b 11 46 28.

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม

Effect of drying method on tea extract from Assam green tea

โดย

อาจารย์ ปริญญา วงษา และคณะ

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

สัญญาเลขที่ 16/พ.ศ. 2550
รหัสโครงการวิจัย 5005020016

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของวิธีการทำแห้งต่อสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม

Effect of drying method on tea extract from Assam green tea

โดย

อาจารย์ ปริญญา วงษา[1]
อาจารย์ ณัฐกาญจน์ รุ่งเรือง[1]
นางสาวยูถิกา สร้อยระย้า[2]
นายณัฐวุฒิ ดอนลาว[2]

[1]สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร
[2]ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

งานวิจัยนี้ได้รับเงินอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2550

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยเรื่องผลของวิธีการทำแห้งต่อสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม ได้ดำเนินการเรียบร้อย คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงที่สนับสนุนทุนวิจัยและอนุมัติให้ขยายเวลาโครงการวิจัยฯ

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร.อรพิน ภูมิภมร อดีตคณบดีสำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ให้คำปรึกษา และกระตุ้นให้คณะวิจัยดำเนินโครงการวิจัยตลอดมา

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการอาหาร ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงและนักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร (ภายใต้การให้คำปรึกษาของหัวหน้าโครงการ) ที่สนับสนุน ช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกการใช้เครื่องมืออุปกรณ์การวิเคราะห์ ตลอดจนการทดสอบต่างๆในการดำเนินการวิจัย หากมีสิ่งใดที่เป็นข้อแนะนำเพิ่มเติม คณะผู้วิจัยขอน้อมรับด้วยความยินดี เพื่อการปรับปรุงแก้ไขต่อไป

อาจารย์ ปริญญา วงษา
อาจารย์ ณัฐกาญจน์ รุ่งเรือง
นางสาวยูถิกา สร้อยระย้า
นายณัฐวุฒิ ดอนลาว

เมษายน 2554

บทสรุปผู้บริหาร

ความเป็นมาและความสำคัญ

ในปัจจุบันการบริโภคชาเขียวในรูปแบบใบชาเขียวซง และชาเขียวพร้อมดื่มได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากการรับรู้คุณสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยที่จังหวัดเชียงรายเป็นพื้นที่เพาะปลูกและแปรรูปชาเขียวหลักของประเทศไทย ผลผลิตใบชาเขียวแห้งผลิตจากใบชาสดสายพันธุ์อัสสัม จากรายงานการวิจัยที่ผ่านมา ยังไม่มีการศึกษาและพัฒนาผงสารสกัดชาเขียวอัสสัม

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม ให้ได้สารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัมชนิดผงที่ดี

ผลการดำเนินการวิจัย

การวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ ศึกษาอัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำที่ใช้สกัดสาร พบว่าอัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำที่เพิ่มขึ้น ทำให้สารสกัดชาเขียวมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด คาเฟอีน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(DPPH และ FRAR value) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณแทนนินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และ FRAP value ของสารสกัดชาเขียว มีค่าสูง ส่วนการศึกษาวิธีการทำแห้ง พบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งใช้เวลาทำแห้งเฉลี่ยนานกว่าแบบพ่นฝอย ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและคาเฟอีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญ แต่ปริมาณแทนนินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และ FRAP value มีค่าสูง ส่วนการทำแห้งผงสารสกัดชาเขียวแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าผลอิทธิพลจากปัจจัยร่วมของความเข้มข้นของสารสกัดชาเขียวและอุณหภูมิทำแห้ง มีผลต่อปริมาณความชื้นและองค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียว อย่างมีนัยสำคัญ

สรุปผลการวิจัย

ผงสารสกัดชาเขียวเตรียมจากสารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 1 และทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 200 ^{o}C มีปริมาณและคุณภาพที่ดี

ข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลสำหรับผู้ประกอบการที่มีความประสงค์ที่จะพัฒนาผลิตชาเขียวชนิดใหม่ด้วยวิธีการทำแห้ง และควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต้นทุนในการผลิตและความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์ในเชิงพาณิชย์

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม ให้ได้สารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัมชนิดผงที่ดี โดยสารชาเขียวอัสสัมสกัดด้วยอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1, 5, และ 10 แล้วทำแห้งด้วยวิธีการแบบพ่นฝอยและแบบแช่เยือกแข็ง และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด แทนนิน คาเฟอีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย 2 วิธีได้แก่ DPPH radical scavenging assay (DPPH) และ Ferric reducing /antioxidant power (FRAP) พบว่าผงชาเขียวอัสสัมมีสารฟีนอลทั้งหมด แทนนิน คาเฟอีน DPPH value และ FRAP value ปริมาณ13.41 ± 0.33 g/100 g dw , 10.80 ± 0.61 g/100 g dw, 1.72 ± 0.02 g/100 g dw, 33.45 ± 0.62 mM GAE /100g dw และ 97.61 ± 0.22 mM TE /100 g dw ตามลำดับ การสกัดสารชาเขียว พบว่า อัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำที่เพิ่มขึ้น ทำให้สารสกัดชาเขียวมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด คาเฟอีน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(DPPH และ FRAR value) ลดลง แต่ปริมาณแทนนินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ส่วนความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และ FRAP value ของสารสกัดชาเขียว มีค่า 0.99 และ 0.92 ตามลำดับ ส่วนการทำแห้งสารสกัดชาเขียว พบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (20 ชั่วโมง) ใช้เวลาเฉลี่ยนานกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย (2 ชั่วโมง) ผงสารสกัดชาเขียวแบบพ่นฝอยจากสารสกัดชาเขียวทั้งสามอัตราส่วน มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและคาเฟอีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ส่วนปริมาณแทนนินเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 และความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และ FRAP value มีค่า 1.00 และ 0.89 ตามลำดับ ส่วนการทำแห้งผงสารสกัดชาเขียวแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าผลอิทธิพลจากปัจจัยร่วมของอัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำและอุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (20, 30 และ40 ^{o}C) มีผลต่อปริมาณความชื้นและองค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียว อย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 ความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 20 ^{o}C และค่า DPPH value และค่า FRAP value มีค่าความสัมพันธ์สูงสุดคือ 0.75 และ 1.00 โดยที่สารสกัดชาเขียวแบบพ่นฝอยที่เตรียมจากอัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1 และทำแห้งที่อุณหภูมิ 200 ^{o}C มีปริมาณและคุณภาพที่ดี

คำสำคัญ: ชาเขียว การทำแห้งแบบพ่นฝอย การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

The objective of this study was to investigate an optimal drying method and condition for producing a good quantity and quality of crude extracted Assam green tea. Infusion of Assam green tea was extracted at a different ratio between dried green tea powder to water at 1, 5 and 10%. Tea infusion was then dried by spray and freeze drying. Total phenolic content, tannin content, caffeine content and antioxidant activity measured by DPPH and FRAP assay of tea infusion and dried crude green tea powder was performed. Assam green tea powder had total phenol content, tannin content, caffeine content and DPPH and FRAP value of 13.41 ± 0.33 g/100 g dw , 10.80 ± 0.61 g/100 g dw , 1.72 ± 0.02 g/100 g dw, 33.45 ± 0.62 mM GAE /100g dw and 97.61 ± 0.22 mM TE /100 g dw, respectively. An increase in the ratio between dried green tea powder to water resulted in the green tea infusions, which had a significant higher in total phenol content, caffeine content and DPPH and FRAP value but a significant lower in tannin content, at $p \leq 0.05$. Correlation (R^2) between total phenol content of the green tea infusions and DPPH and FRAP value of 0.99 and 0.92 was observed, respectively. Average drying period of freeze drying (20 hour) was longer than that of spray drying (2 hour). Spray dried-crude green tea powder prepared from all extracted ratios showed a significant lower in total phenol content and caffeine content but a significant higher in tannin content at $p \leq 0.05$. The correlation (R^2) between total phenol content of dried-crude green tea powder and DPPH and FRAP value of 1.00 and 0.89 was observed, respectively. The combination of extraction ratio and freeze drying temperature affected significantly ($p \leq 0.05$) on moisture content and main phytochemicals in dried powder. The correlation (R^2) between total phenol content of dried-crude green tea powder and DPPH and FRAP value of 0.75 and 1.00 was observed, respectively. A good quantity and quality of dried green tea powder was obtained from the green tea infusion prepared at the ration of 1% and dried by spray drying at drying temperature of 200 °C.

Keywords: green tea, spray drying, freeze drying, phytochemicals, antioxidant activity

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทสรุปผู้บริหาร	ข
บทคัดย่อ	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	1
1.4 คำถามหลักของงานวิจัย	1
1.5 ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย	1
1.6 ขอบเขตการวิจัย	2
1.7 ระยะเวลาในการดำเนินการ	2
1.8 คณะนักวิจัย	2
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย	3
2.2 องค์ประกอบเคมีของชาเขียว	6
2.3 องค์ประกอบเคมีในชาที่มีผลผลให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา	6
2.4 คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก	10
2.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน	10
2.6 การทำแห้ง (Drying)	11
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	14
3.1 วัสดุและสารเคมี	14
3.2 การเตรียมตัวอย่างผงชาเขียวบดละเอียด	14
3.3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดชาเขียว	14
3.4 การศึกษาสภาวะในแต่ละวิธีการทำแห้งสารสกัดจากชาเขียวอัสสัม	14
3.5 การวิเคราะห์ความชื้น	15

หน้า

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด 15
3.7 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน 16
3.8 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน 17
3.9 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay 18
3.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay 19
3.11 การวัดค่าสี 19
3.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ 19

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอธิบายผลการวิจัย 20
4.1 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงชาเขียวอัสสัม 20
4.2 องค์ประกอบหลักทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียว 21
4.3 ผลสภาวะการทำแห้ง 22
4.4 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอย 24
4.5 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 26
4.6 คุณลักษณะต่าง ๆ ของผงสกัดชาเขียว 29

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 33

เอกสารอ้างอิง 34

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบชาเขียวแห้งและใบชาดำแห้ง 6

ตารางที่ 2.2 ปริมาณ catechins, gallic acid and caffeine ในชาชนิดต่างๆ 8

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของผงชาเขียว 20

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียว 21

ตารางที่ 4.3 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียวและค่า DPPH และ FRAP value 22

ตารางที่ 4.4 ระยะเวลาเฉลี่ยการทำแห้งสารละลายสารสกัดชาเขียว 24

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 25

ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอยและค่า DPPH และ FRAP 26

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 27

ตารางที่ 4.8 วิเคราะห์ความแปรปรวน (Multiple Analysis of Variance, MANOVA) 28

ตารางที่ 4.9 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและค่า DPPH และ FRAP 29

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตชา 5
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของสารประกอบคาเทชีนและกรดแกลลิก 8
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของคาเฟอีน 8
รูปที่ 2.4 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล 11
รูปที่ 4.1 ค่าการละลายของผงสารสกัดชาเขียว 30
รูปที่ 4.2 (ก) *L**-value ของผงสารสกัดชาเขียว 31
รูปที่ 4.2 (ข) *a**-value ของผงสารสกัดชาเขียว 31
รูปที่ 4.2 (ค) *b**-value ของผงสารสกัดชาเขียว 32

ภาคผนวก ก

หน้า

รูปที่ ก-1 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 37

รูปที่ ก-2 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 37

รูปที่ ก-3 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 38

รูปที่ ก-4 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 38

รูปที่ ก-5 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 39

รูปที่ ก-6 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10 39

รูปที่ ก-7 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 40

รูปที่ ก-8 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 40

รูปที่ ก-9 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 41

รูปที่ ก-10 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 41

รูปที่ ก-11 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 42

รูปที่ ก-12 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย 42

รูปที่ ก-13 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 43

รูปที่ ก-14 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 43

รูปที่ ก-15 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 44

หน้า

รูปที่ ก-16 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 44
รูปที่ ก-17 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 45
รูปที่ ก-18 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C 45
รูปที่ ก-19 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 46
รูปที่ ก-20 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 46
รูปที่ ก-21 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 47
รูปที่ ก-22 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 47
รูปที่ ก-23 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 48
รูปที่ ก-24 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C 48
รูปที่ ก-25 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 49
รูปที่ ก-26 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 49
รูปที่ ก-27 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 50
รูปที่ ก-28 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 50
รูปที่ ก-29 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 51
รูปที่ ก-30 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C 51

ภาคผนวก ข

ประวัติหัวหน้าโครงการ 52

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย

จากรายงานทางวิทยาศาสตร์หลายชิ้น ที่ได้แสดงให้เห็นว่าชา โดยเฉพาะชาเขียวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติด้าน antimutagenic, anticarcinogenic and anticlastogenic (Yamamoto et al, 1997) การที่จะให้ผลดังกล่าว อาจต้องดื่มชาในปริมาณมาก ดังนั้น จึงน่าจะสกัดสารออกฤทธิ์ในชาออกมาในรูปสารละลายเข้มข้น การที่ร่างกายได้รับสารออกฤทธิ์ในชา ที่ให้ผลเฉพาะเจาะจงต่อสุขภาพตามที่ต้องการ และบริโภคในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้ได้รับสรรพคุณที่ต้องการ นอกจากนี้ อาจใช้สารสกัดจากชา (Tea extract) ในการแปรรูปเป็นเครื่องดื่มชา ซึ่งทำให้ผู้ประกอบการสามารถพัฒนาสูตรเครื่องดื่ม และควบคุมการผลิตให้มีปริมาณสารออกฤทธ์สม่ำเสมอในทุก batch ได้ง่ายกว่า แปรรูปจากใบชาโดยตรง แต่ทั้งนี้สารสกัดที่อยู่ในรูปของเหลวยากต่อการเก็บรักษาและการขนส่ง ซึ่งหากสามารถกำจัดตัวทำละลายซึ่งในที่นี้คือน้ำออกไปได้ จะช่วยในการยืดอายุการเก็บโดยการลดค่าวอเตอร์แอคทิวิตี ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ และการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนั้นการลดน้ำหนักและปริมาณของอาหาร ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาและขนส่ง จะส่งผลให้การนำสารสกัดจากชาเขียวในรูปของแห้งไปใช้ประโยชน์ได้สะดวกและกว้างขวางมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัมชนิดผงที่ดี

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำความรู้จากการวิจัย โดยเฉพาะสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัมที่มีปริมาณและคุณภาพสารพฤกษเคมีที่ดี และสามารถนำไปประยุกต์ในการผลิตเชิงพาณิชย์

1.4 คำถามหลักของงานวิจัย

วิธีการทำแห้งแต่ละวิธีมีผลอย่างไรต่อปริมาณและคุณภาพสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม

1.5 ทฤษฎี สมมติฐาน หรือกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

อัตราส่วนของผงชาเขียวอัสสัมและน้ำที่ใช้สกัดที่แตกต่างกัน น่าจะให้ปริมาณและคุณภาพสารพฤกษเคมีของสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม นอกจากนี้วิธีการทำแห้ง ระยะเวลาและอุณหภูมิของการทำแห้ง จะมีผลต่อคุณภาพทางกายภาพ และปริมาณและคุณภาพสารพฤกษเคมีของผงสารสกัด

จากใบชาเขียวอัสสัม ดังนั้นอัตราส่วนการสกัดและสภาวะที่เหมาะสมในวิธีทำแห้งสารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัม จะได้ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากใบชาเขียวอัสสัมที่มีปริมาณและคุณภาพสารพฤกษเคมีที่ดี

1.6 ขอบเขตการวิจัย

- ใบชาที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ใช้ใบชาเขียวอัสสัม ที่ผลิตในจังหวัดเชียงราย
- สารสกัดจากชาที่ได้จากการศึกษา เป็น crude tea extract ชนิดผง
- ศึกษาการสารสกัดชาผง เปรียบเทียบวิธีการอบแห้ง การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) และ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying)

1.7 ระยะเวลาในการดำเนินการ

1 ธันวาคม 2549 – 30 พฤศจิกายน 2553

1.8 คณะนักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

อาจารย์ปริญญา วงษา

สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ร่วมวิจัย

อาจารย์ณัฐกาญจน์ รุ่งเรือง

สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

นางสาวยูถิกา สร้อยระย้า

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

นายณัฐวุฒิ ดอนลาว

ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทที่ 2
แนวคิดทฤษฎี และเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้องและครอบคลุมงานวิจัย

ชา *(Camellia sinensis)* มีสายพันธุ์มากกว่า 1,200 สายพันธุ์ทั่วโลก ชามีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย โดยเฉพาะบนเขตที่ราบสูงของจีนและอินเดีย ซึ่งถือว่าเป็นแหล่งผลิตชาที่มีคุณภาพดีที่สุดในโลก เนื่องจากต้นชาเป็นไม้พุ่ม การทำไร่ชานิยมตัดแต่งต้นชาเป็นพุ่มเตี้ยๆ เพื่อง่ายต่อการเก็บ การเก็บใบชาจะเด็ดเฉพาะส่วนที่เป็นตุ่มยอดและใบอ่อนอีก 2 – 3 ใบเท่านั้น ซึ่งนำมาผลิตชาที่มีคุณภาพดี แต่อย่างไรก็ตามคุณภาพและรสชาติของใบชายังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆอีกหลายชนิดเช่น ภูมิประเทศและสภาพของดินของที่ปลูก อุณหภูมิ ฤดูกาล และแสงแดด ชาแบ่งได้ตามสายพันธุ์ออกเป็น 3 พันธุ์ใหญ่ๆ (ศุภนารถ และ วิไลภรณ์ 2543)

2.1.1 สายพันธุ์ชา

(1) ชาอัสสัม (Assem Tea)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Camellia sinensis* Var.assamica (Mast.)

ลักษณะเป็นลำต้นเดี่ยว สูงประมาณ 6-18 เมตร ใบใหญ่เจริญเติบโตเร็ว ทนแล้ง ดอกออกเป็นช่อๆ ละ 2-4 ดอก ชาอัสสัมสามารถแบ่งออกเป็นพันธุ์ย่อยได้ 5 สายพันธุ์คือ

(1.1) พันธุ์อัสสัมใบจาง (Light leaved Assam jat) ต้นมีขนาดเล็ก ยอดและใบมีสีเขียวอ่อน ลักษณะใบเป็นมันวาว ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอ ให้ผลผลิตต่ำและคุณภาพไม่ดี เมื่อนำมาทำชาจีนจะมีสีน้ำตาล

(1.2) พันธุ์อัสสัมใบเข้ม (Dark leaved Assam jat) ยอดและใบมีสีเขียวเข้ม ใบนุ่มเป็นมัน มีขนปกคลุม ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี เมื่อนำมาทำชาจีน จะมีสีดำ

(1.3) พันธุ์มานิปุริ (Manipuri jat) เป็นพันธุ์ที่แข็งแรง ให้ผลผลิตสูง ใบมีสีเขียวเข้มเป็นประกาย ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ทนแล้งได้ดี

(1.4) พันธุ์พม่า (Burma jat) ใบมีสีเขียวเข้ม ใบแก่มีสีเขียวแกมน้ำเงิน ใบกว้างแผ่นใบรูปไข่ ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีมาก

(1.5) พันธุ์ลูไซ (Lushai jat) ขอบใบหยักลึก ปลายใบเห็นได้ชัด

(2) ชาจีน (China Tea)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Camellia sinensis* Var-sinensis

ลักษณะลำต้นเป็นพุ่มเตี้ย สูงประมาณ 2-3 เมตร ใบมีสีเขียวข้ม ขนาดเล็ก ยาวแคบ ขนาดใบยาว 3.8-6.4 เซนติเมตร ตั้งตรง ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย เส้นใบมองเห็นไม่ชัด ข้อถี่ปล้องสั้น ทนทานต่ออุณหภูมิต่ำและสภาพแวดล้อมที่ผันแปรได้ดี ผลผลิตต่ำเมื่อเทียบกับกลุ่มพันธุ์ชาอัสสัม ชาพันธุ์นี้ปลูกมากในประเทศจีน สายพันธุ์ที่นิยมปลูกจะแตกต่างกันไป ในแต่ละท้องที่ เช่น สายพันธุ์ชิงชิงอูหลง

(3) ชาเขมร (Indo- China Tea)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Camellia sinensis* Var. Indo-China

ลักษณะลำต้นเดี่ยว สูงประมาณ 5 เมตร ใบแข็งเป็นมัน ใบยาว ขอบใบหยักแบบฟันเลื่อย แผ่นใบม้วนงอเป็นรูปคล้ายตัววี ก้านใบสีแดง ในฤดูแล้งใบจะมีสีแดงเรื่อๆ ยอดอ่อนรสฝาดจัด มีแทนนินสูง ทนแล้งได้ดี

2.1.2 ประเภทของผลิตภัณฑ์ชาแบ่งตามกรรมวิธีการผลิต

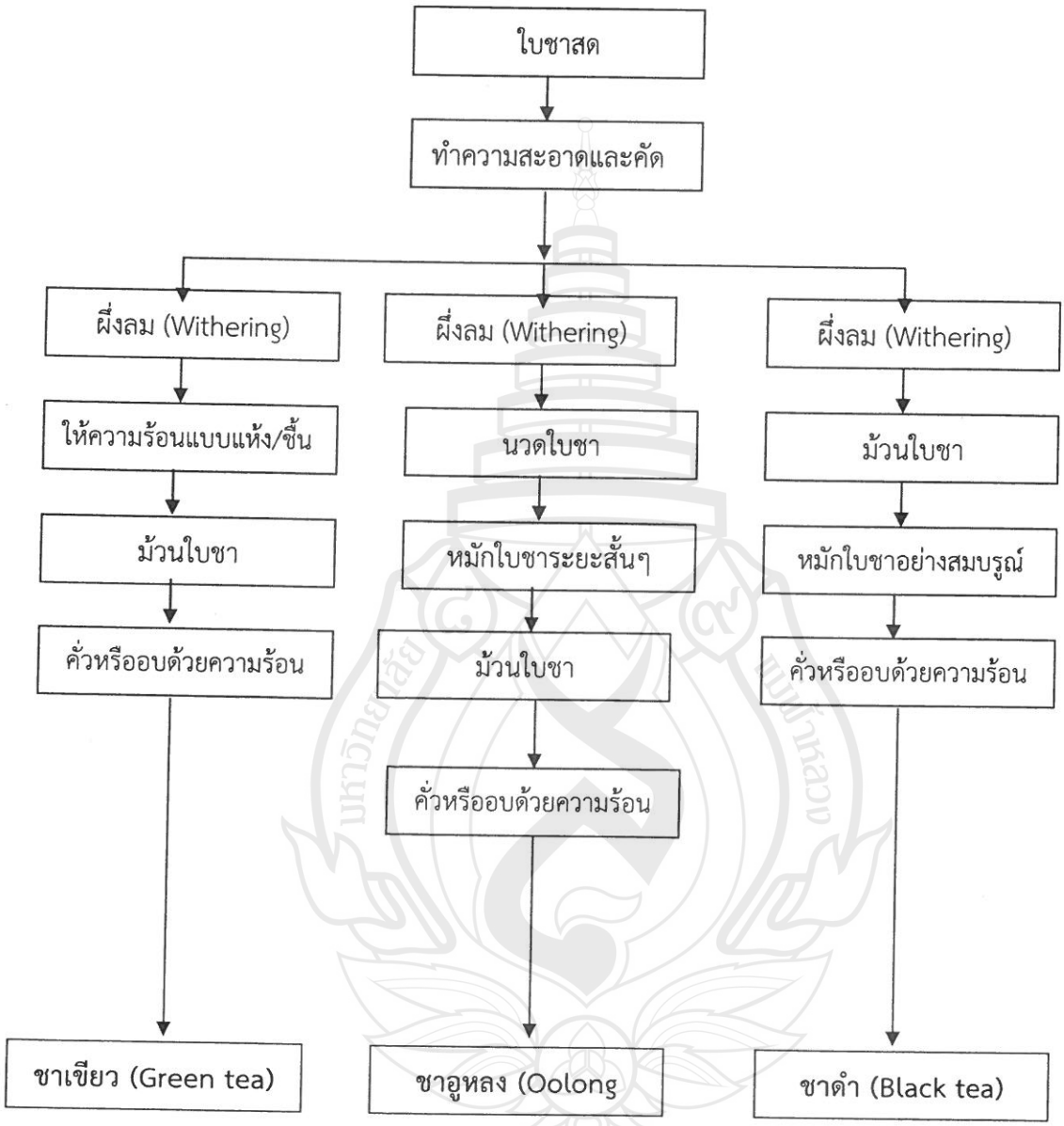
ผลิตภัณฑ์ชาอาจจะแบ่งได้ตามกรรมวิธีการผลิต (รูปที่ 2.1) ซึ่งชาที่ผลิตและนิยมดื่มในกลุ่มผู้บริโภคในประเทศไทย อยู่ 3 ประเภทคือ ชาเขียว (Green tea) ชาอูหลง (Oolong tea) และชาดำ (Black tea) นอกจากในประเทศจีนและอื่นๆ ยังมีการผลิตและดื่มชาจีนประเภทอื่นๆ เช่น ชาขาว ชาเหลือง ชาเขียวน้ำเงิน ชาแดงและชาม่วง (Chuen 2002) อย่างไรก็ตามชาเหล่านี้ ไม่ค่อยเป็นที่รู้จักของผู้ดื่ม เนื่องจากเป็นการผลิตระดับครัวเรือน

(1) ชาเขียว เป็นใบชาที่ไม่ผ่านการหมัก (non-fermented tea processing) โดยการเก็บใบชายอด อ่อน 3 ใบแรกจากยอดชา แล้วนำมาผึ่งลม (withering) ในเวลาสั้น ๆ เพื่อลดความชื้นของใบชาลงเล็กน้อย และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในใบชา โดยอาศัยความร้อน โดยทำได้หลายวิธี ทั้งให้ความร้อนแบบแห้ง (firing) และความร้อนแบบชื้นจากไอน้ำ (steaming) เมื่อยับยั้งเอนไซม์ในใบชาแล้วสารเคมีในชาจะคงสภาพไม่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเคมีไปเป็นสารอื่นอีก จากนั้นจึงม้วนใบชา ต่อด้วยการอบให้แห้ง เพื่อบรรจุในบรรจุภัณฑ์จำหน่ายต่อไป กรรมวิธีการผลิตนี้จะทำให้ทั้งสี กลิ่นและรส จะยังไม่ถูกทำลายไป ทำให้เชื่อว่าคุณภาพคงสภาพคล้ายใบชาสดที่เก็บมาจากต้น

(2) ชาอูหลง เป็นใบชาที่ผ่านการหมักเพียงเล็กน้อย (semi-fermented tea processing) เพื่อให้ผิวนอกของใบชาช้ำเท่านั้น การหมักชา (fermentation) คือ การปล่อยให้เอนไซม์ polyphenol oxidase โดยเฉพาะอย่างยิ่งเอนไซม์ catechol oxidase ที่มีอยู่ในใบชาสดออกซิไดซ์ catechins ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลประเภทหนึ่ง อยู่ในกลุ่มของ flavanoid ให้เป็นธีอาฟลาวิน (theaflavins) และ ธีอารูบีจิน (thearubigins) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสในน้ำชา และทำให้ชามีสีแดงเข้มถึงสีน้ำตาลเข้ม การผลิตชาอูหลงต่างจากการผลิตชาเขียว คือ การเลือกใช้ใบชาที่มีอายุมากกว่าและมีการทิ้งเวลาในการผึ่งลมนานราว 15 ชั่วโมง แล้วจึงยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยความร้อนคล้ายกระบวนการผลิตชาเขียว หลังจากนั้นจะม้วนใบชา และอบให้แห้งก่อนจะบรรจุในบรรจุภัณฑ์ออกสู่ท้องตลาด (Chuen 2002) ชาที่ได้มีรสชาติ อยู่ระหว่างชาเขียวและชาดำ นิยมดื่มเปล่าๆแทนน้ำ เนื่องจากมีกลิ่นหอม รสชุ่มคอ

(3) ชาดำ ผลิตจากกระบวนการหมักสมบูรณ์ (fermented tea processing) เพื่อให้ได้กลิ่น หอมและรสฝาดของแทนนินเพิ่มขึ้น โดยการนำใบชามาผึ่งลม (withering) ราว 18 ชั่วโมง และควบคุมความชื้นในลมที่ผึ่งให้อยู่ที่ร้อยละ 60 จากนั้นจะนำใบชาที่ผึ่งแล้วมาม้วนบี้ (rolling) ด้วยเครื่องม้วนบี้ เพื่อให้เนื้อของใบชามีพื้นที่ในการถูกออกซิไดซ์ด้วยอากาศมากขึ้น เมื่อม้วนเสร็จก็หมัก โดยทิ้งไว้ที่อุณหภูมิราว 30 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จึงทำการอบแห้งที่ 90 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที (Chuen 2002) ใบชาแห้งที่ได้มีสีดำ และมีกลิ่นที่เปลี่ยนไป รสชาติก็จะออกทางฝาดมากกว่าชาสองชนิดแรก ใบชากลุ่มนี้ที่นิยมมากในยุโรป อินเดีย

กรรมวิธีผลิตชา



รูปที่ 2.1 กระบวนการผลิตชา

(ที่มา ดัดแปลงจาก Tea processing สืบค้นจาก www.wordpress.com (accessed 10 Jan 2011))

2.2. องค์ประกอบเคมีของชาเขียว

ปัจจุบันนี้ชาเขียวเป็นที่นิยมดื่มอย่างแพร่หลาย มีรายงานการวิจัยศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและคุณประโยชน์ของชาเขียวเผยแพร่ออกมาอย่างมาก ชาเขียวมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 15 – 20 ของน้ำหนักแห้ง โดยที่เอนไซม์จะเป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีน นอกการนี้ยังมีกรดอะมิโน เช่น glutamic acid, tryptophan, glycine, serine, aspartic acid, tyrosine, valine, leucine, threonine, arginine และ lysine. มีปริมาณคาร์ไฮเดรตร้อยละ 5-7 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็น cellulose, pectins, glucose, fructose และ sucrose ส่วนปริมาณสารอื่นๆมีเพียงเล็กน้อย เช่นไขมันมีอยู่ในรูป linoleic acid และ sterols รงควัตถุที่สำคัญคือ chlorophyll และ carotenoids สารระเหยต่างๆในรูปของ aldehydes, alcohols, ester, และ hydrocarbons นอกจากนี้ยังมีแร่ธาตุปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหนักแห้ง มีแร่ธาตุที่สำคัญ เช่น Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F, และ Al. (Carbrera และคณะ 2006) ตารางที่ 2.1 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของใบชาเขียวเปรียบเทียบกับองค์ประกอบทางเคมีของของใบชาดำแห้งและน้ำชาดำ

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของใบชาเขียวแห้งและใบชาดำแห้ง

องค์ประกอบ (ร้อยละ)	ใบชาเขียว*	ใบชาดำ*	น้ำใบชาดำ**
โปรตีน	15	15	Trace
กรดอะมิโน	4	4	3.5
กากอาหาร	26	26	0
คาร์โบไฮเดรตอื่นๆ	7	7	4
ไขมัน	7	7	Trace
รงควัตถุ	2	2	Trace
แร่ธาตุ	5	5	4.5
สารประกอบพีนอลิก***	30	5	4.5

* ร้อยละต่อน้ำหนักแห้ง (dry weight basis)

** น้ำใบชาดำจากการแช่ใบชา 3 นาที

*** เฉพาะฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

(ที่มา ดัดแปลงจาก Cabrera และคณะ 2006)

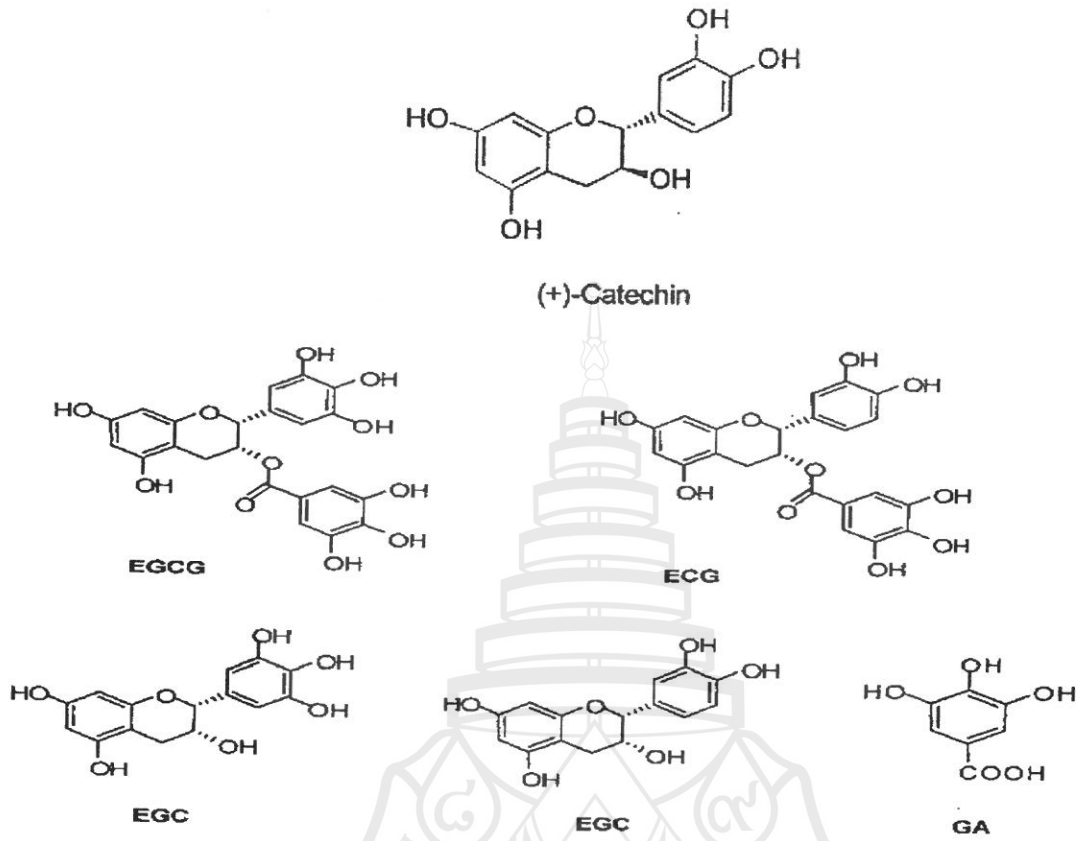
2.3 องค์ประกอบเคมีในชาที่มีผลให้ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ใบชาสดยังอยู่บนต้น สารเคมีสำคัญที่มีในใบชาเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) โดยสารตัวที่มีบทบาทสำคัญด้านฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของใบชากลุ่มนี้คือ คาเทชิน (catechin) สารตัวนี้

มีคุณสมบัติเป็นสารต้านการออกซิเดชัน และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถยับยั้งการเกิดมะเร็งได้ นอกจากสารกลุ่มฟลาโวนอยด์แล้วยังมีสารกลุ่มแซนทีน อัลคาลอยด์ (xanthine alkaloid) ได้แก่ คาเฟอีน (caffeine) ธีโอฟิลลีน (theophylline) เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มแซนทีน อัลคาลอยด์นี้ เป็นสารที่ออกฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางทำให้ร่างกายรู้สึกกระปรี้กระเปร่า เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตชาเขียวมีการให้ความร้อนใบชาสดอย่างรวดเร็ว เพื่อยับยั้งการเกิดการหมัก ดังนั้นสารประกอบเคมีที่สำคัญยังไม่สูญเสียไปกับการหมัก ดังนั้นใบชาจึงมีสีเขียวและมีคุณภาพเช่นเดียวกับใบชาสด

2.3.1 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่ได้รับความสนใจมากในใบชาสด ดังนั้นชาเขียวถือว่าเป็นแหล่งของสารประกอบนี้ที่สำคัญในอาหารที่บริโภคทุกวัน สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งเป็นสาร derivatives ของสารประกอบฟีนอลิก มีปริมาณร้อยละ 0.5 – 1.5 ประกอบด้วยสารระบุชนิดแล้วทั้งหมดประมาณ 4000 กว่าสาร และพบในพืชหลายๆ ในชาเขียวสารสำคัญในกลุ่มสารฟลาโวนอยด์ได้แก่ คาเทชีน (catechins, flavan-3-ols) สารประกอบหลักของคาเทชีน คือ (-) – epigallocatechin-3-gallate (EGCG) มีประมาณร้อยละ 59 ของปริมาณคาเทชีนทั้งหมด, (-)-epigallocatechin (EGC) มีประมาณร้อยละ 19, (-)-epicatechin-3-gallate (ECG) มีประมาณร้อยละ 13.6, (-)-epicatechin (EC)มีประมาณร้อยละ 6.4 (Cabrera และคณะ 2006) นอกจากนี้ชาเขียวยังมีกรดแกลลิก และสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ เช่น chlorogenic acid และ caffeic acid ปริมาณคาเทชีนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆอย่าง โดยเฉพาะวิธีการเตรียมใบชาสดก่อนการทำแห้ง เช่น การหมักจะทำให้เกิดการรวมตัว (Polymerization) ของสารประกอบฟีนอลิกโมกุลเดี่ยว (monopolyphenolic compound) โครงสร้างของสารประกอบคาเทชีน แสดงดังรูปที่ 2.2 และสารประกอบคาเทชีนและคาเฟอีน ในชานิดต่างๆแสดงดังตารางที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของสารประกอบคาเทชีนและกรดแกลลิก, (-) –epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin-3-gallate (ECG), (-)-epicatechin (EC) และ gallic acid (GA)
(ที่มา Cabrera และคณะ 2006)

ตารางที่ 2.2 ปริมาณ catechins, gallic acid and caffeine ในชาชนิดต่างๆ

ตัวอย่าง (แหล่งผลิต)	EGCG	EGC	ECG	EC	GA	Caffeine
ชาเขียว (ญี่ปุ่น)	73.3	32.1	10.4	14.1	0.7	38.3
ชาเขียว (จีน)	77.1	24.3	14.8	9.8	0.8	37.4
ชาดำ (อินเดีย)	27.9	3.9	11.5	7.4	2.5	47.4
ชาดำ (จีน)	12.3	20.1	4.4	4.0	3.1	41.5
ชาดำ (ศรีลังกา)	17.8	41.7	9.5	6.6	3.6	61.8
ชาอูหลง (จีน)	11.8	7.3	3.1	3.5	1.2	29.1

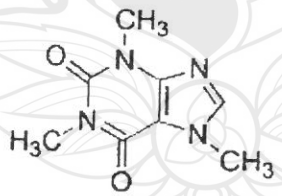
หมายเหตุ: EGCG- (-) epigallocatechin gallate, EGC-(-) epigallocatechin, ECG-(-) epicatechin gallate, EC-(-) epicatechin, GA- gallic acid
(ที่มา ดัดแปลงจาก Cabrera และคณะ 2003)

2.3.1.1 แทนนิน (Tannin)

สารประกอบกลุ่มแทนนิน (Tannin) เป็นสารประกอบจำพวกฟีนอลที่ละลายน้ำ (water-soluble phenolics) ที่มีหมู่ hydroxyl เป็นจำนวนมากและโมเลกุลมีโครงสร้างที่ซับซ้อน น้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 500-3000 (ชวลิต สิทธิสมบัติ 2539) สารประกอบกลุ่มแทนนิน เป็นสารที่มีรสขมและฝาดในพืช ที่มีการนำมาใช้รับประทานเป็นยาแก้ท้องเสียหรือท้องเดิน (antidiarrheals) โดยแทนนิน มีกลไกไปจับกับ fungal protein, bacteria protein หรือ viral protein หรือ macromolecules อื่น ๆ ของเชื้อที่รุกรานทำให้เชื้อไม่สามารถทำอันตรายกับร่างกายได้ ลดการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย โดยแทนนินบางชนิดมีคุณสมบัติในการทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและยับยั้งการเกิด superoxide ion ขึ้นมาใหม่อีกด้วย อาจจะช่วยลดการเกิดมะเร็งต่างๆได้ นอกจากนี้แทนนินยังมีคุณสมบัติอื่นๆอีกมากมาย เช่น ยับยั้งการทำงานของเอ็นไซม์บางชนิด เช่น lipoxygenase, Angiotensin converting enzyme สารประกอบกลุ่มแทนนิน มีการกระจายทั่วไปในอาณาจักรพืช เป็นองค์ประกอบของพืชชั้นสูง โดยเฉพาะพืชใบเลี้ยงคู่ แต่อาจพบในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวได้บ้าง

2.3.2 คาเฟอีน (Caffeine)

คาเฟอีน (Caffeine) เป็นสารแซนทีนอัลคาลอยด์ โครงสร้างของคาเฟอีนแสดงดังรูปที่ 2.3 คาเฟอีนสามารถพบได้ในอาหารหลายชนิดได้แก่ เมล็ดกาแฟ,ชา,ผลโคล่า คาเฟอีนถือว่าเป็นยากำจัดศัตรูพืชโดยธรรมชาติ เพราะมันออกฤทธิ์ทำให้อัมพาต และสามารถฆ่าแมลงบางชนิดได้ คาเฟอีนยังมีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ร่างกายเกิดความตื่นตัวและลดความง่วงได้ กาแฟ น้ำชา น้ำอัดลม รวมทั้งเครื่องดื่มชูกำลัง มีคาเฟอีนเป็นส่วนผสม ด้วยเหตุนี้จึงทำให้คาเฟอีนเป็นสารกระตุ้นประสาทที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในโลก การบริโภคคาเฟอีนปริมาณมากเป็นเวลานาน อาจนำไปสู่ภาวะเสพติดคาเฟอีน (caffeinism) ซึ่งจะปรากฏอาการต่างๆทั้งทางร่างกายและทางจิตใจ เช่น กระสับกระส่าย วิตกกังวล กล้ามเนื้อกระตุก นอนไม่หลับ ใจสั่น เป็นต้น นอกจากนี้การบริโภคคาเฟอีนเป็นเวลานานอาจทำให้เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ลำไส้เล็กอักเสบ และโรคน้ำย่อยไหลย้อนกลับ (gastroesophageal reflux disease)



Caffeine

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของคาเฟอีน
(ที่มา Zuo และคณะ 2002)

2.4 คุณสมบัติการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

คุณสมบัติที่มีการศึกษาอย่างมากของสารประกอบฟีนอลิก คือ การเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidants) และ สารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (free radicals) ซึ่งเป็นสารที่มีอะตอมหรือโมเลกุลเดี่ยว (singlet or unpaired molecules) เป็นส่วนประกอบอยู่ด้วย จำนวนอิเล็กตรอนไร้คู่นี้อาจมีหนึ่งหรือหลายตัวก็ได้ ปกติอะตอมหรือโมเลกุลที่เสถียรจะต้องมีจำนวนอิเล็กตรอนเป็นคู่เสมอ หากอิเล็กตรอนขาดหรือเกินจากเดิมเพียงหนึ่ง จะทำให้อะตอมหรือโมเลกุลว่องไวมาก เคลื่อนที่ตลอดเวลา หาทางทำปฏิกิริยากับอะตอมของธาตุอื่นๆ เพื่อให้เกิดเสถียรภาพขึ้น ปฏิกิริยานี้จะเกิดต่อเนื่องเป็นลูกโซ่ และไม่มีแบบแผนที่แน่นนอน (Smith et al 1996) ตัวอย่างอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติ เช่น superoxide radical ($O_2^{\bullet}$) hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$) peroxyl radical ($ROO^{\bullet}$) เป็นต้น (Deshpande et al 1996)

โดยสารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$ROO^{*} + PPH \rightarrow ROOH + PP^{*}$$

$$RO^{*} + PPH \rightarrow ROH + PP^{*}$$

เมื่อสารประกอบฟีนอลิก ให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารสารประกอบฟีนอลิกจะค่อนข้างมีเสถียรสภาพ ดังนั้นจึงไม่ทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไป ยิ่งไปกว่านั้นอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังคงสามารรวมตัวกับอนุมูลอิสระอื่นได้อีกด้วยจำทำให้สารฟีนอลิกเหล่านั้นสามารถลดจำนวนอนุมูลอิสระได้ถึง 2 เท่า ดังปฏิกิริยาต่อไปนี้ (วิวัฒน์ 2547)

2.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน

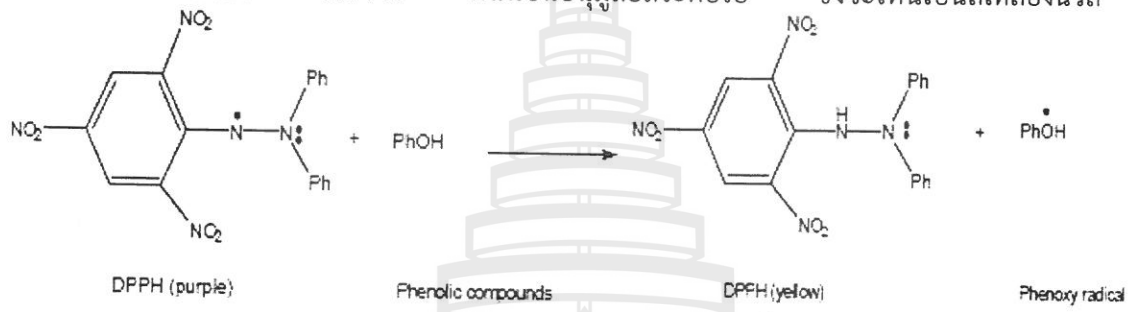
วิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธีคือ

2.5.1 Antioxidant activity ซึ่งการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิคเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบ ทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น Conjugated diene ที่เสถียร (Erikson, 1987) สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิกได้

2.5.2 Reducing power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ และ ค่าต้านออกซิเดชันโดยรวม (FRAP – ferric reducing antioxidant power) สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็คตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น) (Halliwell and Gutteridge,1984) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริคไอออน (Fe 3+) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี

2.5.3 Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระะที่เสถียร

และสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่1 และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ DPPH assay ซึ่งเป็นวิธีการวัดความสามารถของสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ที่ง่ายและให้ผลเร็ว โดยอาศัย การจับ (scavenge) กับ อนุมูลอิสระที่มีความคงตัว (DPPH) แล้วสารละลายนี้เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลืองอ่อน สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไปที่ความยาวคลื่น 515 nm และนำมาหาปริมาณสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (สุพัตรา และ วริมา, 2547) กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล (รูปที่ 2.4) เกิดจากการให้อิเลกตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล โดยที่อนุมูลอิสระ DPPH ในสารละลายจะมีสีม่วง เมื่อสารจำพวกฟีนอลให้อิเลกตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH จะได้เป็นสา รDPPH ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระต่อไป ซึ่งจะเห็นเป็นสีเหลืองนวล



รูปที่ 2.4 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารจำพวกฟีนอล
(ที่มา ระวิวรรณ และทรงพร 2549)

2.6 การทำแห้ง (Drying)

การทำแห้ง เป็นกระบวนการใช้ความร้อนในการกำจัดความชื้น เพื่อเพิ่มปริมาณของแข็ง การทำแห้งด้วยการให้ความร้อนแก่ผิวของวัสดุที่เปียก เกิดขึ้นได้ 2 ขั้นตอนคือ

1. การถ่ายเทพลังงาน (ความร้อน) จากสิ่งแวดล้อมไปสู่ผิวของวัสดุ
2. การถ่ายเทมวล (ความชื้น) จากภายในของแข็งมาที่ผิว แล้วระเหยออกไป (Mujumdar 2007)

เครื่องทำแห้งปกติที่นิยมใช้กันได้แก่ Vacuum dryer, fluidized-bed dryer, band dryer, spray dryer, flash dryer และ tray dryer นอกจากนี้ยังมีเทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นไป เช่น infrared dryer, freeze dryer และ microwave dryer

2.6.1 การทำแห้งแบบลมร้อน

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) เป็นการทำแห้งที่นำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา โดยกระบวนการทำแห้งนี้ได้รับการพัฒนาและปรับปรุง ใช้หลักการกำจัดน้ำ หรือตัวทำละลายอื่นๆ โดยการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งเป็นไอหรือก๊าซ ด้วยการระเหิด (sublimation) เพื่อใช้กับสารอาหารที่มีความอ่อนไหวต่อความร้อน เช่น การทำแห้งกาแฟ ผลิตภัณฑ์ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สามารถเก็บรักษาคุณภาพไว้ได้นาน มีการเปลี่ยนแปลงด้านกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ต่ำ

การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ

(1) การแช่แข็ง (Prefreezing) เป็นการนำวัตถุดิบที่จะทำแห้งไปแช่แข็ง เพื่อลดเวลาในการแห้งแบบแช่เยือกแข็ง วิธีการแช่แข็งและอุณหภูมิสุดท้ายของผลิตภัณฑ์แช่แข็งมีผลต่อประสิทธิภาพของวิธีการทำแห้งแบบนี้

(2) การทำแห้งขั้นแรก (Primary drying) เป็นการระหิดน้ำในสถานะของแข็งออกจากวัตถุ ภายใต้สภาวะสุญญากาศ เมื่อความร้อนแผงของการกลายเป็นไอ ถูกถ่ายเทน้ำแข็งจะระเหิด ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความชื้นลดลง อัตราการระเหิดของน้ำแข็ง ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของความดันไอ ของผลิตภัณฑ์และความดันไอของน้ำแข็ง

(3) การทำแห้งขั้นที่สอง (Secondary drying) หลังการการทำแห้งขั้นแรกเสร็จสมบูรณ์น้ำแข็ง ทั้งหมดระเหิดแล้ว ความชื้นภายในผลิตภัณฑ์จะคงเหลืออยู่น้อย ในช่วงนี้อุณหภูมิการทำแง จะใช้ความร้อน 30 – 50 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยความชื้นที่คงเหลือออกไป

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Peterson และคณะ 2005 พบว่าการหมักใบชาในกระบวนการผลิตใบชาเขียว ชาอูหลงและชาดำ มีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (flavan-3-ol) ในชาแต่ละชนิด การหมักทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ลดลง ในใบชาเขียวแห้งมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ 13.6 กรัม/ใบชาแห้ง 100 g ส่วนใบชาดำแห้งมีเพียง 4.2 กรัม/ใบชาแห้ง 100 g

Cabrera และคณะ (2003) พบว่าปริมาณสารประกอบคาเทชินในใบชาเขียวมีปริมาณสูงกว่าปริมาณสารเหล่านี้ในใบชาอูหลงและชาดำ การลดลงของปริมาณสารคาเทชินเกิดจากการหมักใบชาในกระบวนการผลิตใบชาเขียว ชาอูหลงและชาดำ ส่วนปริมาณสารคาแฟอินจะพบมากในใบชาดำ (3.9 ± 1.5 mg/g) ส่วนใบชาเขียวและชาอูหลงพบปริมาณสารคาแฟอินที่น้อยกว่า

Khokhar และคณะ (2002) รายงานว่าใบชาดำและชาเขียว มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด 80.5 – 134.9 mg/g of dry matter และ 87.0 – 106.2 mg/g of dry matter ตามลำดับ ส่วนปริมาณสารประกอบคาเทชิน มีปริมาณ 5.6 – 47.5 mg/g of dry matter และ 51.5 – 84.3 mg/g of dry matter ตามลำดับ และคาแฟอิน มีปริมาณ 22 – 28 mg/g of dry matter และ 11-20 mg/g of dry matter ตามลำดับ ความแตกต่างของปริมาณองค์ประกอบทางเคมีหลักของใบชา เกิดเนื่องจากสภาพการปลูก อายุการเก็บใบชาสด การเก็บรักษาและระดับของการหมักในกระบวนการผลิตใบชา

Yoshida และคณะ (1999) ศึกษาประสิทธิภาพการสกัดคาเทชินของชาเขียวด้วยสภาวะการสกัดต่างๆ พบว่าสภาวะการสกัดน้ำชาด้วยสารละลายบัพเพอร์ที่มีความเป็นกรดด่างสูง ปริมาณคาเทชินหลักของชา เช่น EC, EGC, ECG และ EGCG ที่สกัดได้มีปริมาณลดลง ในขณะเดียวกันปริมาณคาเทชินย่อยอื่นๆ เช่น C, GC, CG และ GCG ที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้น ในสภาวะการสกัดที่มีที่มีความเป็นกรดด่างที่เท่ากัน ประสิทธิภาพการสกัดคาเทชิน ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนระหว่างใบชาแห้งและน้ำที่ใช้สกัด Benzie และ Szeto (1999) ศึกษาความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระของชา (*Camellia sinensis*) จำนวน 25 ชนิด โดยวิธีการ ferric reducing/antioxidant power (FRAP) assay พบว่า

พิสัยความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระของใบชาดำแห้ง ใบชาอูหลงแห้งและใบชาเขียวแห้ง คือ 132-654 micromol/g, 233-532 micromol/g และ 272-1144 micromol/g ตามลำดับ

Chen และ Chan (1996) พบว่าการสกัดใบชาเขียวแห้งมีปริมาณคาเทชินทั้งหมดร้อยละ 7.4 ของน้ำหนักใบชาแห้ง เมื่อแยกวิเคราะห์สารประกอบ derivative ของคาเทชินทั้งหมดพบว่ามีปริมาณ EGCG, EGC, EC และ ECG อยู่ร้อยละ 51.2, 18.7, 12.3 และ 11.8 ตามลำดับ ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันคาโนลาของสารเหล่านี้เรียงตามลำดับดังนี้ EGC > EGCG > EC > ECG

Atoui. และคณะ (2005). วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกส์ทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay พบว่าพิสัยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของใบชาจากประเทศกรีก และใบชาเขียวจากประเทศจีน คือ 88.1 ± 0.42 และ 1216 ± 32 mgGAE/cup ตามลำดับ ส่วนความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งวิเคราะห์โดยวิธีการ DPPH assay พบว่า 0.77 ± 0.012 mg extract / mg DPPH ในใบชาจากประเทศกรีก และ 0.151 ± 0.002 mg extract / mg DPPH ใบชาเขียวจากประเทศจีน นอกจากนี้พบว่ามีสารฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิกและสารประกอบ derivative ที่แตกต่างกันจำนวนถึง 60 ชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง LC-DAD-MS

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุและสารเคมี

ใบชาเขียวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นใบชาเขียวอัสสัม ที่ผลิตโรงงานสหกรณ์สวนชาดอยตุง อำเมืองแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ส่วนสารเคมีที่ใช้เป็นสารเคมีคุณภาพวิเคราะห์ (Analytical grade) ผลิตโดยบริษัท Sigma Aldrich (USA) Inc. และจำหน่ายโดยบริษัทยูเนี่ยน ซายน์ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่

3.2 การเตรียมตัวอย่างผงชาเขียวบดละเอียด

นำตัวอย่างชาเขียวพันธ์อัสสัม ซื้อจากสหกรณ์สวนชาดอยตุง อำเภอแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย มาอบตัวอย่างชาในตู้อบแห้งที่อุณหภูมิ 102 $\pm$ 2 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำไปบดด้วยเครื่องบด hammer hill แล้วนำไปกรองผ่านตะแกรงให้ได้ผงชาเขียวบดละเอียดที่มีขนาดอนุภาค 100 ไมโครเมตร นำไปบรรจุถุงลามิเนตฟอล์ยขนาด 1 kg ปิดผนึกปากถุงให้สนิทภายใต้สภาวะสุญญากาศ และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนในไปทดลองต่อไป

3.3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดชาเขียว

เตรียมน้ำในอ่างน้ำร้อน (Water bath) ให้มีอุณหภูมิ 80 °C ชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่างชาเขียวบดละเอียดตามร้อยละความเข้มข้นที่ต้องการ (1, 5, หรือ 10 g) และเติมลงในบิกเกอร์ 250 ml แล้วเติมน้ำร้อนที่ต้มอุณหภูมิ 80 °C ปริมาตร 100 ml สกัดตัวอย่างชาเขียวบดละเอียดที่ชั่งไว้แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C เวลานาน 10 นาที เมื่อครบกำหนดเวลานำสารละลายตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้อง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง What man No. 4 หลังจากนั้นเก็บสารละลายน้ำชาที่สกัดได้ในให้แกลลอนพลาสติกขนาด 4 liter และกากเก็บไว้ในถุงพลาสติก เก็บไว้ที่ตู้เย็นที่ 4 °C ก่อนนำไปวิเคราะห์

3.4 การศึกษาสภาวะในแต่ละวิธีการทำแห้งสารสกัดจากชาเขียวอัสสัม

3.4.1 การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบถาด สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย

- อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง 80, 90, 100, 120 °C
- ความเร็วรอบพัดลม (ความเร็วลม) 478, 788, 958 รอบต่อนาที

3.4.2 การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย

- อุณหภูมิที่ใช้ในการอบแห้ง 150, 180, 200 °C
- ความเข้มข้นของน้ำชาสกัด 5, 10, 15 Brix
- ความเร็วรอบของพัดลม 2500, 3000, 3500 รอบต่อนาที

3.4.3 การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย

- อุณหภูมิแผ่นความร้อน (Heater)20, 30, 40 °C
- อุณหภูมิผลิตภัณฑ์เริ่มต้น -10, -20, -40°C
- เวลาที่ใช้ในการอบแห้ง 4, 5, 6 ชั่วโมง

3.5 การวิเคราะห์ความชื้น

ตามวิธีของ AOAC 2000 อบถ้วยหาความชื้นเปล่าในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 103±2 °C ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำถ้วยหาความชื้นเปล่าทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccators หลังจากนั้นชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยหาความชื้นเปล่า (W_c) ชั่งและบันทึกน้ำหนักของตัวอย่างชาลงในถ้วยหาความชื้น ประมาณ 2-3 กรัม บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_s) นำไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 103±2 °C ประมาณ 16 ชั่วโมง แล้วนำถ้วยหาความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccators ประมาณ 30 – 45 นาที หลังจากนั้นชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยหาความชื้นเปล่า (W_1) นำถ้วยหาความชื้นไปอบอีกครั้งในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 103±2 °C ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วนำถ้วยหาความชื้นทิ้งไว้ให้เย็นใน desiccators ประมาณ 30 – 45 นาที หลังจากนั้นชั่งและบันทึกน้ำหนักของถ้วยหาความชื้นเปล่า (W_2) ทำการอบซ้ำจนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก W_1 และ W_2 มีค่าไม่เกิน 0.005 กรัม แล้วคำนวณหาปริมาณความชื้น

$$\text{ปริมาณความชื้น (\% w/w)} = \frac{W_s - (W_2 - W_c) \times 100}{Ws}$$

ปริมาณน้ำหนักแห้ง % DM (w/w)= 100 - % ปริมาณความชื้น (w/w)

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด

ตามวิธีของ (ISO 14502-1, 2005) เตรียมสารละลายสกัดโดยชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่าง (ชาเขียวบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียว) 0.2000 g เติมลงในหลอดทดลองขนาด 10 ml บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (Ws) เติมเมทานอลความเข้มข้น 70% (v/v) ที่อุณหภูมิ 70 °C ปริมาตร 5 ml. กวนผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วนำสารละลายไปแช่ในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลานาน 10 นาที และนำมากวนผสมด้วยเครื่อง vortex ทุกๆ 5 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายไปกรองด้วยกระดาษกรอง What man No. 4 และเติมลงไปใน Volumetric flask 10 ml เมื่อกรองเสร็จแล้วปรับปริมาตรสารละลายที่กรองได้ ด้วยเมทานอลความเข้มข้น 70% จนครบปริมาตร

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิค (gallic acid) ความเข้มข้น 0, 10, 20, 30, 40, และ 50 µg/ml ในน้ำกลั่น แล้วปิเปตสารละลายกรดแกลลิค แต่ละความเข้มข้น 1 ml ลงในหลอดทดลอง 10 ml แล้วเติมสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent (10% v/v) ปริมาตร 5 ml เขย่าและกวนผสมด้วยเครื่อง vortex เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอแนต ความเข้มข้น 7.5 % (w/v) ปริมาตร 4 ml เขย่าให้สารละลายเข้ากันและเก็บที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 765 nm. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง ความ

เข้มข้นของสารละลายกรดแกลลิคและค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ในตัวอย่างชาบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียวที่สกัดด้วย 70% methanol ข้างต้น โดยเจือจางสารละลายสกัดข้างต้น ด้วยปิเปตสารละลายสกัดปริมาตร 1 ml เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนครบปริมาตร 100 ml แล้วทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ที่เช่นเดียวกับการทำมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิค

$$\text{ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด (\% w/w)} = \frac{(A_s - A_{intercept}) \times V_s \times DF \times 100}{S_{std} \times W_s \times 10000 \times DM}$$

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 nm ของตัวอย่าง

$A_{intercept}$ = ค่าจุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐาน (Y-intercept)

S_{std} = ค่าความชันจากกราฟของมาตรฐานสารละลายกรดแกลลิค

V_s = ปริมาตรของตัวอย่างที่สกัดได้

DF = ปริมาตรที่ใช้ในการเจือจาง

W_s = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (กรัม)

DM = % Dry mater content

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน (Caffeine)

ตามวิธีของ (ISO 10727, 1995) เตรียมสารละลายสกัดโดยชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่าง (ชาเขียวบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียว) 2.00 g ลงในบิกเกอร์ขนาด 250 ml บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (Ws) เติมน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C ปริมาตร 200 ml. กวนผสมด้วยแท่งแม่เหล็กบนแผ่นความร้อน (hot plant) เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วนำสารละลายไปไปกรองด้วยกระดาษกรอง What man No. 4 ล้างกากด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 10 ml จำนวน 3 ครั้ง แล้วเติมลงไปใน Volumetric flask 250 ml และปรับปริมาตรสารละลายที่กรองได้ ด้วยน้ำกลั่นจนครบปริมาตร

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายคาเฟอีน (caffeine) ความเข้มข้น 0.01 % (w/v) ในน้ำกลั่น แล้วปิเปตสารละลายกรดคาเฟอีน ปริมาตร 0, 5, 10, 15, 20, และ 25 ml เติมลงในขวด volumetric flask 50 ml แล้วปิเปตกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 36 % (v/v) ปริมาตร 4 ml และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบปริมาตร หลังจากนั้นปิเปตสารละลายที่ได้ 25 ml เติมลงในขวด volumetric flask 50 ml แล้วปิเปตกรดซัลฟูริก (HCl) ความเข้มข้น 98 % (v/v) ปริมาตร 0.3 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบปริมาตร เขย่าให้สารละลายเข้ากัน แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 274 nm. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายคาเฟอีนและค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนของตัวอย่างชาบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียวที่สกัด

ปริมาณคาเฟอีน (% w/w) = $\frac{E \times V_0 \times 50 \times 100}{1000 \times V_1 \times 25 \times Ws}$

E = ปริมาณคาเฟอีน (mg) ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

E/1000 = เปลี่ยนจากหน่วยน้ำหนัก mg เป็น g

V_0 = ปริมาตรของตัวอย่างที่สกัดได้ (250 ml)

V_1 = ปริมาตรที่ใช้ในการทดลอง (10 ml)

$100/ V_1$ = ปริมาตรที่ใช้ในการเจือจาง

Ws = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ (g)

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณแทนนิน (Tannin)

ตามวิธีของ Makker et al 1993 เตรียมสารละลายสกัดโดยชั่งและบันทึกน้ำหนักตัวอย่าง (ชาเขียวบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียว) 0.20 g ลงในบิกเกอร์ขนาด 25 ml บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (Ws) เติมอะซิโตนความเข้มข้น 70% (v/v) ปริมาตร 10 ml กวนผสมให้เข้ากันแล้วเขย่าด้วยเครื่อง ultrasonic เป็นเวลานาน 20 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วไปแยกด้วยเครื่องแยก Centrifuge ที่ความเร็ว 3000 RPM และอุณหภูมิ 4 °C ประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นนำสารละลาย กรองด้วยกระดาษกรอง What man No. เก็บสารละลายที่สกัดได้เพื่อวิเคราะห์แทนนินต่อไป

ทำการเตรียมสารละลายมาตรฐานสารละลายแทนนิน (tannin) ความเข้มข้น 0.01 % (w/v) ในน้ำกลั่น แล้วปิเปตสารละลายกรดคาเฟอีน ปริมาตร 0, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, และ 0.10 ml ลงในหลอดทดลอง 10 ml แล้วเติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 0.50 ml ทุกหลอด ปิเปตสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent (1N w/v) ปริมาตร 0.50 ml สารละลายโซเดียมไบคาร์บอแนต ความเข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1.25 ml เขย่าให้สารละลายเข้ากัน เขย่าและกวนผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 725 nm สร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง ความเข้มข้นของสารละลายแทนนินและค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณแทนนินของตัวอย่างชาบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียวที่สกัด

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมดครั้งที่ 1 โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างที่สกัดข้างต้นความเข้มข้นเจือจาง 10 เท่า แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดเจือจาง ปริมาตร 0.02 ml. ลงในหลอดทดลอง 10 ml แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.48 ml หลังจากนั้นเติม สารละลาย Folin-Ciocalteau reagent (1N w/v) ปริมาตร 0.25 ml และเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอแนต ความเข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1.25 ml เขย่าให้สารละลายเข้ากัน เขย่าและกวนผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 725 nm.

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมดครั้งที่ 2 โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างที่สกัดข้างต้นความเข้มข้นเจือจาง 10 เท่า แล้วปิเปตสารละลายตัวอย่างที่สกัดเจือจางปริมาตร 0.04 ml ลงในหลอดทดลอง 10 ml แล้วเติม Insoluble polyvinyl pyrrolidone (PVPP) 25 mg/ml ปริมาตร

0.150 ml แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 – 5°C ในตู้เย็นเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปแยกด้วยเครื่องแยก Centrifuge ที่ความเร็ว 15,000 RPM และอุณหภูมิ 4 °C ประมาณ 10 นาที หลังจากนั้นปิเปตสารละลายที่แยกได้ปริมาตร 0.04 ml แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.46 ml และเติมสารละลาย Folin-Ciocalteau reagent (1N w/v) ปริมาตร 0.25 ml แล้วเติมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1.25 ml เขย่าให้สารละลายเข้ากัน เขย่าและกวนผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง 725 nm.

ปริมาณแทนนิน (%w/w) = Total polyphenol 1 - Total polyphenol 2

$$\text{Total polyphenol 1 (\%w/w)} = \frac{(A_s - A_{intercept}) \times V_s \times DF \times 100}{S_{std} \times V_a \times W_s \times 10000 \times DM}$$

$$\text{Total polyphenol 2 (\%w/w)} = \frac{(A_s - A_{intercept}) \times V_s \times DF \times 100}{S_{std} \times V_a \times W_s \times 10000 \times DM}$$

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 nm ของตัวอย่าง

$A_{intercept}$ = ค่าจุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐาน (Y-intercept)

S_{std} = ค่าความชันจากกราฟมาตรฐานแทนนิน

V_s = ปริมาตรของตัวอย่างที่สกัดได้ (10 ml)

V_a = ปริมาณที่ใช้ในการวิเคราะห์

(Total polyphenol 1 = 0.02 ml และ Total polyphenol 2 = 0.04 ml)

DF = ปริมาตรที่ใช้ในการเจือจาง (10 ml)

Ws = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ (g)

DM = % Dry mater content

3.9 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

ตามวิธีของ DPPH assay (Chan et al 2007) โดยทำปฏิกิริยากับ 1,2-diphenyl-1-picrydrazyl (DPPH) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคใน methanol ความเข้มข้น 0-1000 µM แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคปริมาตร 1ml ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ใน methanol ความเข้มข้น 5.9 % (w/v) ปริมาตร 2 ml เขย่าด้วยเครื่องเขย่า vortex เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 517 nm. แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคใน Methanol และค่าการดูดกลืนแสง หลังจากนั้นวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างชาเขียวบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียว โดยปิเปต

ปริมาตร 1ml ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ในmethanol ความเข้มข้น 5.9 % (w/v) ปริมาตร 2 ml ทำการทดลองเช่นเดียวกับ สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

3.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay

ตามวิธีของ FRAP assay (Chan et al 2007) เตรียมสารละลายมาตรฐาน 6 -hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid หรือ Trolox ความเข้มข้น 0-1000 µM แล้วปิเปตสารละลายมาตรฐาน Trolox ปริมาตร 1ml เติมสารละลาย phosphate buffer ความเข้มข้น 0.2 M, pH 6.6 ปริมาตร 2.5 ml และสารละลาย potassium ferricyanide ความเข้มข้น 1 % (w/v) ปริมาตร 2.5 ml ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 50 °C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 700 nm. แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย Trolox และค่าการดูดกลืนแสง วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างชาเขียวบดละเอียดหรือสารสกัดชาเขียว โดยปิเปตปริมาตร 1ml ทำการทดลองเช่นเดียวกับ สารละลายมาตรฐาน Trolox

3.11 การวัดค่าสี

ผงสารสกัดชาเขียวอัสสัมที่ได้จากการทำแห้ง นำมาวัดค่าสี L^*, a^* และ b^* โดยด้วยเครื่องวัดสี ColorQuest XQ (ColorQuest, USA)

3.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าการวิเคราะห์ได้จากการทดลองมาทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน แบบ Analysis of variance (ANOVA) และ Multi analysis of variance (MANOVA) โดยเปรียบเทียบหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในแต่ละการทดลองโดยใช้ SPSS 11.5 ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4
ผลการทดลองและอธิบายผลการทดลอง

4.1 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงชาเขียวอัสสัม

องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงชาเขียวอัสสัม แสดงในตารางที่ 4.1 ปริมาณความชื้นของผงชาเขียวน้อยกว่าปริมาณความชื้นร้อยละ 7 ตามประกาศมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชาใบ (ชาจีน) (มอก.460-2526) มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด 13.41 ± 0.33 g/100 g dw ส่วนชาเขียวที่ผลิตจากประเทศจีน อินเดีย และญี่ปุ่น มีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด 8.70, 10.62 และ 6.58 g/100 g dw ตามลำดับ (Khokhar et al 2002) และมีปริมาณคาเฟอีน 10.80 ± 0.61 g/100 g dw และชาเขียวที่ผลิตจากประเทศจีน อินเดีย และญี่ปุ่น มีปริมาณ 18.1, 19.5 และ 12.1 g/100 g dw ตามลำดับ (Khokhar et al 2002) คุณภาพและปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างชา วิเคราะห์และรายงานด้วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีวิเคราะห์ DPPH และ FRAP assay โดยที่ DPPH assay เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามรถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (radical scavenging method) และ FRAP assay เป็นวิธีที่ใช้วัดความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผงชาเขียวอัสสัมวิเคราะห์โดย DPPH และ FRAP assay มีปริมาณ 33.45 mM GAE /100 g และ 97.61 mM TE /100 g โดยที่ DPPH value ของชาเขียวที่ผลิตและจำหน่ายในประเทศจีน อินเดีย และญี่ปุ่น มีค่า 87.0, 106.2 และ 65.8 mg GAE/g dw ตามลำดับ (Khokhar et al 2002) องค์ประกอบหลักทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากชนิดของพืชที่แตกต่างกัน สถานที่ในการเพาะปลูกที่แตกต่างกัน ความอุดมสมบูรณ์ วิธีการเก็บรักษาพืช กระบวนการแปรรูป รวมถึงวิธีการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ ซึ่งวิธีการทั้งหมดที่กล่าวมามีผลทำให้องค์ประกอบหลักทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาเขียว ในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของผงชาเขียว

องค์ประกอบทางเคมี[1]	ปริมาณ (/ DW)
ความชื้น (Moisture content, %)	4.16 ± 0.06
สารฟีนอลทั้งหมด (Total phenol g/100 g)	13.41 ± 0.33
- แทนนิน (Tannin, g/100 g)	10.80 ± 0.61
คาเฟอีน (Caffeine, g/100 g)	1.72 ± 0.02
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging assay, mM GAE /100g)	33.45 ± 0.62
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Ferric reducing antioxidant power FRAP assay (mM TE /100g)	97.61 ± 0.22

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

4.2 องค์ประกอบหลักทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียว

สารละลายสารสกัดชาเขียวจากการสกัดด้วยอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1 5 และ 10 (w/v) มีองค์ประกอบหลักทางเคมีแสดงในตารางที่ 4.2 ในการสกัดอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณความชื้น สารฟีนอลทั้งหมด คาเฟอีนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH และ FRAR value ลดลงอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ส่วนปริมาณแทนนิน มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH value และ FRAP value อยู่ระหว่าง 10.42 - 1.55 mM GAE / 100 g dw และ 13.48 – 5.39 mM TE/100 g dw ตามลำดับ Yoshida และคณะ (1999) รายงานว่า ประสิทธิภาพในการสกัดสาร catechins ซึ่งเป็นสารฟีนอลหลักในชาเขียว ประกอบด้วย (-)-epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG) และ (-)- epicatechin (EC) ขึ้นอยู่กับค่าความเป็นกรดด่าง แต่ค่าความเป็นกรดด่างที่เท่ากัน ประสิทธิภาพในการสกัดสาร catechins ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนชาต่อน้ำที่ใช้สกัด ซึ่งผลการวิจัยนี้ อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณความชื้น สารฟีนอลทั้งหมด คาเฟอีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH และ FRAP value ลดลง สอดคล้องกับผลการวิจัยข้างต้น นอกจากนี้เวลาในการสกัดและการคนให้เข้ากันระหว่างการสกัด มีผลต่อองค์ประกอบหลักทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียวเช่นกัน (Astill et al 2011)

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียว

องค์ประกอบทางเคมี[1]	อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ (/ DW)		
	1	5	10
ความชื้น (Moisture content, %)	99.50 a ± 0.03	97.93 b ± 0.07	96.22 c ± 0.16
ปริมาณของแข็ง (Total solid, %)	0.50 c ± 0.03	2.07 b ± 0.07	3.78 a ± 0.16
สารฟีนอลทั้งหมด (Total phenol, /100 g)	40.78 a ± 0.28	31.17 b ± 0.47	29.14 c ± 0.74
- แทนนิน (Tannin, g/100 g)	7.56 c ± 0.30	8.59 b ± 0.26	10.74 a ± 0.54
คาเฟอีน (Caffeine, g/100 g)	1.66 a ± 0.02	1.34 b ± 0.02	0.73 c ± 0.01
DPPH radical scavenging assay, (mM GAE /100 g)	10.42 a ± 0.44	2.55 b ± 0.34	1.55 c ± 0.19
FRAP assay (mM TE /100g)	13.48 a ± 0.07	8.39 b ± 0.07	5.39 c ± 0.51

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

อักษร a, b และc แสดงถึงความแตกต่างของแต่ละคุณลักษณะในแต่ละแถวของสิ่งทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value มีค่า 0.9924 ส่วนระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า FRAP value มีค่า 0.9173 ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแทนนินและค่า DPPH value และ FRAP value มีค่า 0.8622 และ 0.9987 ตามลำดับ (ตาราง 4.3 และภาคผนวก ก) สารฟีนอลทั้งหมดในสารละลายสารสกัดชาเขียว มีสารฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยสามารถจ่ายอะตอมไฮโดเจนแก่ 1,1- diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ที่เป็นอนุภาค

อิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก และจะเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากสารฟีนอลทั้งหมดในสารละลายสารสกัดชาเขียว ทำให้สาร DPPH ไม่เป็นอนุมูลอิสระ (Katalinic et al 2006) ส่วนแทนนินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน โดยเป็นสารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็คตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ เช่น เหล็ก (Halliwell and Gutteridge, 1984) เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริคไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี แทนนินจ่ายอิเล็คตรอนเฟอร์ริคไอออน (Fe^{3+}) ทำให้เกิดเฟอรร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ขึ้น ความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณคาเฟอินของสารละลายสกัดชาเขียวและค่า DPPH value มีค่า 0.6378 และค่า FRAP value มีค่า 0.9141 (ตาราง 4.3 และภาคผนวก ก) จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีโนลิกส์มีคุณสมบัติฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างสูง ฉะนั้นถ้ามีสารประกอบฟีโนลิกส์สูงก็มีค่ารวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และถ้ามีสารประกอบฟีโนลิกส์ต่ำก็มีค่ารวมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำร่วมด้วย สาร catechin เช่น (-)- epigallocatechin gallate (EGCG), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG) และ (-)-epicatechin (EC) และสารฟีนอลอื่น ๆ เช่น gallic acid เป็นองค์ประกอบหลักในพืชตระกูลชา (Cabrera et al 2003) ซึ่งสารดังกล่าวสามารถถ่ายทอดอิเลคตรอนกับ อนุมูลอิสระ (electron transfer/hydrogen donating ability) (Manian et al 2008) นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารละลายสารสกัดชาเขียวด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก จึงเป็นไปได้ว่าทั้ง 2 วิธี ซึ่งสามารถที่จะทำหน้าที่ในการต้านออกซิเดชันอาศัยกลไกในการออกฤทธิ์โดยการส่งผ่านอิเล็กตรอนเหมือนกัน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ผลที่สอดคล้องกันไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นสามารถเลือกใช้วิธี DPPH หรือ FRAP วิธีใดวิธีหนึ่งในการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งผลการวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Sangkittikomol (2003)

ตารางที่ 4.3 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของสารละลายสารสกัดชาเขียวและค่า DPPH และ FRAP value

องค์ประกอบทางเคมี	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH value	FRAP value
สารฟีนอลทั้งหมด	0.9924	0.9173
- แทนนิน	0.8622	0.9987
คาเฟอีน	0.6378	0.9141

4.3 ผลสภาวะการทำแห้ง

การดำเนินการวิจัยสภาวะการทำแห้งเบื้องต้น พบว่าสภาวะการทำแห้งที่ได้วางแผนไว้นั้น ไม่สามารถดำเนินการวิจัยในบางสภาวะการทำแห้ง ดังนั้นจึงมีการเปลี่ยนแปลงการศึกษาสภาวะในแต่ละวิธีการทำแห้งสารสกัดจากชาเขียวอัสสัม ดังนี้

(1) การทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วยอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้ง 80, 90, 100, 120°C และ ความเร็วรอบพัดลม (ความเร็วลม) 478, 788, 958 รอบต่อนาที จากการศึกษาสภาวะการทำแห้งเบื้องต้น พบว่าสารละลายสารสกัดชาเขียวอัสสัมไม่สามารถทำแห้งจากด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาดทุกสภาวะ ดังนั้นสภาวะการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด จึงไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้

(2) การทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้ง 150, 180, 200°C ที่อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 5, 10, 15 ความเร็วรอบของพัดลม 2500, 3000 และ 3500 รอบต่อนาทีและ อัตราการฉีดพ่นน้ำชาเขียวสกัด 1,1.5 และ2 ลิตรต่อนาที พบว่าสารละลายสารสกัดชาเขียวอัสสัมไม่สามารถทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ที่อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 10, 15 และ 20 ดังนั้นอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำต้องเปลี่ยนอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1, 5 และ 10 ส่วนอัตราการฉีดพ่นน้ำชาเขียวสกัด1, 1.5, 2 ลิตรต่อนาทีไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้ เนื่องจากเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย ไม่สามารถกำหนดอัตราการฉีดพ่นฝอยได้

(3) การทำแห้งด้วยเครื่องอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ได้ศึกษาได้ที่สภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิแผ่นความร้อน (heater) 20, 30, 40°C ส่วนสภาวะที่ศึกษาประกอบด้วย อุณหภูมิผลิตภัณฑ์เริ่มต้น -10, -20, -40°C และ เวลาที่ใช้ในการอบแห้ง 4, 5, 6 ชั่วโมง จึงไม่สามารถดำเนินการวิจัยได้ ได้เนื่องจากสารละลายสารสกัดชาเขียวอัสสัมไม่สามารถทำแห้งได้

การสกัดด้วยอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1, 5 และ 10 (w/v) แต่ละชุดทดลองได้น้ำชาครั้งละ 2 ลิตร แล้วทำให้ทำแห้ง 2 วิธี โดยการแบ่งการศึกษาการทำแห้งออกเป็น 2 วิธี คือ การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying, SD) ควบคุมอุณหภูมิการทำแห้งที่ 200°C และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying, FD) ควบคุมอุณหภูมิการทำแห้งที่ 20, 30 และ 40°C ระยะการทำแห้งควบคุมไว้เพื่อให้ได้ความชื้นสุดท้ายของผงสารสกัดชาเขียวน้อยกว่าร้อยละ 10 พบว่าระยะเวลาเฉลี่ยในการทำแห้ง 2 วิธีแตกต่างกันอย่างมาก (ตารางที่ 4.4) ในการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีระยะเวลาทำแห้งมากว่า 20 ชั่วโมง ส่วนการทำแห้งแบบพ่นฝอยระยะเวลาเฉลี่ย 2 ชั่วโมง เวลาการทำแห้งที่แตกต่างกัน เนื่องจากทั้งสองวิธีการทำแห้งมีการนำความร้อนและการพาความร้อนที่แตกต่างกัน นอกจากนี้อัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำที่ใช้สกัด ทำให้ความเข้มข้นของสารสกัดในน้ำชาเพิ่มขึ้นและมีผลต่อระยะเวลาการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่นานขึ้น ส่วนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งในขณะที่อัตราส่วนของผงชาเขียวต่อน้ำมีผลความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้นเช่นกัน แต่ไม่มีผลต่อระยะเวลาการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ตารางที่ 4.4 ระยะเวลาเฉลี่ยการทำแห้งสารละลายสารสกัดชาเขียว

สิ่งทดลอง	อัตราส่วนของใบชาต่อน้ำที่ใช้สกัด (ร้อยละ w/v)	วิธีการทำแห้ง	อุณหภูมิทำแห้ง (องศาเซลเซียส)	ระยะเวลาเฉลี่ยทำแห้ง[1] (ชั่วโมง)
1	1	Spray drying	200	1.01 ± 0.04
2	5	Spray drying	200	1.97 ± 0.04
3	10	Spray drying	200	2.41 ± 0.24
4	1	Freeze drying	20	20 ± 2
5	5	Freeze drying	20	20 ± 2
6	10	Freeze drying	20	20 ± 2
7	1	Freeze drying	30	20 ± 2
8	5	Freeze drying	30	20 ± 2
9	10	Freeze drying	30	20 ± 2
10	1	Freeze drying	40	20 ± 2
11	5	Freeze drying	40	20 ± 2
12	10	Freeze drying	40	20 ± 2

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

4.4 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอย

ผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอยจากสารละลายสารสกัดชาเขียวด้วยอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1, 5 และ 10 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวแสดงในตารางที่ 4.5 ปริมาณความชื้นของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งจากสารละลายสารสกัดชาเขียวทั้งสามอัตราส่วน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 1.93 – 2.34 ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและคาเฟอีน มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ส่วนปริมาณแทนนินมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด แทนนินและคาเฟอีนของผงสารสกัดชาเขียวมีค่าแปรผันโดยตรงกับปริมาณสารเหล่านี้ในสารละลายสารสกัดชาเขียวเริ่มต้น โดยค่า DPPH value ของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอยมีค่าระหว่าง 43.45 - 111.46 mM GAE /100 g dw ส่วนค่า FRAR มีค่าระหว่าง 208.51 - 248.95 mM TE /100 g dw

ตารางที่ 4.5 องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

องค์ประกอบทางเคมี[1]	อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ (/ DM)		
	1	5	10
ความชื้น (Moisture content, %)	1.93 ± 0.23 ns	2.23 ± 0.32 ns	2.34 ± 0.36 ns
สารฟีนอลทั้งหมด (Total phenol, g/100 g)	63.50 ± 0.19 a	40.72±0.14 b	39.53±0.28 c
-แทนนิน (Tannin, g/100 g)	10.50 ± 0.10 c	15.34±0.29 b	22.71±0.22 a
คาเฟอีน (Caffeine, g/100 g)	3.46 ± 0.06 a	3.24 ±0 .04 b	3.24 ± 0.04 b
DPPH radical scavenging assay, (mM GAE /100 g)	111.46 ± 0.27 a	46.41 ±0 .05 b	43.45 ± 0.12 b
FRAP assay (mM TE /100g)	248.95 ± 0.16 a	223.66 ± 0.35 b	208.51 ± 0.14 c

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

[ns] หมายถึง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

อักษร a, b และc แสดงถึงความแตกต่างของแต่ละคุณลักษณะในแต่ละแถวของสิ่งทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของผงสารสกัดชาเขียวและค่า DPPH value มีค่า 0.9996 และค่า FRAP value มีค่า 0.8911 (ตารางที่ 4.6 และภาคผนวก ข) เปรียบเทียบค่าความสัมพันธ์ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด แทนนิน และคาเฟอีน จากก่อนและหลังจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ตารางที่ 4.3 และ 4.6) พบว่าค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของผงสารสกัดชาเขียวกับ DPPH value ไม่เปลี่ยนแปลง แต่ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของผงสารสกัดชาเขียวกับ FRAP value เพิ่มขึ้น ส่วนค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแทนนินของผงสารสกัดชาเขียวกับ DPPH valueและ FRAP value มีการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้น และส่วนค่าความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคาเฟอีนของผงสารสกัดชาเขียวกับ DPPH valueและ FRAP value มีค่าใกล้เคียงกัน การให้ความร้อนอาจจะทำให้เกิดการ epimerisation ของสารฟีนอลของสารละลายสารสกัดชาเขียว เช่น tea epicatechins (GTE) ตัวอย่างเช่น (−)-epigallocatechin gallate (EGCG), (−)-epicatechin gallate (ECG), (−)-epigallocatechin (EGC) and (−)-epicatechin (EC) เปลี่ยนแปลงเป็น GTE epimers, namely (−)-gallocatechin gallate (GCG), (−)-catechin gallate (CG), (−)-gallocatechin (GC) and (−)-catechin (C) อาจจะทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารดังกล่าวเกิดการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง (Xu et al 2004)

ตารางที่ 4.6 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอยและค่า DPPH และ FRAP

องค์ประกอบทางเคมี	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH value	FRAR value
สารฟีนอลทั้งหมด	0.9996	0.8911
- แทนนิน	0.6765	0.9316
คาเฟอีน	0.6543	0.9121

4.5 องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

ผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจากสารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนร้อยละ 1, 5 และ 10 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวแสดงในตารางที่ 4.7 ปริมาณความชื้นของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งจากสารละลายสารสกัดชาเขียวทั้งสามอัตราส่วน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ปริมาณความชื้นอยู่ระหว่างร้อยละ 5.14 – 9.95 ปริมาณความชื้น สารฟีนอลทั้งหมดและแทนนิน ลดลงเอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ส่วนเมื่ออุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเพิ่มสูงขึ้น ปริมาณคาเฟอีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญร้อยละ 95 ผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งด้วยอุณหภูมิทำแห้ง 40 ^{o}C ปริมาณคาเฟอีนอยู่ระหว่างร้อยละ 4.24 – 4.72 ส่วนค่า DPPH value ของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอยู่ระหว่าง 277.11 - 372.38 mM GAE /100 g ส่วนค่า FRAP ของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอยู่ระหว่าง 185.08 - 311.75 mM TE /100g

ตารางที่ 4.7 องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

องค์ประกอบทางเคมี[1]	อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ[1] (/DM)		
	1	5	10
ความชื้น (Moisture content, %)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	9.95±0.15a	5.80±0.25 a	6.44±0.33a
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	7.39 ±0.15b	4.65 ± 0.06b	5.97 ± 0.12a
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	6.05 ±0.31c	5.46 ± 0.35a	5.14 ± 0.46b
สารฟีนอลทั้งหมด (Total phenol, /100 g dw)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	51.39±0.12a	42.93±0.72a	33.36±0.34b
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	38.57±0.15b	37.36 ±0.27c	35.41±0.19a
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	40.06±0.19b	39.63±0.37b	31.43 ±0.37c
- แทนนิน (Tannin, g/100 g dw)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	13.33 ±0.09a	19.82±0.21a	13.87±0.07b
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	13.18 ±0.09a	14.30±0.27b	14.16±0.15a
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	12.46±0.09b	11.22 ±0.16c	13.40±0.15c
คาเฟอีน (Caffeine, g/100 g dw)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	3.48±0.34bc	3.45±0.47c	4.13±0.28a
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	3.73±0.44bc	4.10±0.27b	4.00 ±0.12b
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	4.35±0.14a	4.72 ±0.02a	4.24 ±0.28a
DPPH radical scavenging assay, (mM GAE /100 g dw)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	318.43±0.11c	317.25 ±0.26b	277.11±0.31c
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	331.47 ±0.27b	315.35 ±0.47c	343.67±0.38b
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	359.39 ±0.39a	372.38 ±0.35a	308.25±0.48a
FRAP assay (mM TE /100g dw)			
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 20 °C	270.43±0.09c	235.86±0.12b	209.26±0.31b
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 30 °C	274.67 ±0.14b	218.36 ±0.18c	185.08 ±0.59c
อุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง 40 °C	311.75 ±0.19a	263.29 ±0.28a	276.40 ± 0.32a

[1] ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบน จากการวิเคราะห์ 3 ครั้ง

อักษร a,b,c แสดงถึงความแตกต่างของแต่ละองค์ประกอบทางเคมีในแต่ละหลักของสิ่งทดลอง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Multiple Analysis of Variance, MANOVA) (ตารางที่ 4.8) ของอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ (ร้อยละ 1, 5 และ 10) และอุณหภูมิทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (20, 30 และ40 °C) ที่มีผลต่อความชื้นและองค์ประกอบทางเคมี พบว่า อิทธิพลของของปัจจัยเดี่ยว คือ

อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ (A) ที่ไม่มีผลต่อปริมาณคาเฟอีนอย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 แต่อิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัย (A*B) มีผลต่อปริมาณความชื้น สารฟีนอลทั้งหมด แทนนิน คาเฟอีน DPPH value และ FRAP assay value อย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95

ตารางที่ 4.8 วิเคราะห์ความแปรปรวน (Multiple Analysis of Variance, MANOVA)

	F-ratio					
	Moisture content	TPP	Tannin	Caffeine	DPPH value	FRAP value
Main effect						
A[1] : อัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำ	208.88*	249.87*	153.26*	2.27 ns	15818.0 *	771.38 *
B[2] : อุณหภูมิทำแห้ง	112.65*	87.41*	349.15*	14.80 *	35308.4 *	681.29 *
Interaction						
AB	39.00*	52.43*	1,294.92*	3.23 *	12624.8 *	69.26 *

[1] หมายถึง individual effect ของอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1, 5 และ 10

[2] หมายถึง individual effect ของอุณหภูมิทำแห้ง 20, 30, 40 °C

* หมายถึง significant at $p \leq 0.05$

ns หมายถึง non significant at $p > 0.05$

ความสัมพันธ์ (R^2) ระหว่างปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 20 °C และค่า DPPH value และค่า FRAP value มีค่าความสัมพันธ์สูงสุดคือ 0.7460 และ 0.9955 (ตารางที่ 4.9 และภาคผนวก ค) เมื่อเปรียบเทียบสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และค่า FRAP valueของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอย (ตารางที่ 4.6) และแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 20 °C (ตารางที่ 4.9) พบว่า ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดและค่า DPPH value และค่า FRAP valueของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบพ่นฝอย มีความสัมพันธ์ (R^2) ที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.9 ความสัมพันธ์ (R^2) องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และค่า DPPH และ FRAP

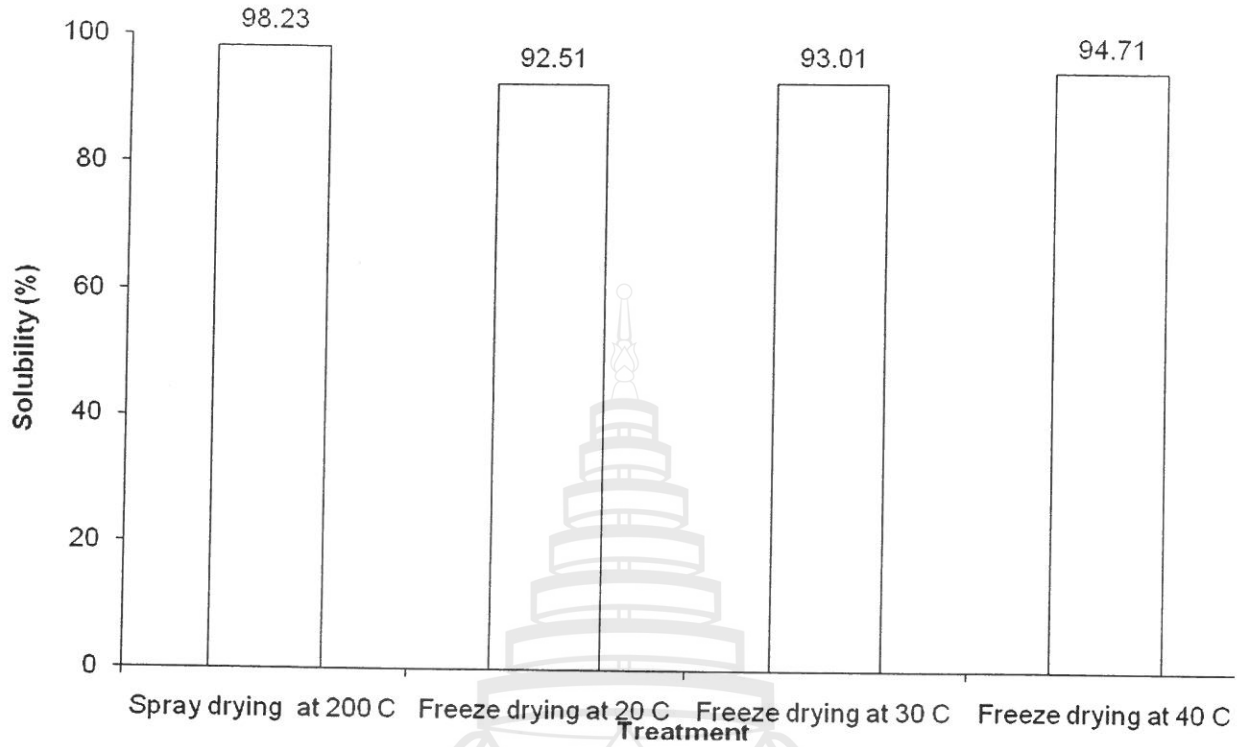
องค์ประกอบทางเคมีของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	
	DPPH value	FRAP value
	การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20°C	
สารฟีนอลทั้งหมด	0.7460	0.9955
- แทนนิน	0.1530	0.0284
คาเฟอีน	0.5202	0.3334
	การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30°C	
สารฟีนอลทั้งหมด	0.0193	0.6884
- แทนนิน	0.5921	0.7129
คาเฟอีน	0.2290	0.1897
	การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40°C	
สารฟีนอลทั้งหมด	0.4025	0.0957
- แทนนิน	0.0021	0.1125
คาเฟอีน	0.0235	0.1955

มีการศึกษารายงานว่าสารประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีการสูญเสียจากการฆ่าเชื้อ (Sterilization or pasteurization) การทำแห้ง (dehydration or drying) และ การเก็บรักษา (storage) (Josson 1991). อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่ากระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาอาหารบางชนิดเป็นปัจจัยในเกิดสารประกอบทางเคมีชนิดใหม่ขึ้น ทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน (Nicoli et al 1997)

4.6 คุณลักษณะต่าง ๆ ของผงสารสกัดชาเขียว

4.6.1 ค่าการละลาย ของผงสารสกัดชาเขียว

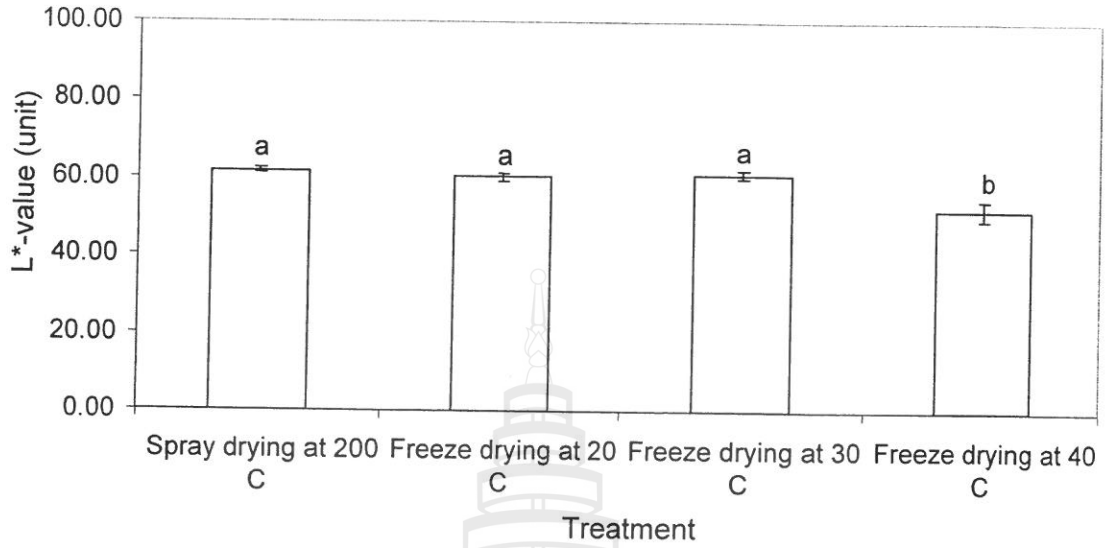
ผงสารสกัดชาเขียวมีค่าการละลายที่อุณหภูมิ 30°C อยู่ระหว่างร้อยละ 92.51 – 98.23 (รูปที่ 4.1) พบว่า อุณหภูมิในการทำแห้งมีผลต่อค่าการละลายของผงสารสกัดชาเขียวเมื่ออุณหภูมิในการทำแห้งสูงขึ้น ค่าการละลายที่อุณหภูมิ 30°C ของผงสารสกัดชาเขียวลดลง เนื่องจากการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงทำให้ผงสารสกัดชาเขียวมีความชื้นต่ำ ส่งผลให้ผงสารสกัดชาเขียวละลายได้ปริมาณการละลายเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับผงสารสกัดชาเขียวที่มีความชื้นสูงกว่า นอกจากนั้นการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงยังทำให้อัตราการระเหยของน้ำเร็วขึ้น ส่งผลให้อนุภาคของผงสารสกัดชาเขียวมีรูพรุนมาก และมีขนาดใหญ่ ดังนั้นจึงละลายได้อย่างรวดเร็ว และการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงยังส่งผลให้เกิดการเสื่อมสภาพของโปรตีนที่มีอยู่ในสารละลาย ซึ่งส่งผลให้ปริมาณการละลายเพิ่มขึ้น (Goula and Adampoulos, 2005)



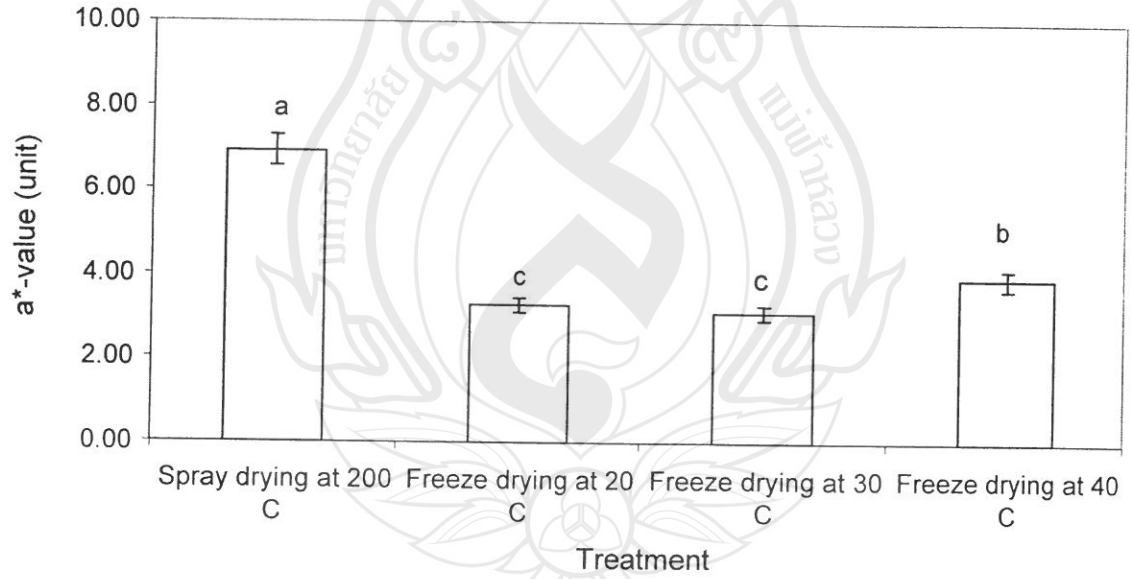
รูปที่ 4.1 ค่าการละลายของผงสารสกัดชาเขียว

4.6.2 ค่าสีของผงสารสกัดชาเขียว

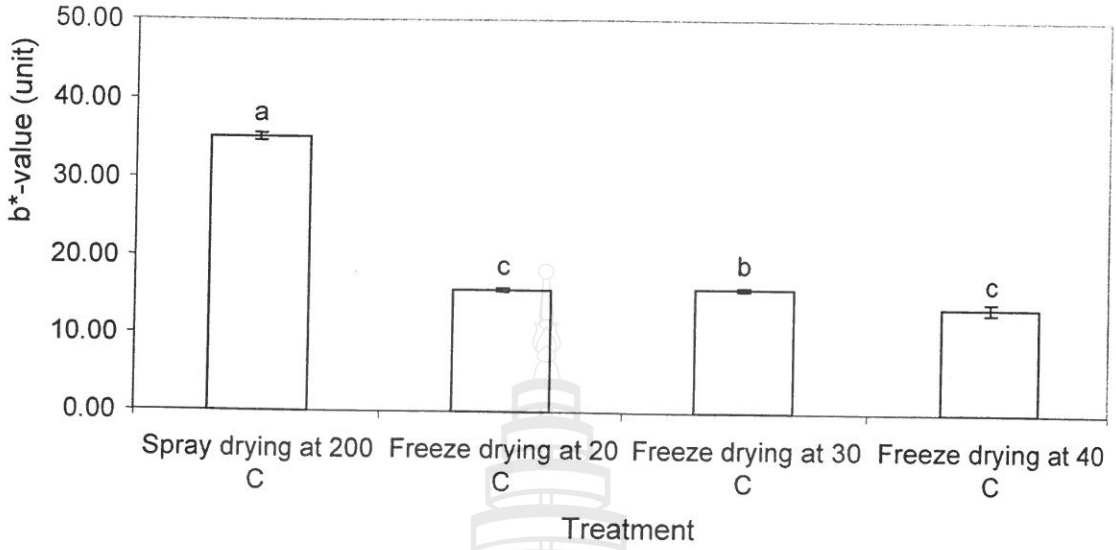
ค่าสีของผงสารสกัดชาเขียวแสดงในรูปที่ 4.2 (ก-ค) โดยพบว่า ค่าความสว่าง (*L**-value) ของผงสารสกัดชาเขียว อยู่ระหว่าง 51.83 – 61.85 unit ค่าความสว่างผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 ^{o}C มีต่ำกว่าค่าความสว่างของผงสารสกัดชาเขียวจากชุดทดลองอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 *ค่า a** -value และ b* -value ของผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งจากชุดทดลองมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ร้อยละ 95 และเมื่อมองดูผงสารสกัดชาเขียวทำแห้งจากชุดทดลองด้วยตาเปล่าพบว่าผงผงสารสกัดชาเขียวมีลักษณะสีเหลืองอมแดง



รูปที่ 4.2 (ก) *L**-value ของผงสารสกัดชาเขียว



รูปที่ 4.2 (ข) *a**-value ของผงสารสกัดชาเขียว



รูปที่ 4.2 (ค) *b**-value ของผงสารสกัดชาเขียว

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

ใบชาเขียวพันธุ์อัสสัมมีสารฟีนอลทั้งหมด แทนนิน คาเฟอีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง สามารถเป็นสารธรรมชาติมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เมื่อนำใบชาเขียวพันธุ์อัสสัมมาสกัดด้วยอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำที่แตกต่างกัน และทำแห้งแบบพ่นฝอยและแบบแช่เยือกแข็ง พบว่าอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำและวิธีการทำแห้งที่ดีเพื่อผลิตผงสารสกัดชาเขียวที่มีปริมาณและคุณภาพที่ดีคือการสกัดสารสารละลายสารสกัดจากชาเขียวเตรียมจากอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ 1 และทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส ผงสารสกัดชาเขียวที่ได้มีสารฟีนอลทั้งหมด คาเฟอีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง แต่มีแทนนินในปริมาณต่ำ นอกจากนี้คุณภาพด้านกายภาพ อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชาจีน นอกจากนี้ยังพบว่า ปริมาณสารฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดชาเขียวทำแห้งและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีค่าความสัมพันธ์ที่สูง

ข้อเสนอแนะ

วิธีการสกัดสารสกัดชาเขียวและการทำแห้งผลิตผงสารสกัดชาเขียวนั้น เป็นข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่จากใบชาแห้ง อย่างไรก็ตามควรศึกษาเพิ่มเติมเรื่องต้นทุนการใช้จ่าย เทคโนโลยีการผลิตระดับอุตสาหกรรมและความเป็นไปได้ของผลิตภัณฑ์เชิงธุรกิจต่อไป

ผลกระทบที่เกิดขึ้นจากงานวิจัย

กลุ่มผู้ประกอบการแปรรูปใบชา ในจังหวัดเชียงราย สามารถจะนำผลการวิจัยเรื่ององค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของใบชาเขียวพันธุ์อัสสัม ไปประยุกต์ใช้ในการประชาสัมพันธ์และให้ความรู้แก่ผู้ซื้อและผู้บริโภค

เอกสารอ้างอิง

ชวลิต สิทธิสมบัติ. 2539. Aromatic Compounds.ภาควิชาเภสัชเวท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร.หน้า 12-21

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง.2549.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.วารสารวิชาการ ม.อบ. 8(2): 76-88.

ศุภนารถ เกตุเจริญ และ วิไลภรณ์ อธิวงศ์ธนาวัฒน์. 2543. เอกสารวิชาการเรื่อง ชาไทย . กรุงเทพฯ.กองเกษตรสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร

สุพัตรา ปรศุพัฒนา และ วริมา วงศ์พาณิชย์, 2547. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพร. การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง "การตรวจสอบสมุนไพร", คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม. 2526. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมชาจีน (มอก.460-2526). กรุงเทพฯ : สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

AOAC 2000. Official Methods of Analytical. Washington D.C. Association of Official Methods of Analytical Chemists

Astill, C., Birch, M.R., Dacombe, C., Humphrey, P.G. and Philip T. Martin.2001. Factors affecting the caffeine and polyphenol contents of black and green tea infusions. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 49: 5340-5347.

Benzie, I. F. and Szeto, Y. T. (1999) .Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. Journal of Agriculture and Food Chemistry .47(2): 633-636.

Cabrera, C, Gimeanez, R. and Carmenloapez, M. 2003. Determination of tea components with antioxidant activity. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51:4427-4435.

Cabrera, C., Artacho, R. and Gime´nez, R. 2006. Beneficial effects of green tea—A review. Journal of the American College of Nutrition.25 (2):79–99.

Chan, E.W.C., Lim,Y.Y. and Chew, Y.L.2007.Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. Food Chemistry 102:1214–1222.

Chen, Z.Y. and Chan. P.T. (1996). Antioxidant activity of green tea catechins in canola oil. Chemistry and physics of lipids. 82: 163-172.

Chuen W. 2002.The way of tea. Singapore. Barron's Educational Series, Inc.

Deshpande, S.S. 1996. Nutritionsl and health aspects of food antioxidants. In Food antioxidant technological, toxicology and health perspectives. Ed. By Madhavi, D.L, Deshpande, S.S. and Salunkhe, D.K. New York : Marcek Dekker.

Goula, A.M. and Adampoulos,K.G. 2005.Spray drying of tomato pulp in dehumidified air II. The effect on powder properties. Journal Food Engineering. 66: 35-42.

Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. Biochemistry Journal. 219: 1-14.

ISO.1995. Method 10727. Caffein in tea.

ISO.2005. Method 14502-1.Total phenols in tea.

Jonsson, L. 1991.Thermal degradation of carotenoids and influenceon their physiological functions. In FRIEDMAN, M.Ed., Nutritional and Toxicological Consequences of Food Processing. New York: Plenum Press, pp. 75-82.

Katalinic,V., Milos, MN. , Kulisic, T and Jukie,M. 2006. Screening of 70 plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. Food chemistry, 94: 550 – 557.

Khokhar, S. and Magnusottir, S.G.M 2002. Total phenol, catechin, and caffeine contents of teas commonly consumed in the United Kingdom. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50:565-570.

Leong, L.P. and Shui. G.2002. An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets. Food Chemistry, 76:69-75.

Makkar, H.P.S., Bluemmel, M., Boroway, N.K. and Becker, K.1993. Gravimeter determination of tannins and their correlations with chemical and protein precipitation methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 61:161-165.

Manian, R., N. Anusuya, P. Siddhuraju and S. Manian. 2008. The antioxidant activity and free radical scavenging potential of two different solvent extracts of *Camellia sinensis (L.) O. Kuntz, Ficus bengalensis* L. and *Ficus racemosa* L. 2008. Food Chemistry 107: 1000 – 1007.

Mujumdar, A.S. 2007.Handbook of industril drying: 3rd edition. New York. CRC Press.

Nicoli, M. C., Anese, M., Parpinel, M., Franceschi, S. and Lerici, C. R. Loss and/or formation of antioxidants during food processing and storage. Cancer Letters, 114:71-74.

Peterson, J., Dwyer, J., Bhagwat, S., Haytowitz, D., Holden, J., Eldridge, A.L., Beecher, G. and Aladesanmi, J. (2005). Major flavonoids in dry tea. Journal of food composition and analysis. 18:487 – 501.

Sangkittikomol, W. (2003). Comparison of antioxidant activates and total phenolics in tea extracts. Journal of Allied Health Sciences. 3: 100-108.

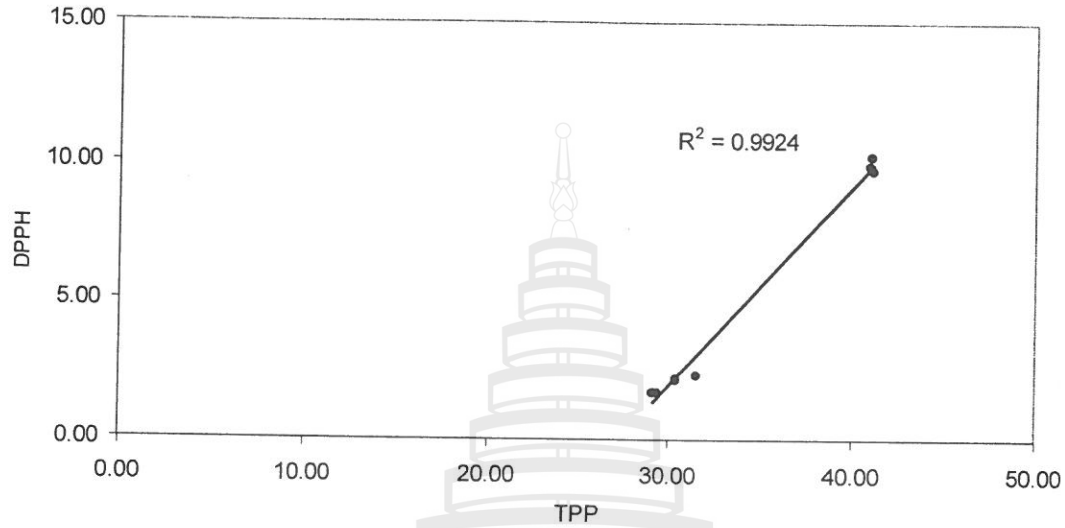
Smith, M.A. 1996. Oxidative damage in Alzheimer's disease. Nature. 382:120-121.

Xu,J.Z., Yeung, S.Y.V., Chang,Q., Yu Huang, Y. and Chen, Z-Y.2004. Comparison of antioxidant activity and bioavailability of tea epicatechins with their epimers. British Journal of Nutrition.91:873-881.

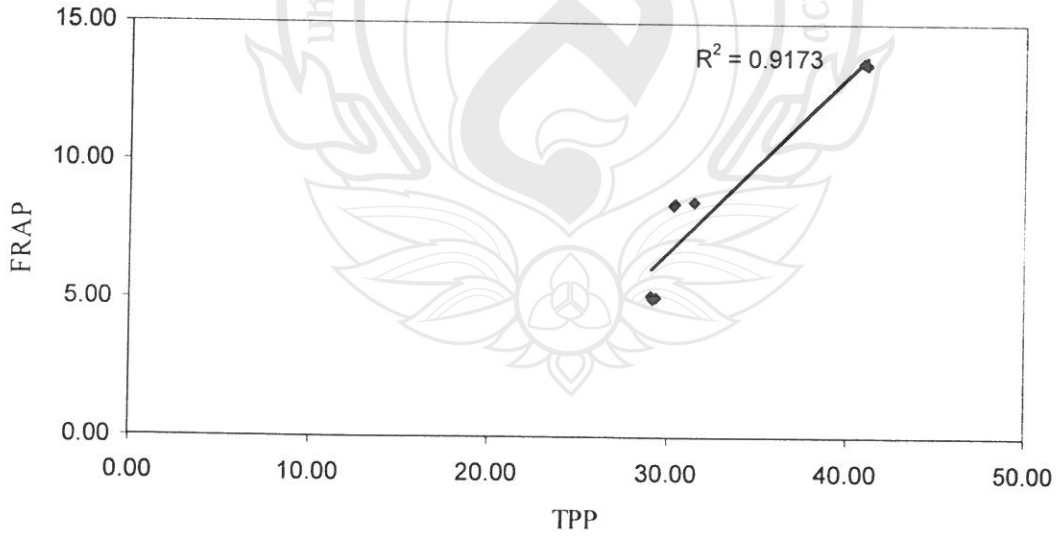
Yoshida, Y., Kiso, M. and Goto, T.1999.Efficiency of the extraction of catechins from green tea.Food Chemistry. 67:429±433

Tea processing. สืบค้นจาก www.wordpress.com (accessed 10 Jan 2011)

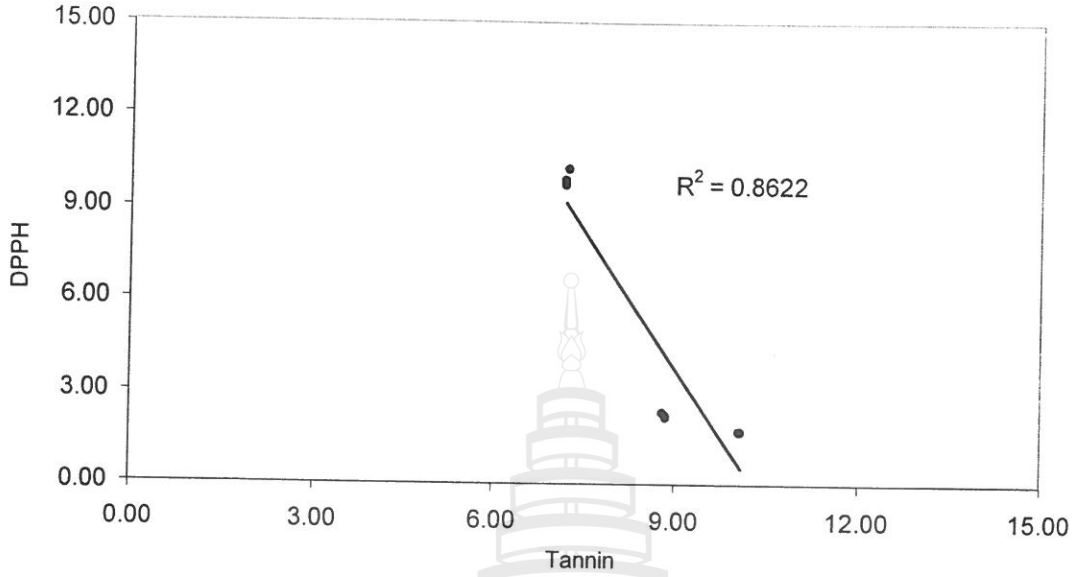
ภาคผนวก ก



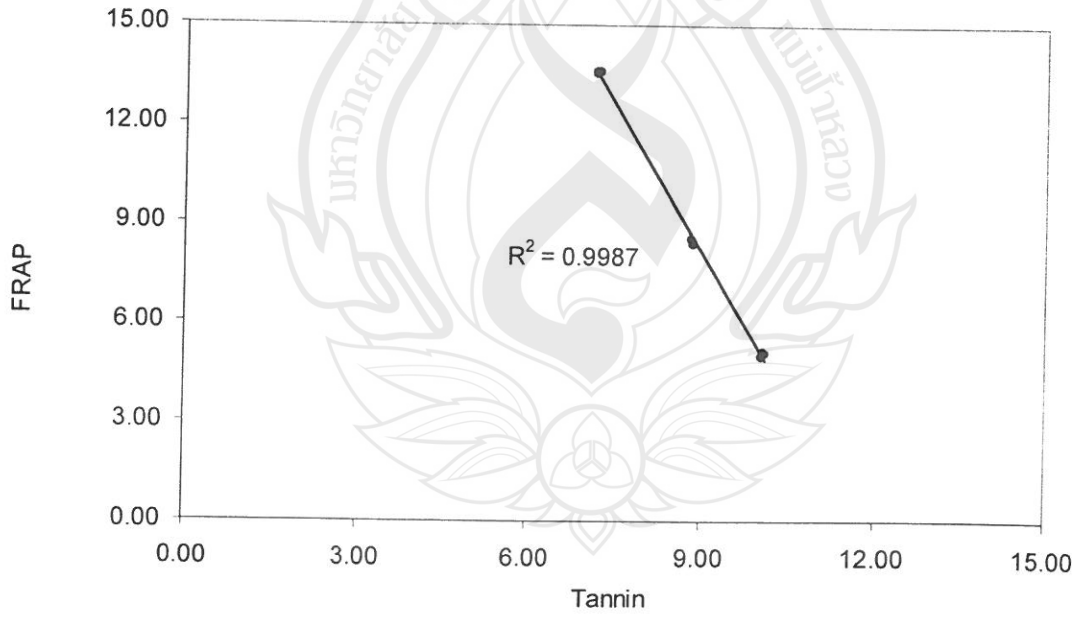
รูปที่ ก-1 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



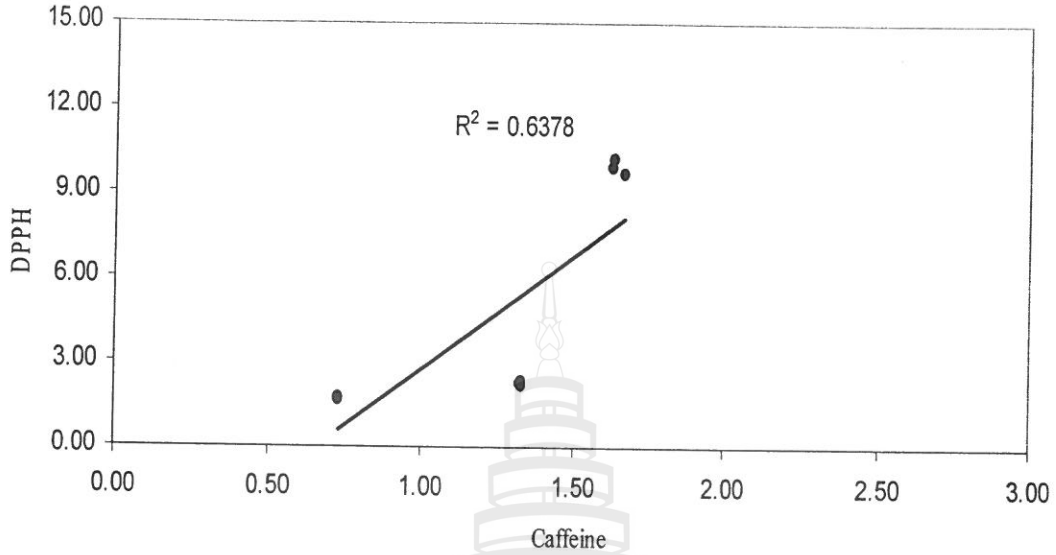
รูปที่ ก-2 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



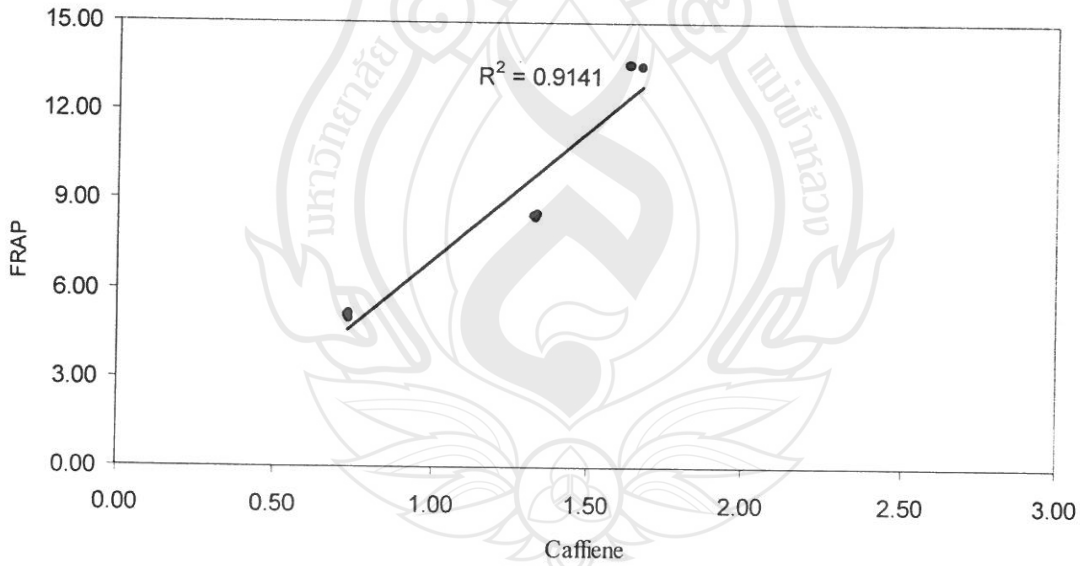
รูปที่ ก-3 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



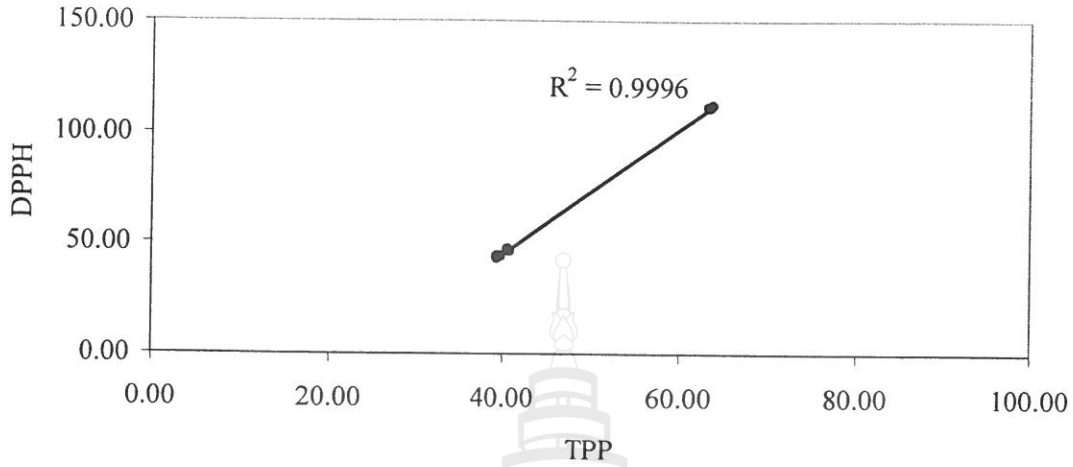
รูปที่ ก-4 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



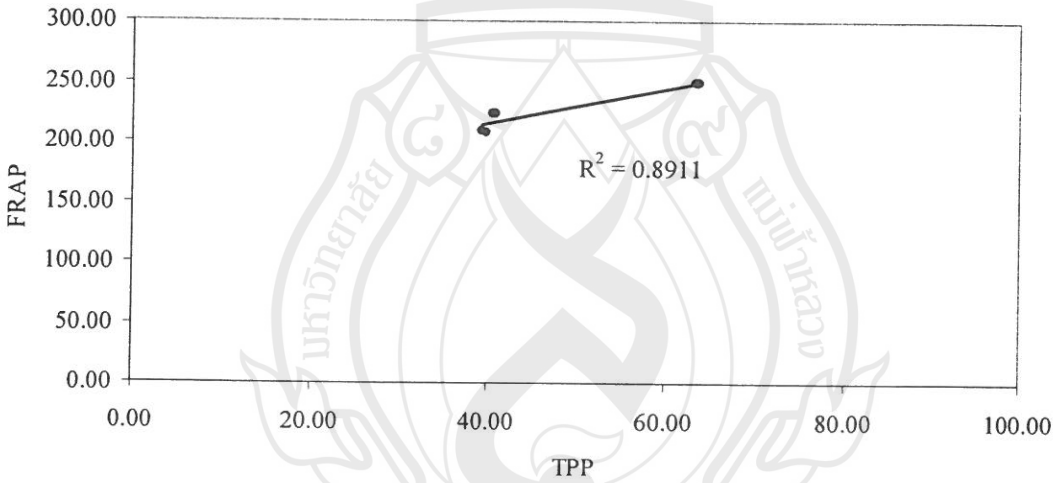
รูปที่ ก-5 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



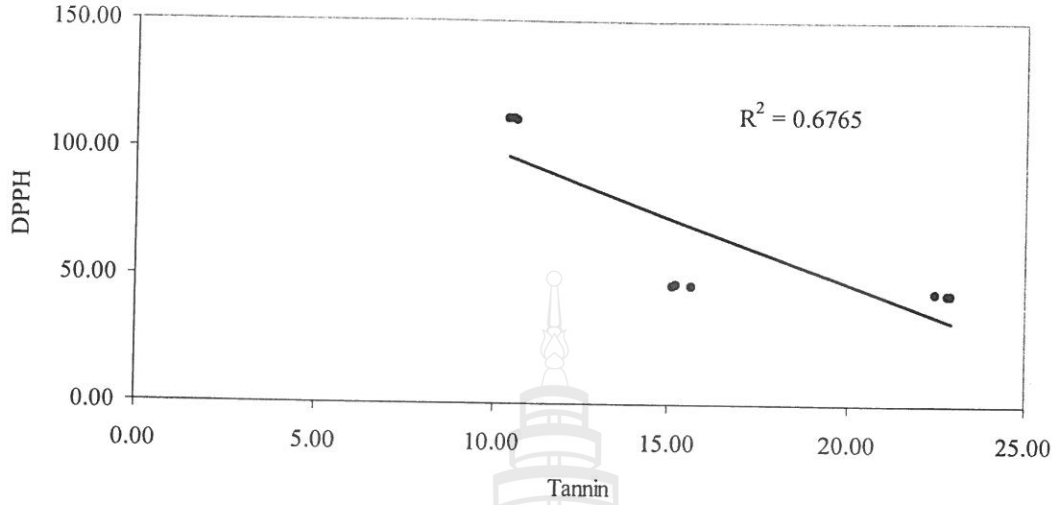
รูปที่ ก-6 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value สารละลายสารสกัดชาเขียวอัตราส่วนผงชาเขียวต่อน้ำร้อยละ1 5 และ 10



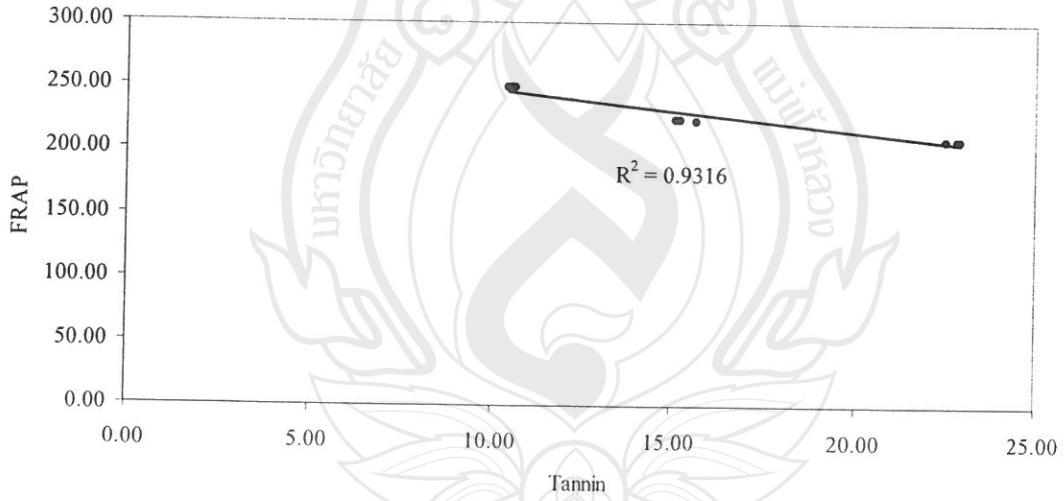
รูปที่ ก-7 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



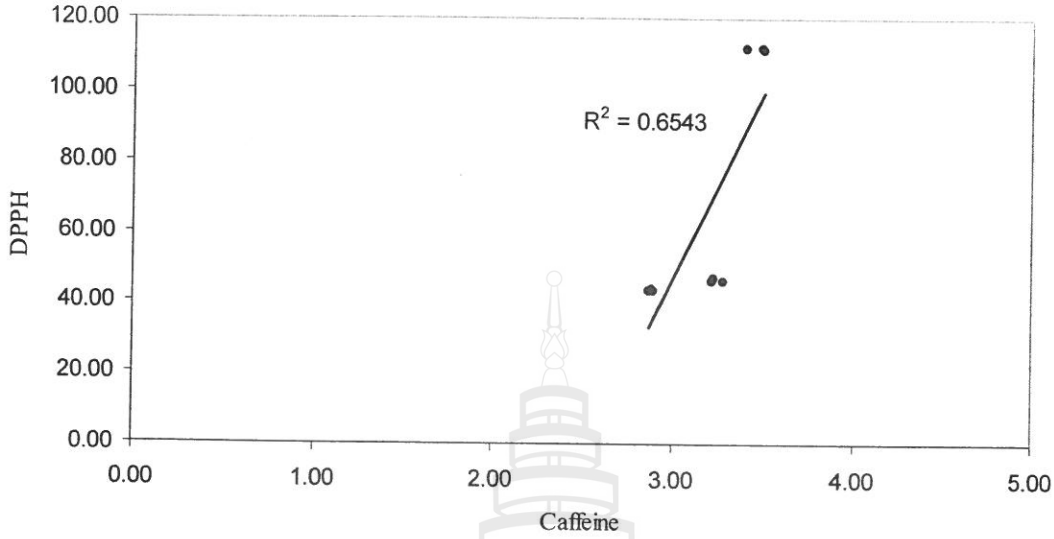
รูปที่ ก-8 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



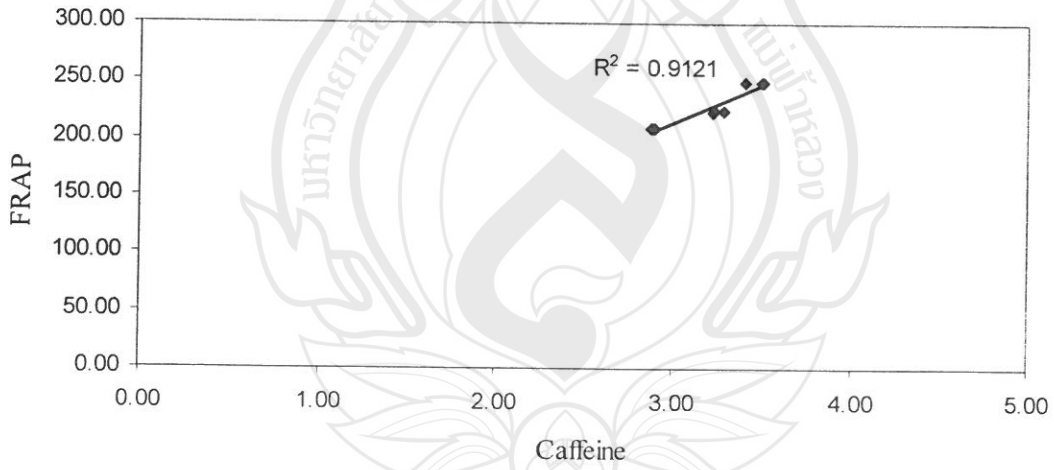
รูปที่ ก-9 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



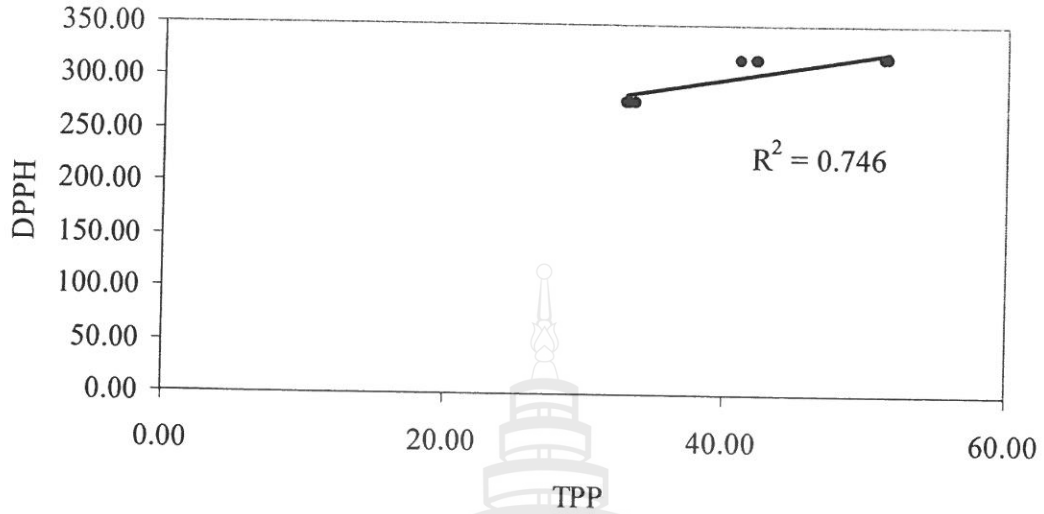
รูปที่ ก-10 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



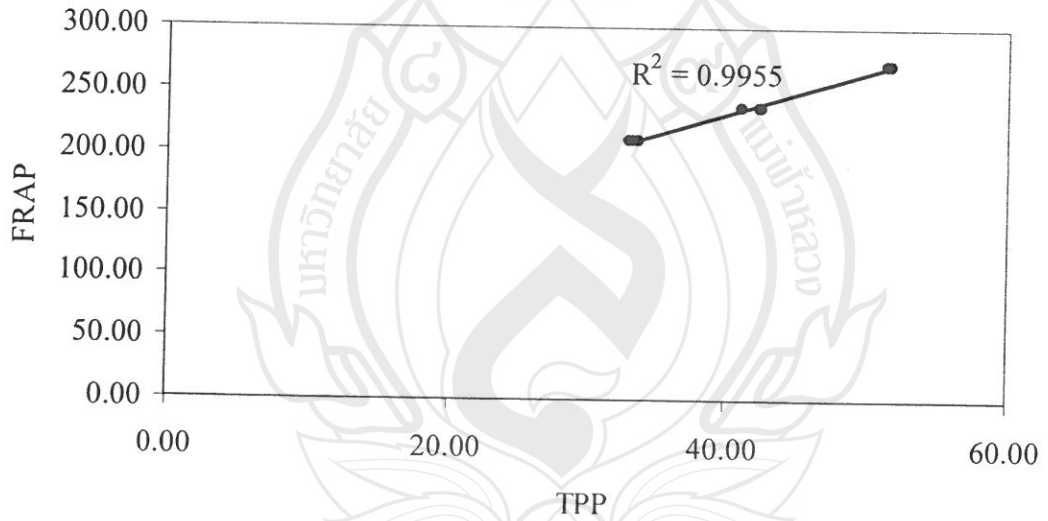
รูปที่ ก-11 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



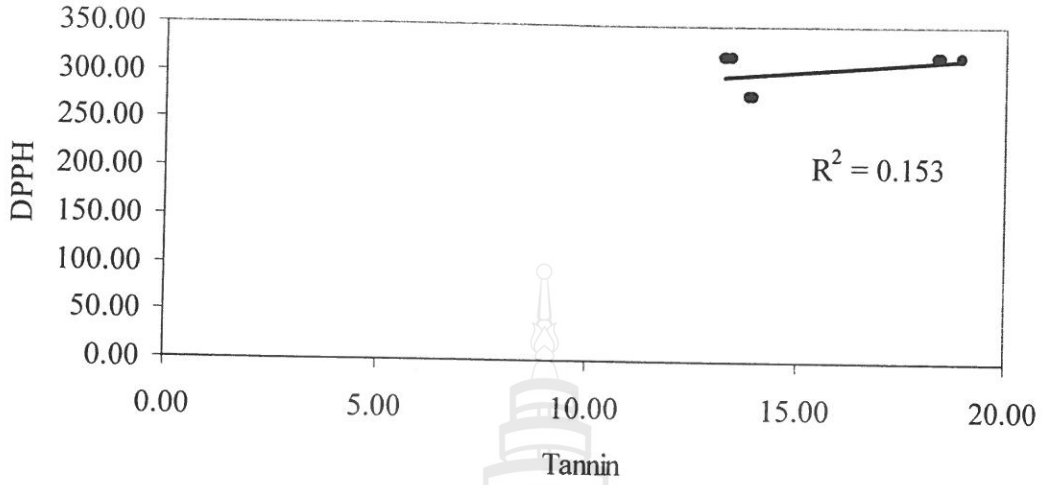
รูปที่ ก-12 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย



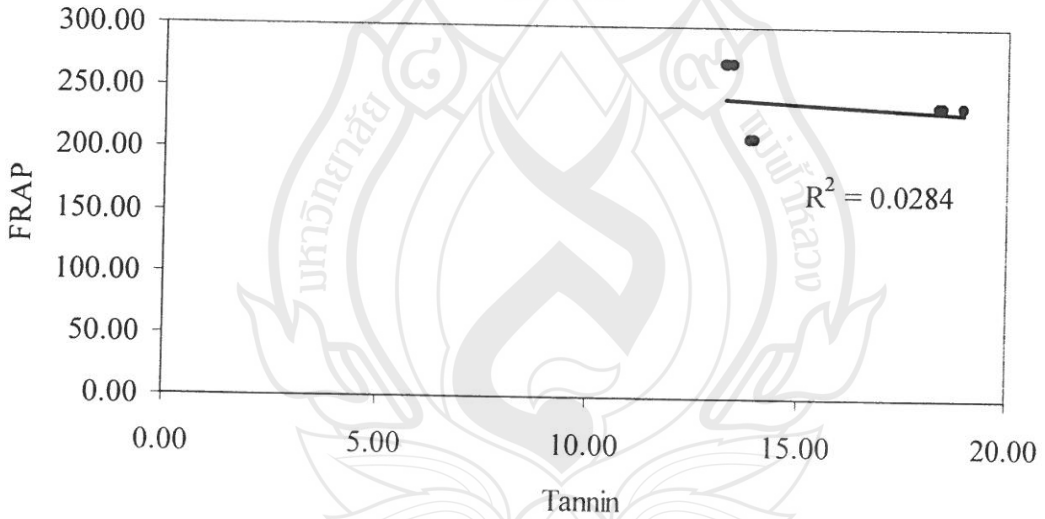
รูปที่ ก-13 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



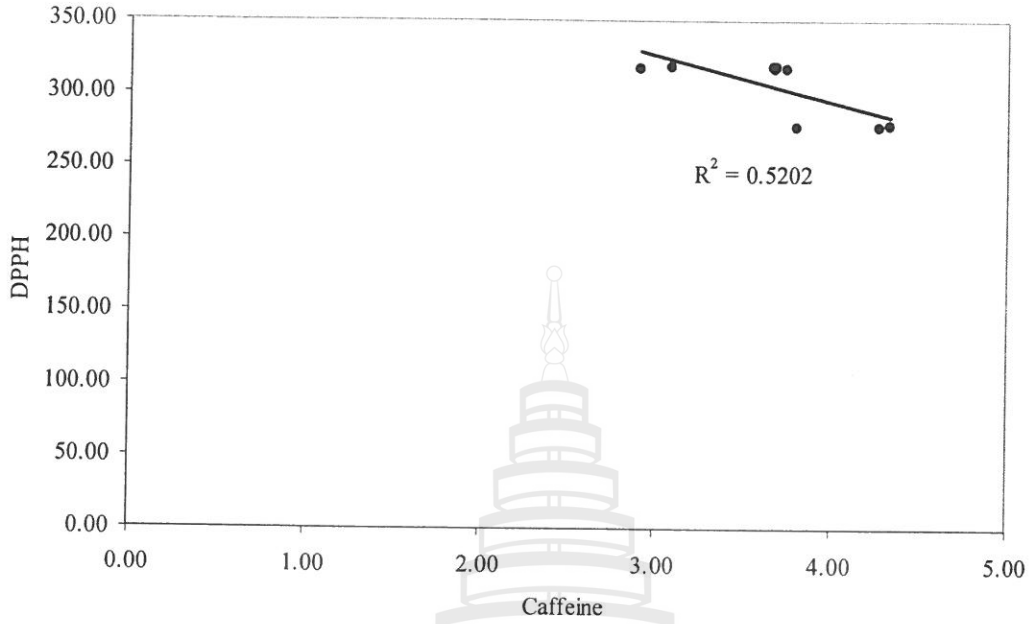
รูปที่ ก-14 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



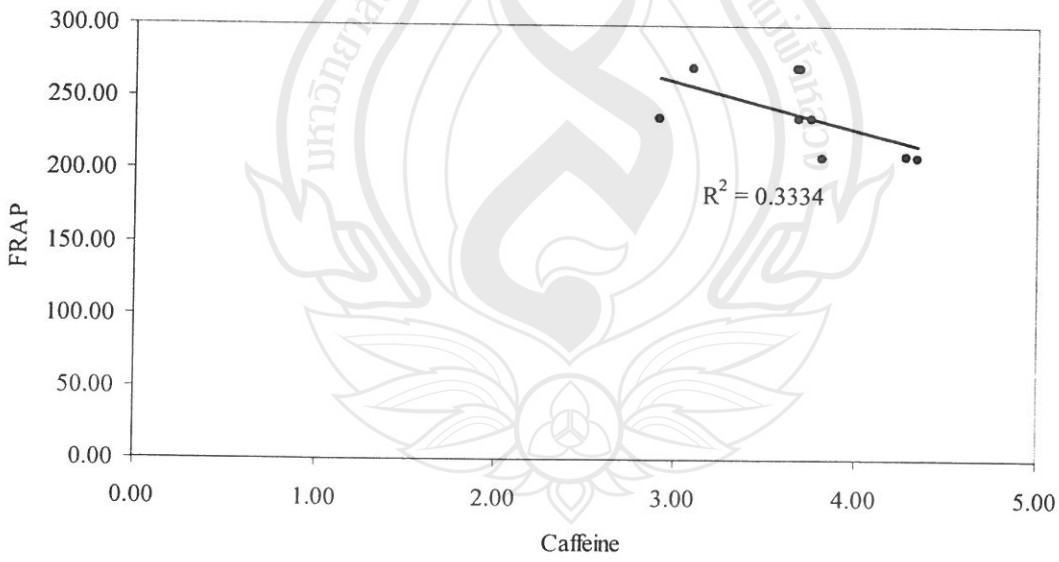
รูปที่ ก-15 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



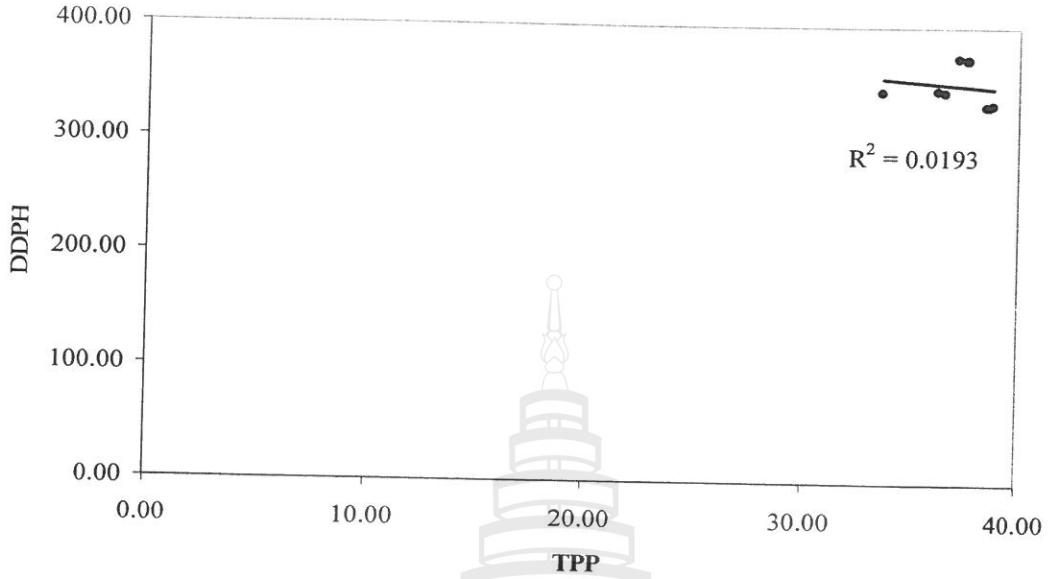
รูปที่ ก-16 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



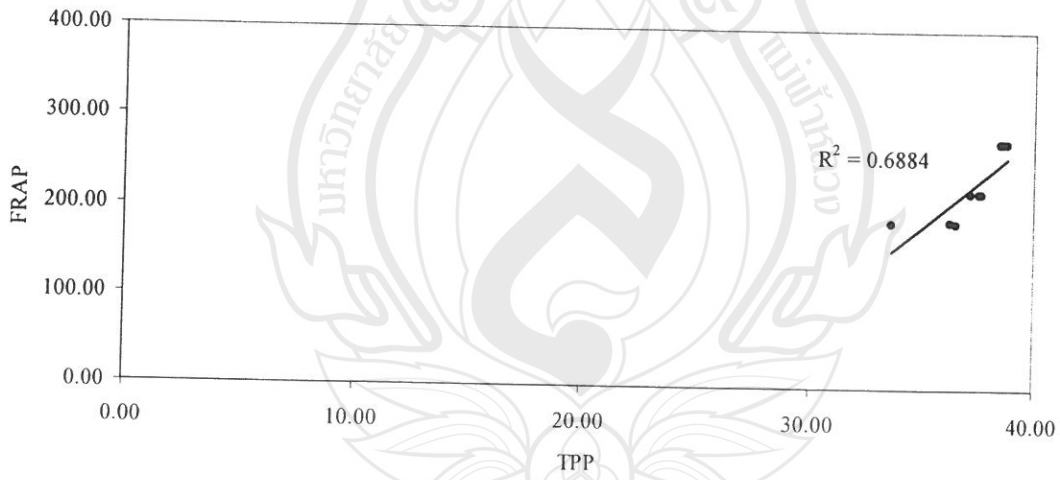
รูปที่ ก-17 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



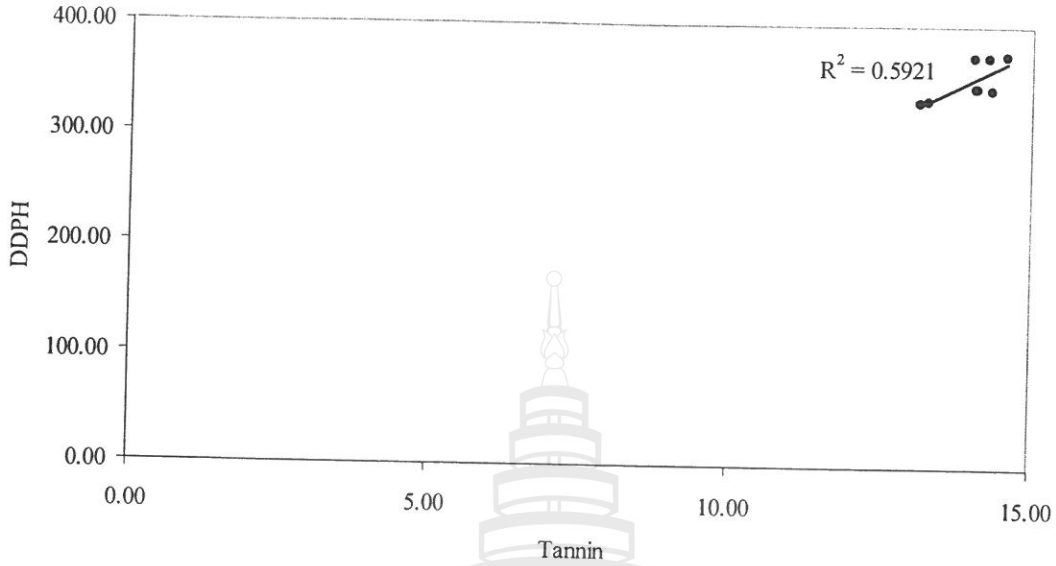
รูปที่ ก-18 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 20 °C



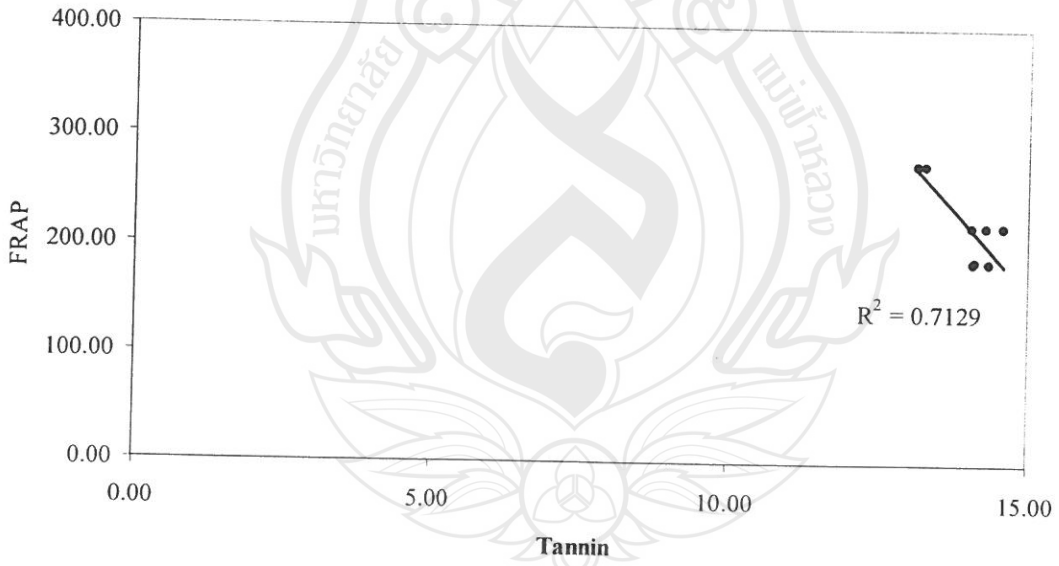
รูปที่ ก-19 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



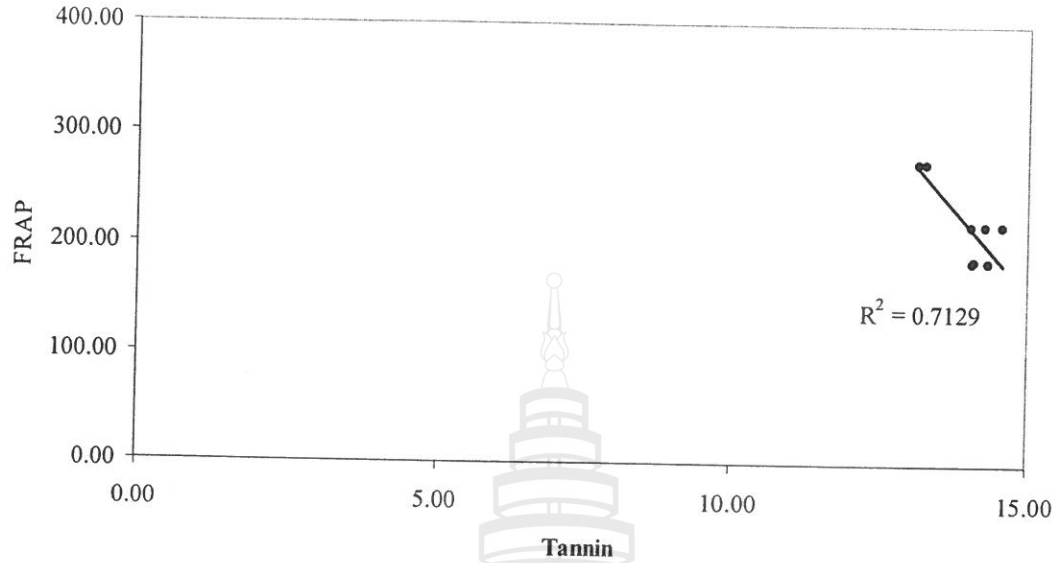
รูปที่ ก-20 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



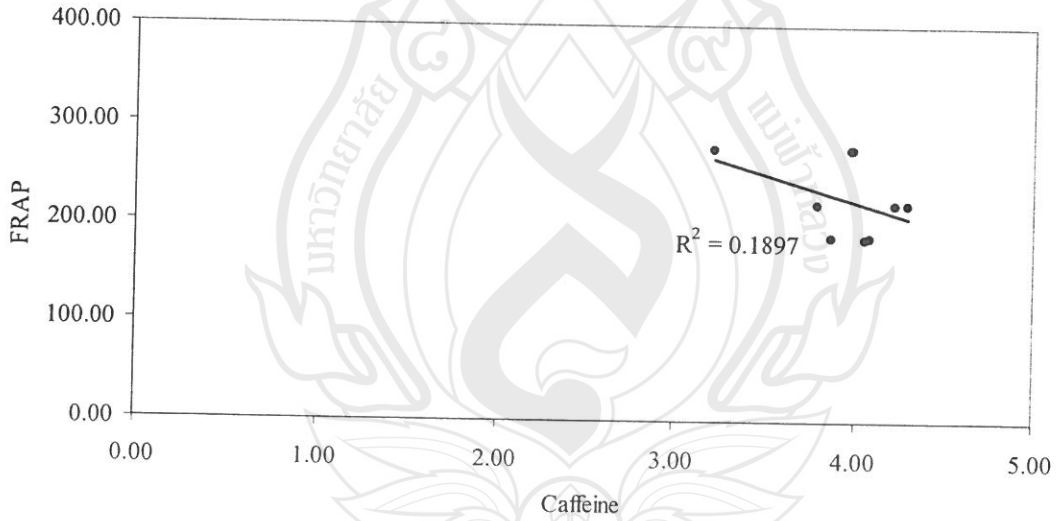
รูปที่ ก-21 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



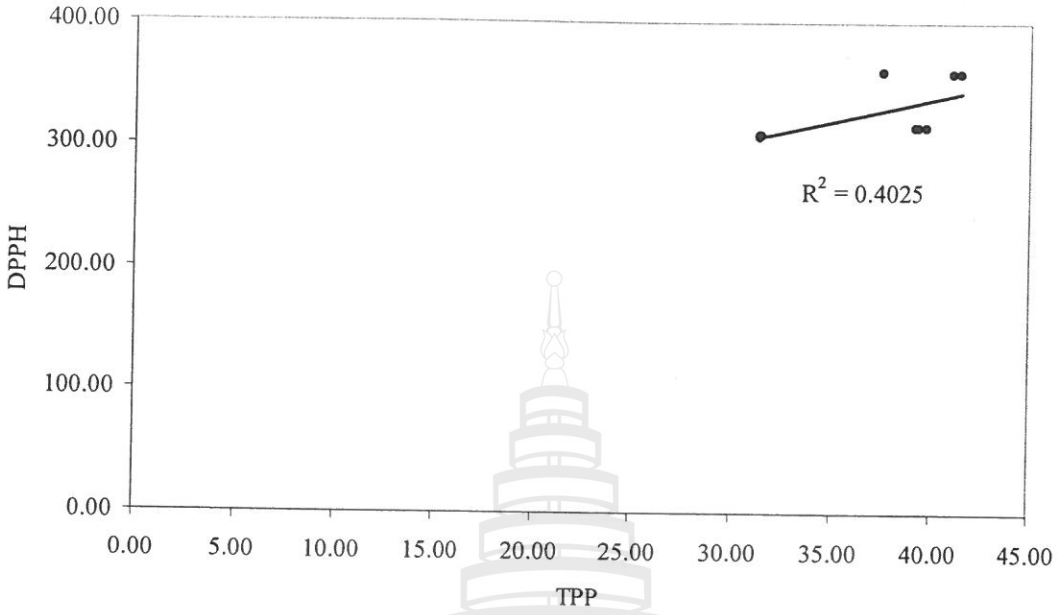
รูปที่ ก-22 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



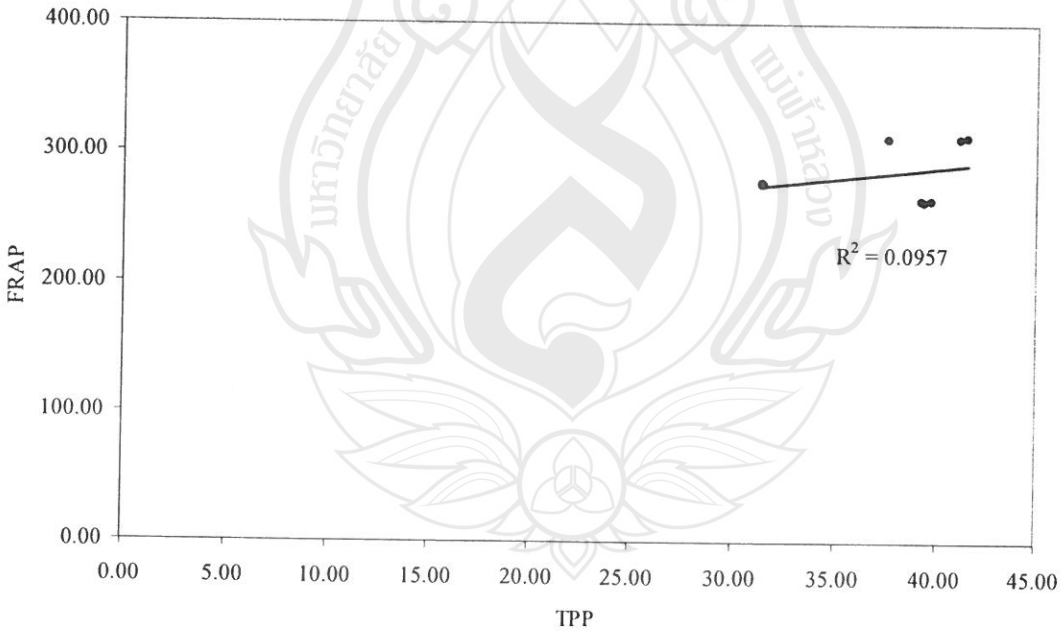
รูปที่ ก-23 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



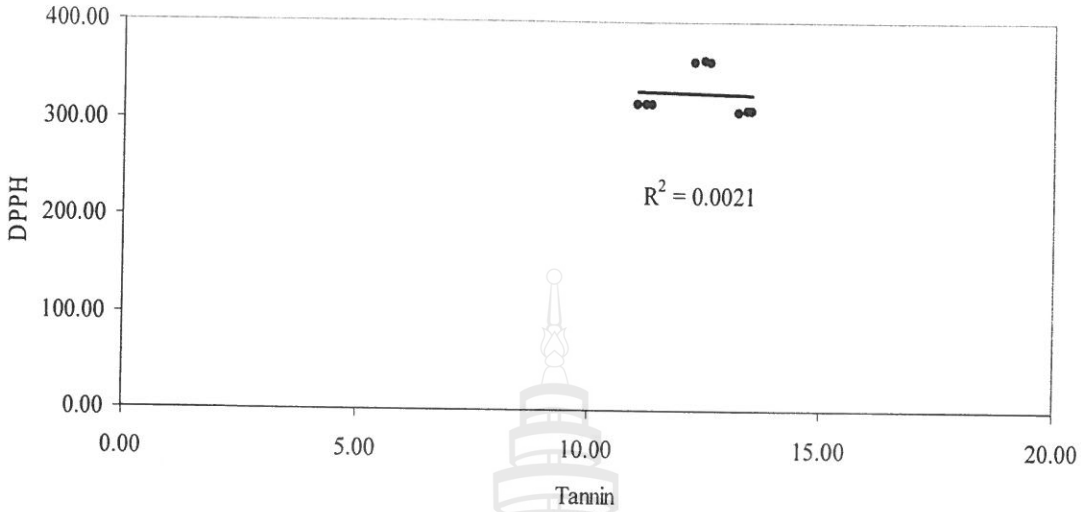
รูปที่ ก-24 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 30 °C



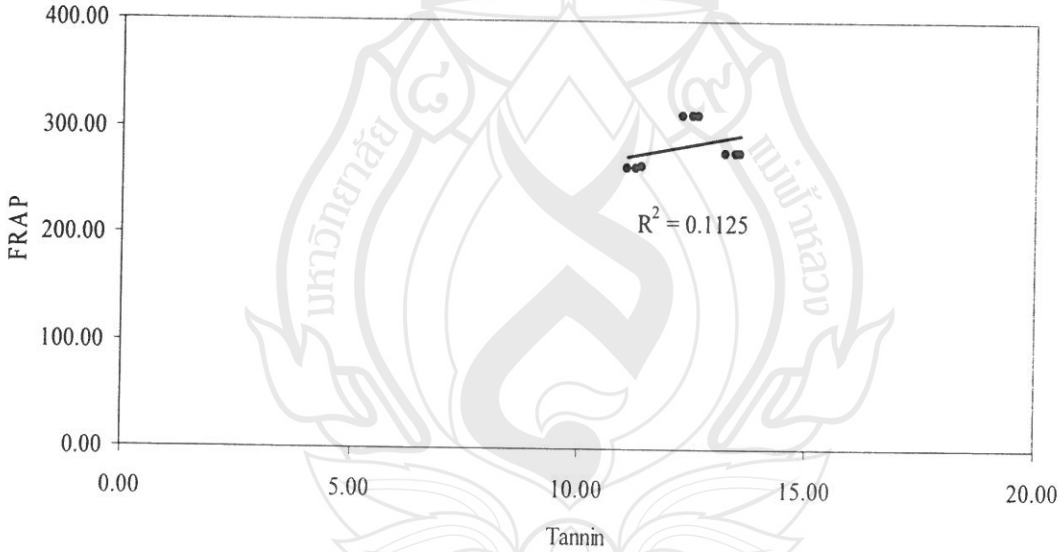
รูปที่ ก-25 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C



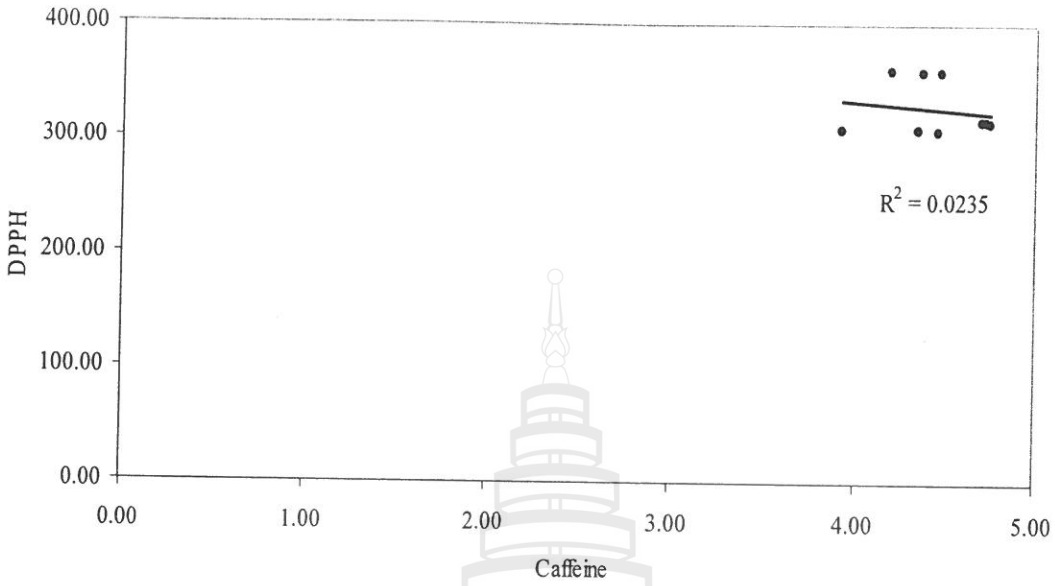
รูปที่ ก-26 ความสัมพันธ์ระหว่าง Total phenolic และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C



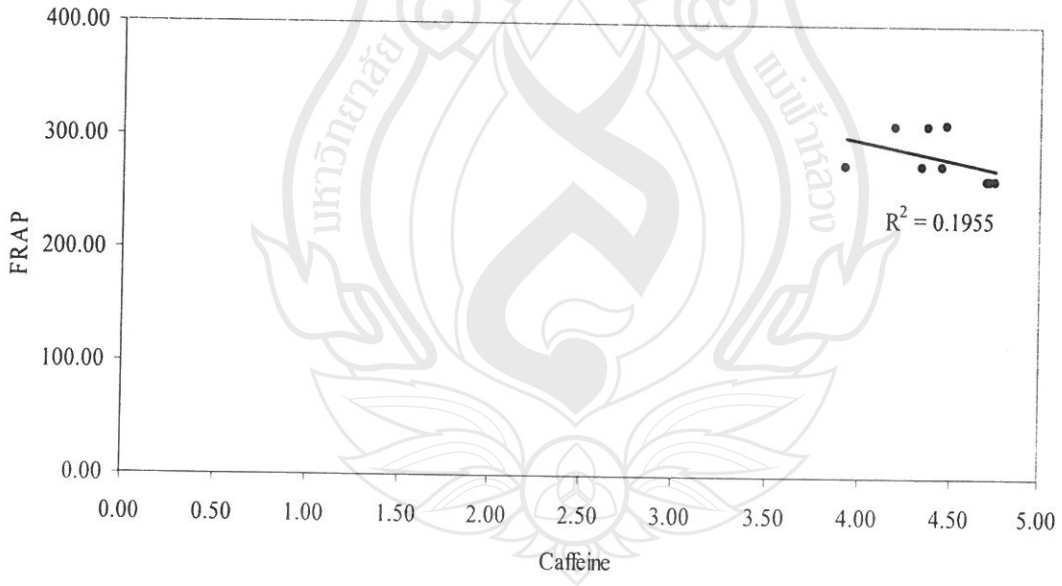
รูปที่ ก-27 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C



รูปที่ ก-28 ความสัมพันธ์ระหว่าง Tannin และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C



รูปที่ ก-29 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ DPPH value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C



รูปที่ ก-30 ความสัมพันธ์ระหว่าง Caffeine และ FRAP value ผงสารสกัดชาเขียวจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 40 °C

ภาคผนวก ข

Person information

Name: Prinya WONGSA

Date of birth: 01 March 1968

Gender: Male

Address: School of Agro-Industry, Mae Fah Luang University, Maung, Chiang Rai 57100 THAILAND

Contacts: Telephone: 053-916749, Fax: 053-916739

e-mail: prinya@mfu.ac.th

Languages: Full command in Thai and English

Academic qualifications

Post-graduate course:

- Functional food (3 ETCS), the Graduate School of Applied Bioscience-Bioengineering, Food & Nutrition, Environment, University of Helsinki
- Molecular food microbiology (6 ETCS), Department of Sciences, Faculty of Life Sciences, University of Copenhagen

MSc.(2002-2004): Food Technology – specialty in Product functionality, Wageningen University, the Netherlands

Thesis: the effect of protein charges on the interactions between proteins and polysaccharides at the air-water interface

BSc.(1986-1990): Food Science and Technology, Chiangmai University, Thailand

Specialized training

- 2006 Certificate in Green Productivity, Asian Productivity Organization, Japan
- 1995 Certificate in Quality Assurance and Marketing, International Agricultural Centre, Wageningen, the Netherlands
- 1994 Certificate in Rapid Near Infrared Analysis application , Nestle Research Centre, Switzerland

Professional background

- 2005 – Present : Lecturer at School of Agro-Industry, Mae Fah Lunag University, Thailand
- Jun.-Dec. 2003 : Research associate at Food structure group, The University of Nottingham, UK

- 1998- 2001 : Quality Assurance manager , Nestle Foods (Thailand) Ltd.
- 1991- 1997 : Quality Assurance supervisor , Nestle Foods (Thailand) Ltd.

List of presentation

Wongsa, P. and Samsi, U. 2009. Encapsulation by spray drying of phytochemical compounds from passion fruit juice. The 35th Congress on Science and Technology. October 15 -17, 2009. Chonburi, Thailand.

Wongsa, P. Rungraeng, N.and Khuanpet, A. 2010. Process and factors affecting the quality of grounded red pepper. The 3rd Technology and Innovation for Sustainable Development International Conference. March 4-6, 2010. Nong Khai, Thailand.

Wongsa, P. Rattanaporn Takeaw, Orrawan Deerod. 2010. Some phytochemical compounds and antioxidant activity of Thai pungency chili genotype during maturity stages. Food Innovation Asia conference: FIAC 010. June 17 -18, 2010. Bangkok, Thailand

Anupanpong, T. Weerapon, P. Natorn, W. and **Wongsa., P.** 20101. Effect of pre-treatment and storage temperature on quality attributes of red curry paste. Food Innovation Asia conference: FIAC 2010. June 17 -18 2010. Bangkok, Thailand

List of proceeding

Wongsa, P. and Samsi, U. 2009. Encapsulation by spray drying of phytochemical compounds from passion fruit juice. Conference proceeding the 35th Congress on Science and Technology. Chonburi, Thailand. October 15 – 17, 2009.

Wongsa, P. Rungraeng, N.and Khuanpet, A. 2010. Process and factors affecting the quality of grounded red pepper. Conference proceeding in the 3rd Technology and Innovation for Sustainable Development International Conference. Nong Khai, Thailand. March 4-6, 2010.

Wongsa, P. Rattanaporn Takeaw, Orrawan Deerod. 2010. Some phytochemical compounds and antioxidant activity of Thai pungency chili genotype during maturity stages. Conference proceeding in Food Innovation Asia conference: FIAC 010. June 17 -18, 2010. Bangkok, Thailand

Anupanpong, T. Weerapon, P. Natorn, W. and **Wongsa., P.** 20101. Effect of pre-treatment and storage temperature on quality attributes of red curry paste. Conference proceeding in Food Innovation Asia conference: FIAC 2010. June 17 -18 2010.Bangkok, Thailand

List of articles

Wongsa, P. Application of consumer-driven product design for development of passion fruit drink in Thailand: A case study. Chapter 15 from Using food science and technology to improve nutrition and promote national development. Robertson, G.L. & Lupein, J.R. (Eds). Available at http://iufost.org/selected-case -studies.

Wongsa,P., Chaiwarit, C. and Zamaluddien, A. In vitro screening of phenolic compounds, potential inhibition against α-amlyase and α-glucosidase of culinary herbs in Thailand. Accepted published on Food Chemistry on 23 September 2011.