

ไอศกรีมเสริมสารสกัดมะขามป้อมและกิจกรรมการต้านทานอนุมูลอิสระ

วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์, เปรมกมล พรหมอินทร์, ศศิธร จุฑารัตน และ สุทธิจิต ศรีวัชรกุล

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

vorapats@hotmail.com

บทคัดย่อ

มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* Linn.) มีสรรพคุณทางยาและถูกนำมาใช้เป็นยาสมุนไพรกันอย่างแพร่หลายในแถบภูมิภาคเอเชีย เนื่องจากมีการศึกษาแล้วว่ามะขามป้อมมีประโยชน์ต่อสุขภาพและสารต้านอนุมูลอิสระสูง งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นไปที่การผลิตอาหารที่เป็นยา (Functional Food) แบบใหม่ที่มีการเติมสารสกัดจากมะขามป้อมลงในไอศกรีม เพื่อเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ โดยนำเนื้อของผลมะขามป้อมมาแช่สุรา 40 ดีกรี จากนั้นนำไปทำให้แห้งและนำมาตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่าค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic compound) ของสารสกัดมะขามป้อมมีค่าเทียบเท่า 0.35 ± 0.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ค่า Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) ซึ่งแสดงเป็นค่าเทียบเท่ากับการต้านอนุมูลอิสระของ Trolox (Trolox Equivalents Antioxidant Capacity, TEAC) คือ 285.42 ± 3.27 มิลลิกรัมต่อสารสกัด 1 กรัม ค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดมะขามป้อม มีค่าเท่ากับร้อยละ 106.7 เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่า IC50 เท่ากับ 63.31 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขั้นตอนต่อมา เลือกไอศกรีมเชอร์เบทรสสตอเบอรี่มาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระเมื่อเติมสารสกัดจากมะขามป้อมที่ความเข้มข้นในช่วงร้อยละ 0.25 ถึง 1.25 โดยน้ำหนัก พร้อมกับการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลุ่มตัวอย่าง 30 คน) พบว่าการเติมสารสกัดลงไปไอศกรีมร้อยละ 0.25 เป็นปริมาณที่เหมาะสม เนื่องจากมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดี และกลุ่มตัวอย่างผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด ดังนั้น การเติมสารสกัดมะขามป้อมลงในไอศกรีมจึงเป็นแนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่เป็นยาได้ต่อไป

คำสำคัญ: การต้านอนุมูลอิสระ, มะขามป้อม, ไอศกรีม, อาหารที่เป็นยา

บทนำ

ปัจจุบันนี้ผู้บริโภคมีความตื่นตัวและใส่ใจเรื่องสุขภาพและข้อมูลทางโภชนาการในอาหาร ทำให้อุตสาหกรรมอาหารมีการพัฒนาและวิจัยสูตรอาหารที่เป็นยา (Function foods) เพื่อให้มีประโยชน์ต่อร่างกายผู้บริโภคนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการในอาหารปกติ และควรมีรสชาติและลักษณะที่ไม่แตกต่างจากอาหารปกติด้วย (Brusotti et al. 2014) นอกจากนี้ผู้บริโภคยังให้ความสนใจในเรื่องของสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ที่อยู่ในอาหารอีกด้วย เพราะอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุสำคัญของโรคหลายชนิด เช่น ภาวะหลอดเลือดแข็งตัว (Atherosclerosis) เกิดการกลาย (Mutation) ของเซลล์ทำให้เกิดโรคมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์หรือโรคความจำเสื่อม ทำให้เกิดกระบวนการอักเสบ ทำให้การทำลายเนื้อเยื่อรุนแรงขึ้น โรคไขข้ออักเสบและความเสื่อมของร่างกาย เป็นต้น (Lobo et al. 2010) มีนักวิจัยมากมายที่พัฒนาและคิดค้นสูตรไอศกรีมที่เติมสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากพืชที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Hwang et al. 2009; Sagdic et al. 2012; Çam et al. 2014; Hiranrangsee et al. 2016) อย่างไรก็ตามจากการค้นคว้า ยังไม่พบรายงานที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมลงในไอศกรีม

มะขามป้อม (*Phyllanthus emblica* L.) มีชื่อภาษาอังกฤษว่า emblica หรือ amla หรือ Indian gooseberry เป็นพืชที่พบได้ทั่วไปในแถบทวีปเอเชียโดยเฉพาะภูมิภาคกึ่งเขตร้อนและเขตร้อน (Luo et al. 2009) เป็นที่ทราบกันดีว่ามะขามป้อมมีคุณค่าทางโภชนาการสูง อุดมไปด้วยวิตามินซี แร่ธาตุ และกรดอะมิโน และยังมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส ไอออน แคโรทีน ไทอะมิน ไรโบฟลาวิน และไนอะซิน (Charoenteeraboon et al. 2010) ในผลมะขามป้อมมีวิตามินซีที่มีความเสถียรสูง เนื่องจากมีแทนนิน และโพลีฟีนอลเป็นส่วนประกอบ (Morton, 1960) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาพบว่าสารสกัดจากผลมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียในช่องปาก (Gao et al.

2018) ลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ (Low density lipoprotein, LD) (Nambiar et al. 2016) กระตุ้นให้เกิดอะพอพโทซิส (Apoptosis) ของเซลล์มะเร็งลำไส้ (Kumnerdkhonkaen et al. 2018) ป้องกันการเกิดแผลเปื่อยกระเพาะ (Gastric ulcer) (Bandyopadhyay et al. 2000) สามารถยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสซึ่งเกี่ยวข้องกับการรักษาโรคเบาหวานได้ (Liu et al. 2017) และยังช่วยลดความเสียหายของเซลล์ต่างๆในร่างกายหนูเมื่อบ้วนพร้อมสารหนู (Singh et al. 2013)

ในงานวิจัยครั้งนี้ เลือกทำการศึกษาเกี่ยวกับไอศกรีม เนื่องจากเป็นของหวานที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย และกระบวนการผลิตสามารถเติมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นซึ่งมีรสเปรี้ยวและฝาด มาใช้เป็นแหล่งให้สารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านของลดสาเหตุของการเกิดโรคที่อันตราย ในขั้นตอนที่ไม่สัมผัสความร้อนที่เป็นสาเหตุให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเสื่อมฤทธิ์ได้ (Ferreira et al. 2018) นอกจากนี้สารสกัดจากมะขามป้อมซึ่งเป็นสารสกัดจากพืชมีความเป็นพิษน้อยกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ โดยในการทดลองนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในไอศกรีม ให้ได้ผลิตภัณฑ์อาหารที่มีประโยชน์มากขึ้น โดยใช้สารสกัดผลมะขามป้อมจากสุรา 40 ดีกรี (เอทานอลร้อยละ 40 (ปริมาตร) โดยประมาณ) มาเติมลงในการผลิตไอศกรีมก่อนการแช่แข็ง และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้นและไอศกรีมที่เสริมสารสกัด

วิธีดำเนินการวิจัย

การเตรียมสารสกัด

นำผลมะขามป้อมจากสวนลุงศักดิ์ เขตบางขุนเทียน จังหวัดกรุงเทพมหานคร มาล้างน้ำให้สะอาด ฝีกให้แห้ง แล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5 เซนติเมตร หลังจากนั้นนำมะขามป้อมที่ได้ทั้งหมดไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนแห้ง นำมาบดให้ละเอียดจนกลายเป็นผง และนำไปร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 300 ไมโครเมตร จากนั้น นำผงมะขามป้อมมาแช่ในสุรา 40 ในอัตราส่วนผงมะขามป้อมแห้ง 1 กรัมต่อสุรา 9 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท แช่ไว้ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปกรองผ่านผ้าสีและผ้าขาวบาง นำส่วนของเหลวที่ได้มาระเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator นำไปเข้าเครื่อง freeze dryer จนแห้ง บรรจุใส่ขวดที่ห่อด้วยฟอยล์ และเก็บใน dessicator

การทำไอศกรีมสตรอเบอร์รี่เชอร์เบท

นำน้ำตาลทราย 150 กรัมและน้ำสะอาด 100 มิลลิลิตรใส่ในหม้อ ตั้งไฟปานกลางจนส่วนผสมเดือด จากนั้นปรับไฟให้อ่อนลงปล่อยให้เดือดอ่อนๆ เป็นเวลา 7-10 นาที ได้น้ำเชื่อมที่มีลักษณะเหนียวข้น พักส่วนนี้ไว้ให้เย็น นำสตรอเบอร์รี่แช่แข็ง 400 กรัม น้ำมะนาว 1 ช้อนโต๊ะ และน้ำเชื่อมที่เตรียมไว้ลงในเครื่องปั่น ปั่นจนได้เนื้อละเอียด เติมน้ำเชื่อมมะขามป้อมลงไป ร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 โดยน้ำหนัก คนให้เข้ากัน จากนั้นนำไอศกรีมเหลวที่ได้แช่ช่องแช่แข็งเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตีไข่ขาว 30 กรัมจนตั้งยอดอ่อน นำมาผสมรวมกันกับไอศกรีมเหลวที่แช่แข็งไว้ นำส่วนผสมที่ได้ไปปั่นในเครื่องปั่นไอศกรีมเป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมตัวอย่างไอศกรีมเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ดัดแปลงวิธีของ Hwang et al. 2009)

ทำตัวอย่างไอศกรีมให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักไอศกรีมที่ละลายให้ได้ 10 กรัม เติมน้ำเอทานอลสัมบูรณ์ (Absolute Ethanol) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากัน นำสารสกัดตัวอย่างเข้าสู่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์ประจุเฟอริก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีของ Singleton et al. 1999)

ปีเปตสารละลายตัวอย่างสารสกัดมะขามป้อม หรือตัวอย่างไอศกรีมที่ทำการศึกษาตามที่กล่าวมาแล้ว ที่ความเข้มข้น 1000, 500, 250 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ใน microplate ขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย folin-ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร ในแต่ละหลุม ต่อมาเติมสารละลายไดโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร จากนั้น คำนวณหาปริมาณฟีนอลทั้งหมดเทียบเท่ากรดแกล-

ลิก (Gallic acid) จากกราฟมาตรฐานที่เตรียมจากกรดแกลลิก ซึ่งสมการเชิงเส้นของกราฟมาตรฐาน คือ ดังนี้ $y = 3.9497x + 0.1138$ ($R^2 = 0.9999$)

การทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีของ Yamasaki et al. 1994)

ปีเปตสารละลายตัวอย่างสารสกัดมะขามป้อม หรือตัวอย่างไอศกรีมที่ทำการสกัดดังที่กล่าวมาแล้ว ที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 20 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ใน microplate ขนาด 96 หลุม จากนั้นเติมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl DPPH 100 ไมโครลิตร ใส่ในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากันโดยไม่เกิดฟองอากาศ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สุรา 40 ดีกรี เป็น blank ของสารละลายตัวอย่าง โดนวัดค่าเทียบกับสาร control ที่ประกอบด้วย Absolute ethanol 100 ไมโครลิตรและ DPPH 100 ไมโครลิตร คำนวณหาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้โดยสมการต่อไปนี้

$$\%DPPH \text{ radical scavenging activity} = \frac{(Abs \text{ control} - Abs \text{ sample})}{Abs \text{ sample}} \times 100 \quad (1)$$

เมื่อ *Abs control* คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตรและ Absolute ethanol 100 ไมโครลิตร

Abs sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร

การทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์ประจุเฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) (ดัดแปลงวิธีของ Benzie & Strain, 1996)

เติมน้ำกลั่นที่มีความบริสุทธิ์สูง ปริมาตร 90 ไมโครลิตร ลงในคิวเวตขนาด 4 มิลลิลิตร จากนั้นเติม FRAP reagent ปริมาตร 900 ไมโครลิตร และสารตัวอย่าง 30 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณค่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการรีดิวซ์ประจุเฟอร์ริก โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ (Trolox) แสดงค่าเทียบเท่าในหน่วยมิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อกรัมของสารละลายตัวอย่าง

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Meilgaard et al. 2015)

ใช้กลุ่มตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการฝึกอบรมจำนวน 30 คน โดยให้ทดสอบตัวอย่างไอศกรีม 30 กรัมในถ้วยพลาสติกสีขาว และเรียงลำดับถ้วยแบบสุ่ม เขียนตัวเลขกำกับแต่ละถ้วยด้วยตัวเลขแบบสุ่มสามตัว และแจกจ่ายให้ผู้ประเมินในวันเดียวกันที่มีการผลิตไอศกรีมและภายใต้แสงธรรมชาติ โดยก่อนชิมและกลืนไอศกรีมแต่ละตัวอย่าง ต้องมีการกลืนน้ำดื่มสะอาดก่อนเสมอ ซึ่งผู้ประเมินจะต้องกรอกระดับความชอบลงในแบบฟอร์มประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส กำหนดให้คะแนนความไม่ชอบมากที่สุดเป็น 1 และไปจนถึงความชอบมากที่สุดเป็น 9 (9-point hedonic scale)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัส จะเป็นการวิเคราะห์แบบตัวแปรอิสระ ซึ่งเป็นการทดสอบแบบไม่ใช้พารามิเตอร์ เนื่องจากการแปรปรวนระหว่างกลุ่มไม่สม่ำเสมอ (Levene's test, $p < 0.05$, $n = 9$) และไม่มีการแสดงตารางแจกแจงแบบปกติ (Shapiro-Wilk W test, $p < 0.05$, $n = 9$) และการเปรียบเทียบเชิงคู่สามารถทำได้โดยใช้การเปรียบเทียบเชิงพหุคูณของลำดับค่าเฉลี่ย สำหรับกลุ่มการทดสอบทั้งหมด ส่วนการวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทุกการทดลองทำอย่างต่ำ 3 ซ้ำและนำข้อมูลมาวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS (IBM SPSS Statistics, version 23) วิเคราะห์ตาราง ANOVA และค่าความแปรปรวนที่ค่าความเชื่อมั่นอยู่ที่ $P < 0.05$ เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยใช้วิธีของ Duncan และแสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลและอภิปรายผล

ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด พบว่าในสารสกัดมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเท่ากับ 0.35 ± 0.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ดังตารางที่ 1 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาของ Charoenteeraboon et al. (2010) พบว่าในสารสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำ มีสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 34.22 ± 1.74 กรัมของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม และจากการศึกษาของ Fitriansyah et al. (2018) ทำการสกัดผลมะขามป้อมด้วยเฮกเซน พบปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดประมาณ 0.40 กรัมกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม ในขณะที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดมะขามป้อมจากเมทานอลมีค่าสูงถึง 81.50 ± 3.70 ถึง 120.90 ± 2.10 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (Liu et al. 2008) สาเหตุที่ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดมะขามป้อมมีค่าไม่เท่ากัน อาจเป็นได้จากผลมะขามป้อมที่นำมาศึกษาถูกเพาะปลูกในเขตที่แตกต่างกันทั้งสภาพอากาศ ภูมิศาสตร์ ลักษณะดิน และปริมาณน้ำฝน และการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน โดยพบว่าจากตัวทำละลายทั้งหมด น้ำสามารถสกัดมะขามป้อมได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดต่ำที่สุด (Luo et al. 2008)

ตารางที่ 1ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อมและไอศกรีมที่เติมสารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.25 ถึง 1.25

ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง)	ค่า IC50 จากวิธี DPPH (ไมโครกรัมตัวอย่างต่อมิลลิลิตร)	Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC, มิลลิกรัมโทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่าง)
สารสกัดมะขามป้อม	0.350 ± 0.01	63.31 ± 1.62	285.42 ± 3.27
สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.25	0.011 ± 0.00	-	-
สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.50	0.021 ± 0.00	-	-
สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.75	0.024 ± 0.00	-	-
สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 1.00	0.029 ± 0.00	-	-
สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 1.25	0.025 ± 0.01	-	-
ไอศกรีมที่ไม่เสริมสารสกัด	0.052 ± 0.00	196.26 ± 2.08	0.01 ± 0.00
ไอศกรีมที่เสริมสารสกัดร้อยละ 0.25	0.072 ± 0.00	186.27 ± 2.75	60.71 ± 4.97
ไอศกรีมที่เสริมสารสกัดร้อยละ 0.50	0.098 ± 0.01	180.6 ± 1.97	31.65 ± 3.30
ไอศกรีมที่เสริมสารสกัดร้อยละ 0.75	0.101 ± 0.01	170.21 ± 9.80	22.67 ± 1.91
ไอศกรีมที่เสริมสารสกัดร้อยละ 1.00	0.122 ± 0.00	154.64 ± 10.79	17.38 ± 1.37
ไอศกรีมที่เสริมสารสกัดร้อยละ 1.25	0.100 ± 0.00	116.57 ± 19.43	15.55 ± 0.06

เมื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลของไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทช็อคโกแลต (ไม่เติมสารสกัด) และเติมสารสกัดมะขามป้อมในปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 ได้ผลดังที่แสดงในตารางที่ 1 จากการทดลองพบว่าไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมมีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นจากไอศกรีมช็อคโกแลตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมปริมาณร้อยละ 1.00 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงที่สุด เท่ากับ 0.122 ± 0.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดมะขามป้อม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งไอศกรีมช็อคโกแลต และไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมในปริมาณร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75 และ 1.25 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเทียบเท่ากับ 0.052 ± 0.00 , 0.072 ± 0.00 , 0.098 ± 0.01 , 0.101 ± 0.01 และ 0.100 ± 0.00 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดมะขามป้อม ตามลำดับ Hwang et al. (2009) รายงานว่าไอศกรีมนมผสมตะกอนไวน์แดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นตามปริมาณตะกอนไวน์แดง โดยเมื่อเติมตะกอนไวน์แดงลงไปความเข้มข้นสูงสุดที่ 150 กรัมต่อกิโลกรัมไอศกรีม ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดเพิ่มขึ้นถึง 2.06 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร

ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ผลในรูปของร้อยละของการยับยั้ง (%inhibition หรือ %DPPH radical scavenging activity) และค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ 50% (Half maximal inhibitory concentration, IC₅₀) เป็นค่าที่บ่งบอกปริมาณการต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลงร้อยละ 50 พบว่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบมะขามป้อมโดยให้ความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 50, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ค่าร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ 51.12, 61.64 และ 106.7 ตามลำดับ เห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการดักจับอนุมูล DPPH มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นกัน และเมื่อนำค่าได้มาคำนวณหา IC₅₀ พบว่าสารสกัดมะขามป้อมมีค่าเท่ากับ 196.26±2.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากค่า IC₅₀ จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานมีมากกว่าสารสกัดมะขามป้อม โดยสารมาตรฐานที่ใช้คือวิตามินอี (α-tocopherol) 24.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Charoenteeraboon และคณะ (2010) ที่รายงานผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะขามป้อมด้วยน้ำมี ค่า IC₅₀ อยู่ที่ 51.3±16.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่มากกว่าการดักจับที่มีค่าอยู่ที่ 8.5±0.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อ Liu และคณะ (2008) สกัดผลมะขามป้อมด้วยเมทานอล พบค่า EC₅₀ (Effective concentration by 50%) ด้วยวิธี DPPH อยู่ในช่วงระหว่าง 11.23±0.9 ถึง 45.44±1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ขึ้นอยู่กับภูมิภาคที่ทำการเพาะปลูก และมีค่ามากกว่าสารมาตรฐาน Quercetin ซึ่งคำนวณค่า EC₅₀ ได้ 6.6 ±0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เมื่อนำสารสกัดมะขามป้อมที่ได้มาเติมลงในไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบท และทำการวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในไอศกรีม โดยการผสมสารสกัดมะขามป้อมลงไปความเข้มข้นของสารสกัดที่ร้อยละ 0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 โดยน้ำหนัก จากตารางที่ 1 เห็นได้ว่าไอศกรีม ที่ไม่มีสารสกัดมีค่า IC₅₀ อยู่ที่ 196.26±2.08 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้ จากผลปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด และค่า IC₅₀ ของไอศกรีมอาจมีสาเหตุจากพบสารต้านอนุมูลอิสระในสตอเบอรี่ จากงานวิจัยของ Huang et al. (2012) รายงานว่าพบสารประเภทสารประกอบฟีนอล อย่างฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานินในผลของสตอเบอรี่ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของไอศกรีมที่ทำการศึกษา ทั้งนี้การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสตอเบอรี่ในไอศกรีมอาจลดลง ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการผลิตของโรงงานที่ทำการผลิตสตอเบอรี่แช่แข็ง และความร้อนจากการผลิตไอศกรีมเหลว

ในขณะที่ไอศกรีมที่เติมสารสกัดจากมะขามป้อมมีค่า IC₅₀ ลดลงเล็กน้อย (ตารางที่ 1) เนื่องจากความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อมมีค่าไม่สูง สอดคล้องกับการศึกษาของ Hiranrangsee และคณะ (2016) ซึ่งทำการเติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดลงในไอศกรีมผสมเนื้อมังคุด พบว่าร้อยละของการยับยั้ง DPPH สูงสุดที่ 83.6±0.54 ในไอศกรีมที่เติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 2 ในขณะที่เมื่อเติมสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 1 มีค่าร้อยละของการยับยั้ง DPPH 75.1±1.09 และหากไม่เติมสารสกัดลงในไอศกรีม มีค่าร้อยละของการยับยั้ง DPPH 52.6±0.23

ความสามารถในการรีดิวซ์ประจุเฟอร์ริก

เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ที่มีคุณสมบัติในการให้อิเล็คตรอนโดยใช้ไทรอลอกซ์เป็นสารละลายมาตรฐานในการเปรียบเทียบ รายงานค่าในรูป TEAC (Trolox equivalents antioxidant capacity) ซึ่งหมายถึงปริมาณของสารละลายไทรอลอกซ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระต่อน้ำหนักของสารตัวอย่าง จากการศึกษา พบว่าสารสกัดมะขามป้อมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ 285.42±3.27 มิลลิกรัมไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัดมะขามป้อม ดังแสดงในตารางที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Liu และคณะ (2008) ที่พบว่าความเข้มข้นร้อยละ 50 ของสารสกัดมะขามป้อมด้วยเมทานอลซึ่งจับประจุเฟอร์ริกได้ อยู่ในช่วงค่า EC₅₀ ระหว่าง 3.6±0.52 ถึง 6.5±0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ Charoenteeraboon et al. (2010) คำนวณความสามารถในการรีดิวซ์ประจุเฟอร์ริกเป็นความเข้มข้นของเฟอร์รัส (FeSO₄) ได้เท่ากับ 7.46±0.56 ไมโครโมลต่อมิลลิกรัม คิดเป็น 0.89 เท่าของไทรอลอกซ์โดยประมาณ

นอกจากนี้ จากตารางที่ 1 พบว่าไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมมีค่า TEAC เพิ่มขึ้นจากไอศกรีมชุดควบคุมซึ่งไม่สารสกัด ซึ่งไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมในปริมาณร้อยละ 0.25 ที่มีค่า TEAC สูงที่สุด คือ 60.71±4.97 มิลลิกรัมไทรอลอกซ์ต่อกรัม จากการวิเคราะห์ไอศกรีมชุดควบคุม และไอศกรีมที่เติมสารสกัดมะขามป้อมในปริมาณร้อยละ 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 โดยน้ำหนัก มีค่า TEAC เท่ากับ 0.01±0.00, 31.65±3.30, 22.67±1.91, 17.38±1.37 และ 15.55±0.06 มิลลิกรัมไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัดมะขามป้อม ตามลำดับ เห็นได้ว่าค่าที่ TEAC ลดลงเมื่อเทียบกับปริมาณสารสกัดที่ใส่ลงในไอศกรีม ทั้งนี้เนื่องจากมาจากการสูญเสีย

สารที่มีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่ง Wegrzyn et al. (2008) พบว่านมที่เติมสารสกัดจากแอปเปิ้ลและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนลดลงเปรียบเทียบกับค่าเริ่มต้น ประมาณ 19 และ 38% ตามลำดับ ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงสมบัติต้านอนุมูลอิสระนั้นอาจเนื่องมาจากการเกิดปฏิกิริยาของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีผลต่อตำแหน่งที่มีความสามารถในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe^{3+} -TPTZ ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ประจุเฟอร์ริก นอกจากนี้ การเกิดอันตรกิริยาของสารประกอบฟีนอล กับองค์ประกอบในอาหาร เช่น โปรตีน หรือพอลิแซ็กคาไรด์ เป็นต้น ซึ่งสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจน หรือเกิดปฏิกิริยาของหมู่ฟังก์ชันบางหมู่ เช่น การเกิดพันธะเอสเทอร์ระหว่างหมู่คาร์บอกซิลและไฮดรอกซิล นอกจากนี้ การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนในส่วนของหมู่ที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีนมีผลทำให้กักสารประกอบฟีนอลเอาไว้ได้เช่นกัน ซึ่งการเกิดอันตรกิริยาเหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ เห็นได้จากตารางที่ 1 ไอศกรีมชุดควบคุม พบค่า TEAC น้อยมาก (0.01 ± 0.00 มิลลิกรัมโทรลอคซ์ต่อกรัม)

ผลของสารสกัดมะขามป้อมต่อการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 2 คะแนนการยอมรับเฉลี่ยที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันของสารสกัดมะขามป้อมในไอศกรีม

สูตร	คะแนนการยอมรับเฉลี่ย					
	ลักษณะปรากฏ	ความแน่นแข็ง	ความเรียบเนียน	ความหวาน	รสชาติ	การยอมรับโดยรวม
1	$5.90^{ab} \pm 1.56$	$5.30^{ab} \pm 2.04$	$5.93^a \pm 2.08$	$6.60^a \pm 1.54$	$6.93^a \pm 1.11$	$6.73^a \pm 1.41$
2	$5.90^{ab} \pm 1.54$	$5.30^{ab} \pm 1.76$	$5.63^{ab} \pm 1.81$	$5.63^{bc} \pm 1.71$	$6.07^{ab} \pm 1.64$	$6.07^{ab} \pm 1.57$
3	$5.90^{ab} \pm 1.54$	$5.23^{ab} \pm 1.87$	$5.70^{ab} \pm 1.74$	$5.13^{bc} \pm 1.63$	$5.40^{bc} \pm 1.67$	$5.90^{bc} \pm 1.21$
4	$6.07^a \pm 1.46$	$5.60^a \pm 1.63$	$5.97^a \pm 1.69$	$5.37^b \pm 1.79$	$5.50^{bc} \pm 1.68$	$5.97^{ab} \pm 1.71$
5	$5.60^{ab} \pm 1.63$	$5.03^{ab} \pm 1.90$	$5.37^{ab} \pm 1.81$	$4.77^{bc} \pm 2.06$	$4.73^{cd} \pm 2.02$	$5.00^{bc} \pm 1.80$
6	$5.13^b \pm 1.87$	$4.47^b \pm 1.66$	$4.67^b \pm 2.12$	$4.37^c \pm 1.99$	$4.37^d \pm 2.04$	$4.53^c \pm 1.98$

หมายเหตุ

สูตรที่ 1 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบท

สูตรที่ 2 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.25

สูตรที่ 3 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.50

สูตรที่ 4 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.75

สูตรที่ 5 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1.00

สูตรที่ 6 คือ ไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีสารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 1.25

ในคอลัมน์เดียวกันมีตัวอักษรที่แตกต่างกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากการทดลองเกี่ยวกับสารสกัดมะขามป้อมที่ส่งผลต่อไอศกรีมสตอเบอรี่เชอร์เบทที่มีส่วนผสมของสารสกัดมะขามป้อมในสูตรของไอศกรีมที่ร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัด พบว่ามีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ได้รับการประเมินโดยผู้ประเมินที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน แสดงในตารางที่ 2 โดยไอศกรีมชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมสารสกัดมีค่าการยอมรับโดยรวมสูงสุดในขณะที่เมื่อเติมสารสกัดความเข้มข้นต่างๆ (ร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25) ลงในไอศกรีม ส่งผลให้คะแนนการยอมรับโดยรวมลดลงจาก 6.73 ± 1.41 เป็น 6.07 ± 1.57 , 5.90 ± 1.21 , 5.97 ± 1.71 , 5.00 ± 1.98 ตามลำดับ เนื่องมาจากรสชาติของสารสกัดจะเป็นลักษณะเปรี้ยวฝาดไม่เป็นที่นิยมของกลุ่มตัวอย่าง จึงส่งผลต่อรสชาติและลักษณะของไอศกรีม จึงสรุปได้ว่าสูตรที่ใส่สารสกัดและเป็นที่ยอมรับของกลุ่มตัวอย่างคือ ไอศกรีมที่ใส่สารสกัดมะขามป้อมร้อยละ 0.25 เนื่องจากสามารถเทียบเคียงได้กับไอศกรีมชุดควบคุม โดยได้คะแนนการยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Erkaya et al. (2012) ศึกษาผลของการเติม Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) ต่อการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม ซึ่งมีการเติมร้อยละ 5, 10 และ 15 พบว่าไอศกรีมที่เติม Cape gooseberry ร้อยละ 15 ได้รับคะแนนการยอมรับสูงสุดจากกลุ่มตัวอย่าง ในขณะที่ Gabbi et al. (2017) พบว่าการเติมน้ำขิงร้อยละ 6 หรือขิงบดร้อยละ 4 หรือขิงแฉล้มร้อยละ 10 หรือผงขิงร้อยละ 1 ลงในไอศกรีมนม ได้คะแนนการยอมรับโดยรวมสูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 8 คนที่ผ่านการฝึกมาบางส่วน

สรุปผลการวิจัย

มีการใช้ผลมะขามป้อมในทางการรักษาเป็นพืชสมุนไพรอย่างแพร่หลายในภูมิภาคเอเชีย ในงานวิจัยนี้ ทำการสกัดผลมะขามป้อมด้วยสุรา 40 ดีกรีซึ่งมีความปลอดภัยต่อการบริโภค พบว่าสารสกัดจากมะขามป้อมที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 0.35 ± 0.01 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 63.31 ± 1.62 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า TEAC 285.42 ± 3.27 มิลลิกรัมโธรลอคซ์ต่อกรัมสารสกัด จึงนำมาเติมลงในไอศกรีมสตอร์เบอรี่เชอเบทร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.00 และ 1.25 โดยน้ำหนัก เพื่อศึกษาผลของการเติมมะขามป้อมสกัดต่อปริมาณฟีนอลทั้งหมด ค่า IC_{50} ด้วยวิธี DPPH และค่า TEAC พบว่าค่า IC_{50} มีค่าเพิ่มขึ้นตามร้อยละของสารสกัดที่เติมลงไปตามปกติ อย่างไรก็ตาม พบว่าน่าจะมีอันตรกิริยาของสารกับองค์ประกอบในไอศกรีม ทำให้ค่า TEAC มีแนวโน้มไม่เป็นไปตามความเข้มข้นของสารสกัดมะขามป้อมที่เติมเพิ่มขึ้น โดยสรุป ไอศกรีมสตอร์เบอรี่เชอเบทที่เติมสารสกัดมะขามป้อม ร้อยละ 0.25 มีศักยภาพในการพัฒนาให้เป็นอาหารที่เป็นยาต่อไป เนื่องมีการยอมรับจากกลุ่มตัวอย่างที่ดี และมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยงบประมาณเงินรายได้ ของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ผู้เขียนขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่เอื้ออุปการะ และสถานที่ และขอขอบคุณ ผศ.ลินจง สุขสำภา ที่ให้คำปรึกษา และผศ.ดร.ดวงกมล เรืองงาม ที่ช่วยการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เปอร์ริก

บรรณานุกรม

- Bandyopadhyay, S.K., Pakrashi, S.C., & Pakrashi, A. (2000). The role of antioxidant activity of *Phyllanthus emblica* fruits on prevention from indomethacin induced gastric ulcer. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(2), 171-176.
- Benzie, I.F.F., & Strain, J.J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Brusotti, G., Cesari, I., Dentamaro, A., Caccialanza, G., & Massolini, G. (2014). Isolation and characterization of bioactive compounds from plant resources: The role of analysis in the ethnopharmacological approach. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 87, 218-228.
- Çam, M., İçyer, N.C., & Erdoğan, F. (2014). Pomegranate peel phenolics: Microencapsulation, storage stability and potential ingredient for functional food development. *LWT - Food Science and Technology*, 55(1), 117-123.
- Charoenteeraboon, J., Ngamkitidechakul, C., Soonthornchareonnon, N., Jaijoy, K., & Sireeratawong, S. (2010). Antioxidant activities of the standardized water extract from fruit of *Phyllanthus emblica* Linn. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 32(6), 599-604.
- Erkaya, T., Dağdemir, E., & Şengül, M. (2012). Influence of Cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) addition on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream. *Food Research International*, 45(1), 331-335.
- Ferreira, S.S., Passos, C.P., Cardoso, S.M., Wessel, D.F., & Coimbra, M.A. (2018). Microwave assisted dehydration of broccoli by-products and simultaneous extraction of bioactive compounds. *Food Chemistry*, 246, 386-393.

- Fitriansyah, S.N., Aulifa, D.L., Febriani, Y., & Sapitri, E. (2018). Correlation of total phenolic, flavonoid and carotenoid content of *Phyllanthus emblica* extract from Bandung with DPPH scavenging activities. *Pharmacognosy Journal*, 10(3), 447-452.
- Gabbi, D.K., Bajwa, U., & Goraya, R.K. (2017). Physicochemical, melting and sensory properties of ice cream incorporating processed ginger (*Zingiber officinale*). *International Journal of Dairy Technology*, 71(1), 190-197.
- Gao, Q., Li, X., Huang, H., Guan, Y., Mi, G., & Yao, J. (2018). The efficacy of a chewing gum containing *Phyllanthus emblica* fruit extract in improving oral health. *Current Microbiology*, 75(5), 604-610.
- Hasler, C.M. (2002). Functional foods: Benefits, concerns and challenges-A position paper from the American council on science and health. *The Journal of Nutrition*, 132(12), 3772-3781.
- Hiranrangsee, L., Kumaree, K.K., Sadiq, M.B., & Anal, A.K. (2016). Extraction of anthocyanins from pericarp and lipids from seeds of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) by Ultrasound-assisted extraction (UAE) and evaluation of pericarp extract enriched functional ice-cream. *Journal of Food Science and Technology*, 53(10), 3806-3813.
- Huang, W., Zhang, H., Liu, W., & Li, C. (2012). Survey of antioxidant capacity and phenolic composition of blueberry, blackberry, and strawberry in Nanjing. *Journal of Zhejiang University Science B*, 13(2), 94-102.
- Hwang, J.Y., Shyu, Y.H., & Hsu, C.K. (2009). Grape wine lees improves the rheological and adds antioxidant properties to ice cream. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 312-318.
- Liu, W., Li, M., Wang, J., & Wan, C. (2017). Structural Identification of Phenolic Constituents from *Phyllanthus emblica* L. and Their Inhibitory Activity on α -glucosidase. *Modern Food Science & Technology*, 33(12), 50-55.
- Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., & Jiang, Y. (2008). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21, 219-228.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Review*, 4(8), 118-126.
- Luo, W., Zhao, M., Yang, B., Shen, G., & Rao, G. (2009). Identification of bioactive compounds in *Phyllanthus emblica* L. fruit and their free radical scavenging activities. *Food Chemistry*, 114(2), 499-504.
- Kumnerdkhonkaen, P., Saenglee, S., Asgar, M.A., Senawong, G., Khongsukwiat, K., & Senawong, T. (2018). Antiproliferative activities and phenolic acid content of water and ethanolic extracts of the powdered formula of *Houttuynia cordata* Thunb. fermented broth and *Phyllanthus emblica* Linn. Fruit. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 130-142.
- Meilgaard, M.C., Civille, G.V., & Carr, B.T. (2015). *Sensory Evaluation Techniques*, 5th Edition. Boca Raton, USA: CRC Press, Taylor & Francis.
- Morton, J.F. (1960). The emblic (*Phyllanthus emblica* L.). *Economic Botany*, 14(2), 119-128.
- Nambiar, S.S., Venugopal, K.S., Shetty, N.P., & Appaiah, K.A.A. (2016). Fermentation induced changes in bioactive properties of wine from *Phyllanthus* with respect to atherosclerosis. *Journal of Food Science and Technology*, 53(5), 2361-2371.
- Sagdic, O., Ozturk, I., Cankurt, H., & Tornuk, F. (2012). Interaction between some phenolic compounds and probiotic bacterium in functional ice cream production. *Food and Bioprocess Technology*, 5(8), 2964-2971.
- Singh, M.K., Yadav, S.S., Gupta, V., & Khattri, S. (2013). Immunomodulatory role of *Emblia officinalis* in arsenic induced oxidative damage and apoptosis in thymocytes of mice. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 13, 193-206.

- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. In L. Packer (Ed.). *Oxidants and Antioxidants Part A, Methods in Enzymology Volume 299* (pp. 152-178). Amsterdam, Netherlands: Elsevier.
- Wegrzyn, T.F., Farr, J.M., Hunter, D.C., Au., J., Wohlers, M.W., Skinner, M.A., Stanley, R.A., & Sun-Waterhouse, D. (2008). Stability of antioxidants in an apple polyphenol-milk model system. *Food Chemistry*, 109, 310-318.
- Yamasaki, K., Hashimoto, A., Kokusenya, Y., Miyamoto, T., & Sato, T. (1994). Electrochemical method for estimating the antioxidative effects of methanol extracts of crude drugs. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 42(8), 1663-1665.