

**Thesis Title** Comparison of Qualities of Fresh Pennywort (*Centella asiatica* (Linn.) Urban) Juice with Products Processed by Ultra-High Pressure, Pasteurization and Sterilization

**Author** Mrs. Pronprapha Wongfhun

**Degree** Doctor of Philosophy (Food Science and Technology)

**Thesis Advisory Committee**

Associate Professor Dr. Arunee Apichartsrankoon	Chairperson
Professor Dr. Micheal H. Gordon	Member
Associate Professor Dr. Aranya Manosroi	Member
Dr. Ampin Kuntiya	Member

**Abstract**

Biologically active constituents of pennywort juice were analyzed by HPLC. It was found that the extracted juice contained the bioactive glycosides, asiaticoside and madecassoside and their aglycones, which are asiatic and madecassic acids. The pennywort juice was subsequently treated with various processes i.e. HPP at 400 MPa with the holding time 20 min, pasteurization at 90°C for 3 min and sterilization at 121°C for 4 min. The optimum condition from these three processes was initially determined based on microbiological quality. Antioxidant properties of pennywort juices were determined in terms of FRAP assay, TPC,  $\beta$ -carotene and ascorbic acid contents. It was found that the contents of madecassoside, asiaticoside, asiatic acid, madecassic acid, ascorbic acid, chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and  $\beta$ -carotene in fresh pennywort juice were 3.80, 4.49, 2.69, 1.66, 4.77, 0.33, 0.15 and 2.50 mg/100 ml, respectively. After processing, madecassoside, asiaticoside, ascorbic acid and  $\beta$ -carotene contents were reduced to 2.74-3.77, 2.92-4.30, 0.69-4.16 and 1.50-2.52 mg/100 ml, respectively. Similarly, the FRAP was reduced from 913.51  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/L in the fresh juice to 126.00-734.87  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/L in the processed juice. The TPC decreased from 988.54 mg/100 ml in the fresh juice to 55.53-404.23 mg/100 ml in the processed samples. The microbiological quality in all processed juices and in 4 month

stored samples was within the value recommended by the Thai Food Regulation-Standard (2003). Slight colour degradation was generally observed, but high extent of the degradation was found in high temperature processed samples. The study on stability of biologically active compound showed that madecassoside and asiaticoside were more stable than  $\beta$ -carotene, ascorbic acid, TPC and FRAP. Ascorbic acid, TPC and FRAP in HPP, pasteurized and sterilized juices reduced during storage at 4°C. Loss of  $\beta$ -carotene was found only in sterilized juice stored at 40°C.

The flavour characteristics of the fresh, HPP, pasteurized and sterilized pennywort juices were investigated using SPME combined with GC-MS. In HPP samples, 49-56 volatile components were found and 55-74 volatile components were found in heat-treated samples. Larger numbers of volatile components were found as compared to the original fresh juice (48 volatiles). Total volatile concentrations in the fresh juice were higher than those in the processed juices, especially for samples without sugar addition. For samples with sugar addition, the total concentrations of volatile components in fresh and processed juices were not different.

The fresh pennywort juice was characterized by a high content of acyclic alcohols, aldehydes, oxygenated monoterpenes, and oxygenated sesquiterpenes. HPP retained better alcoholic volatile components. Aldehydes and oxygenated monoterpenoids were found at higher concentrations in HPP than in pasteurized and sterilized juices. Volatile compounds found in HPP juice were linalool, geraniol,  $\alpha$ -copaene,  $\beta$ -selinene and cuparene. Some compounds were present in the fresh juice but were lost during the HPP treatment, including 2,6-nonadienal, 2-nonenal,  $\beta$ -cyclocitral,  $\gamma$ -cadinene and caryophyllene oxide. Some compounds were not found in the fresh juice but appeared in HPP juice, including 2-butanone, 3-nonen-2-one,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpineol and tetrahydrofuran. This suggests that HPP could induce chemical reactions leading to generation of new components. Several volatile compounds detected in the thermal-treated juice, but not present in the fresh or HPP juice, include 2-nonanone and  $\alpha$ -ylangene. The volatile components found in the sterilized juice but not found in fresh juice were  $\gamma$ -terpinene, ketones, and germacrene D.

The results of this study indicate that the pennywort juice still retains higher amounts of bioactive and aroma compounds after processing by HPP as compared to pasteurization and sterilization.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** เปรียบเทียบคุณภาพของน้ำใบบัวบกสดและผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการแปรรูป  
ด้วยความดันสูงยิ่ง พาสเจอร์ไรซ์เซชัน และสเตอริไลเซชัน

**ผู้เขียน** นางพรประภา วงศ์ฝัน

**ปริญญา** วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต(วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)

**คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์**

รองศาสตราจารย์ ดร. อรุณี อภิชาติสร่างกูร	ประธานกรรมการ
Professor Dr. Micheal H. Gordon	กรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร. อรัญญา มโนสร้อย	กรรมการ
อาจารย์ ดร. อำพิน กันธิยะ	กรรมการ

**บทคัดย่อ**

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำใบบัวบกสกัดที่วิเคราะห์ด้วย high performance liquid chromatography (HPLC) พบว่าประกอบด้วยสารกลุ่ม glycosides ซึ่งได้แก่ asiaticoside และ madecassoside และ aglycones (asiatic acid และ madecassic acid) จากการหาสภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปน้ำใบบัวบกด้วยความดันสูงยิ่ง การพาสเจอร์ไรซ์ และการสเตอริไลซ์ ในสภาวะความดัน 400 MPa นาน 20 นาที พาสเจอร์ไรซ์ที่ 90 °ซ นาน 3 นาที และสเตอริไลซ์ที่ 121 °ซ นาน 4 นาที โดยพิจารณาจากผลทางจุลชีววิทยา การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของใบบัวบกด้วยวิธี ferric reducing antioxidant potential (FRAP) ปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) ปริมาณเบต้าแคโรทีนและกรดแอสคอร์บิก พบว่าปริมาณ madecassoside, asiaticoside, asiatic acid, madecassic acid, กรดแอสคอร์บิก กลูโคโรฟิลาดีเอและบี และเบต้าแคโรทีน ในน้ำใบบัวบกสดเท่ากับ 3.80, 4.49, 2.69, 1.66, 4.77, 0.33, 0.15 และ 2.50 มก./100 มล. ตามลำดับ เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปพบว่าปริมาณของ madecassoside, asiaticoside กรดแอสคอร์บิก และเบต้าแคโรทีนลดลงเหลือ 2.74-3.77, 2.92-4.30, 0.69-4.16 และ 1.50-2.52 มก./100 มล. ตามลำดับ ค่า FRAP ในน้ำใบบัวบกสดเท่ากับ 913.51  $\mu\text{MFeSO}_4$  แต่เมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปลดลงจนมีค่า 126.00-734.87  $\mu\text{MFeSO}_4$  ส่วนค่า TPC ลดลงจาก 988.54 มก./100 มล.ในน้ำใบบัวบกสดเหลือ 55.53-404.23 มก./100 มล.หลังผ่านกระบวนการแปรรูป สำหรับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์หลังผ่านกระบวนการแปรรูปพบว่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของมผช. (2546) นอกจากนี้ยังพบในปริมาณต่ำ

ตลอดช่วงเวลาที่เก็บรักษาเป็นเวลา 4 เดือน แต่ค่าสีของน้ำใบบวบที่ผ่านการแปรรูปต่างๆ มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยถึงมากสำหรับตัวอย่างที่ใช้ความร้อนสูง จากการศึกษาคุณภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพระหว่างการศึกษาผลิตภัณฑ์ พบว่า madecassoside และ asiaticoside มีความเสถียรมากกว่าเบต้าแคโรทีน กรดแอสคอร์บิก FRAP และ TPC ทั้งนี้พบว่าปริมาณของกรดแอสคอร์บิก TPC และ FRAP ในน้ำใบบวบที่ผ่านความดันสูงยิ่งและพาสเจอร์ไรซ์ ลดลงตลอดช่วงเก็บรักษาที่ 4 °ซ ส่วนการสูญเสียเบต้าแคโรทีนจะพบเฉพาะในน้ำใบบวบสเตอริไลซ์ซึ่งเก็บรักษาที่ 40 °ซ เท่านั้น

จากการจำแนกคุณลักษณะของสารประกอบกลิ่นรสในน้ำใบบวบสด และน้ำใบบวบแปรรูปโดยใช้ solid-phase micro-extraction (SPME) ร่วมกับ gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) พบว่าปริมาณของสารประกอบกลิ่นรสในน้ำใบบวบที่ผ่านความดันสูงยิ่งและผ่านความร้อนอยู่ในช่วง 49-56 และ 55-74 ชนิด ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นจากน้ำใบบวบสดที่พบเพียง 48 ชนิด นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณความเข้มข้นรวมของสารประกอบกลิ่นรสในน้ำใบบวบสดสูงกว่าน้ำใบบวบที่ได้ผ่านการแปรรูปโดยเฉพาะในตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำตาล แต่สำหรับตัวอย่างที่เติมน้ำตาล พบว่าความเข้มข้นรวมของสารประกอบกลิ่นรสในน้ำใบบวบสดไม่แตกต่างจากน้ำใบบวบที่ได้ผ่านการแปรรูป กลุ่มสารให้กลิ่นในน้ำใบบวบสด ได้แก่ แอลกอฮอล์ aldehydes, oxygenated monoterpenes และ oxygenated sesquiterpenes ซึ่งมีปริมาณสูงกว่าน้ำใบบวบที่ผ่านกระบวนการแปรรูป การใช้ความดันสูงยิ่งทำให้สารกลุ่มแอลกอฮอล์เหลืออยู่ นอกจากนี้ยังพบสารในกลุ่ม aldehydes และ oxygenated monoterpenoids ซึ่งมีมากกว่าตัวอย่างที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์และสเตอริไลซ์ สารประกอบกลิ่นที่พบส่วนใหญ่ในตัวอย่างที่ผ่านความดันสูงยิ่ง ได้แก่ linalool, geraniol,  $\alpha$ -copaene,  $\beta$ -selinene และ cuparene สารประกอบในน้ำใบบวบสดที่ลดลงเมื่อผ่านความดันสูงยิ่ง เช่น 2, 6-nonadienal, 2-nonenal,  $\beta$ -cyclocitral,  $\gamma$ -cadinene และ caryophyllene oxide สารประกอบที่ไม่พบในน้ำใบบวบสดแต่กลับพบหลังผ่านความดันสูงยิ่ง ได้แก่ 2-butanone, 3-nonen-2-one,  $\gamma$ -terpinene,  $\alpha$ -terpineol และ tetrahydrofuran ผลการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นว่ากระบวนการความดันสูงยิ่งทำให้โมเลกุลของสารเกิดอันตรกิริยาซึ่งมีผลให้โครงสร้างทางเคมีเปลี่ยนแปลงไปโดยกลายเป็นสารตัวใหม่ สารประกอบกลิ่นที่พบในน้ำใบบวบที่ผ่านความร้อนแต่ไม่พบในน้ำใบบวบสด ได้แก่ 2-nonanone และ  $\alpha$ -ylangen ส่วนสารประกอบกลิ่นในน้ำใบบวบสเตอริไลซ์ ที่ไม่พบในน้ำใบบวบสด ได้แก่  $\gamma$ -terpinene, ketones และ germacrene D

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำใบบวบยังคงมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีววิทยาและสารประกอบกลิ่นหลังผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยความดันสูงยิ่งมากกว่าการพาสเจอร์ไรซ์และการสเตอริไลซ์ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำใบบวบสด