-2	41.64 ± 0.03 ^{Abc}	14.73 ± 0.20 ^{Bb}	11.90 ± 0.31 ^{Cb}
H-3	41.39 ± 1.81 ^{Abc}	16.54 ± 0.14 ^{Ba}	6.85 ± 0.29 ^{Cd}

(A-C) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างวันในการเก็บรักษาตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(a-f) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

ตัวอย่าง	วันที่ 0	วันที่ 28	วันที่ 42
CT	4.08 ± 0.01 ^{Aa}	3.65 ± 0.01 ^{Ba}	3.46 ± 0.03 ^{Ce}
S-1	4.02 ± 0.01 ^{Ac}	3.48 ± 0.01 ^{Ce}	3.57 ± 0.01 ^{Bc}
S-2	4.04 ± 0.01 ^{Ac}	3.48 ± 0.01 ^{Ce}	3.56 ± 0.02 ^{Bc}
S-3	4.07 ± 0.01 ^{Aa}	3.53 ± 0.01 ^{Cd}	3.63 ± 0.01 ^{Ba}
H-1	4.05 ± 0.01 ^{Ab}	3.62 ± 0.01 ^{Bb}	3.51 ± 0.01 ^{Cd}
H-2	4.04 ± 0.01 ^{Ab}	3.46 ± 0.01 ^{Bf}	3.47 ± 0.01 ^{Be}
H-3	4.07 ± 0.01 ^{Aa}	3.58 ± 0.01 ^{Bc}	3.60 ± 0.01 ^{Bb}

(A-C) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างวันในการเก็บรักษาตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

(a-f) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

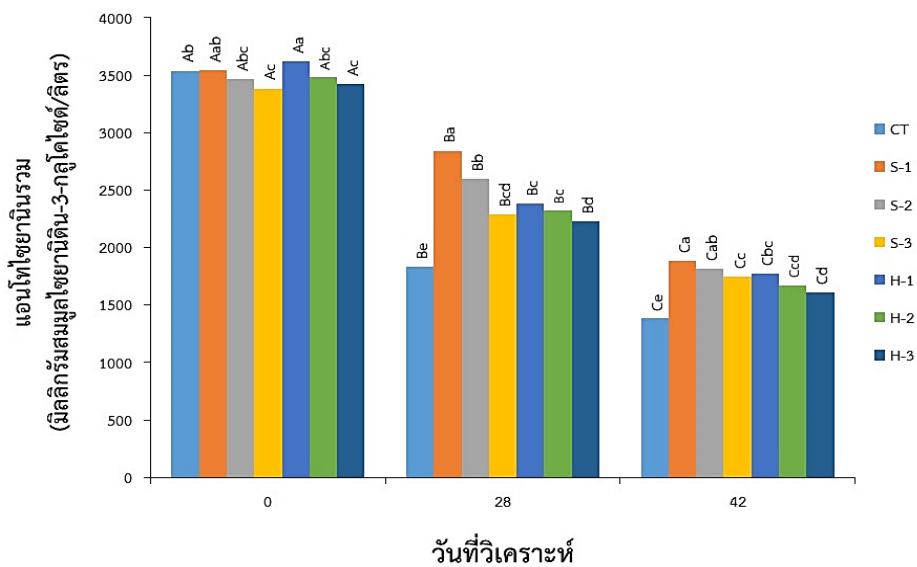
ตัวอย่าง	DPPH• EC ₅₀ (มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร)		
	วันที่ 0	วันที่ 28	วันที่ 42
CT	1.93 ± 0.16 ^{Aa}	9.42 ± 0.06 ^{Bd}	20.53 ± 0.07 ^{Ca}
S-1	3.85 ± 0.05 ^{Ac}	10.46 ± 0.03 ^{Bg}	33.67 ± 0.18 ^{Cd}
S-2	3.88 ± 0.10 ^{Ac}	9.85 ± 0.05 ^{Be}	29.94 ± 2.55 ^{Cc}
S-3	3.99 ± 0.07 ^{Ac}	10.07 ± 0.11 ^{Bf}	30.88 ± 0.18 ^{Cc}
H-1	2.30 ± 0.15 ^{Ab}	6.26 ± 0.01 ^{Ba}	24.91 ± 0.11 ^{Ca}
H-2	2.38 ± 0.09 ^{Ab}	7.63 ± 0.31 ^{Bb}	25.44 ± 0.27 ^{Ca}
H-3	1.97 ± 0.02 ^{Aa}	8.46 ± 0.04 ^{Bc}	34.02 ± 0.39 ^{Cd}
กรดแอสคอร์บิก	0.05 ± 0.001 ^A	0.08 ± 0.0003 ^C	0.07 ± 0.01 ^B

(A-C) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างวันในการเก็บรักษาตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

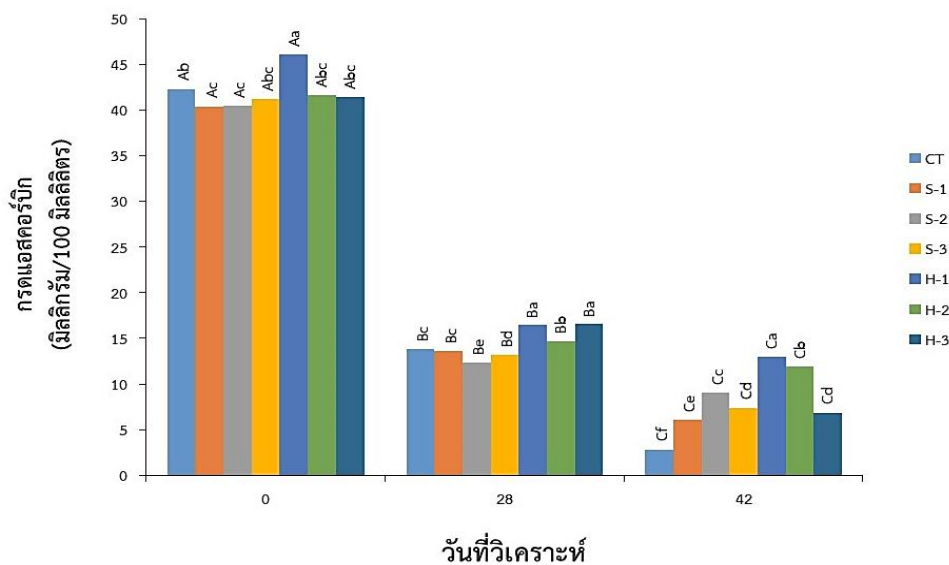
(a-g) คือการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างตัวอย่าง (p-value < 0.05) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

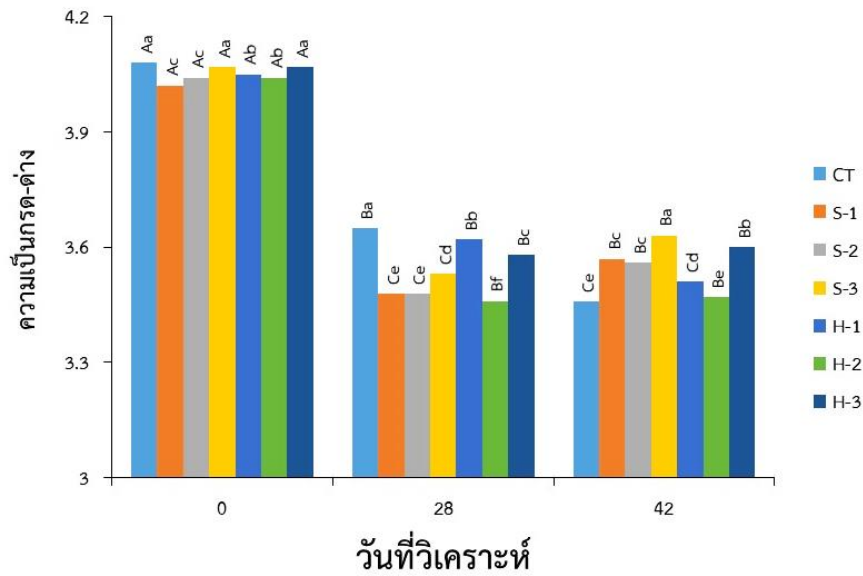
ตัวอย่าง	FRAP (ไมโครกรัมสมมูลกรดแอสคอร์บิก/มิลลิลิตร)		
	วันที่ 0	วันที่ 28	วันที่ 42
CT	200.63 ± 5.90 ^{Aa}	201.83 ± 5.05 ^{Aabc}	118.26 ± 4.64 ^{Bd}
S-1	197.56 ± 2.22 ^{Aab}	195.87 ± 2.99 ^{Ac}	163.31 ± 2.64 ^{Ba}
S-2	195.56 ± 7.99 ^{Aab}	196.84 ± 5.29 ^{Abc}	120.84 ± 2.41 ^{Bd}
S-3	175.89 ± 2.04 ^{Bc}	202.86 ± 1.37 ^{Aab}	132.33 ± 1.59 ^{Cb}
H-1	189.35 ± 4.04 ^{Bb}	200.00 ± 4.38 ^{Aabc}	118.44 ± 2.79 ^{Cd}
H-2	199.26 ± 4.95 ^{Aa}	200.53 ± 0.54 ^{Aabc}	135.06 ± 1.42 ^{Bb}
H-3	202.58 ± 3.70 ^{Aa}	204.04 ± 0.77 ^{Aa}	126.39 ± 2.78 ^{Bc}



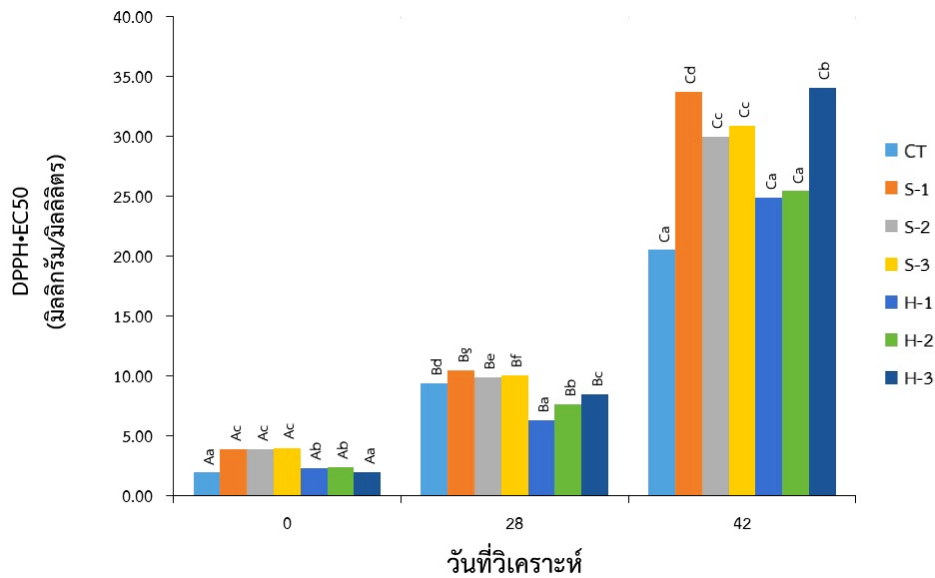
ภาพที่ 1 ปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมในตัวอย่างต่างๆ ณ วันที่ 0, 28 และ 42



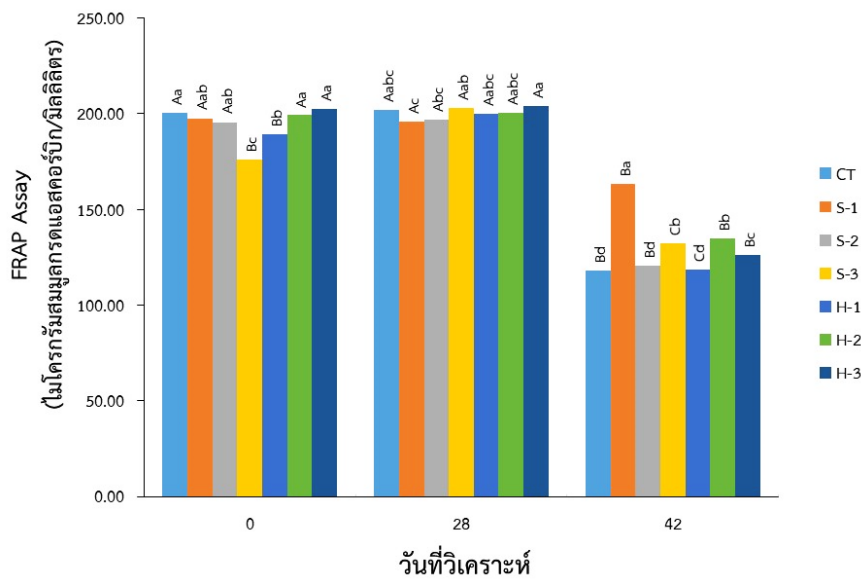
ภาพที่ 2 ปริมาณวิตามินซี (กรดแอสคอร์บิก) ในตัวอย่างต่างๆ ณ วันที่ 0, 28 และ 42



ภาพที่ 3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในตัวอย่างต่างๆ ณ วันที่ 0, 28 และ 42



ภาพที่ 4ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในตัวอย่างต่างๆ ณ วันที่ 0, 28 และ 42



ภาพที่ 5ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในตัวอย่างต่างๆ ณ วันที่ 0, 28 และ 42