วารสารผลิตกรรมการเกษตร
JOURNAL OF AGRICULTURAL PRODUCTION
MJU

ว. ผลิตกรรมการเกษตร 5(2):1-9
J. Agri. Prod. 2023

ผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนและการผลิตชาใบหม่อนผง

Effect of Temperature on Antioxidant Activity in Mulberry Leaf Tea and Mulberry Leaf Tea Powder Production

มาดีนา น้อยทับทิม* วรรษมน วัฑฒนายน สิรินาถ ชูประจง ตัซนีม สมวงค์ และ วุฒิชัย ศรีช่วย
Madeena Noitubtim* Wassamon Wattanayon Sirinat Chooprajong Tasneem Somwong and Wutthichai Srichuay

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ จังหวัดนราธิวาส 96000
Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat 96000
* Corresponding author: madeena.n@pnu.ac.th

(Received: 4 January 2022; Revised: 8 August 2022; Accepted: 15 August 2022)

Abstract

The objectives of this research were 1) to study the effect of drying temperature at 3 levels which are 60, 70 and 80 °C on antioxidant activity of mulberry leaf tea for 1 hour 2) to assess sensory quality and overall acceptance 3) to study mulberry leaf tea powder production 4) to evaluate the shelf life of mulberry tea and mulberry leaf tea powder. The results showed that mulberry tea was dried at 60 °C when analyzed for antioxidant activity by DPPH assay, had the highest activity of scavenging DPPH with EC_{50} was 162.95±4.95 mg/ml, while 70 °C and 80 °C were 193.42±10.07 and 256.17±7.68 mg/ml, respectively. Moreover, overall acceptance quality of mulberry tea was dried at 60, 70 and 80 °C were like slightly. When storing mulberry leaf tea products which was drying at 60 °C for 3 months, it was found that the moisture content after storing for 0, 1, 2 and 3 months were 3.71%±0.06, 4.17%±0.04, 4.45%±0.07 and 4.55%±0.36, respectively. The total microbial were 3.8×10^3, 6.8×10^3, 7.8×10^3 and 8.5×10^3 CFU/g, respectively. *Salmonella* sp. and *Staphylococcus aureus* were not found. The results showed that when mulberry leaf tea product was stored at room temperature for 3 months, it was still safe for consumption according to Thai community product standard on dried mulberry for infusion. Production of mulberry tea powder products by freeze-drying, this study concluded that it is possible to improve the formula of mulberry leaf tea powder for future studies because mulberry tea powder was stored for 3 months, it was found that water activity was not different ($p>0.05$), which was in the range of 0.22-0.30. The total microbial when stored for 0, 1, 2 and 3 months were <10, <100, 3.2×10^2 and 3.8×10^2 CFU/g, respectively which according to Thai community product standard on instant mixed herbs drink.

Keywords: Mulberry leaf tea, temperature, antioxidant activity, mulberry leaf tea powder

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในการอบชาใบหม่อนที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 2) ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบโดยรวม 3) ศึกษาการผลิตชาใบหม่อนผง 4) ประเมินอายุการเก็บชาใบหม่อนและชาใบหม่อนผง ผลการทดลองพบว่าชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอช มีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ EC_{50} เท่ากับ 162.95±4.95 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่ชาใบหม่อน อบที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส เท่ากับ 193.42±10.07 และ 256.17±7.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การยอมรับโดยรวมต่อชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 70 และ 80 องศาเซลเซียสอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ค่าความชื้นที่ระยะเวลาเก็บ 0 1 2 และ 3 เดือนเท่ากับร้อยละ 3.71±0.06, 4.17±0.04, 4.45±0.07 และ 4.55±0.36 ตามลำดับ และมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 3.8×10^3 6.8×10^3, 7.8×10^3 และ 8.5×10^3 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ โดยไม่พบเชื้อแซลโมเนลลาและเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ยังมีความปลอดภัยต่อการบริโภคตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่องใบหม่อนแห้งชงดื่ม การผลิตชาใบหม่อนผงด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สำหรับการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่ามีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสูตรชาใบหม่อนผงในการศึกษาครั้งต่อไป เนื่องจากเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผงเป็นระยะเวลา 3 เดือน พบว่า ค่าปริมาณน้ำอิสระไม่มีความแตกต่างกัน ($p>0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 0.22-0.30 และพบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน เท่ากับ น้อยกว่า 10 น้อยกว่า 100 3.2×10^2 และ 3.8×10^2 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่องสมุนไพรรวมผงสำเร็จรูป

คำสำคัญ: ชาใบหม่อน อุณหภูมิ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ชาใบหม่อนผง

คำนำ

หม่อน มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Morus alba* L. มีถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบเขตหนาวและเขตอบอุ่น ปลูกได้ในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย เป็นต้น ทุกส่วนของต้นหม่อนสามารถใช้ประโยชน์ได้ (วสันต์ และคณะ, 2556) ดังนั้นเราจึงเห็นผลิตภัณฑ์จากต้นหม่อนหลายชนิด เช่น น้ำลูกหม่อน แยมลูกหม่อน และชาใบหม่อน เป็นต้น ชาใบหม่อนนับว่าเป็นผลิตภัณฑ์จากต้นหม่อนที่สามารถหาซื้อได้ทั่วไป ชาใบหม่อนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำใบหม่อนมาแปรรูปด้วยวิธีการทำให้แห้งโดยใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์หรือแหล่งพลังงานอื่น (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2558) การผลิตชาใบหม่อนมีวิธีการดังนี้ เริ่มจากการคัดเลือกใบหม่อนที่มีสภาพใบสมบูรณ์มาหั่นให้ได้ขนาดแล้วไปนึ่งด้วยไอน้ำเดือด ตั้งไว้ให้เย็นแล้วนวดด้วยมือ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ใช้เวลาอบ 1 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 7 (กรมหม่อนไหม, 2557) ดังนั้นหากชาใบหม่อนผ่านการแปรรูปที่ไม่เหมาะสมจะมีความชื้นสูงทำให้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ไม่นาน การบริโภคชาสมุนไพรเพิ่มสูงขึ้นโดยเฉพาะในกลุ่มผู้สูงอายุเนื่องจากไม่มีสารคาเฟอีนและเชื่อว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพ ปัจจุบันไม่เพียงแต่จะปลูกต้นหม่อนเพื่อใช้ใบมาเลี้ยงไหมอย่างเดียว ได้มีการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรอีกทางหนึ่ง เนื่องจากใบหม่อนมีสารต้านอนุมูลอิสระ ฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลิก และมีไยอาหาร สามารถนำมาเป็นยาสมุนไพรต้านมะเร็ง เบาหวาน และรักษาระบบประสาทได้ (Afzal *et al.*, 2021) จากการให้อาสาสมัครจำนวน 12 ราย ดื่มสารละลายกลูโคสแล้วดื่มชาใบหม่อนสายพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีสาร 1-deoxynojirimycin (DNJ) สูงกว่าสายพันธุ์อื่น ห่างกันเป็นเวลา 15 นาที พบว่าช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติก เนื่องจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และ DNJ ในใบหม่อนมีฤทธิ์ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (อุไรภรณ์ และคณะ, 2562) นอกจากนี้พบว่าสารสำคัญในใบหม่อนเป็นทางเลือกสำหรับการรักษาปัจจัยเสี่ยงทางหัวใจและเมแทบอลิกได้ (Thaipitakwong *et al.*, 2018) ทั้งนี้วิธีการและอุณหภูมิในการแปรรูปชาใบหม่อนนั้นมีผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระ (Sarkhel and Manvi, 2021) นอกจากสารสำคัญที่มีประโยชน์ในใบหม่อนแล้ว หากใช้เทคโนโลยีที่สูงในการแปรรูปอาจจะต้องคำนึงถึงเรื่องต้นทุนในการแปรรูปชาใบหม่อนด้วย จากที่กล่าวมาข้างต้น การแปรรูปชาใบ

หม่อนนั้นมีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก จึงมีกลุ่มแม่บ้านหรือกลุ่มวิสาหกิจชุมชนหลาย ๆ กลุ่มแปรรูปใบหม่อนเป็นผลิตภัณฑ์ขายเป็นรายได้เสริม หากใช้อุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมอาจจะทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนเหลืออยู่ปริมาณน้อยและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ไม่นาน ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรสำเร็จรูปหลากหลายรูปแบบเพื่อเพิ่มความสะดวกต่อผู้บริโภค ซึ่งสมุนไพรรวมผงสำเร็จรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการน้ำสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของสมุนไพรอย่างน้อย 2 ชนิด มาผสมกับน้ำตาลหรือสารให้ความหวาน ปรุงแต่งกลิ่นรสด้วยเกลือหรือน้ำผึ้ง ให้ความร้อนจนเข้มข้นและแห้งเป็นเกล็ดขนาดเล็กหรือบดเป็นผง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบโดยรวม ศึกษาการผลิตชาใบหม่อนผง และประเมินอายุการเก็บชาใบหม่อนและชาใบหม่อนผง

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมชาใบหม่อน

1. เลือกใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ที่สะอาดปราศจากโรคและแมลง เก็บใบหม่อนตำแหน่งที่ 3-8 นับจากใบยอด นำมาทำความสะอาดจัดเรียงใบ ตัดก้านใบตรงกลางออกและหั่นใบหม่อนเป็นชิ้นประมาณ 0.5×4 เซนติเมตร ลวกน้ำร้อนอุณหภูมิ 95±2 องศาเซลเซียส เวลา 20-30 วินาที แล้วแช่น้ำเย็นอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสทันที นำใบหม่อนที่ลวกแล้วใส่ถาดผึ่งให้แห้งก่อนนำมาคั่วที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิแสดงบนเตาไฟฟ้า) เป็นเวลา 20 นาที ขณะคั่วใช้มือนวดใบหม่อนจนใบบิดเป็นเกลียว พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เก็บในกล่องพลาสติกปิดสนิทสำหรับใส่อาหาร (ดัดแปลงจากวิธีของกรมหม่อนไหม, 2557)

การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อน

1. ชั่งน้ำหนักชาใบหม่อน 200 กรัมด้วยเครื่องชั่งไฟฟ้า (Mettler-Toledo รุ่น PL402-L, Switzerland) จากนั้นใส่ในถาดสเตนเลส ขนาด 30×58×3.5 เซนติเมตร เกลี่ยชาใบหม่อนให้มีความหนาสม่ำเสมอแล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน (Memmert รุ่น UF75, Germany) อบที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาบดด้วยเครื่องปั่น (Panasonic รุ่น MX-GX1561, China) ให้เป็นผง นำไปร่อนด้วยตะแกรง 80 Mesh บรรจุใส่ซองเยื่อกระดาษ 3 กรัมต่อซอง แล้วเก็บในกล่องพลาสติกปิดสนิทสำหรับใส่อาหาร (Figure 1) เก็บที่อุณหภูมิห้องเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป (ดัดแปลงจากวิธีของกรมหม่อนไหม, 2557)

2. นำตัวอย่างชาใบหม่อนที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 3 ระดับ (60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส) มาสกัดด้วยวิธีการชง (infusion) โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 25 กรัม แช่ในน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บส่วนที่เป็นของเหลวไว้ในขวดสีชาและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทันทีหลังจากการสกัด (ดัดแปลงจากวิธีของ กิตติพัฒน์ และปานทิพย์, 2560)

3. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 3 ระดับ (60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส) ด้วยวิธี DPPH ได้ดัดแปลงจากวิธีของ วสันต์ และคณะ (2557) โดยใส่สารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบลงใน 96 well plate ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ในเมทานอลความเข้มข้น 90 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 180 ไมโครลิตรให้เข้ากันแล้วบ่มไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงด้วย microplate reader (Power Wave$_x$, USA) ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ได้ไปคำนวณเป็นร้อยละความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารแอนติออกซิแดนท์ (%inhibition) แล้วนำค่า %inhibition

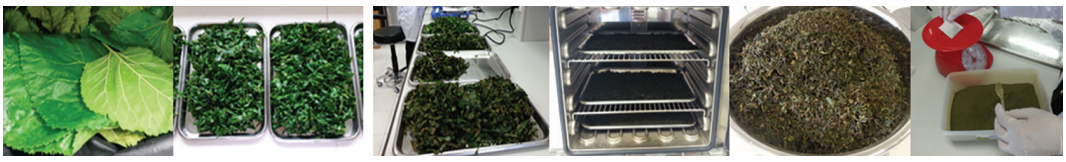

Figure 1 Process of mulberry leaf tea

ของตัวอย่างที่ได้ไปสร้างกราฟเส้นตรงเพื่อใช้คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีผลต่อการลดจำนวนของอนุมูลอิสระลงไปครึ่งหนึ่งจากจำนวนของอนุมูลอิสระเริ่มต้น (Half maximal effective concentration; EC_{50})

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบโดยรวม

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบโดยรวมด้วยวิธี 9-point Hedonic Scale โดยคะแนนเท่ากับ 9 หมายถึงชอบมากที่สุด และคะแนนเท่ากับ 1 หมายถึงความไม่ชอบมากที่สุด โดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน เป็นบุคคลทั่วไปอายุระหว่าง 18-50 ปี การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้คำนึงถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนโดยเลือกผู้ทดสอบชิมเป็นผู้ที่มีสุขภาพดี เพศหญิงหรือเพศชายและจะต้องเป็นผู้ที่ไม่มีประวัติการแพ้อาหารชนิดใดชนิดหนึ่ง มีเกณฑ์การประเมินการยอมรับด้าน สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม เตรียมตัวอย่างชาใบหม่อนเพื่อทำการทดสอบ ดังนี้ ชงชาใบหม่อน 1 ซอง (3 กรัม) ในน้ำร้อน 100 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 90±2 องศาเซลเซียส แช่เป็นเวลา 5 นาที แบ่งใส่แก้วปริมาณ 25 มิลลิลิตร พักไว้เตรียมทำการทดลองโดยอุณหภูมิของตัวอย่างชาใบหม่อนขณะเสิร์ฟประมาณ 60 องศาเซลเซียส (ดัดแปลงจากวิธีของ สุรชัย และคณะ, 2558) ซึ่งผู้วิจัยทำการแจ้งอุณหภูมิของตัวอย่างชาใบหม่อนให้ผู้ทดสอบทราบก่อนเสิร์ฟโดยให้ผู้ทดสอบชิมทีละตัวอย่าง มีทั้งหมด 3 ตัวอย่าง ทั้งนี้ผู้ทดสอบชิมจะต้องล้างปากด้วยน้ำเปล่าก่อนทดสอบตัวอย่างถัดไป วางแผนการทดลองแบบสุ่มภายในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD)

การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อน

เลือกชาใบหม่อนอบด้วยอุณหภูมิที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนมาประเมินอายุการเก็บผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อน โดยนำชาใบหม่อนบรรจุเยื่อกระดาษ 3 กรัมต่อซอง เก็บรักษาในซองอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน วัดค่าความชื้น (AOAC, 2000) และทดสอบทางจุลินทรีย์ ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อแซลโมเนลลา และเชื้อสแตฟิโลค็อกคัสออเรียส (AOAC, 2000) ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทุก 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)

การผลิตชาใบหม่อนผง

เลือกชาใบหม่อนอบด้วยอุณหภูมิที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนมาทำชาใบหม่อนผง ต้มชาใบหม่อนในน้ำด้วยเตาไฟฟ้าโดยมีอัตราส่วน 1 ต่อ 4 ที่อุณหภูมิ 98±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที พักไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง กรองเอาน้ำชาใบหม่อนเก็บในภาชนะปิดสนิทและนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส แล้วทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) (LABCONCO รุ่น FreeZone 2.5, Canada) นำชาใบหม่อนผงผสมน้ำตาลทรายอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 2 ต่อ 1

การศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผง

นำชาใบหม่อนผงบรรจุใส่ซองอลูมิเนียมฟอยล์ 5 กรัมต่อซอง เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (28±2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 เดือน วัดค่าปริมาณน้ำอิสระด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (A_w) (Decagon, รุ่น Pawkit, USA) และทดสอบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 2000) ของผลิตภัณฑ์ตัวอย่างทุก 1 เดือน วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD)

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองด้วย Analysis of variance (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อน

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนผ่านการอบที่อุณหภูมิ 3 ระดับคือ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี DPPH ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยสาร 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl วิธีนี้เป็นที่นิยมอย่างกว้างขวางเพื่อตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาก่อนหน้าได้เปรียบเทียบวิธีการหาสารต้านอนุมูลอิสระ 3 วิธี พบว่าการเตรียมสารเคมีด้วยวิธี DPPH ไม่ยุ่งยากและสะดวก วิธีวิเคราะห์ง่ายและมีความรวดเร็ว ถูกต้องแม่นยำสูง

เมื่อเทียบกับวิธี ABTS และ FRAP แต่วิธี DPPH assay ไม่เหมาะกับตัวอย่างที่เป็นพลาสมาเนื่องจากโปรตีนจะตกตะกอนในแอลกอฮอล์ (Shah and Modi, 2015) สำหรับการทดลองนี้ได้รายงานเป็นค่า EC_{50} หมายถึงค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีผลต่อการลดจำนวนของอนุมูลอิสระเริ่มต้น โดยหากค่า EC_{50} มาก แสดงถึงประสิทธิภาพของตัวอย่างนั้นต่ำ แต่ในทางกลับกันหากค่า EC_{50} น้อยแสดงว่าตัวอย่างมีประสิทธิภาพดี (วสันต์ และคณะ, 2557) จากการทดลองได้สกัดชาใบหม่อนด้วยน้ำร้อนเพื่อจำลองสภาพความเป็นจริงเมื่อบริโภคชาจะนำชาใบหม่อนมาแช่น้ำร้อนก่อนดื่ม จากการนำชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) (Table 1) โดยชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส มี ค่า EC_{50} เท่ากับ 162.95±4.95, 193.42±10.07 และ 256.17±7.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเมื่อเทียบกับชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 70 และ 80 องศาเซลเซียส ขั้นตอนการนวดขณะคั่วใบหม่อนก่อนนำไปอบเป็นขั้นตอนที่ใช้น้ำหนักกดลงที่ใบหม่อนเพื่อให้เซลล์แตกทำให้สารประกอบต่าง ๆ ที่อยู่ในเซลล์ไหลออกมานอกเซลล์และเคลือบอยู่บนใบชาส่งผลต่อกลิ่น รสชาติ รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระด้วย ผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานการทำแห้งชาใบหม่อนด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือ การทำแห้งด้วยวิธีทางธรรมชาติ การทำแห้งด้วยแช่เยือกแข็ง และการอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งการอบที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้ชาใบหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ลือชัย และคณะ, 2557) เนื่องจากความร้อนมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (พัชรี และสกุลกานต์, 2558) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาใบหม่อนอบด้วยเครื่องอบแบบอุโมงค์ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที พบว่าการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ชาใบหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด แต่ความชื้นของชาใบหม่อนจากการอบที่อุณหภูมิดังกล่าวมีมากกว่าร้อยละ 15 ทำให้เก็บชาใบหม่อนได้ไม่นาน (Taufik *et al.,* 2016) การแปรรูปชาใบหม่อนนอกจากจะคำนึงถึงปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแล้ว ควรจะพิจารณาถึงคุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์โดยรวมของผลิตภัณฑ์ด้วย เพราะจะส่งผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อน

Table 1 Effect of drying temperatures of mulberry leaf tea on DPPH radical scavenging activity

Temperature (°C)	Effective concentration: EC_{50} (mg/ml)
60	$162.95±4.9^{5}$a
70	$193.42±10.07^{b}$
80	$256.17±7.68^{c}$

Remarks: $^{a-c}$ Means with the different letters in the same column were significant at $p \leq 0.05$
Values are the mean ± SD (n = 3)

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบโดยรวม

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสและความชอบด้านความชอบโดยรวมแบบ 9-point Hedonic Scale โดยผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส (Table 2) พบว่าคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความชอบสีและกลิ่นมีความแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ส่วนด้านความชอบรสชาติและความชอบโดยรวมของชาใบหม่อนมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส ได้รับคะแนนจากผู้ทดสอบชิมด้านความชอบสีอยู่ในช่วง 6.20-6.44 ความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย ความชอบด้านกลิ่น อยู่ในช่วง 5.60-5.68 อยู่ในระดับเฉย ๆ ความชอบด้านรสชาติอยู่ในช่วง 6.14-6.22 อยู่ในระดับชอบเล็กน้อย และความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 6.52-6.60 คือมีความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย แต่พบว่าชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ได้รับคะแนนความชอบ

โดยรวมมากที่สุด คือ 6.60±1.84 รองลงมาคือ ชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส เท่ากับ 6.52±1.58 และ 6.48±1.74 ตามลำดับ คะแนนด้านความชอบสีของชาใบหม่อนอบทั้ง 3 อุณหภูมิ อยู่ในระดับชอบเล็กน้อย สอดคล้องกับรายงานการยอมรับและพฤติกรรมของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรไทยของ สุรชัย และคณะ (2558) พบว่าคุณลักษณะสีของกลุ่มตัวอย่างชา ได้แก่ ชาใบหม่อน ชาขิง ชาดอกคำฝอย ชาเจียวกู้หลาน ชามะขาม และชาเขียว ได้รับคะแนนความชอบอยู่ในช่วง 6.3-6.5 คือมีความชอบอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย

การศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อน

งานวิจัยนี้เลือกชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดมาศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยบรรจุชาใบหม่อนในเยื่อกระดาษแล้วเก็บในซองอลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน ผลการวิเคราะห์ค่าความชื้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เชื้อแซลโมเนลลา และเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส ของชาใบหม่อน (Table 3) ผลการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน มีค่าความชื้นเท่ากับร้อยละ 3.71±0.06, 4.17±0.04, 4.45±0.07 และ 4.55±0.36 ตามลำดับ และมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 3.8×10^3, 6.8×10^3, 7.8×10^3 และ 8.5×10^3 โคโลนีต่อกรัม ไม่พบเชื้อแซลโมเนลลา และเชื้อสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 3 เดือนแล้วพบว่าผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนยังมีความปลอดภัยต่อการบริโภคตามข้อกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่องชาใบหม่อนแห้งชงดื่ม ประเภทชาใบหม่อนแห้งชงดื่มชนิดใบหม่อนบดหยาบหรือบดละเอียดผสมส่วนผสมอื่นจากธรรมชาติ ระบุว่า ความชื้นต้องไม่เกินร้อยละ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร เชื้อแซลโมเนลลาต้องไม่พบในตัวอย่าง 25 กรัม และสแตฟิโลค็อกคัส ออเรียส ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2558) ค่าความชื้นและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดของชาใบหม่อนเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น สอดคล้องกับการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาชงใบหม่อนผสมผลหม่อนบรรจุซองอลูมิเนียมฟอยล์เคลือบด้วยพลาสติกชนิด PET ปิดผนึกแบบสุญญากาศ เก็บที่อุณหภูมิ 35, 45 และ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน พบว่าความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้นที่อุณหภูมิทั้ง 3 ระดับ (ธนกิจ และคณะ, 2561)

การผลิตชาใบหม่อนผงและอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

การผลิตชาใบหม่อนผงนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความสะดวกต่อผู้บริโภค จากการทดลองนี้ได้เลือกชาใบหม่อนอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยนำมาทำแห้งด้วยการแช่แบบเยือกแข็ง ผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นสามารถชงชาใบหม่อนผง 1 ซอง (5 กรัม) โดยปริมาณน้ำร้อนที่แนะนำต่อชาใบหม่อนผง 1 ซอง คือ 100 มิลลิลิตร การผลิตชาใบหม่อนผงครั้งนี้เป็นแนวทางการพัฒนาสูตรในการศึกษาครั้งต่อไป ทั้งนี้ผู้วิจัยต้องการศึกษาความเป็นไปได้ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผง เนื่องจากผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผงเป็นการผสมชาใบหม่อนผงกับน้ำตาลทรายเท่านั้นโดยไม่ใช้วัตถุเจือปนอาหาร ซึ่งในปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรสำเร็จรูปพร้อมดื่มเพื่อเป็นทางเลือกต่อผู้บริโภคหลากหลายชนิดด้วยกัน เช่น ชาข้าวก่ำเพาะงอกพร้อมชง (สิริการ และคณะ, 2557) น้ำตำลึงผง (เศรษฐการ, 2554) และมะตูมผงสำเร็จรูป (ศิริพร, 2561) เป็นต้น ผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำอิสระและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด (Table 4) เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 0, 1, 2 และ 3 เดือน ค่าปริมาณน้ำอิสระมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p>0.05$) มีค่าอยู่ในช่วง 0.22-0.30 และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดมีค่าน้อยกว่า 10 น้อยกว่า 100 3.2×10^2 และ 3.8×10^2 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ โดยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น และเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 3 เดือนแล้วพบว่าชาใบหม่อนผงสำเร็จรูปมีค่าปริมาณน้ำอิสระ และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่องสมุนไพรรวมผงสำเร็จรูป (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2556) คือ มีปริมาณน้ำอิสระไม่เกิน 0.6 และมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผงสำเร็จรูปที่พัฒนาขึ้นนั้นจัดอยู่ในกลุ่มอาหารเน่าเสียยากซึ่งมีค่าปริมาณน้ำอิสระต่ำสามารถเก็บได้นานหากเก็บไว้ในสภาวะที่เหมาะสม

Table 2 Effect of drying temperatures on the sensory quality of mulberry leaf tea

Temperature (°C)	Average sensory score			
	Color	Odor^{ns}	Flavor	Overall^{ns}
60	6.20±1.84^{a}	5.62±1.68	6.16±1.13^{a}	6.52±1.58
70	6.52±1.60^{c}	5.60±1.81	6.22±125^{b}	6.53±1.74
80	6.44±1.52^{b}	5.68±1.85	6.14±1.57^{a}	6.60±1.84

Remarks: $^{a-b}$ Means with the different letters in the same column were significant at p≤0.05
^{ns} Means not statistically significant
Values are the mean ± SD (n = 3)

Table 3 Moisture content and microbial quality of mulberry leaf tea at different storage periods

Storage period (month)	Moisture content (%)	Microbial count (CFU/g)	*Salmonella* sp.	*S. aureus*
0	3.71±0.0^{6}a	3.8 x10^{3}	nd	nd
1	4.17±0.0^{4}b	6.8 x10^{3}	nd	nd
2	4.45±0.07^{c}	7.8 x10^{3}	nd	nd
3	4.55±0.36^{c}	8.5 x1^{0}3	nd	nd

Remarks: $^{a-b}$ Means with the different letters in the same column were significant at p≤0.05
nd Means not detected
Values are the mean ± SD (n = 3)

Table 4 Water activity and microbial quality of mulberry leaf tea powder at storage periods

Storage period (month)	Water activity^{ns}	Microbial count (CFU/g)
0	0.22±0.02	<10
1	0.25±0.01	<100
2	0.27±0.04	3.2×10^{2}
3	0.30±0.04	3.8×10^{2}

Remarks: ^{ns} Means not statistically significant
Values are the mean ± SD (n = 3)

สรุปผลการวิจัย

สิ่งที่ผู้บริโภคคาดหวังในการบริโภคชาใบหม่อนคือการได้รับสารที่มีประโยชน์จากชาใบหม่อน เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อสารต้านอนุมูลอิสระและระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนคือ อุณหภูมิการอบชาใบหม่อน การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการอบชาใบหม่อนคือ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เป็นอุณหภูมิที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีคุณภาพด้านความชอบโดยรวมอยู่ในระดับชอบเล็กน้อย เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน โดยพบว่ายังมีความปลอดภัยต่อการบริโภคตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์

ชุมชนเรื่องใบหม่อนแห้งชงดื่ม สำหรับการผลิตชาใบหม่อนผงนั้นมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนาสูตรชาใบหม่อนผงในการศึกษาครั้งต่อไป เนื่องจากสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนผงสำเร็จรูปที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าค่าปริมาณน้ำอิสระและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเรื่องสมุนไพรรวมผงสำเร็จรูป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ศูนย์หม่อนไหมเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์พระบรมราชินีนาถ จังหวัดนราธิวาส ที่อนุเคราะห์ใบหม่อนเพื่อการวิจัย และคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ที่สนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

กรมหม่อนไหม. 2557. การผลิตชาใบหม่อนเชิงพาณิชย์. แหล่งข้อมูล https://qsds.go.th/wpcontent/uploads/2017/pdf/2014-11-04-tea.pdf (10 มกราคม 2564).

กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. 2560. การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 3(1): 86-94.

ธนกิจ ถาหมี พิไลรัก อินธิปัญญา และดุษฎี บุญธรรม. 2561. การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ชาชงใบหม่อนผสมผลหม่อนโดยวิธีสภาวะเร่ง. วารสารเกษตร 34(1): 157-166.

พัชรี สิริตระกูลศักดิ์ และสกุลกานต์ สิมลา. 2558. ผลของกรรมวิธีการประกอบอาหารต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในดอกชมจันทร์. แก่นเกษตร 43(1): 875-880.

ลือชัย บุตคุป อินทร์ตา ขานพรหม และศุภชัย สมัปปิโต. 2557. อิทธิพลของกระบวนการทำแห้งใบหม่อน (*Morus alba* L.) ในการผลิตชาเขียวต่อปริมาณฟลาโวนอยด์และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 27(1): 1-11.

วสันต์ นุ้ยภิรมย์ อัญชลี โพธิ์ดี และวิโรจน์ แก้วเรือง. 2556. หม่อนผลสดและการแปรรูป. กรมหม่อนไหม. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

วสันต์ สุมินทิลี่ ปนิดา บรรจงสินศิริ จันทนา ไพรบูรณ์ และวรรณวิมล คล้ายประดิษฐ์. 2557. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากสาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lintillifera*) สาหร่ายทุ่น (*Sargassum oligocystum*) และสาหร่ายเขากวาง (*Gracilaria changii*). วารสารเทคโนโลยีการอาหาร 9(1): 63-75.

ศิริพร สอนสมบูรณ์สุข. 2561. การพัฒนาผลิตภัณฑ์มะตูมผงสำเร็จรูปด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกลและระบบกระบวนการ คณะวิศวกรรมศาสตร์, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เศรษฐการ นุชนิยม. 2554. การผลิตน้ำตำลึงผงโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 19(2): 51-63.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2556. สมุนไพรรวมผงสำเร็จรูป. แหล่งข้อมูล https://tcps.tisi.go.th/pub/tcps1441_56(สมุนไพรรวมผงสำเร็จรูป).pdf (16 มกราคม 2564).

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2558. ใบหม่อนแห้งชงดื่ม. แหล่งข้อมูล https://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0030_58(ใบหม่อนชงดื่ม).pdf (16 มกราคม 2564).

สิริการ หนูสิงห์ ปาจารีย์ มันดี และบุศราภา ลีละวัฒน์. 2557. การพัฒนาชาข้าวก่ำเพาะงอกพร้อมชง. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 22(3): 337-346.

สุรชัย อุตมอ่าง นิรมล อุตมอ่าง และรัฐนันท์ พงศ์วิริทธิ์ธร. 2558. การยอมรับและพฤติกรรมของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรไทย. วารสารศรีนครินทรวิโรฒวิจัยและพัฒนา (สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์) 7(13): 187-199.

อุไรภรณ์ บูรณสุขสกุล อลงกต สิงโต นริศา เรืองศรี และปิยะพงษ์ ประเสริฐศร. 2562. ผลของการดื่มชาใบหม่อนต่อระดับน้ำตาลในเลือดและระดับความอิ่มในอาสาสมัครสุขภาพดี. วารสารศรีนครินทร์เวชสาร 34(3): 237-242.

Afzal, F., W. Khalid, M.N. Asif, A. Jabeen, R.P. Jha, M.Z. Khalid, C. Fizza, A. Aziz, R. Akram, A. Bashir, S. Younas, F. Nayyer, R. Yasin and M.Z. Ahmad. 2021. Role of mulberry leaves in human nutrition: a review. J. Acta Scientific Nutritional Health 5(3): 43-50.

AOAC. 2000. Official methods of analysis of AOAC International. 15th Edition. Arlington: AOAC International.

Sarkhel, S. and D. Manvi. 2021. Processing of mulberry leaves: a review. J. Int. J. of Chemical Studies 9(1): 859-865.

Shah, P. and H.A. Modi. 2015. Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. J. IJRASET 3(4): 636-641.

Taufik, Y., T. Widiantara and Y. Garnida. 2016. The effect drying temperature on the antioxidant activity of black mulberry leaf tea (*Morus nigra*). J. RASAYAN J. Chem. 9(4): 889-895.

Thaipitakwonga, T., S. Numhomb and P. Aramwita. 2018. Mulberry leaves and their potential effects against cardiometabolic risks: a review of chemical compositions, biological properties and clinical efficacy. J. Pharmaceutical biology 56 (1): 109-118.