



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และการออกฤทธิ์ทาง
ชีวภาพของปัญญาจันทร์ (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)
ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร

โดย นางสาวสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น

มิถุนายน 2556

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ: ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และการออกฤทธิ์ทาง
ชีวภาพของปัญจชันท์ (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino)
ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร

ผู้วิจัย

นางสาวสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น

สังกัด

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
และมหาวิทยาลัยมหาสารคาม

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5480042

ชื่อโครงการ : ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ

ปัญจชันธิในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร

ชื่อนักวิจัย : นางสาวสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

อีเมลล์ : Sudathip4@hotmail.com, Sudathip4@yahoo.com

ระยะเวลาโครงการ : 2 ปี

บทคัดย่อ :

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี (ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH-radical scavenging activity) และฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (ferric reducing antioxidative potential) ของปัญจชันธิ (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพรและเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการแปรรูปเครื่องดื่มซึ่งแบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ การเตรียมใบชา การสกัดด้วยน้ำ และการปรุงแต่งรสชาติของเครื่องดื่มจากผลการศึกษาพบว่าทุกขั้นตอนของการแปรรูปเครื่องดื่มมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในขั้นตอนของการเตรียมใบชา การตากแดดและการคั่วมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ปริมาณซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธิมีปริมาณลดลงในขณะที่ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นสำหรับการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธิในขั้นตอนของการสกัดและการปรุงแต่งรสชาตินั้นใช้การวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) โดยในขั้นตอนของการสกัดมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัด (X_1) (50-90°C) เวลาในการสกัด (X_2) (5-55 นาที) และสัดส่วนใบชาปัญจชันธิ : น้ำ (X_3) (0.32-3.68% w/v) จากผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิและสัดส่วนใบชาปัญจชันธิ : น้ำที่ใช้ในการสกัดน้ำชาที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำชาที่ได้ สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำชาปัญจชันธิ คือ สกัดที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้เวลาในการสกัด 25 นาที และสัดส่วนของใบชา : น้ำที่ใช้ในการสกัดคือ 3% w/v ส่วนขั้นตอนของการปรุงแต่งรสชาตินั้นมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ กรดซิตริก (0.02-0.30 % w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส (0-1.5 % w/v) และน้ำผึ้ง (0-10 % w/v) การเติมสารปรุงแต่งลงไปเครื่องดื่มทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเครื่องดื่มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกลับลดลง ปริมาณสารปรุงแต่งที่มีความเหมาะสมสำหรับผลิตเครื่องดื่มชาปัญจชันธิ คือ กรดซิตริก 0.15 % (w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส 2.14 % (w/v) และน้ำผึ้ง 10% (w/v)

คำหลัก : ปัญจชันธิซาโปนินการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเครื่องดื่มสมุนไพร

Abstract

Project Code :MRG5480042

Project Title :The Factors Affected Chemical Composition, Saponin Content and Biological Activity in *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino during Process of Herbal Tea Beverage

Investigator :Miss Sudathip Inchuen, Mahasarakham University

E-mail Address :Sudathip4@hotmail.com, Sudathip4@yahoo.com

Project Period :2 years

Abstract:

The objectives of this research were to investigate processing factors that affected on chemical compositions (total sugar, reducing sugar, total phenolic, total flavonoid and total saponin contents) and biological activities (DPPH-radical scavenging activity and ferric reducing antioxidative potential) in Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) during process of herbal tea beverage as well as to determine the optimum condition for the process. Three steps of the beverage process namely Panjakan tea preparation, extraction and formulation were studied. All steps of the process had significant changes on chemical composition, saponin content and biological activity ($p < 0.05$). The contents of reducing sugar, total flavonoid, total saponin and biological activity were decreased while total sugar and total phenolic contents were increased during sun-drying and roasting process in the tea preparation. For extraction and formulation processes, central composite design (CCD) was used to study the effect of extraction parameters and beverage formulation on responses (chemical composition and biological activity). In extraction process, three independent extraction variables namely extraction temperature (50 to 90 °C), extraction time (5 to 55 min) and tea : water ratio (0.32 to 3.68 %w/v) were studied. The results indicated that extraction temperature and tea : water ratio had significant effect on the response values. Considering the chemical composition and biological activity, the optimum conditions for extraction of Panjakan tea were extraction temperature of 90 °C, extraction time of 25 min and tea : water ratio of 3 %w/v. In formulation process, three independent formulation variables namely citric acid (0.02 to 0.30 %w/v), fructose syrup (0 to 3 %w/v) and honey (0 to 10 %w/v) were studied. Addition of food additives in beverage caused an increase of the content of total phenolic, total saponin and biological activity of the beverage while total flavonoid content was significantly decreased. The optimum beverage formulations were citric acid of 0.15 %w/v, fructose syrup of 2.14 %w/v and honey of 10 %w/v.

Keywords :*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino, Saponin, Biological activity, Herbal Tea Beverage

Executive summary

ปัญญาจันทร์ (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) เป็นพืชสมุนไพรจีนที่มีชื่อว่า เจียวกู่ หลาน และมีชื่อญี่ปุ่นว่า อมาซาซุรุ ใช้เป็นได้ทั้งอาหารและชาสมุนไพร ในปัญญาจันทร์มีสารสำคัญพวก สารประกอบฟีนอลิกฟลาโวนอยด์ และซาโปนินไกลโคไซด์ที่มีชื่อว่าจีเพ็นโนไซด์ (Gypenosides) เป็น ส่วนประกอบหลัก โดยสารสำคัญเหล่านี้มีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพจึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพทั้ง ในการป้องกันและรักษาโรคหัวใจ ไชมันในเลือดสูง ความดัน ตับอักเสบ เบาหวาน และมะเร็ง จาก คุณประโยชน์เหล่านี้จึงทำให้ปัญญาจันทร์กลายเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมในประเทศไทย และเครื่องดื่มชาสมุนไพรปัญญาจันทร์ก็เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี(ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด) ปริมาณซาโปนินทั้งหมด และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของปัญญาจันทร์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพรและหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูป เครื่องดื่ม ซึ่งได้แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 ขั้นตอนคือ การเตรียมใบชา การสกัดด้วยน้ำและการปรุงแต่งรสชาติ จากผลการศึกษาพบว่าทุกขั้นตอนของการแปรรูปเครื่องดื่มมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงปริมาณ องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในขั้นตอนของการเตรียมใบชา การตากแดดและการคั่วมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ปริมาณฟ ลาวินอยด์ทั้งหมด ปริมาณซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญญาจันทร์มี ปริมาณลดลงในขณะที่ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกลับมีปริมาณเพิ่มขึ้นสำหรับการ ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสารสำคัญและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ของปัญญาจันทร์ในขั้นตอนของการสกัดและการปรุงแต่งรสชาตินั้นใช้การวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) โดยในขั้นตอนของการสกัดมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิในการ สกัด (X_1) (50-90°C) เวลาในการสกัด (X_2) (5-55 นาที) และสัดส่วนใบชาปัญญาจันทร์ : น้ำ (X_3) (0.32- 3.68%w/v) จากผลการศึกษาพบว่าอุณหภูมิและสัดส่วนใบชาปัญญาจันทร์ : น้ำที่ใช้ในการสกัดน้ำชามีผลต่อ องค์ประกอบทางเคมีและและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำชาที่ได้ สภาวะที่ เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำชาปัญญาจันทร์ คือ สกัดที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้เวลาในการสกัด 25 นาที และสัดส่วน ของใบชา : น้ำที่ใช้ในการสกัดคือ 3%w/v ส่วนขั้นตอนของการปรุงแต่งรสชาตินั้นมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ กรดซิตริก(0.02-0.30 %w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส(0-1.5 %w/v)) และน้ำผึ้ง (0-10 %w/v) การเติม สารปรุงแต่งลงไปเครื่องดื่มทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ ทางชีวภาพในเครื่องดื่มเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดกลับลดลง ปริมาณสารปรุงแต่งที่มีความ เหมาะสมสำหรับผลิตเครื่องดื่มชาปัญญาจันทร์ คือกรดซิตริก 0.15 % (w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส 2.14 % (w/v) และน้ำผึ้ง 10% (w/v)

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสำคัญและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญญาจันทร์ มีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นมีผลโดยตรงต่อ คุณภาพและคุณประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้จึงมีประโยชน์สำหรับการ ออกแบบกระบวนการแปรรูปและควบคุมคุณภาพของเครื่องดื่มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Executive summary

Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) is a Chinese medical herb which is called “Jiaogulan” in Chinese and “Amachazura” in Japanese used as a food and herbal tea. The important active components of Panjakan are phenolic, flavonoids and saponin glycosides (called gypenosides), all of active components possess biological activity therefore which are believed to be responsible for the health-enhancing effect and has been used to prevent and treat cardiovascular disease, hyperlipidaemia, hyper tension, hepatitis, diabetes and cancer. From these benefits, Panjakan becomes a popular health food supplements in Thailand. Tea beverage from Panjakan extracts is one of the most famous kinds of Panjakan products. From this research, our objectives were to investigate processing factors that affected on chemical compositions (total sugar, reducing sugar, total phenolic, total flavonoid and total saponin contents) and biological activities (DPPH-radical scavenging activity and ferric reducing antioxidative potential) in Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) during process of herbal tea beverage as well as to determine the optimum condition for the process. Three steps of the beverage process namely Panjakan tea preparation, extraction and formulation were studied. All steps of the process had significant changes on chemical composition, saponin content and biological activity ($p < 0.05$). The contents of reducing sugar, total flavonoid, total saponin and biological activity were decreased while total sugar and total phenolic contents were increased during sun-drying and roasting process in the tea preparation. For extraction and formulation processes, central composite design (CCD) was used to study the effect of extraction parameters and beverage formulation on responses (chemical composition and biological activity). In extraction process, three independent extraction variables namely extraction temperature (50 to 90 °C), extraction time (5 to 55 min) and tea : water ratio (0.32 to 3.68 %w/v) were studied. The results indicated that extraction temperature and tea : water ratio had significant effect on the response values. Considering the chemical composition and biological activity, the optimum conditions for extraction of Panjakan tea were extraction temperature of 90 °C, extraction time of 25 min and tea : water ratio of 3 %w/v. In formulation process, three independent formulation variables namely citric acid (0.02 to 0.30 %w/v), fructose syrup (0 to 3 %w/v) and honey (0 to 10 %w/v) were studied. Addition of food additives in beverage caused an increase of the content of total phenolic, total saponin and biological activity of the beverage while total flavonoid content was significantly decreased. The optimum beverage formulations were citric acid of 0.15 %w/v, fructose syrup of 2.14 %w/v and honey of 10 %w/v. From the result of our research indicated bioactive components and their biological activities of Panjakan had significant change during beverage process which directly influences the quality and health benefits of the products. The information can be efficiently used to design the process and to control the quality of the beverage product.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.) และมหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้โอกาสในการได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศิริธร ศิริอมรพรรณ นักวิจัยที่ปรึกษา ที่ได้คอยดูแลอย่างใกล้ชิด ให้คำแนะนำที่ดี และให้กำลังใจตลอดช่วงของการทำวิจัย ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ทุกท่าน ที่คอยอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัย ขอขอบคุณนายจิรศักดิ์เฮียงเทียนนางสาวพรรณฤดี ประไวย์ นางสาวพัชรี โคนแสงรักษา นางสาวธัญพร วิริยะดำรง นายณัฐ ฉัตรชฎานุกูล นางสาววิลาวัลย์ สุขสมแดน และ นางสาวปัญญา ซาลีนิสิตสาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร ที่ช่วยทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และสุดท้ายต้องขอขอบคุณครอบครัวที่แสนอบอุ่นที่ให้โอกาสในการทำวิจัย คอยอยู่เคียงข้างและให้กำลังใจกันตลอดมา

สารบัญ

| | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| บทคัดย่อภาษาไทย..... | i |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... | ii |
| Executive summary ภาษาไทย..... | iii |
| Executive summary ภาษาอังกฤษ..... | iv |
| กิตติกรรมประกาศ..... | v |
| สารบัญ..... | vi |
| สารบัญรูป..... | vii |
| สารบัญตาราง..... | ix |
| วัตถุประสงค์..... | 1 |
| วิธีการทดลอง..... | 1 |
| ผลการทดลอง..... | 6 |
| 1. องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธุ์..... | 6 |
| 2. ผลของการเตรียมใบชาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธุ์..... | 6 |
| 3. ผลของสภาวะที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำจากใบชาปัญจชันธุ์..... | 19 |
| 4. ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของส่วนผสมที่ใช้ในการปรุงแต่งรสชาติ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ..... | 32 |
| สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะงานวิจัยในอนาคต..... | 43 |
| เอกสารอ้างอิง..... | 46 |
| ภาคผนวก : Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุน..... | 47 |

สารบัญตาราง

| | หน้า |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 1 ค่าระดับปัจจัยในการศึกษาสภาวะของการสกัดทั้ง 3 ปัจจัย($\alpha = 1.681$)..... | 2 |
| ตารางที่ 2 ค่า Code level และ Actual value ของสภาวะในการสกัดโดยออกแบบการทดลองแบบ CCD..... | 3 |
| ตารางที่ 3 ค่าระดับปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาของสารปรุงแต่งรสชาติทั้ง 3 ปัจจัย ($\alpha = 1.681$)..... | 4 |
| ตารางที่ 4 Code level และ Actual value ของสารปรุงแต่งรสชาติโดยออกแบบการทดลองแบบ CCD..... | 4 |
| ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของลำต้นและใบปัญญาจันทร์..... | 6 |
| ตารางที่ 6 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปัญญาจันทร์..... | 8 |
| ตารางที่ 7 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปัญญาจันทร์..... | 8 |
| ตารางที่ 8 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปัญญาจันทร์..... | 9 |
| ตารางที่ 9 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปัญญาจันทร์..... | 9 |
| ตารางที่ 10 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปัญญาจันทร์..... | 11 |
| ตารางที่ 11 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปัญญาจันทร์..... | 11 |
| ตารางที่ 12 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปัญญาจันทร์..... | 12 |
| ตารางที่ 13 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปัญญาจันทร์..... | 12 |
| ตารางที่ 14 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดของใบปัญญาจันทร์..... | 14 |
| ตารางที่ 15 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดของใบปัญญาจันทร์..... | 15 |
| ตารางที่ 16 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดของใบปัญญาจันทร์..... | 15 |
| ตารางที่ 17 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดของใบปัญญาจันทร์..... | 16 |
| ตารางที่ 18 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity (DPPH) และวิธี Ferric reducing antioxidative potential (FRAP) ของใบปัญญาจันทร์..... | 17 |
| ตารางที่ 19 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity และวิธี Ferric reducing antioxidative potential ของใบปัญญาจันทร์..... | 18 |
| ตารางที่ 20 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity และวิธี Ferric reducing antioxidative potential ของใบปัญญาจันทร์..... | 18 |
| ตารางที่ 21 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity และวิธี Ferric reducing antioxidative potential ของใบปัญญาจันทร์..... | 19 |

สารบัญตาราง(ต่อ)

| | หน้า |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| ตารางที่ 22 ผลของสภาวะในการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโปนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำชาปัญญาชั้น..... | 19 |
| ตารางที่ 23 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโปนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปัญญาชั้นเมื่อทำการสกัดในสภาวะต่างๆ. | 20 |
| ตารางที่ 24 ผลของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโปนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปัญญาชั้น..... | 24 |
| ตารางที่ 25 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโปนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปัญญาชั้นที่สกัดได้เมื่อทำการสกัดในสภาวะต่างๆ..... | 25 |
| ตารางที่ 26 ผลของสภาวะในการสกัดต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ของน้ำชาปัญญาชั้น..... | 27 |
| ตารางที่ 27 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ของน้ำชาปัญญาชั้นที่สกัดในสภาวะต่างๆ..... | 28 |
| ตารางที่ 28 ผลของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ของน้ำชาปัญญาชั้น..... | 29 |
| ตารางที่ 29 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และการรีดิวซ์เฟอริก ของน้ำชาปัญญาชั้น..... | 30 |
| ตารางที่ 30 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH ของเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น.... | 33 |
| ตารางที่ 31 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ และค่า pH ในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น | 33 |
| ตารางที่ 32 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และชาโปนินทั้งหมด ในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น..... | 35 |
| ตารางที่ 33 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและชาโปนินทั้งหมด ในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น..... | 37 |
| ตารางที่ 34 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น..... | 40 |
| ตารางที่ 35 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น..... | 41 |

สารบัญรูป (ต่อ)

| | หน้า |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| รูปที่ 25 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)..... | 38 |
| รูปที่ 26 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของน้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณซาโปนินทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของกรดซิตริก ($X_1=0.16\%w/v$)..... | 39 |
| รูปที่ 27 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณสารซาโปนินทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)..... | 39 |
| รูปที่ 28 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง ($X_3=5\%w/v$)..... | 42 |

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหาปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี และความคงตัวของซาโปนินในปัญจชันธิ์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร
2. เพื่อศึกษาหาปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธิ์ในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร
3. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพร

วิธีการทดลอง

1. ศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปัญจชันธิ์

โดยนำตัวอย่างปัญจชันธิ์ที่ใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตชาในส่วนที่เป็นใบและลำต้นมาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

- วิเคราะห์หาปริมาณความชื้นตามวิธี AOAC (1990)
- วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดตามวิธีในรายงานของ ญัฐวิ สิทธิไกร (2550)
- วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (Total phenolic content) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) และปริมาณซาโปนินทั้งหมด (Total saponin content) ตามวิธีในรายงานของ Xie et al. (2011)

● การทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity) และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก (Ferric reducing antioxidative potential, FRAP) ตามวิธีในรายงานของ Chan et al. (2009)

การสกัดสารเพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นจะใช้ Absolute ethanol ในการสกัด โดยใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ปั่นที่ความเร็วรอบ 120 rpm ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที หลังจากนั้นทำการเขย่าต่อด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แยกเอาส่วนที่ใสออกโดยการปั่นเหวี่ยง เก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะทำการวิเคราะห์

2. ศึกษาผลของการเตรียมใบชาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปัญจชันธิ์

ในขั้นตอนการเตรียมใบชาประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ การตากแดดและการคั่ว

2.1 ขั้นตอนการตากแดด ทำการศึกษาผลของระยะเวลาในการตากแดดที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญจชันธิ์เช่นเดียวกับข้อ 1

2.2 ขั้นตอนในการคั่ว ทำการศึกษาผลของระยะเวลาในการคั่วที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นเดียวกับขั้นตอนการตากแดด

3.ศึกษาผลของสภาวะในการสกัดใบชาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและ ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำจากใบปัญจชันธุ์

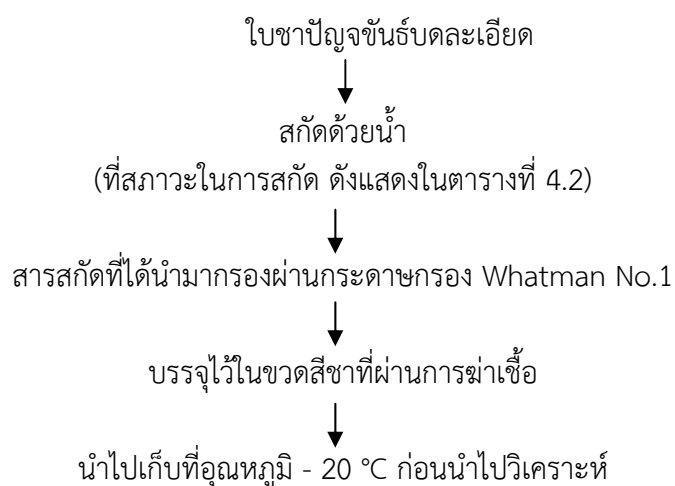
3.1 การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) แสดงในตารางที่1 และ 2 โดยมีปัจจัย ที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัดน้ำจากปัญจชันธุ์(X_1) (50-90°C) เวลาในการสกัดน้ำ จากปัญจชันธุ์ (X_2) (5-55นาท) และสัดส่วนใบชาปัญจชันธุ์ : น้ำ (X_3) (0.32-3.68%w/v) มีค่าตอบสนองคือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซ์ และความสามารถในการออกฤทธิ์ ทางชีวภาพที่ประกอบอยู่ในสารสกัดน้ำชาที่ได้ และความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซ์ และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำชาที่สกัดได้ ทำ การทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์การถดถอย(Regression analysis) และหาแบบจำลองของความสัมพันธ์ของปัจจัย ที่ศึกษากับค่าตอบสนองต่างๆโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-expert 7 นำแบบจำลองที่สามารถนำมาใช้ใ นการอธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษาต่อค่าตอบสนองที่ได้มาวาดภาพพื้นผิวการตอบสนองด้วยโปรแกรม สำเร็จรูป STATISTICA Module Switch

ตารางที่ 1 ค่าระดับปัจจัยในการศึกษาสภาวะของการสกัดทั้ง 3 ปัจจัย($\alpha = 1.681$)

| Factors | Symbol | Code level | | | | |
|-------------------------|--------|------------|----|----|----|-----------|
| | | $-\alpha$ | -1 | 0 | +1 | $+\alpha$ |
| Temperature (°C) | X_1 | 50 | 58 | 70 | 82 | 90 |
| Time (min) | X_2 | 5 | 15 | 30 | 45 | 55 |
| Tea : water ratio(%w/v) | X_3 | 0.32 | 1 | 2 | 3 | 3.68 |

3.2 การสกัดน้ำชา



ตารางที่ 2 ค่า Code level และ Actual value ของสภาวะในการสกัดโดยออกแบบการทดลองแบบ CCD

| Run no. | X ₁ | X ₂ | X ₃ | Code level | | |
|---------|----------------|----------------|----------------|------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| | | | | X ₁ Temperature (°C) | X ₂ Time (min) | X ₃ Sample (%w/v) |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 58 | 15 | 1 |
| 2 | -1 | -1 | +1 | 58 | 15 | 3 |
| 3 | -1 | +1 | -1 | 58 | 45 | 1 |
| 4 | -1 | +1 | +1 | 58 | 45 | 3 |
| 5 | +1 | -1 | -1 | 82 | 15 | 1 |
| 6 | +1 | -1 | +1 | 82 | 15 | 3 |
| 7 | +1 | +1 | -1 | 82 | 45 | 1 |
| 8 | +1 | +1 | +1 | 82 | 45 | 3 |
| 9 | -1.68 | 0 | 0 | 50 | 30 | 2 |
| 10 | 1.68 | 0 | 0 | 90 | 30 | 2 |
| 11 | 0 | -1.68 | 0 | 70 | 5 | 2 |
| 12 | 0 | 1.68 | 0 | 70 | 55 | 2 |
| 13 | 0 | 0 | -1.68 | 70 | 30 | 0.32 |
| 14 | 0 | 0 | +1.68 | 70 | 30 | 3.68 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 70 | 30 | 2 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 70 | 30 | 2 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 70 | 30 | 2 |

4.ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของส่วนผสมที่ใช้ในการปรุงแต่งรสชาติที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) แสดงในตารางที่ 3 และ 4 โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษา 3 ปัจจัยได้แก่ ความเข้มข้นของกรดซิตริก (X₁) (0.02-0.30%w/v) ความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุทโทส (X₂) (0-3%w/v) และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (X₃) (0-10%w/v) ค่าตอบสนองที่ต้องการได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซ์ และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ประกอบอยู่ในสารสกัดน้ำชาที่ได้ และความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดซาโปนินทั้งหมด น้ำตาลรีดิวิซ์ และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำชาที่สกัดได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์การถดถอยและหาแบบจำลองของความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ศึกษากับค่าตอบสนองต่างๆโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-expert 7 นำแบบจำลองที่สามารถนำมาใช้ในการอธิบายความสัมพันธ์

ของปัจจัยที่ศึกษาต่อค่าตอบสนองที่ได้มาวาดภาพพื้นผิวการตอบสนองด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป STATISTICA
Module Switch

ตารางที่ 3 ค่าระดับปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาของสารปรุงแต่งรสชาติทั้ง 3 ปัจจัย ($\alpha=1.681$)

| Factors | Symbol | Code level | | | | |
|-----------------------|--------|------------|------|------|------|-----------|
| | | $-\alpha$ | -1 | 0 | +1 | $+\alpha$ |
| Citric acid (%w/v) | X_1 | 0.02 | 0.08 | 0.16 | 0.24 | 0.3 |
| Fructose syrup (%w/v) | X_2 | 0 | 0.6 | 1.5 | 2.4 | 3 |
| Honey (%w/v) | X_3 | 0 | 2 | 5 | 8 | 10 |

ตารางที่ 4. Code level และ Actual value ของสารปรุงแต่งรสชาติโดยออกแบบการทดลองแบบ CCD

| Run no. | Code level | | | Actual Value | | |
|---------|------------|--------|--------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| | X_1 | X_2 | X_3 | X_1 Citric acid (%w/v) | X_2 Fructose syrup (%w/v) | X_3 Honey (%w/v) |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 0.08 | 0.6 | 2 |
| 2 | -1 | -1 | 1 | 0.08 | 0.6 | 8 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 0.08 | 2.4 | 2 |
| 4 | -1 | 1 | 1 | 0.08 | 2.4 | 8 |
| 5 | 1 | -1 | -1 | 0.24 | 0.6 | 2 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 0.24 | 0.6 | 8 |
| 7 | 1 | 1 | -1 | 0.24 | 2.4 | 2 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 0.24 | 2.4 | 8 |
| 9 | -1.681 | 0 | 0 | 0.02 | 1.5 | 5 |
| 10 | 1.681 | 0 | 0 | 0.3 | 1.5 | 5 |
| 11 | 0 | -1.681 | 0 | 0.16 | 0 | 5 |
| 12 | 0 | 1.681 | 0 | 0.16 | 3 | 5 |
| 13 | 0 | 0 | -1.681 | 0.16 | 1.5 | 0 |
| 14 | 0 | 0 | 1.681 | 0.16 | 1.5 | 10 |
| 15 | 0 | 0 | 0 | 0.16 | 1.5 | 5 |
| 16 | 0 | 0 | 0 | 0.16 | 1.5 | 5 |
| 17 | 0 | 0 | 0 | 0.16 | 1.5 | 5 |

4.2 การทำเครื่องดื่ม

นำใบชามาทำการสกัดในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3 แล้วมาผสมกับกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุทโตส และน้ำผึ้ง ในอัตราส่วนที่แตกต่างกันตามตารางที่ 4 (ปริมาณการเติมของสารปรุงแต่งในระดับต่าง ๆ นั้นได้ข้อมูลจากการทำการศึกษายอมรับของผู้บริโภคในขั้นต้นว่าเป็นช่วงที่ผู้บริโภคยอมรับ) นำน้ำชาที่มีการเติมสารปรุงแต่งและมีการผสมให้เข้ากันแล้วนำมาต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที บรรจุลงขวดสีชาแล้วทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า (ชมพูนุช เพื่อนพิภพ, 2554) เก็บตัวอย่างที่ -20 องศาเซลเซียสก่อนนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินทั้งหมด และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญญาจันทร์

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบทางเคมี และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของลำต้นและใบปัญญาจันทร์

| Chemical composition | ใบ | ลำต้น |
|------------------------------------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|
| ●Moisture content (% wb.) | 88.699±0.071 ^a | 86.944±0.060 ^b |
| ●Total sugar content (mg Glucose equivalent/g dry matter) | 59.445±0.580 ^a | 33.876±0.412 ^b |
| ●Reducing sugar content (mg Glucose equivalent/g dry matter) | 1.333±0.010 ^a | 0.966±0.009 ^b |
| ●Total phenolic content (mg Gallic acid equivalent/g dry matter) | 14.754±0.356 ^a | 4.298±0.182 ^b |
| ●Total flavonoid content (mg Rutin equivalent/g dry matter) | 52.869±0.041 ^a | 17.334±0.025 ^b |
| ●Total saponin content (mg Gypenoside equivalent/g dry matter) | 3.130±0.003 ^a | 1.030±0.001 ^b |
| Antioxidant activity | | |
| ●DPPH-radical scavenging activity (mg Trolox equivalent/g dry matter) | 17.536±0.012 ^a | 3.548±0.006 ^b |
| ●Ferric reducing antioxidative potential (mg Trolox equivalent/g dry matter) | 27.449±0.007 ^a | 4.668±0.004 ^b |

^{a,b} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)

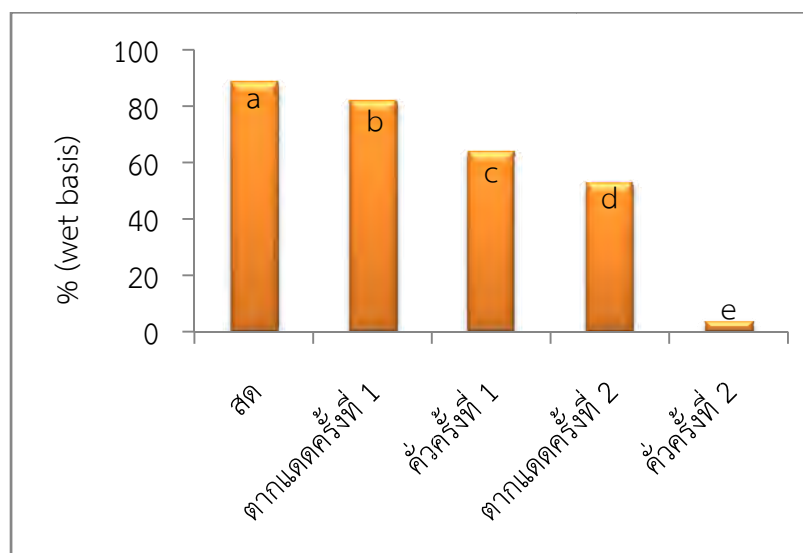
วัตถุดิบที่ใช้สำหรับการผลิตชาสมุนไพรปัญญาจันทร์นั้นสามารถแยกออกได้ 2 แบบคือส่วนที่เป็นใบล้วน และส่วนที่เป็นลำต้น เมื่อนำใบและลำต้นปัญญาจันทร์มาวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพผลแสดงในตารางที่ 5 พบว่าปัญญาจันทร์ในส่วนที่เป็นใบมีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณซาโปนินทั้งหมด สูงกว่าส่วนที่เป็นลำต้น เนื่องจากในส่วนของใบมีปริมาณสารสำคัญสูงกว่าจึงส่งผลให้ใบมีความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าในลำต้นเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH-radical scavenging activity และ Ferric reducing antioxidative potential โดยวิธีแรกนั้นจะทดสอบความสามารถของสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในปัญญาจันทร์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในขณะที่วิธีที่สองใช้ทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกจากผลขององค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพแสดงให้เห็นว่าปัญญาจันทร์ในส่วนของใบมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตชามากกว่าลำต้น ดังนั้นจึงนำใบปัญญาจันทร์มาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตชาในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. ผลของการเตรียมใบชาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของปัญญาจันทร์

การแปรรูปชาปัญญาจันทร์มีขั้นตอนใหญ่ๆ 4 ขั้นตอนคือการตากแดดครั้งที่ 1 ใช้เวลา 120 นาที การคั่วครั้งที่ 1 ใช้เวลา 20 นาที การตากแดดครั้งที่ 2 ใช้เวลา 60 นาที และการคั่วครั้งที่ 2 ใช้เวลา 10 นาที ซึ่งทั้งกระบวนการใช้ระยะเวลาทั้งหมด 310 นาที ขั้นตอนในการเตรียมใบชานอกจากจะเป็นการลดความชื้นและค่า a_w ของใบปัญญาจันทร์จาก 88.699 % และ 0.998 ให้เหลือ 3.937% และ 0.368 ทำให้สามารถเก็บใบชาไว้ได้

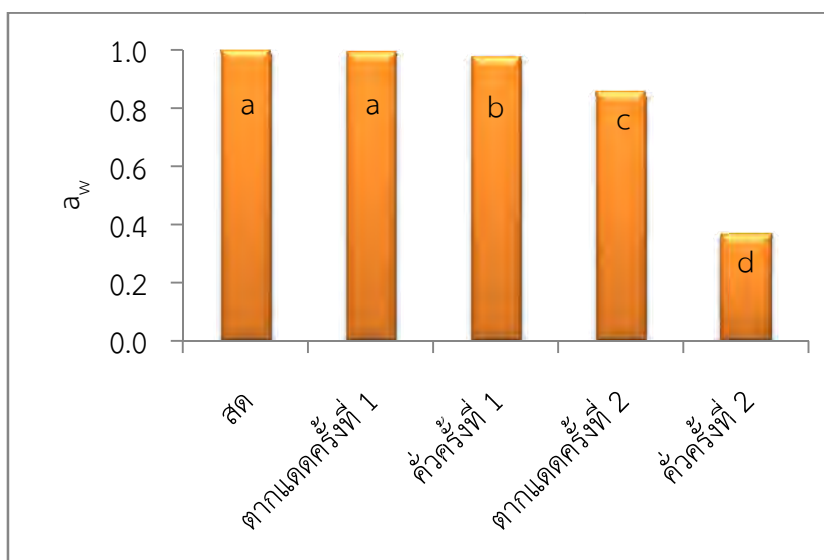
นานขึ้นและลดพื้นที่ในการเก็บแล้ว การตากแดดและการคั่วยังส่งผลต่อสี กลิ่น และรสชาติของใบชาที่ได้ และยังทำให้องค์ประกอบทางเคมีในใบชาเกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นด้วยการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในแต่ละขั้นตอนก็จะแตกต่างกันไปดังนี้

2.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่าWater activity(a_w)



รูปที่ 1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปญจชั้น

a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 2 การเปลี่ยนแปลงค่า a_w ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปญจชั้น

a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากรูปที่ 1 และ 2 แสดงปริมาณความชื้นและค่า a_w ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตซาปิญจันซ์พบว่าในแต่ละขั้นตอนของการผลิตซาปิญจันซ์มีผลต่อปริมาณความชื้นและ ค่า a_w อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปริมาณความชื้นของซาปิญจันซ์เมื่อผ่านกระบวนการตากแดดครั้งที่ 1 คั่วครั้งที่ 1 และตากแดดครั้งที่ 2 จะมีปริมาณลดลงเพียง 40.30 % และปริมาณความชื้นจะลดลงอย่างมาก 95.52% หลังผ่านกระบวนการคั่วครั้งที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับซาปิญจันซ์สด

ในขณะที่ค่า a_w นั้น ไบปิญจันซ์เมื่อผ่านขั้นตอนการตากแดดครั้งที่ 1 ค่า a_w ลดลงเพียงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเริ่มต้น และเมื่อผ่านขั้นตอนการคั่วครั้งที่ 1 การตากแดดครั้งที่ 2 และการคั่วครั้งที่ 2 แล้วนั้น ค่า a_w จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าขั้นตอนในการคั่วมีผลต่อการลดลงของปริมาณความชื้นและค่า a_w มากกว่าขั้นตอนการตากแดด ทั้งนี้เนื่องจากความร้อนที่ไบปิญจันซ์ได้รับในระหว่างการคั่ว มีค่ามากกว่าความร้อนที่ไบปิญจันซ์ได้รับในขั้นตอนการตากแดดถึงแม้ว่าการคั่วจะใช้ระยะเวลาสั้นกว่าก็ตามมีผลทำให้อัตราการระเหยน้ำออกจากไบปิญจันซ์ในขั้นตอนการคั่วสูงกว่า ส่งผลให้ปริมาณความชื้นและค่า a_w ลดลงมากกว่า

ตารางที่ 6 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของไบปิญจันซ์

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ(°C) | ความชื้น (% wb.) | a_w |
|-------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| 0 | 24.13±0.06 | 88.699±0.071 ^a | 0.998±0.001 ^a |
| 30 | 24.30±0.20 | 87.585±0.295 ^b | 0.998±0.001 ^a |
| 60 | 24.07±0.06 | 86.525±0.212 ^c | 0.997±0.001 ^a |
| 90 | 27.27±1.03 | 83.690±0.408 ^d | 0.995±0.001 ^b |
| 120 | 32.62±0.57 | 81.846±0.012 ^e | 0.993±0.001 ^c |

^{a,b,c...} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 6 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่า a_w ของไบปิญจันซ์พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตากแดดเพิ่มขึ้นปริมาณความชื้นและค่า a_w ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปริมาณความชื้นและค่า a_w เริ่มต้นเท่ากับ 88.699 % และ 0.998 ตามลำดับ หลังจากการทำแห้งด้วยการตากแดดแล้วมีความชื้น และ ค่า a_w ลดลงเหลือ 81.846% และ 0.993 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของไบปิญจันซ์

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ(°C) | ความชื้น (% wb.) | a_w |
|-------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| 0 | 32.62±0.57 | 81.846±0.012 ^a | 0.993±0.001 ^a |
| 5 | 72.43±0.90 | 80.990±0.530 ^b | 0.989±0.001 ^b |
| 10 | 80.35±5.61 | 77.411±0.194 ^c | 0.987±0.000 ^c |
| 15 | 81.83±4.46 | 70.356±1.143 ^d | 0.982±0.000 ^d |
| 20 | 82.00±6.37 | 63.807±1.028 ^e | 0.977±0.002 ^e |

^{a,b,c...} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 7 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่า a_w ของไบปิญจันซ์เมื่อผ่านขั้นตอนการคั่ว 20 นาที อุณหภูมิของซาปิญจันซ์เพิ่มขึ้นเป็น 72.43 °C เมื่อคั่ว 5 นาที

และอุณหภูมิจะเพิ่มเป็น 80.25 , 81.83 และ 82°C เมื่อคั่วนาน 10, 15 และ 20 นาที ตามลำดับ ในระหว่างการคั่วพบว่าปริมาณความชื้นและค่า a_w ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จาก 81.846 % เป็น 63.807% (wet basis) และ 0.993เป็น 0.977ตามลำดับ

ตารางที่ 8 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปญจชันธุ์

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ(°C) | ความชื้น (% wb.) | a_w |
|-------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| 0 | 82.00±6.37 | 63.807±1.028 ^a | 0.977±0.002 ^a |
| 30 | 30.00±2.00 | 58.384±0.530 ^b | 0.930±0.002 ^b |
| 60 | 26.33±1.53 | 52.952±0.194 ^c | 0.858±0.001 ^c |

^{a,b,c}: ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%($p<0.05$)

จากตารางที่ 8 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่า a_w ของใบปญจชันธุ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตากแดดเพิ่มขึ้นปริมาณความชื้นและค่า a_w ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หลังจากการตากแดดครั้งที่ 2 แล้วมีความชื้น และ a_w ลดลงเหลือ 52.952 % และ 0.858 ตามลำดับ

ตารางที่ 9 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้น และค่า a_w ของใบปญจชันธุ์

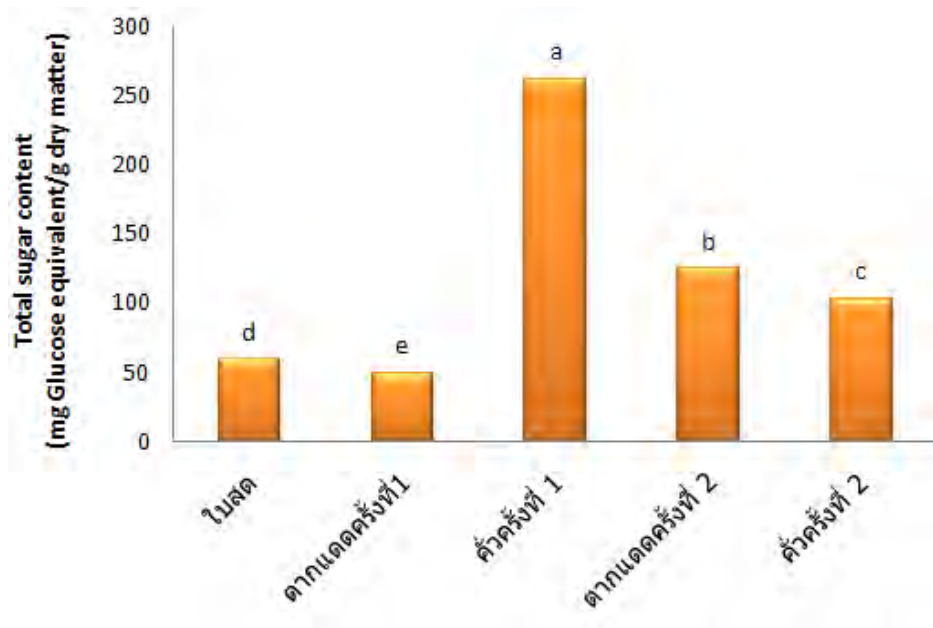
| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ(°C) | ความชื้น (% wb.) | a_w |
|-------------|--------------|---------------------------|--------------------------|
| 0 | 26.33±1.53 | 52.952±0.194 ^a | 0.858±0.001 ^a |
| 5 | 77.96±7.89 | 33.489±1.143 ^b | 0.668±0.000 ^b |
| 10 | 92.25±3.99 | 3.937±1.028 ^c | 0.368±0.002 ^c |

^{a,b,c}: ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%($p<0.05$)

จากตารางที่ 9 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณความชื้นและค่า a_w ของใบปญจชันธุ์เมื่อผ่านขั้นตอนการคั่ว 5 นาทีและ 10 นาที มีอุณหภูมิ 77.96°C และ 92.25°C พบว่าปริมาณความชื้นและค่า a_w ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จาก 52.952 % เป็น 3.970% และ 0.858 เป็น 0.368 ตามลำดับ

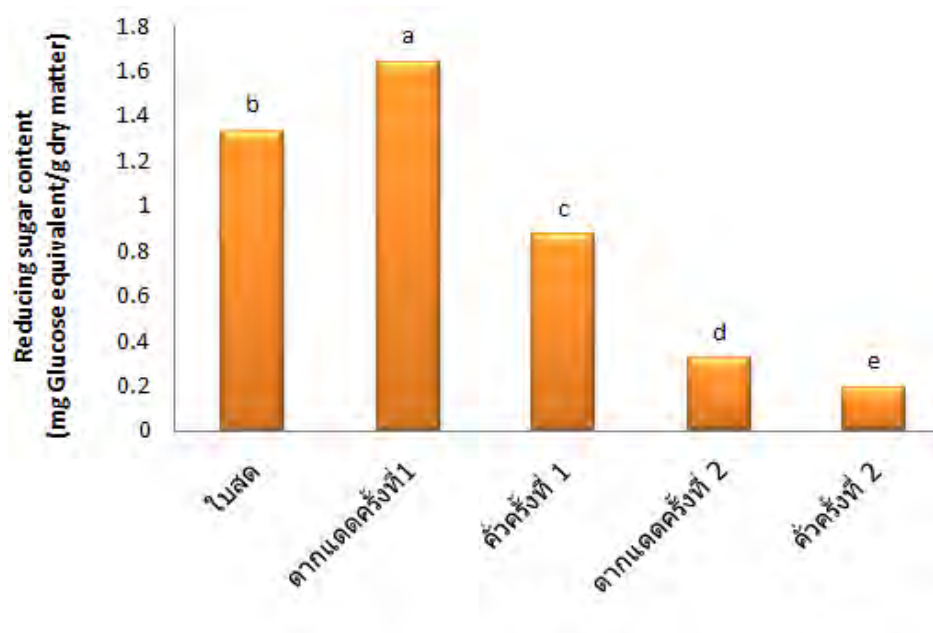
2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

จากรูปที่ 3 และ 4แสดงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตชาปญจชันธุ์ พบว่าการตากแดดครั้งที่ 1 ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงและจะเพิ่มขึ้นมากเมื่อผ่านการคั่วครั้งที่ 1และจะลดลงไปเรื่อยๆหลังจากผ่านการตากแดดครั้งที่ 2 และการคั่วครั้งที่ 2 ในขณะที่การตากแดดครั้งที่ 1 ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับใบสดและจะลดลงเรื่อยๆเมื่อผ่านการคั่วครั้งที่ 1 การตากแดดครั้งที่ 2 และการคั่วครั้งที่ 2



รูปที่ 3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาจันทร์

a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลรีดิวซิงในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาจันทร์

a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ตารางที่ 10 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar content) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar content) ของใบปญฺจชันธ์

| เวลา (นาทึ) | อุณหภูมิ (°C) | Total sugar content (mg Glucose/g dry matter) | Reducing sugar content (mg Glucose/g dry matter) |
|----------------|------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 0 | 24.13±0.06 | 59.445±0.580 ^b | 1.333±0.010 ^b |
| 30 | 24.30±0.20 | 63.698±0.270 ^a | 1.244±0.009 ^c |
| 60 | 24.07±0.06 | 59.125±0.089 ^b | 1.145±0.001 ^d |
| 90 | 27.27±1.03 | 50.125±0.089 ^c | 1.037±0.001 ^e |
| 120 | 32.62±0.57 | 49.588±0.094 ^d | 1.638±0.006 ^a |

a,b,c... ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 10 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปญฺจชันธ์พบว่าเมื่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อกตากแดดนาน 30 นาทึ จาก 54.445 เป็น 63.698 mg Glucose equivalent/g dry matter และเมื่อกตากแดดนานขึ้นปริมาณน้ำตาลกลับลดลงจนเหลือ 49.588 mg Glucose equivalent/g dry matter เมื่อกตากแดดนาน 120 นาทึ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่าในช่วงการตากแดด 90 นาทึ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานขึ้น โดยมีปริมาณเริ่มต้นจาก 1.33 เป็น 1.037 Glucose equivalent/g dry matter และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จะเพิ่มขึ้นเป็น 1.638 mg Glucose equivalent/g dry matter เมื่อกตากแดดนาน 120 นาทึ

ตารางที่ 11 ผลของการคว้ครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด(Total sugar content) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar content) ของใบปญฺจชันธ์

| เวลา (นาทึ) | อุณหภูมิ (°C) | Total sugar content (mg Glucose/g dry matter) | Reducing sugar content (mg Glucose/g dry matter) |
|----------------|------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 0 | 32.62±0.57 | 49.588±0.094 ^e | 1.638±0.006 ^a |
| 5 | 72.43±0.90 | 155.594±1.893 ^d | 1.188±0.125 ^b |
| 10 | 80.35±5.61 | 172.910±0.198 ^c | 1.337±0.103 ^b |
| 15 | 81.83±4.46 | 189.999±1.318 ^b | 0.989±0.076 ^c |
| 20 | 82.00±6.37 | 261.806±0.929 ^a | 0.874±0.072 ^c |

a,b,c... ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 11 แสดงผลของการคว้ครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปญฺจชันธ์เมื่อระยะเวลาในการคว้นานขึ้นน้ำตาลทั้งหมดมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยมีปริมาณเริ่มต้นจาก 49.588 เป็น 261.806 mg Glucose equivalent/g dry matter ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อระยะเวลาในการคว้ลดลงจาก 1.638เป็น 0.847 mg Glucose equivalent/g dry matter

ตารางที่ 12 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด(Total sugar content)และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar content)ของใบปญจชันธุ์

| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | Total sugar content (mg Glucose/g dry matter) | Reducing sugar content (mg Glucose/g dry matter) |
|---------------|------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 0 | 82.00±6.37 | 261.806±0.929 ^a | 0.874±0.072 ^a |
| 30 | 30.00±2.00 | 127.822±0.648 ^b | 0.336±0.006 ^b |
| 60 | 26.33±1.53 | 124.983±1.038 ^c | 0.321±0.002 ^c |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 12 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ของใบปญจชันธุ์ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตากแดดเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงจาก 261.806 เหลือ 124.983 mg Glucose equivalent/g dry matter ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงจาก 0.874 เหลือ 0.321 mg Glucose equivalent/g dry matter

ตารางที่ 13 ผลของการคว่ำครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมด(Total sugar content) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar content) ของใบปญจชันธุ์

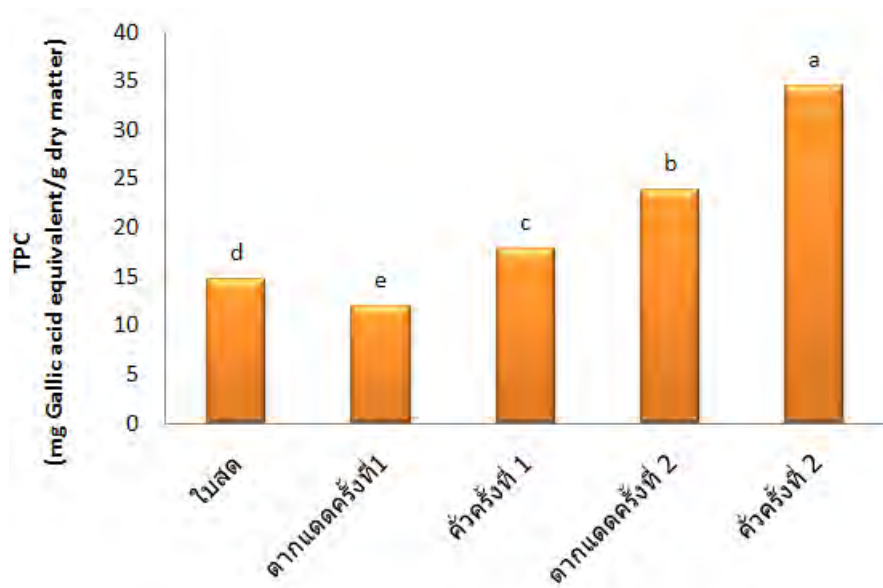
| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | Total sugar content (mg Glucose/g dry matter) | Reducing sugar content (mg Glucose/g dry matter) |
|---------------|------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| 0 | 26.33±1.53 | 124.983±1.038 ^a | 0.321±0.002 ^a |
| 5 | 77.96±7.89 | 123.048±0.465 ^b | 0.315±0.001 ^b |
| 10 | 92.25±3.99 | 103.086±0.742 ^c | 0.193±0.002 ^c |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

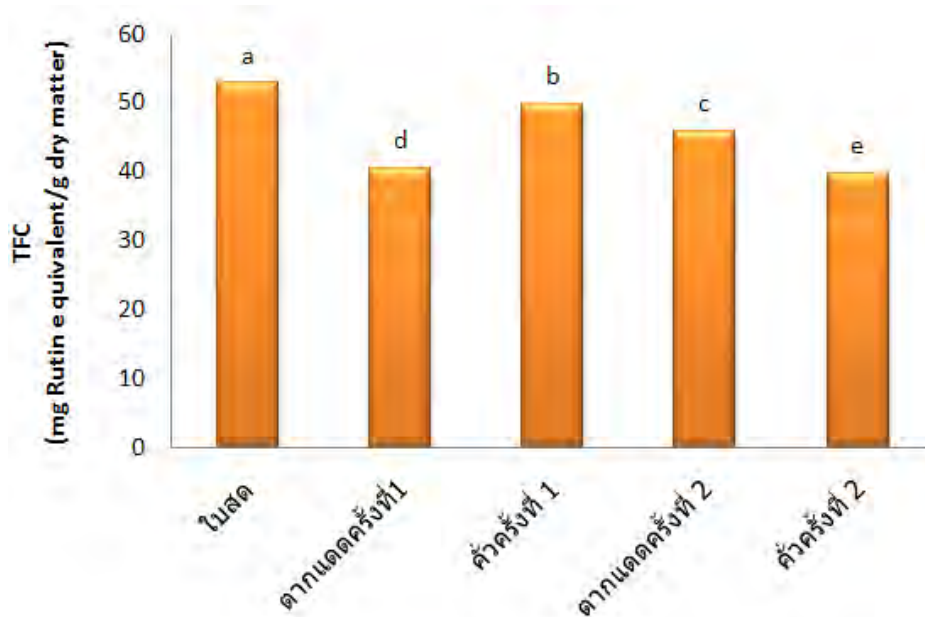
จากตารางที่ 13 แสดงผลของการคว่ำครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของใบปญจชันธุ์พบว่าเมื่อระยะเวลาในการคว่ำนานขึ้นทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) โดยปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงจาก 124.983 เหลือ 103.086 mg Glucose equivalent/g dry matter ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงจาก 0.321 เหลือ 0.193 mg Glucose equivalent/g dry matter

2.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมด

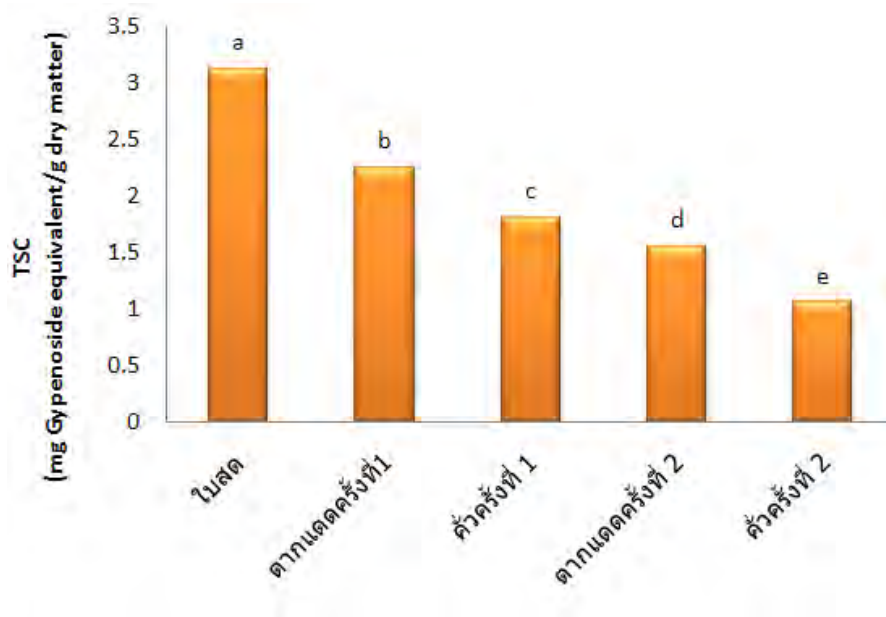
ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตชาพญจชันธุ์แสดงในรูปที่ 5, 6 และ 7 พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่อผ่านการตากแดดครั้งที่หนึ่ง และจะเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อผ่านการคว่ำครั้งที่ 1 การตากแดดครั้งที่ 2 และการคว่ำครั้งที่ 2 ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเมื่อผ่านการตากแดดครั้งที่ 1 จะมีปริมาณลดลง และจะเพิ่มขึ้นเมื่อผ่านการคว่ำครั้งที่ 1 และจะลดลงเรื่อยๆเมื่อผ่านการตากแดดครั้งที่ 2 และการคว่ำครั้งที่ 2 ส่วนปริมาณซาโปนินทั้งหมดนั้นพบว่าปริมาณจะลดลงเรื่อยๆเมื่อผ่านการตากแดดครั้งที่ 1 การคว่ำครั้งที่ 1 การตากแดดครั้งที่ 2 และการคว่ำครั้งที่ 2



รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาจันทร์
 a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาจันทร์
 a, b, c... อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณซาโปนินทั้งหมดในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญจชัน

^{a, b, c...} อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

ตารางที่ 14 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) และปริมาณซาโปนินทั้งหมด (Total saponin content) ของใบปัญจชัน

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ (°C) | Total phenolic content (mg Gallic acid equivalent/g dry matter) | Total flavonoid content (mg Rutin equivalent/g dry matter) | Total saponin content (mg Gypenoside equivalent/g dry matter) |
|-------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 0 | 24.13±0.06 | 14.754±0.356 ^a | 52.869±0.041 ^b | 3.130±0.003 ^a |
| 30 | 24.30±0.20 | 15.217±0.333 ^a | 54.719±0.045 ^a | 2.884±0.002 ^b |
| 60 | 24.07±0.06 | 11.971±0.272 ^c | 45.390±0.031 ^c | 2.623±0.001 ^c |
| 90 | 27.27±1.03 | 12.571±0.317 ^b | 44.458±0.024 ^d | 2.519±0.002 ^d |
| 120 | 32.62±0.57 | 12.021±0.220 ^{bc} | 40.494±0.021 ^e | 2.256±0.001 ^e |

^{a,b,c...} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 14 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและ ปริมาณซาโปนินทั้งหมดของใบปัญจชัน พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตากแดด 30 นาที พบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 52.869 เป็น 54.719 mg Rutin equivalent/g dry matter แต่เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานกว่านี้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานขึ้น ส่วนปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและซาโปนินทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานขึ้นโดยปริมาณฟีนอลิกลดลงจาก 14.754 เหลือ 12.021 ในขณะที่ปริมาณซาโปนินทั้งหมดลดลงจาก 3.131 เหลือ 2.256 mg Gypenoside equivalent/g dry matter)

ตารางที่ 15 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) และปริมาณซาโปนินทั้งหมด (Total saponin content) ของใบปัญญาจันทร์

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ (°C) | Total phenolic content (mg Gallic acid equivalent/g dry matter) | Total flavonoid content (mg Rutin equivalent/g dry matter) | Total saponin content (mg Gypenoside equivalent/g dry matter) |
|-------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 0 | 32.67±0.57 | 12.021±0.220 ^d | 40.494±0.021 ^e | 2.256±0.001 ^c |
| 5 | 72.43±0.90 | 22.700±0.737 ^a | 78.012±0.036 ^a | 2.755±0.001 ^a |
| 10 | 80.35±5.61 | 21.139±0.564 ^b | 73.546±0.018 ^b | 2.617±0.002 ^b |
| 15 | 81.83±4.46 | 17.900±0.490 ^c | 60.134±0.025 ^c | 2.117±0.003 ^d |
| 20 | 82.00±6.37 | 17.911±0.336 ^c | 49.841±0.015 ^d | 1.814±0.001 ^e |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 15 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และ ปริมาณซาโปนินทั้งหมด ของใบปัญญาจันทร์ พบว่าเมื่อระยะเวลาในการคั่ว 5 นาที พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณซาโปนินทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 12.021 เป็น 22.700 mg Gallic acid equivalent/g dry matter, 40.494 เป็น 78.012 mg Rutin equivalent/g dry matter และ 2.256 เป็น 2.755 mg Gypenoside equivalent/g dry matter ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณก่อนคั่ว แต่ปริมาณของสารทั้งสามชนิดจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อระยะเวลาในการคั่วเพิ่มขึ้น โดยปริมาณสารสุดท้ายหลังจากคั่วนาน 20 นาทีเหลือ 17.911 mg Gallic equivalent/g dry matter, 49.814 mg Rutin equivalent/g dry matter และ 1.814 mg Gypenoside equivalent/g dry matter ตามลำดับ

ตารางที่ 16 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) และปริมาณซาโปนินทั้งหมด (Total saponin content) ของใบปัญญาจันทร์

| เวลา (นาที) | อุณหภูมิ (°C) | Total phenolic content (mg Gallic acid equivalent/g dry matter) | Total flavonoid content (mg Rutin equivalent/g dry matter) | Total saponin content (mg Gypenoside equivalent/g dry matter) |
|-------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 0 | 82.00±6.37 | 17.911±0.336 ^c | 49.841±0.015 ^b | 1.814±0.001 ^c |
| 30 | 30.00±2.00 | 26.843±0.037 ^a | 51.217±0.021 ^a | 1.586±0.002 ^b |
| 60 | 26.33±1.53 | 23.914±0.032 ^b | 45.864±0.011 ^c | 1.551±0.002 ^a |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 16 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและ ปริมาณซาโปนินทั้งหมดของสมุนไพรปัญญาจันทร์พบว่าเมื่อระยะเวลาในการตากแดด 30 นาทีแรก ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) แต่จะลดลงเมื่อตากแดดนานขึ้นเป็น 60 นาที ส่วนปริมาณซาโปนินทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานขึ้น

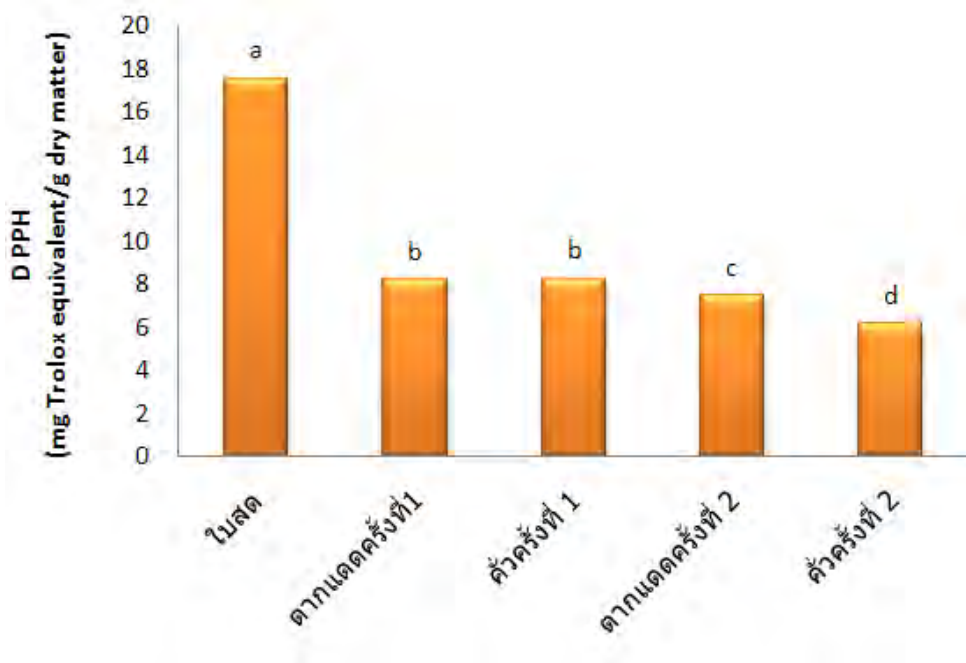
ตารางที่ 17 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content) และปริมาณซาโปนินทั้งหมด (Total saponin content) ของใบปัญญาจันทร์

| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | Total phenolic content (mg Gallic acid equivalent/g dry matter) | Total flavonoid content (mg Rutin equivalent/g dry matter) | Total saponin content (mg Gypenoside equivalent/g dry matter) |
|------------|---------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| 0 | 26.33±1.53 | 23.914±0.032 ^c | 45.864±0.011 ^b | 1.551±0.002 ^a |
| 5 | 77.96±7.89 | 42.330±0.026 ^a | 64.466±0.371 ^a | 1.212±0.001 ^b |
| 10 | 92.25±3.99 | 34.517±0.030 ^b | 39.833±0.017 ^c | 1.061±0.001 ^c |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%($p<0.05$)

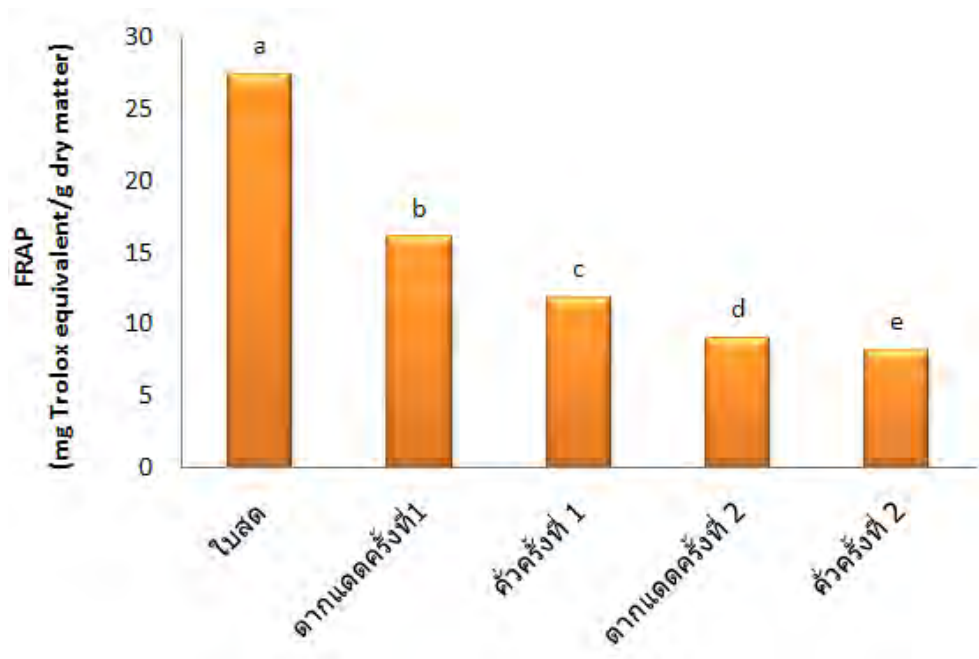
จากตารางที่ 17 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและ ปริมาณซาโปนินทั้งหมดของใบปัญญาจันทร์พบว่าเมื่อระยะเวลาในการคั่ว 5 นาที ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณซาโปนินทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อระยะเวลาในการคั่ว 10 นาที ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณซาโปนินทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2.3 การเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ



รูปที่ 8 การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาจันทร์

^{a, b, c} อักษรที่แสดงความแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$)



รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การรีดิวซ์เฟอริกในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการเตรียมใบชาปัญญาชั้น

a, b, c... อักษรที่แสดงแตกต่างกันภายในคอลัมน์แสดงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากรูปที่ 8 และ 9 แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์การรีดิวซ์เฟอริกในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการผลิตชาขงสมุนไพรปัญญาชั้น พบว่าขั้นตอนในกระบวนการผลิตชาขงสมุนไพรปัญญาชั้นมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์การรีดิวซ์เฟอริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยเมื่อผ่านแต่ละขั้นตอนในการผลิตชาขงสมุนไพรปัญญาชั้นทำให้การออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปัญญาชั้นลดลงเรื่อยๆ

ตารางที่ 18 ผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity (DPPH) และวิธี Ferric reducing antioxidative potential (FRAP) ของใบปัญญาชั้น

| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|------------|---------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 0 | 24.13±0.06 | 17.536±0.012 ^a | 27.449±0.007 ^a |
| 30 | 24.30±0.20 | 17.409±0.005 ^a | 21.012±0.006 ^b |
| 60 | 24.07±0.06 | 12.367±0.002 ^c | 18.596±0.007 ^c |
| 90 | 27.27±1.03 | 12.897±0.013 ^b | 16.812±0.006 ^d |
| 120 | 32.62±0.57 | 8.207±0.204 ^d | 16.090±0.005 ^e |

a,b,c... ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 18 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปญฺจชันรพบว่าความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการตากแดดนานขึ้น

ตารางที่ 19 ผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity (DPPH) และวิธี Ferric reducing antioxidative potential (FRAP) ของใบปญฺจชันร

| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|------------|---------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 0 | 32.62±0.57 | 8.207±0.204 ^d | 16.090±0.005 ^a |
| 5 | 72.43±0.90 | 12.065±0.014 ^a | 13.968±0.017 ^b |
| 10 | 80.35±5.61 | 10.457±0.012 ^b | 13.608±0.005 ^c |
| 15 | 81.83±4.46 | 10.144±0.018 ^c | 12.254±0.011 ^d |
| 20 | 82.00±6.37 | 8.216±0.004 ^d | 11.829±0.010 ^e |

^{a,b,c...} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 19 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 1 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปญฺจชันร พบว่าความสามารถในการออกฤทธิ์เมื่อทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในการคั่ว 5 นาทีแรก และเมื่อคั่วนานกว่านี้ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการคั่วนานขึ้นแต่ความสามารถยังเท่ากับตัวอย่างก่อนคั่วในขณะที่ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกกลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการคั่วนานขึ้น

ตารางที่ 20 ผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity (DPPH) และวิธี Ferric reducing antioxidative Potential (FRAP) ของใบปญฺจชันร

| เวลา (นาท) | อุณหภูมิ (°C) | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|------------|---------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 0 | 82.00±6.37 | 8.216±0.004 ^a | 11.829±0.010 ^a |
| 30 | 30.00±2.00 | 7.979±0.016 ^b | 10.237±0.010 ^b |
| 60 | 26.33±1.53 | 7.451±0.005 ^c | 9.078±0.011 ^c |

^{a,b,c...} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากตารางที่ 20 แสดงผลของการตากแดดครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปญฺจชันร พบว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการคั่วนานขึ้น

ตารางที่ 21 ผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเมื่อทดสอบโดยวิธี DPPH-radical scavenging activity (DPPH) และวิธี Ferric reducing antioxidative potential (FRAP) ของใบปญฺจชันน

| เวลา (นาทึ) | อุณหภูมิ (°C) | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|-------------|---------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| 0 | 26.33±1.53 | 7.451±0.005 ^a | 9.078±0.011 ^b |
| 5 | 77.96±7.89 | 7.176±0.003 ^b | 9.355±0.002 ^a |
| 10 | 92.25±3.99 | 6.160±0.011 ^c | 8.189±0.006 ^c |

^{a,b,c} ตัวเลขที่อักษรกำกับต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%(p<0.05)

จากตารางที่ 21 แสดงผลของการคั่วครั้งที่ 2 ต่อการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบปญฺจชันน พบว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ส่วนคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ FRAP เพิ่มขึ้น ที่ระยะเวลาการคั่ว 5 นาที แต่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ที่ระยะเวลาการคั่ว 10 นาที

3. ผลของสภาวะที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนินและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำจากใบชาปญฺจชันน

3.1 ผลของอุณหภูมิระยะเวลาและปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณซาโปนิน

ตารางที่ 22 ผลของสภาวะในการสกัดต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ซาโปนินทั้งหมด (TSC) และน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำชาปญฺจชันน

| Run no. | X ₁ Temp. (°C) | X ₂ Time (min) | X ₃ Sample (%w/v) | TPC (mg Gallic acid equivalent/ml) | TFC (mg Rutin equivalent/ml) | TSC (mg Gypenoside equivalent/ml) | Reducing sugar (mg Glucose equivalent/ml) |
|---------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------|
| 1 | 58 | 15 | 1.00 | 0.0376±0.0002 | 0.1402±0.0008 | 0.7662±0.0050 | 0.1898±0.0006 |
| 2 | 58 | 15 | 3.00 | 0.0836±0.0003 | 0.3692±0.0008 | 1.8153±0.0099 | 0.4841±0.0021 |
| 3 | 58 | 45 | 1.00 | 0.0405±0.0004 | 0.1360±0.0019 | 0.7947±0.0050 | 0.1891±0.0008 |
| 4 | 58 | 45 | 3.00 | 0.0856±0.0005 | 0.3713±0.0015 | 1.8725±0.0050 | 0.5019±0.0011 |
| 5 | 82 | 15 | 1.00 | 0.0438±0.0003 | 0.1500±0.0025 | 0.9720±0.0131 | 0.2225±0.0011 |
| 6 | 82 | 15 | 3.00 | 0.1005±0.0004 | 0.4269±0.0023 | 2.0612±0.0050 | 0.5613±0.0011 |
| 7 | 82 | 45 | 1.00 | 0.0477±0.0006 | 0.1537±0.0014 | 0.9491±0.0099 | 0.2420±0.0011 |
| 8 | 82 | 45 | 3.00 | 0.0957±0.0007 | 0.4327±0.0011 | 2.0383±0.0099 | 0.5725±0.0008 |
| 9 | 50 | 30 | 2.00 | 0.0676±0.0009 | 0.2817±0.0011 | 1.4065±0.0227 | 0.4073±0.0010 |
| 10 | 90 | 30 | 2.00 | 0.0803±0.0005 | 0.3598±0.0008 | 1.6495±0.0050 | 0.4867±0.0019 |
| 11 | 70 | 5 | 2.00 | 0.0750±0.0008 | 0.2741±0.0008 | 1.5152±0.0099 | 0.4172±0.0015 |
| 12 | 70 | 55 | 2.00 | 0.0747±0.0003 | 0.2770±0.0012 | 1.4723±0.0050 | 0.4486±0.0006 |
| 13 | 70 | 30 | 0.32 | 0.0139±0.0008 | 0.0602±0.0006 | 0.2487±0.0086 | 0.1040±0.0020 |
| 14 | 70 | 30 | 3.68 | 0.1251±0.0004 | 0.5105±0.0008 | 2.6272±0.0050 | 0.7352±0.0008 |
| 15 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0814±0.0011 | 0.3102±0.0008 | 1.4780±0.00216 | 0.4444±0.0003 |
| 16 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0809±0.0006 | 0.3082±0.0010 | 1.4637±0.0050 | 0.4512±0.0008 |
| 17 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0824±0.0004 | 0.3126±0.0006 | 1.4866±0.0099 | 0.4532±0.0003 |

จากตารางที่ 22 แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ชาโพนินทั้งหมด (TSC) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดน้ำชาปริมาณหนึ่งโดยมีสภาวะที่ใช้ในการสกัด คือ อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (X_1) อยู่ในช่วง 50-90 °C เวลาที่ใช้ในการสกัด (X_2) อยู่ในช่วง 5-55 นาที และปริมาณปัจจัยขั้วที่ใช้ในการสกัด (X_3) อยู่ในช่วง 0.32-3.68 %w/v พบว่าในสารสกัดน้ำชาปริมาณหนึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0139-0.125 mg Gallic acid equivalent/ml สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0602-0.5105 mg Rutin equivalent/ml ชาโพนินทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.2672-2.6272 mg Gypenoside equivalent/ml และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วง 0.1040 – 0.7352 mg Glucose equivalent/ ml และเมื่อนำข้อมูลของค่าฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโพนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลองที่ดีที่สุดด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 7 ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองและค่า Correlation of determination (R^2) ที่ได้แสดงดังตารางที่ 23

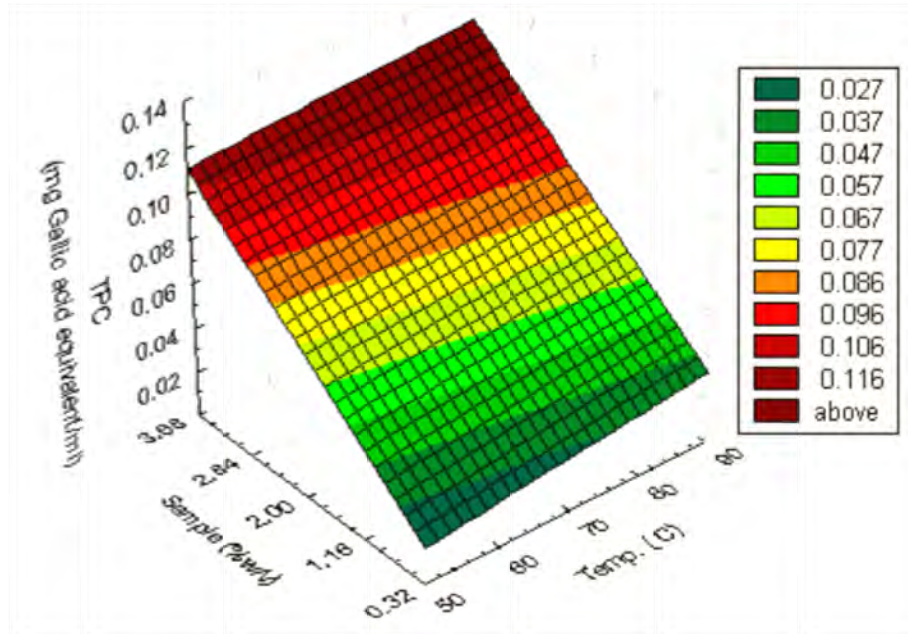
ตารางที่ 23 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ชาโพนินทั้งหมด (TSC) และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปริมาณหนึ่งเมื่อทำการสกัดในสภาวะต่างๆ

| Parameters | TPC (mg Gallic acid equivalent/ml) | TFC (mg Rutin equivalent/ml) | TSC (mg Gypenoside equivalent/ml) | Reducing sugar (mg Glucose equivalent/ml) |
|---------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Model | <0.0001* | <0.0001* | <0.0001* | <0.0001* |
| Intercept | -0.0115708 | -0.0685478 | -0.2704996 | -0.108216 |
| Temperature (X_1) | 3.7918×10^{-4} | 4.5214×10^{-4} * | 7.2348×10^{-3} * | 2.2488×10^{-3} ** |
| Time (X_2) | 1.69085×10^{-5} | 3.9403×10^{-3} | -1.5466×10^{-4} | 4.927×10^{-4} |
| Sample (X_3) | 0.0280339* | 0.1148735* | 0.6083783* | 0.1712703* |
| Temperature * Time ($X_1 X_2$) | - | 8.06645×10^{-6} | - | - |
| Temperature * Sample ($X_1 X_3$) | - | 9.5453×10^{-4} | - | - |
| Time * Sample ($X_2 X_3$) | - | 6.9141×10^{-5} | - | - |
| Temperature ² (X_1^2) | - | -6.43651×10^{-6} | - | - |
| Time ² (X_2^2) | - | -7.63948×10^{-5} * | - | - |
| Sample ² (X_3^2) | - | -0.013391** | - | - |
| R^2 | 0.9308 | 0.9938 | 0.9748 | 0.9438 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

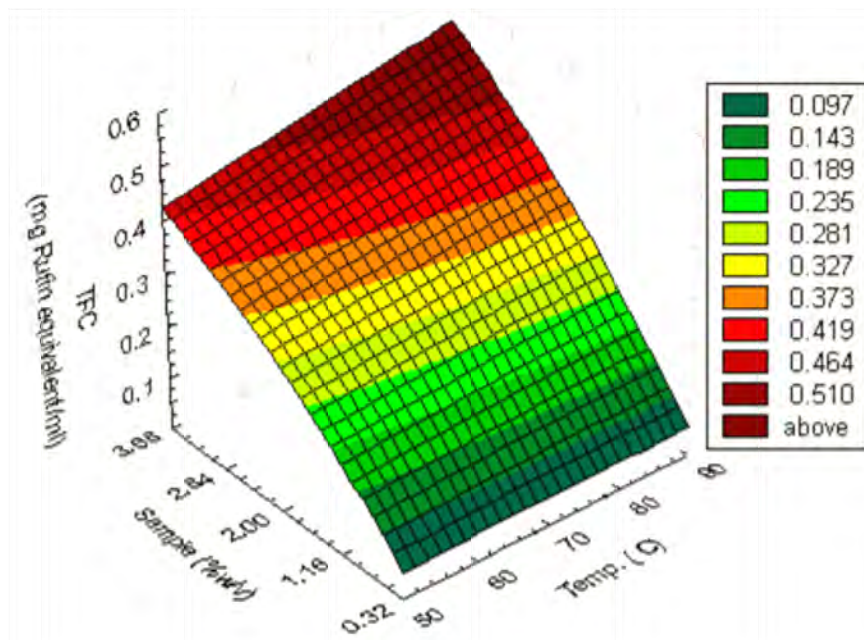
**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่าแบบจำลองของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโพนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9308, 0.9938, 0.9748 และ 0.9438 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทั้งหมดมีความเหมาะสมสำหรับใช้อธิบายความสัมพันธ์ของเวลา อุณหภูมิ และปริมาณปัจจัยขั้วที่ใช้ในการสกัดต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารต่างๆ ที่สกัดได้ในน้ำชา

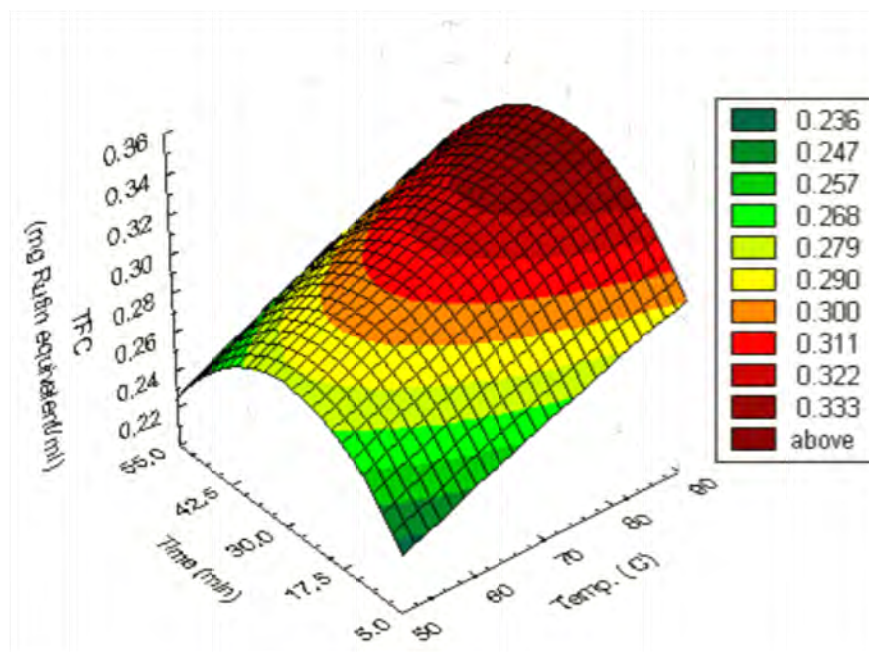


รูปที่ 10 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)

จากแบบจำลองของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำชาที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 10 พบว่าเมื่อปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำชาก็มากขึ้น



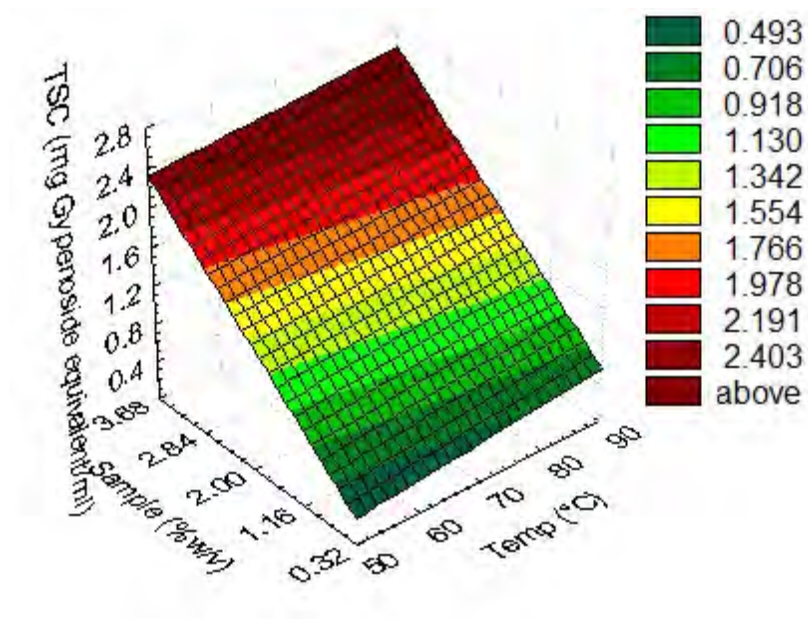
รูปที่ 11 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)



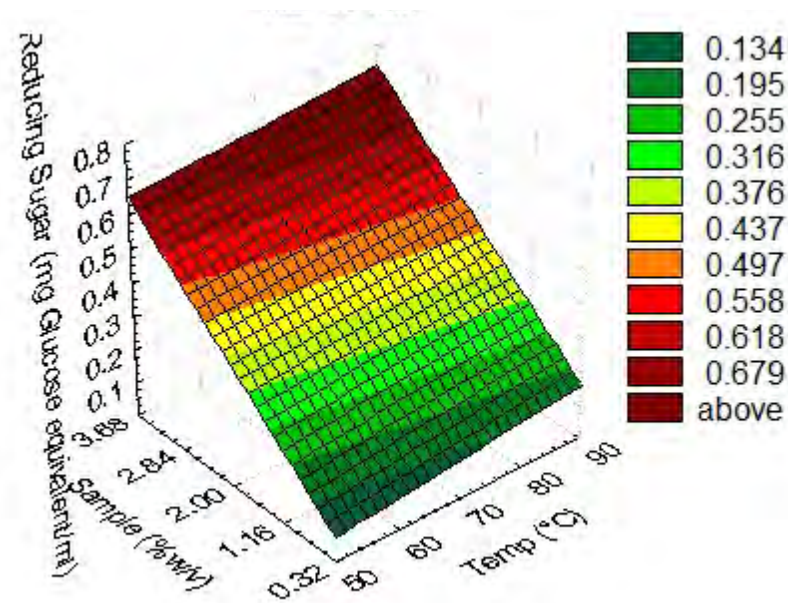
รูปที่ 12 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC)เมื่อกำหนดให้ปริมาณใบชาปัญญาจันทร์ที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 2 %w/v นาทิ ($X_3 = 2\%w/v$)

จากแบบจำลองของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าอุณหภูมิ เวลา และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำชาที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และ 95% และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่11 พบว่าเมื่ออุณหภูมิและปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำชาก็มากขึ้น และจากรูปที่12พบว่าที่ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดในช่วง 5 นาที จนถึง 30 นาที ปริมาณฟลาโวนอยด์ในน้ำชาที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดนานขึ้นแต่ถ้าเวลาที่ใช้ในการสกัดนานกว่า 30 นาทีพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในน้ำชาจะลดลง

จากแบบจำลองของซาโปนินทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่าอุณหภูมิ และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณซาโปนินทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และ 95% และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 13 และรูปที่14 พบว่าเมื่ออุณหภูมิและปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มมากขึ้นปริมาณซาโปนินทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาก็มีปริมาณมากขึ้น



รูปที่13 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณสารซาโปนินทั้งหมด (TSC) เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)



รูปที่14 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)

ตารางที่ 24 ผลของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ซาโปนินทั้งหมด (TSC) และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปัญญาจันทร์

| Run no. | X ₁ Temp. (°C) | X ₂ Time (min) | X ₃ Sample (%w/v) | TPC (mg Gallic acid equivalent/g dry sample) | TFC (mg Rutin equivalent/g dry sample) | TSC (mg Gypenoside equivalent/g dry sample) | Reducing sugar (mg Glucose equivalent/g dry sample) |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1 | 58 | 15 | 1.00 | 4.051±0.024 | 15.100±0.091 | 82.496±0.533 | 20.437±0.069 |
| 2 | 58 | 15 | 3.00 | 3.002±0.009 | 13.262±0.030 | 65.201±0.356 | 17.387±0.075 |
| 3 | 58 | 45 | 1.00 | 4.359±0.038 | 14.639±0.209 | 85.549±0.533 | 20.351±0.091 |
| 4 | 58 | 45 | 3.00 | 3.074±0.019 | 13.338±0.053 | 67.270±0.178 | 18.032±0.041 |
| 5 | 82 | 15 | 1.00 | 4.725±0.028 | 16.167±0.273 | 104.753±1.412 | 23.981±0.119 |
| 6 | 82 | 15 | 3.00 | 3.612±0.015 | 15.341±0.083 | 74.061±0.178 | 20.168±0.041 |
| 7 | 82 | 45 | 1.00 | 5.140±0.064 | 16.549±0.150 | 102.197±1.066 | 26.058±0.124 |
| 8 | 82 | 45 | 3.00 | 3.437±0.023 | 15.542±0.040 | 73.222±0.356 | 20.567±0.030 |
| 9 | 50 | 30 | 2.00 | 3.644±0.049 | 15.180±0.060 | 75.804±1.223 | 21.949±0.052 |
| 10 | 90 | 30 | 2.00 | 4.328±0.028 | 19.392±0.045 | 88.895±0.267 | 26.227±0.103 |
| 11 | 70 | 5 | 2.00 | 4.042±0.046 | 14.774±0.046 | 81.666±0.534 | 22.486±0.079 |
| 12 | 70 | 55 | 2.00 | 4.027±0.019 | 14.932±0.062 | 79.351±0.267 | 24.179±0.030 |
| 13 | 70 | 30 | 0.32 | 4.652±0.260 | 20.223±0.215 | 83.528±2.880 | 34.911±0.668 |
| 14 | 70 | 30 | 3.68 | 3.663±0.011 | 14.952±0.025 | 76.951±0.145 | 21.534±0.025 |
| 15 | 70 | 30 | 2.00 | 4.387±0.057 | 16.719±0.046 | 79.651±1.163 | 23.949±0.017 |
| 16 | 70 | 30 | 2.00 | 4.358±0.033 | 16.611±0.052 | 78.889±0.267 | 24.318±0.045 |
| 17 | 70 | 30 | 2.00 | 4.442±0.021 | 16.847±0.030 | 80.110±0.534 | 24.423±0.017 |

จากตารางที่ 24 แสดงถึงความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ซาโปนินทั้งหมด (TSC) และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารสกัดน้ำปัญญาจันทร์เมื่อใช้สภาวะที่ใช้ในการสกัดต่างกันพบว่าที่สภาวะการสกัดที่ใช้ในการศึกษามีความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 3.002- 5.140 mg Gallic acid equivalent/g dry sample สารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0602 - 0.5105 mg Rutin equivalent/g dry sample ซาโปนินทั้งหมดอยู่ในช่วง 65.201-102.197mg Gypenoside equivalent/dry sample และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในช่วง 17.387- 34.911 mg Glucose equivalent/g dry sample และเมื่อนำข้อมูลของค่าฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ วิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลองที่ดีที่สุดด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 7 ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองและค่า R² ที่ได้แสดงดังตารางที่ 25

ตารางที่ 25 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ชาโพนินทั้งหมด (TSC) และน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำชาปัญจขันธ์ที่สกัดได้เมื่อทำการสกัดในสภาวะต่างๆ

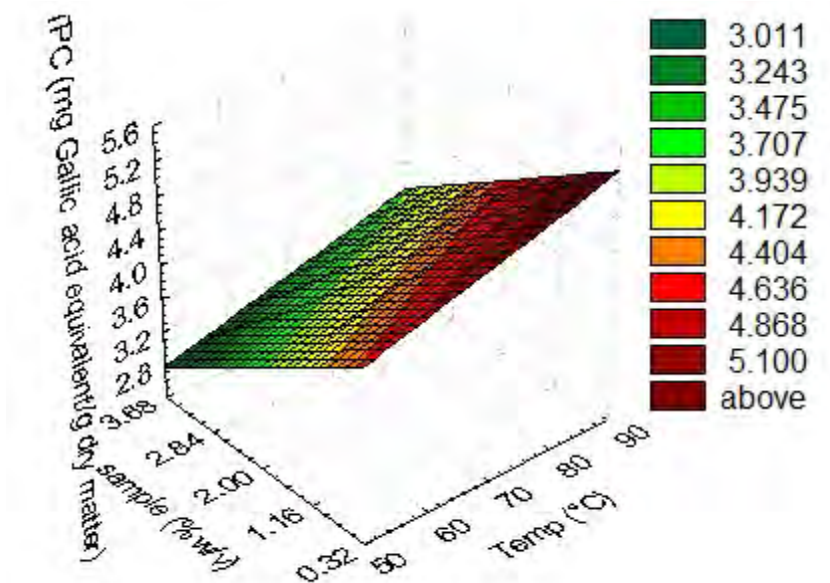
| Parameters | TPC (mg Gallic acid equivalent/g dry sample) | TFC (mg Rutin equivalent/g dry sample) | TSC (mg Gypenoside equivalent/g dry sample) | Reducing sugar (mg Glucose equivalent/g dry sample) |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Model | <0.0001* | 0.0139** | 0.0005* | 0.0150** |
| Intercept | 3.43048 | 11.67016 | 64.54125 | 18.24117 |
| Temperature (X_1) | 0.021935* | 0.087793** | 0.46436* | 0.13339 |
| Time (X_2) | 2.92381×10^{-3} | 2.27699×10^{-3} | -0.010488 | 0.028799 |
| Sample (X_3) | -0.49909* | -1.01356** | -7.78973* | -2.72238* |
| Temperature * Time (X_1 X_2) | - | - | - | - |
| Temperature * Sample (X_1 X_3) | - | - | - | - |
| Time * Sample (X_2 X_3) | - | - | - | - |
| Temperature ² (X_1^2) | - | - | - | - |
| Time ² (X_2^2) | - | - | - | - |
| Sample ² (X_3^2) | - | - | - | - |
| R^2 | 0.7976 | 0.5462 | 0.7326 | 0.5408 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

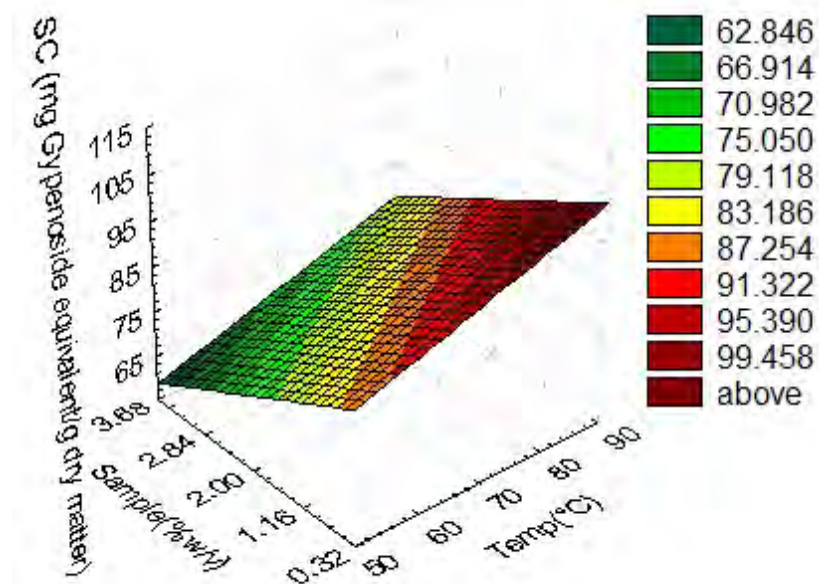
**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่าแบบจำลองของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโพนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99, 95, 99 และ 95% ตามลำดับมีค่า R^2 เท่ากับ 0.7976, 0.5462, 0.7326 และ 0.5408 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองของฟีนอลิกทั้งหมดและแบบจำลองของชาโพนินทั้งหมดมีความเหมาะสมพอสมควรที่จะใช้สำหรับอธิบายความสัมพันธ์ของเวลา อุณหภูมิ และปริมาณปัญจขันธ์ที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกและชาโพนินที่สกัดได้ในน้ำชา ส่วนแบบจำลองของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ไม่สามารถนำมาใช้อธิบายได้เนื่องจากมีค่า R^2 ต่ำมาก

จากแบบจำลองของฟีนอลิกทั้งหมดและชาโพนินทั้งหมด พบว่าอุณหภูมิและปริมาณใบปัญจขันธ์มีผลต่อปริมาณสารสกัดที่ได้และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 15 และ 16 พบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดและชาโพนินทั้งหมดมีมากขึ้นในขณะที่การเพิ่มปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นทำให้ความสามารถในการสกัดสารทั้งสองลดลง



รูปที่15 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2=30$ นาที)



รูปที่16 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยขั้นที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการสกัดสารซาโปนินทั้งหมด (TSC) เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2=30$ นาที)

3.2 ผลของอุณหภูมิระยะเวลาและปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตารางที่ 26 ผลของสภาวะในการสกัดต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP)ของน้ำชาปญจันธุ์

| Run no. | X ₁ Temp. (°C) | X ₂ Time (min) | X ₃ Sample (%w/v) | DPPH (mg Trolox equivalent/ml) | FRAP (mg Trolox equivalent/ml) |
|---------|---------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 58 | 15 | 1.00 | 0.0371±0.0003 | 0.0620±0.0009 |
| 2 | 58 | 15 | 3.00 | 0.0973±0.0007 | 0.1626±0.0001 |
| 3 | 58 | 45 | 1.00 | 0.0393±0.0005 | 0.0630±0.0005 |
| 4 | 58 | 45 | 3.00 | 0.0973±0.0003 | 0.1695±0.0008 |
| 5 | 82 | 15 | 1.00 | 0.0462±0.0001 | 0.0672±0.0001 |
| 6 | 82 | 15 | 3.00 | 0.1063±0.0002 | 0.1990±0.0003 |
| 7 | 82 | 45 | 1.00 | 0.0460±0.0003 | 0.0637±0.0006 |
| 8 | 82 | 45 | 3.00 | 0.1036±0.0001 | 0.1822±0.0011 |
| 9 | 50 | 30 | 2.00 | 0.0838±0.0001 | 0.1333±0.0003 |
| 10 | 90 | 30 | 2.00 | 0.0941±0.0004 | 0.1692±0.0005 |
| 11 | 70 | 5 | 2.00 | 0.0889±0.0002 | 0.1258±0.0009 |
| 12 | 70 | 55 | 2.00 | 0.0882±0.0002 | 0.1253±0.0003 |
| 13 | 70 | 30 | 0.32 | 0.0166±0.0003 | 0.0198±0.0003 |
| 14 | 70 | 30 | 3.68 | 0.1003±0.0003 | 0.2276±0.0003 |
| 15 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0799±0.0001 | 0.1262±0.0003 |
| 16 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0780±0.0003 | 0.1252±0.0001 |
| 17 | 70 | 30 | 2.00 | 0.0798±0.0001 | 0.1268±0.0002 |

จากตารางที่ 26 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลDPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารสกัดน้ำชาปญจันธุ์สารสกัดน้ำที่ได้ค่า DPPHอยู่ในช่วง 0.0166-0.163mg Trolox equivalent/ml. และมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอยู่ในช่วง0.0198-0.2276 mg Trolox equivalent/mlและเมื่อนำค่าข้อมูลมาวิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลองที่ดีที่สุดด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 7 และค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองและค่า R²ที่ได้แสดงดังตารางที่ 27

จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่าแบบจำลองของความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ เวลา และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริก มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และมีค่า R² เท่ากับ 0.9809 และ 0.9609 ตามลำดับแสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทั้งสองมีความเหมาะสมมากที่จะใช้อธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีทั้งสอง

จากแบบจำลองพบว่าปริมาณของใบชาปญจันธุ์มีผลต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองที่แสดงในรูปที่ 17 พบว่าเมื่อปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มสูงขึ้น จากแบบจำลองของฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริกพบว่าปริมาณใบชาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ในการ

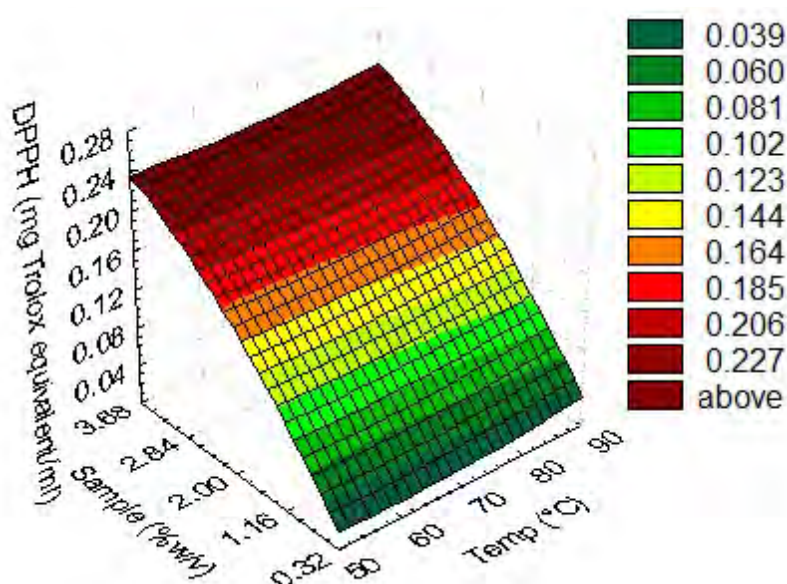
รีดิวซ์ของน้ำชาที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 99 และ 95% ตามลำดับและจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองที่แสดงในรูปที่ 18 พบว่าเมื่ออุณหภูมิและปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริกเพิ่มสูงขึ้น

ตารางที่ 27 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ของน้ำชาปัญญาจันทร์ที่สกัดในสภาวะต่างๆ

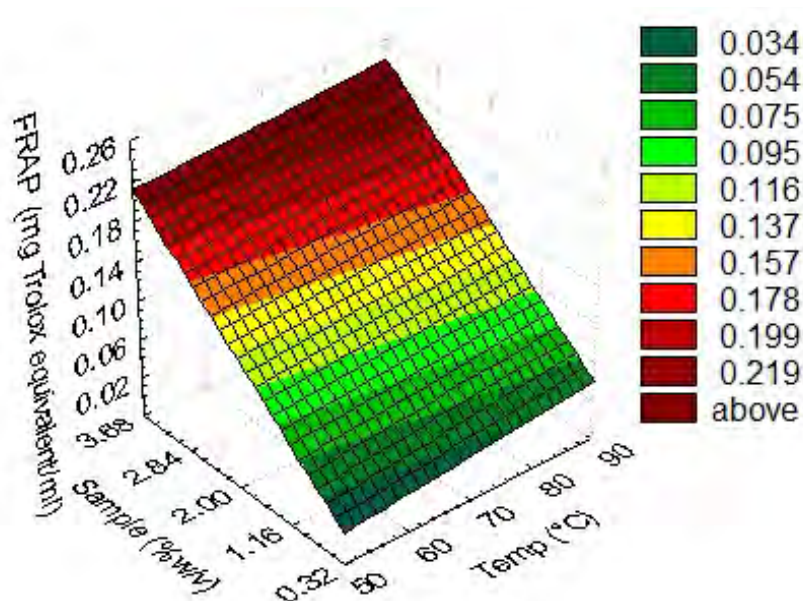
| Parameters | DPPH | FRAP |
|--------------------------------------|----------------------------|----------------------------|
| | (mg Trolox equivalent/ml) | (mg Trolox equivalent/ml) |
| Model | <0.0001* | <0.0001* |
| Intercept | 0.0273423 | -0.0393411 |
| Temperature (X_1) | -1.3813×10^{-3} | -7.065×10^{-4} ** |
| Time (X_2) | -1.4152×10^{-4} | -6.5077×10^{-5} |
| Sample (X_3) | 0.0650632* | 0.0591054* |
| Temperature * Time ($X_1 X_2$) | -3.50743×10^{-6} | - |
| Temperature * Sample ($X_1 X_3$) | -7.10965×10^{-6} | - |
| Time * Sample ($X_2 X_3$) | -3.98141×10^{-5} | - |
| Temperature ² (X_1^2) | 1.28407×10^{-5} | - |
| Time ² (X_2^2) | 7.61745×10^{-6} | - |
| Sample ² (X_3^2) | -8.9432×10^{-3} * | - |
| R^2 | 0.9809 | 0.9609 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 17 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัญญาจันทร์ที่ใช้ในการสกัดต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)



รูปที่ 18 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณปัจจัยชั้นที่ใช้ในการสกัดฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริก เมื่อกำหนดให้เวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2 = 30$ นาที)

ตารางที่ 28 ผลของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ของน้ำชาปัจจัยชั้น

| Run no. | X_1 Temp. (°C) | X_2 Time (min) | X_3 Sample (%w/v) | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|---------|------------------------|------------------------|---------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| 1 | 58 | 15 | 1.00 | 3.7064±0.0313 | 6.6726±0.0989 |
| 2 | 58 | 15 | 3.00 | 3.2444±0.0246 | 5.8392±0.0047 |
| 3 | 58 | 45 | 1.00 | 3.9240±0.0515 | 6.7767±0.0489 |
| 4 | 58 | 45 | 3.00 | 3.2411±0.0104 | 6.0910±0.0294 |
| 5 | 82 | 15 | 1.00 | 4.6221±0.0118 | 7.2420±0.0141 |
| 6 | 82 | 15 | 3.00 | 3.5369±0.0079 | 7.1509±0.0125 |
| 7 | 82 | 45 | 1.00 | 4.6003±0.0313 | 6.8603±0.0616 |
| 8 | 82 | 45 | 3.00 | 3.4512±0.0039 | 6.5451±0.0403 |
| 9 | 50 | 30 | 2.00 | 4.1878±0.0059 | 7.1818±0.0141 |
| 10 | 90 | 30 | 2.00 | 4.7000±0.0177 | 9.1167±0.0255 |
| 11 | 70 | 5 | 2.00 | 4.4417±0.0118 | 6.7824±0.0495 |
| 12 | 70 | 55 | 2.00 | 4.4092±0.0118 | 6.7535±0.0187 |
| 13 | 70 | 30 | 0.32 | 5.1696±0.0974 | 6.6659±0.1166 |
| 14 | 70 | 30 | 3.68 | 2.7263±0.0085 | 6.6657±0.0077 |
| 15 | 70 | 30 | 2.00 | 3.9921±0.0059 | 6.8018±0.0187 |
| 16 | 70 | 30 | 2.00 | 3.9002±0.0156 | 6.7453±0.0071 |
| 17 | 70 | 30 | 2.00 | 3.9889±0.0059 | 6.8341±0.0122 |

จากตารางที่ 28 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกของสารสกัดน้ำปัญญาชั้นสารสกัดน้ำที่ได้ค่า DPPH อยู่ในช่วง 5.1696-2.7263mg Trolox equivalent/ml และมีค่าความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก อยู่ในช่วง 5.8392-7.1509mg Trolox equivalent/ml และเมื่อนำค่าข้อมูลมาวิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลองที่ดีที่สุดด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป Design-Expert 7 และค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลองและค่า R^2 ที่ได้แสดงดังตารางที่ 29

ตารางที่ 29 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของความสามารถในการสกัดที่สภาวะต่างๆต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) และการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ของน้ำชาปัญญาชั้น

| Parameters | DPPH (mg Trolox equivalent/g dry matter) | FRAP (mg Trolox equivalent/g dry matter) |
|--------------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Model | 0.0004* | 0.00856 |
| Intercept | 3.81121 | 15.19258 |
| Temperature (X_1) | 0.018125** | -0.30474** |
| Time (X_2) | 2.57633×10^{-4} | 0.10142 |
| Sample (X_3) | -0.54848* | -0.23227 |
| Temperature * Time ($X_1 X_2$) | - | -9.32874×10^{-4} |
| Temperature * Sample ($X_1 X_3$) | - | 0.011591 |
| Time * Sample ($X_2 X_3$) | - | -6.36222×10^{-4} |
| Temperature ² (X_1^2) | - | 2.45882×10^{-3} ** |
| Time ² (X_2^2) | - | -6.36486×10^{-4} |
| Sample ² (X_3^2) | - | -0.17529 |
| R^2 | 0.7429 | 0.7899 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

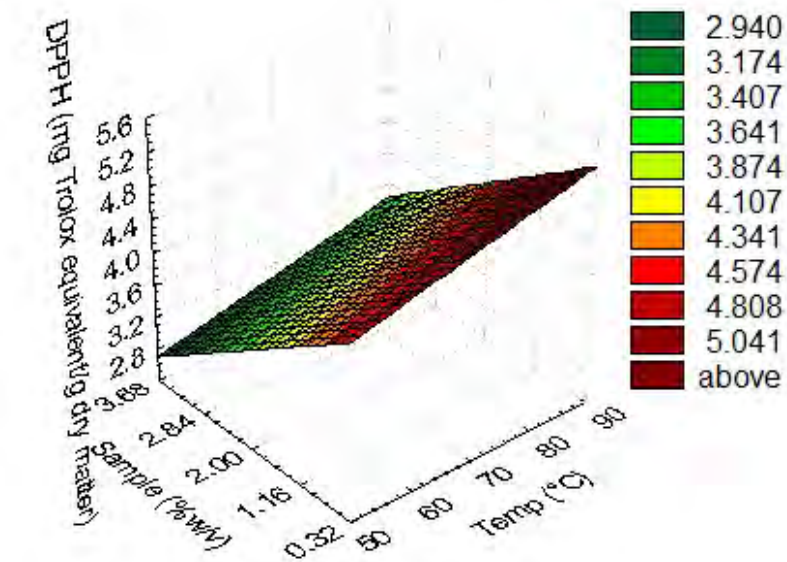
**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่าแบบจำลองของความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิ เวลา และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดที่มีต่อความสามารถในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.7429 และ 0.7899 ตามลำดับแสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทั้งสองมีความเหมาะสมพอสมควรที่จะใช้อธิบายความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยวิธีทั้งสอง

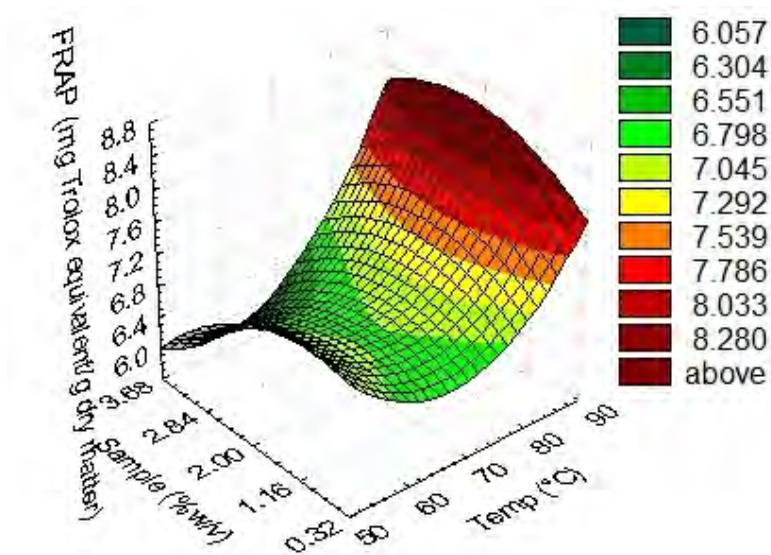
จากแบบจำลองของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดและปริมาณใบปัญญาชั้นที่ใช้สกัดมีผลต่อความสามารถในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำชาที่ได้และจากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงในรูปที่ 19 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นทำให้ความสามารถในการสกัดสารเพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่การเพิ่มปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นมีผลทำให้ความสามารถในการสกัดลดน้อยลงซึ่งส่งผลต่อฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับฤทธิ์ต่อตัวอย่างใบชาที่ใช้ในการสกัดเท่ากัน

ในขณะที่แบบจำลองของความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อความสามารถในการสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริกของสารสกัดน้ำชาที่ได้ จากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงในรูปที่ 20

อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นจาก 50 - 80 °C เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นฤทธิ์ในการรีดิวซ์เพอริกกลับลดลงแต่การเพิ่มอุณหภูมิการสกัดให้สูงกว่า 80 °C พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ฤทธิ์การรีดิวซ์เพอริกเพิ่มสูงขึ้น



รูปที่ 19 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณใบชาปัญญาจันทร์ที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการสกัดที่มีต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อกำหนดเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2=30$ นาที)



รูปที่ 20 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของอุณหภูมิและปริมาณใบชาปัญญาจันทร์ที่ใช้ในการสกัดต่อความสามารถในการสกัดที่มีต่อฤทธิ์การรีดิวซ์เพอริกเมื่อกำหนดเวลาที่ใช้เวลาในการสกัดเท่ากับ 30 นาที ($X_2=30$ นาที)

3.3 สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดใบชาปัญจชัน

สภาวะในการสกัดใบชาที่มีความเหมาะสมควรจะเป็นสภาวะที่สามารถสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ชาโพนินทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ได้ในปริมาณที่สูง และสารสกัดที่ได้ควรมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH และฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริกได้ดีด้วย และนอกจากได้ปริมาณสารสกัดที่สูงแล้ว ประสิทธิภาพของการสกัดสารให้ออกมาจากใบชาที่สำคัญด้วยเช่นกัน ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดใบชาปัญจชัน คือ สกัดที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้เวลาในการสกัด 25 นาที และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดคือ 3%w/v โดยที่สภาวะดังกล่าวค่า Desirability เท่ากับ 0.711 และค่าที่คาดคะเนได้จากการสกัดในสภาวะนี้คือ ปริมาณสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบในน้ำชาประกอบด้วย ฟีนอลิกทั้งหมด 0.1072 mg Gallic acid equivalent/ml ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 0.4761 mg Rutin equivalent/ml ชาโพนินทั้งหมด 2.2040 mg Gypenoside equivalent/ml น้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมด 0.6208 mg Glucose equivalent/ml ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 0.1102 mg Trolox equivalent/ml และฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริก 0.2001 mg Trolox equivalent/ml และความสามารถในการสกัดสารออกจากใบชาปัญจชันคือ ฟีนอลิกทั้งหมด 3.9782 mg Gallic acid equivalent/mg dry sample ชาโพนินทั้งหมด 82.6784 mg Gypenoside equivalent/mg dry sample ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH 3.8015 mg Trolox equivalent/g dry sample และฤทธิ์ในการรีดิวซ์เฟอริก 8.5312 mg Trolox equivalent/g dry sample

4. ศึกษาผลของชนิดและปริมาณของส่วนผสมที่ใช้ในการปรุงแต่งรสชาติ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณชาโพนิน ความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 ผลของกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้งต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH ในเครื่องต้มชาปัญจชัน

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ และค่า pH ในน้ำชาปัญจชันที่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง ความเข้มข้นที่ใช้คือ ความเข้มข้นของกรดซิตริก (X_1) 0.02-0.30 (%w/v) ความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส (X_2) 0-3 (%w/v) และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (X_3) 0-10 (%w/v) แสดงในตารางที่ 30 ซึ่งปริมาณความเข้มข้นของสารปรุงแต่งเหล่านี้ได้มาจากการศึกษาขั้นต้น ซึ่งเป็นช่วงความเข้มข้นที่ผู้บริโภคยังให้การยอมรับ โดยน้ำชาปัญจชันที่ไม่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง ก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรส์นั้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเท่ากับ 0.4 °Brix และมีค่า pH เท่ากับ 6.31 และเมื่อนำน้ำชาปัญจชันมาเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งในสัดส่วนต่างๆและนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 1.80-9.00 และมีค่า pH ลดลงอยู่ในช่วง 3.50-5.61 และเมื่อนำค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH มาวิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-expert 7 ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลอง และค่า Correlation of determination (R^2) แสดงดังตารางที่ 31 จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่าสารปรุงแต่งทั้งกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้งมีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปริมาณสารปรุงแต่งที่เติมลงไปในการต้มเพิ่มมากขึ้นมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นดังแสดงในรูปที่ 21 และ 22 ในขณะที่น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งที่เติมลงไปไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า pH มีเฉพาะปริมาณกรดซิตริกเท่านั้นที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าว โดยเมื่อเติมกรดซิตริกมากขึ้นค่า pH ของเครื่องต้มก็ต่ำลงแสดงในรูปที่ 23

ตารางที่ 30 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH ของเครื่องดื่มชาปัญญาจันทร์

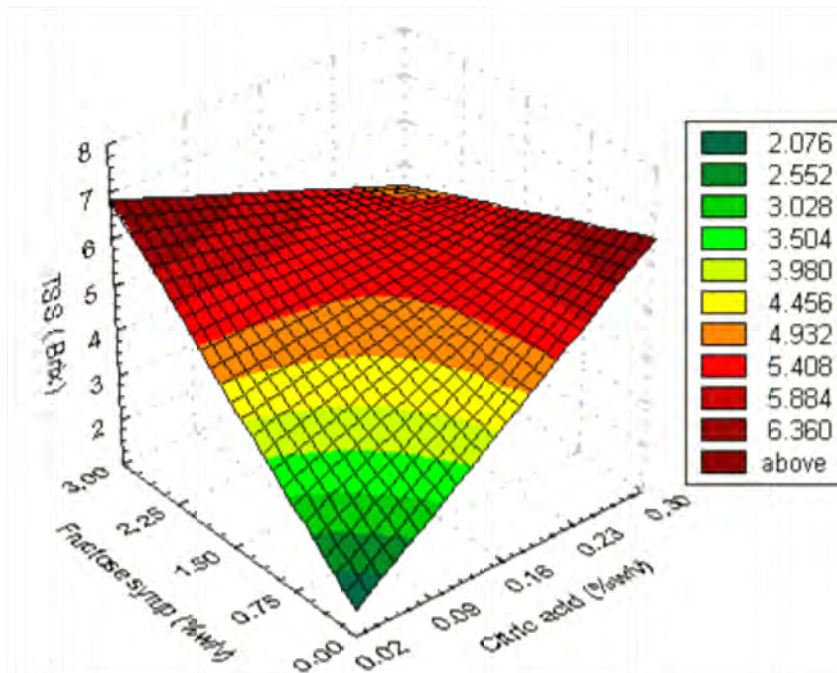
| Run no. | X ₁ Citricacid (%w/v) | X ₂ Fructosesyrup (%w/v) | X ₃ Honey (%w/v) | TSS (°Brix) | pH |
|---------|----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------|----------------|------|
| 1 | 0.08 | 0.60 | 2.00 | 2.80 | 4.55 |
| 2 | 0.08 | 0.60 | 8.00 | 4.80 | 4.55 |
| 3 | 0.08 | 2.40 | 2.00 | 4.00 | 4.55 |
| 4 | 0.08 | 2.40 | 8.00 | 8.00 | 4.45 |
| 5 | 0.24 | 0.60 | 2.00 | 3.60 | 3.89 |
| 6 | 0.24 | 0.60 | 8.00 | 9.00 | 3.83 |
| 7 | 0.24 | 2.40 | 2.00 | 4.00 | 3.84 |
| 8 | 0.24 | 2.40 | 8.00 | 8.00 | 3.88 |
| 9 | 0.02 | 1.50 | 5.00 | 5.20 | 5.61 |
| 10 | 0.30 | 1.50 | 5.00 | 5.40 | 3.50 |
| 11 | 0.16 | 0.00 | 5.00 | 4.40 | 4.00 |
| 12 | 0.16 | 3.00 | 5.00 | 6.00 | 4.15 |
| 13 | 0.16 | 1.50 | 0.00 | 1.80 | 4.16 |
| 14 | 0.16 | 1.50 | 10.00 | 8.60 | 4.16 |
| 15 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 5.40 | 4.23 |
| 16 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 5.20 | 4.23 |
| 17 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 5.20 | 4.20 |

ตารางที่ 31 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R² ของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำและค่า pH ในเครื่องดื่มชาปัญญาจันทร์

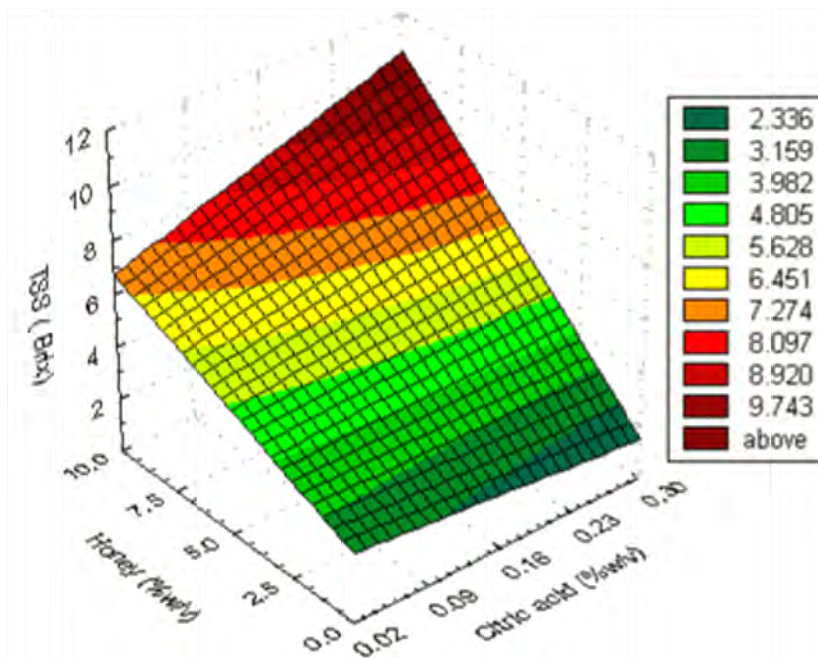
| Parameters | TSS (°Brix) | pH |
|---------------------------------------------------------------|-------------|---------------------------|
| Model | <0.0001* | <0.0001* |
| Intercept | 0.078648 | 5.11813 |
| Citric acid (X ₁) | 8.90118** | -5.62168* |
| Fructose syrup (X ₂) | 1.78005* | 0.012295 |
| Honey (X ₃) | 0.33238* | -2.95082x10 ⁻³ |
| Citric acid * Fructose syrup (X ₁ X ₂) | -8.68056* | - |
| Citric acid * Honey(X ₁ X ₃) | 1.77083 | - |
| Fructose syrup * Honey(X ₂ X ₃) | 0.027778 | - |
| Citric acid ² (X ₁ ²) | - | - |
| Fructose syrup ² (X ₂ ²) | - | - |
| Honey ² (X ₃ ²) | - | - |
| R ² | 0.9544 | 0.8381 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% (p<0.01)

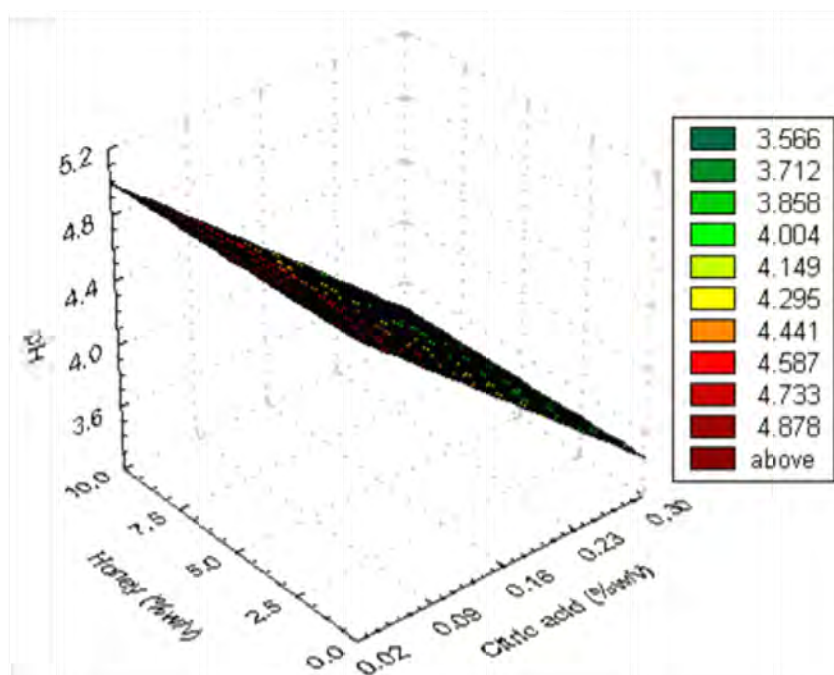
**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p<0.05)



รูปที่ 21 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (Total Soluble Solid, TSS) ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง ($X_3=5\%w/v$)



รูปที่ 22 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ (Total Soluble Solid, TSS) ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)



รูปที่ 23 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องต้มชาปัญญาชั้นต่อค่า pH ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)

4.2 ผลของกรดซิตริก ฟรุกโตสไซรัป และน้ำผึ้งต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณซาโปนิน

ตารางที่ 32 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) และซาโปนินทั้งหมด (TSC) ในเครื่องต้มชาปัญญาชั้น

| Run no. | X_1 Citric acid (%w/v) | X_2 Fructose syrup (%w/v) | X_3 Honey (%w/v) | TPC (mg Gallic acid equivalent/ml) | TFC (mg Rutin equivalent/ml) | TSC (mg Gypenoside equivalent/ml) |
|---------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|
| 1 | 0.08 | 0.60 | 2.00 | 0.1145±0.0006 | 0.3190±0.0015 | 1.8316±0.0059 |
| 2 | 0.08 | 0.60 | 8.00 | 0.1393±0.0004 | 0.1733±0.0024 | 2.8358±0.0162 |
| 3 | 0.08 | 2.40 | 2.00 | 0.1164±0.0006 | 0.2217±0.0010 | 2.4402±0.5916 |
| 4 | 0.08 | 2.40 | 8.00 | 0.1448±0.0004 | 0.2124±0.0012 | 3.4587±0.0165 |
| 5 | 0.24 | 0.60 | 2.00 | 0.1058±0.0008 | 0.1910±0.0010 | 1.7887±0.0157 |
| 6 | 0.24 | 0.60 | 8.00 | 0.1496±0.0003 | 0.2114±0.0003 | 3.1321±0.0227 |
| 7 | 0.24 | 2.40 | 2.00 | 0.1114±0.0006 | 0.1921±0.0012 | 2.0304±0.0207 |
| 8 | 0.24 | 2.40 | 8.00 | 0.1611±0.0004 | 0.2057±0.0018 | 3.0963±0.0330 |
| 9 | 0.02 | 1.50 | 5.00 | 0.1392±0.0009 | 0.2231±0.0010 | 2.3515±0.0320 |
| 10 | 0.30 | 1.50 | 5.00 | 0.1410±0.0006 | 0.1856±0.0012 | 2.1350±0.0368 |
| 11 | 0.16 | 0.00 | 5.00 | 0.1346±0.0010 | 0.1948±0.0011 | 2.1134±0.0362 |
| 12 | 0.16 | 3.00 | 5.00 | 0.1472±0.0005 | 0.1982±0.0009 | 2.0479±0.6464 |
| 13 | 0.16 | 1.50 | 0.00 | 0.1129±0.0006 | 0.3123±0.0008 | 1.6744±0.0311 |
| 14 | 0.16 | 1.50 | 10.00 | 0.1635±0.0009 | 0.2126±0.0007 | 4.4778±0.0380 |
| 15 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1433±0.0003 | 0.1984±0.0003 | 3.7277±0.0218 |
| 16 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1428±0.0009 | 0.1989±0.0009 | 3.7381±0.0218 |
| 17 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1145±0.0011 | 0.1993±0.0011 | 3.7200±0.00061 |

ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมด ในเครื่องต้มชาปัญญาจันทร์ที่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง ความเข้มข้นที่ใช้คือ ความเข้มข้นของกรดซิตริก(X_1) 0.02-0.30 (%w/v) ความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส (X_2) 0-3 (%w/v) และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง (X_3) 0-10 (%w/v) แสดงในตารางที่ 5.26 โดยน้ำชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง และไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ นั้นมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 0.1037mg Gallic acid equivalent/ml หลังจากนำน้ำชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติม มาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ปริมาณสารฟีนอลิกเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยคือ 0.1070 mg Gallic acid equivalent/ml และเมื่อนำน้ำชาปัญญาจันทร์มาเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งในสัดส่วนต่างๆและนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้น อยู่ระหว่าง 0.1058-0.1635 mg Gallic acid equivalent /ml ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ในตัวอย่างน้ำชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง และไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 0.4033mg Rutin equivalent/ml ส่วนในน้ำชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติม แต่นำมาผ่านการพาสเจอร์ไรส์นั้นทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงเหลือ 0.3864mg Rutin equivalent/ml ส่วนน้ำชาปัญญาจันทร์ที่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งในสัดส่วนต่างๆและนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ลดลงอีกซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.1733-0.3190 mg Rutin equivalent/ml

ปริมาณซาโปนินทั้งหมด ในเครื่องต้มชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้ง และไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เท่ากับ 1.2002 mg Gypenoside equivalent/ml หลังจากนำเครื่องต้มชาปัญญาจันทร์ที่ไม่มีการเติม มาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 1.2307 mg Gypenoside equivalent/ml และเครื่องต้มชาปัญญาจันทร์ที่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งในสัดส่วนต่างๆ และนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์มีปริมาณซาโปนินทั้งหมดเพิ่มขึ้นมีค่าอยู่ระหว่าง 1.6744-4.4778 mg Genpenoside/ml และเมื่อนำค่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมด มาวิเคราะห์การถดถอยเพื่อหาแบบจำลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-expert 7 ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลอง และค่า Correlation of determination (R^2) ที่แสดงดังตารางที่ 33

จากผลการวิเคราะห์การถดถอยพบว่า แบบจำลองที่ใช้สำหรับอธิบายความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งที่มีการเติมในเครื่องต้มชาปัญญาจันทร์ต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมด มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99, 95 และ 99% ตามลำดับ และมีค่า R^2 ของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และปริมาณซาโปนินทั้งหมด เท่ากับ 0.8416, 0.8528 และ 0.9573 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองทั้งสามที่แสดงในตารางที่ 33 สามารถนำมาใช้อธิบายความสัมพันธ์ของชนิดและปริมาณสารปรุงแต่งที่มีต่อปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมดได้เป็นอย่างดีเนื่องจากมีค่า R^2 สูง

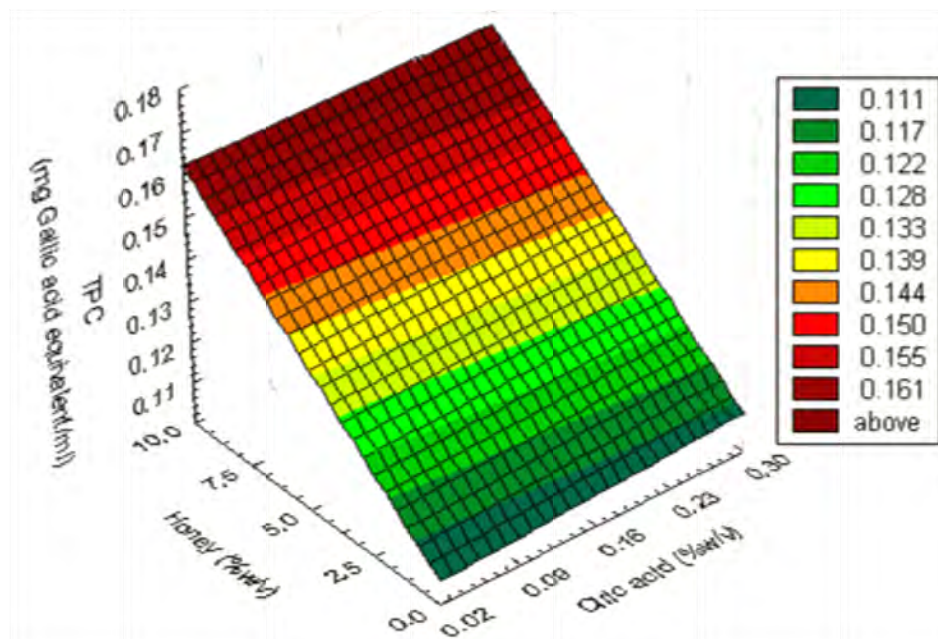
ตารางที่ 33 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) และซาโปนินทั้งหมด (TSC) ในเครื่องดื่มชาปัญญาจันทร์

| Parameters | TPC (mg Gallic acid equivalent/ml) | TFC (mg Rutin equivalent/ml) | TSC (mg Gypenoside equivalent/ml) |
|--------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------------|
| Model | <0.0001* | 0.0299** | 0.0005* |
| Intercept | 0.099670 | 0.46916 | -1.70684 |
| Citric acid (X_1) | 0.014173 | -0.82603 | 23.59461 |
| Fructose syrup (X_2) | 3.73231×10^{-3} | -0.040493 | 2.51573 |
| Honey (X_3) | 5.68315×10^{-3} * | -0.055492** | 0.43006* |
| Citric acid * Fructose syrup ($X_1 X_2$) | - | 0.092885 | -1.78057 |
| Citric acid * Honey($X_1 X_3$) | - | 0.098458** | 0.020142 |
| Fructose syrup * Honey($X_2 X_3$) | - | 5.99205×10^{-3} | -0.012184 |
| Citric acid ² (X_1^2) | - | 0.077147 | -71.01652* |
| Fructose syrup ² (X_2^2) | - | -3.00404×10^{-3} | -0.68701* |
| Honey ² (X_3^2) | - | 2.36854×10^{-3} ** | -0.022013** |
| R^2 | 0.8416 | 0.8528 | 0.9573 |

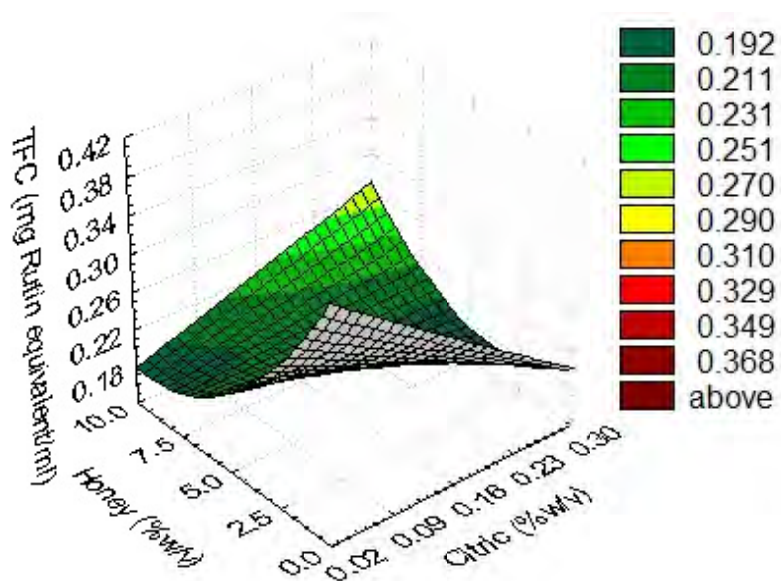
*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

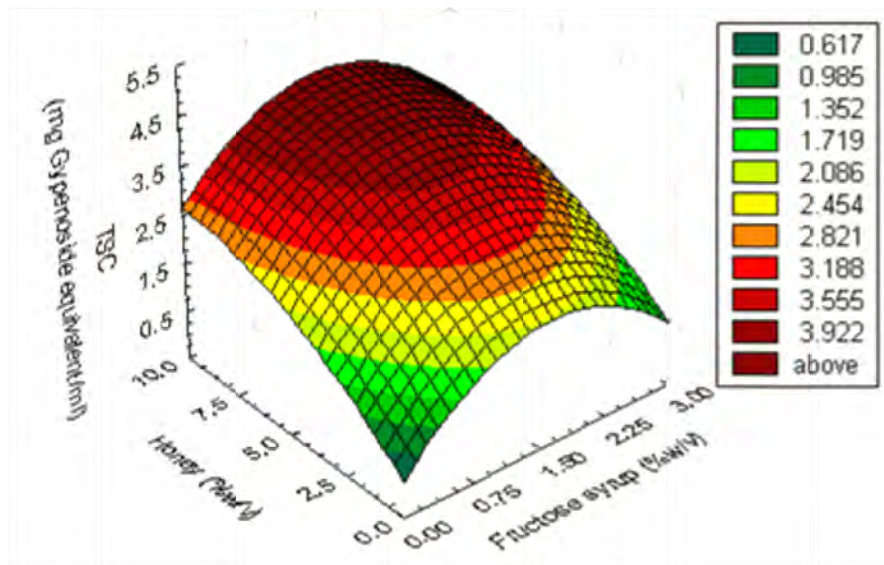
จากแบบจำลองของฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าปริมาณน้ำผึ้งที่เติมลงไปเครื่องดื่มมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับเมื่อนำแบบจำลองมาภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 24 เมื่อปริมาณน้ำผึ้งที่เติมลงในเครื่องดื่มเพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาณฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้นสำหรับแบบจำลองของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดพบว่าน้ำผึ้ง ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างกรดซิตริกและน้ำผึ้ง มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณฟลาโวนอยด์ในเครื่องดื่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% นำแบบจำลองมาภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 25 พบว่าที่ระดับการเติมน้ำผึ้งที่ระดับ 0-5.0%w/v ปริมาณกรดซิตริกที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ลดน้อยลงในทางตรงกันข้ามที่ระดับน้ำผึ้งมากกว่า 5%w/v ปริมาณกรดซิตริกที่เพิ่มขึ้นมีผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่วิเคราะห์ได้เพิ่มสูงขึ้นส่วนแบบจำลองของซาโปนินทั้งหมดพบว่าน้ำผึ้ง กรดซิตริกและน้ำเชื่อมฟรุคโตสมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณซาโปนินอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 และ 99%จากแผนภาพพื้นผิวตอบสนองแสดงดังรูปที่ 26 และ 27 พบว่าน้ำผึ้งที่เพิ่มสูงขึ้นทำให้ปริมาณซาโปนินที่วิเคราะห์ได้มากขึ้นในขณะที่การเติมน้ำเชื่อมฟรุคโตสในปริมาณ 0-1.5%w/v และการเติมกรดซิตริกในปริมาณ 0.02-0.16 การเพิ่มปริมาณของน้ำเชื่อมฟรุคโตสและกรดซิตริกที่เพิ่มขึ้นทำให้ปริมาณซาโปนินมากขึ้นในขณะที่การเติมน้ำเชื่อมฟรุคโตสมากกว่า 1.5%w/v และกรดซิตริกมากกว่า 0.16%w/v เมื่อปริมาณน้ำเชื่อมฟรุคโตสและกรดซิตริกที่เติมลงไปมากขึ้นปริมาณซาโปนินกลับลดลง



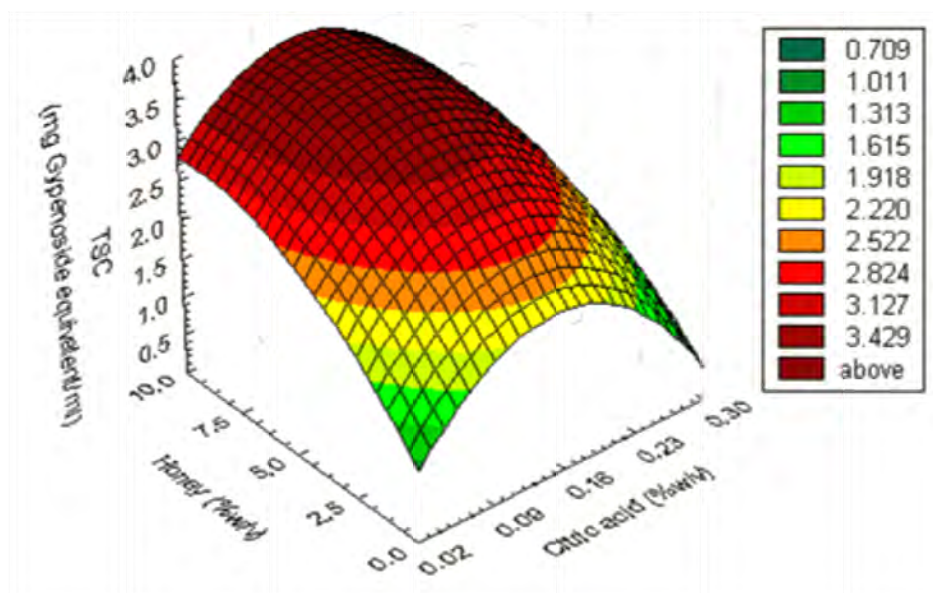
รูปที่ 24 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องต้มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)



รูปที่ 25 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องต้มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)



รูปที่ 26 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของน้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องต้มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณซาโปนินทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของกรดซิตริก($X_1=0.16\%w/v$)



รูปที่ 27 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องต้มชาปัญญาชั้นต่อปริมาณสารซาโปนินทั้งหมด ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำเชื่อมฟรุกโตส ($X_2=1.5\%w/v$)

4.3 ผลของกรดซิตริก ฟรุคโตสไซรัป และน้ำผึ้งต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตารางที่ 34 ผลของการเติมสารปรุงแต่งต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้น

| Run no. | X ₁ Citricacid (%w/v) | X ₂ Fructosesyrup (%w/v) | X ₃ Honey (%w/v) | DPPH (mg Trolox equivalent/ml) | FRAP (mg Trolox equivalent/ml) |
|---------|----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1 | 0.08 | 0.60 | 2.00 | 0.1353±0.0003 | 0.1944±0.0007 |
| 2 | 0.08 | 0.60 | 8.00 | 0.1400±0.0006 | 0.2003±0.0008 |
| 3 | 0.08 | 2.40 | 2.00 | 0.1387±0.0005 | 0.1988±0.0007 |
| 4 | 0.08 | 2.40 | 8.00 | 0.1426±0.0002 | 0.2297±0.0010 |
| 5 | 0.24 | 0.60 | 2.00 | 0.1274±0.0006 | 0.2301±0.0007 |
| 6 | 0.24 | 0.60 | 8.00 | 0.1268±0.0004 | 0.2289±0.0011 |
| 7 | 0.24 | 2.40 | 2.00 | 0.1292±0.0005 | 0.2357±0.0003 |
| 8 | 0.24 | 2.40 | 8.00 | 0.1289±0.0001 | 0.2340±0.0021 |
| 9 | 0.02 | 1.50 | 5.00 | 0.1468±0.0001 | 0.1962±0.0018 |
| 10 | 0.30 | 1.50 | 5.00 | 0.1236±0.0006 | 0.2242±0.0006 |
| 11 | 0.16 | 0.00 | 5.00 | 0.1243±0.0004 | 0.2066±0.0018 |
| 12 | 0.16 | 3.00 | 5.00 | 0.1308±0.0006 | 0.2199±0.0010 |
| 13 | 0.16 | 1.50 | 0.00 | 0.1303±0.0004 | 0.1858±0.0007 |
| 14 | 0.16 | 1.50 | 10.00 | 0.1328±0.0005 | 0.2281±0.0021 |
| 15 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1317±0.0001 | 0.1977±0.0010 |
| 16 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1324±0.0003 | 0.1981±0.0010 |
| 17 | 0.16 | 1.50 | 5.00 | 0.1319±0.0004 | 0.1983±0.0011 |

จากตารางที่ 34 แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ในเครื่องดื่มชาปัญญาชั้นที่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุคโตสและน้ำผึ้ง โดยน้ำชาปัญญาชั้นที่ไม่มีการเติมสารปรุงแต่ง และไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์นั้น มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 0.1225 mg Trolox equivalent/ml หลังจากนำน้ำชาปัญญาชั้นที่ไม่มีการเติม มาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยเป็น 0.1279 mg Trolox equivalent/ml และเมื่อนำน้ำชาปัญญาชั้นมาเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุคโตสและน้ำผึ้งที่ความเข้มข้นต่างๆและนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH อยู่ระหว่าง 0.1236-0.1468mg Trolox equivalent/ml

ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกในน้ำชาปัญญาชั้นที่ไม่มีการเติม และไม่ได้ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกเท่ากับ 0.1722mg Trolox equivalent/ml หลังจากนำน้ำชาปัญญาชั้นที่ไม่มีการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุคโตสและน้ำผึ้ง มาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก ลดลงเหลือ 0.1587mg Trolox equivalent/ml และเมื่อนำน้ำชาปัญญาชั้นมาเติมและนำไปผ่านการพาสเจอร์ไรส์ ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกเพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 1.6744-4.4778 mg Trolox equivalent/ml ซึ่งน้ำชาปัญญาชั้นที่ไม่มีการเติมแต่นำมาผ่านการพาสเจอร์ไรส์มีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกต่ำสุดและเมื่อนำค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกมาวิเคราะห์การถดถอยเพื่อหา

แบบจำลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design-expert 7ค่าสัมประสิทธิ์ของตัวแปรในแบบจำลอง และค่า R^2 แสดงดังตารางที่ 35

ตารางที่ 35 ผลของการวิเคราะห์การถดถอย ค่าสัมประสิทธิ์ และค่า R^2 ต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH(DPPH) ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ในเครื่องดื่มชาปัญจชันธุ์

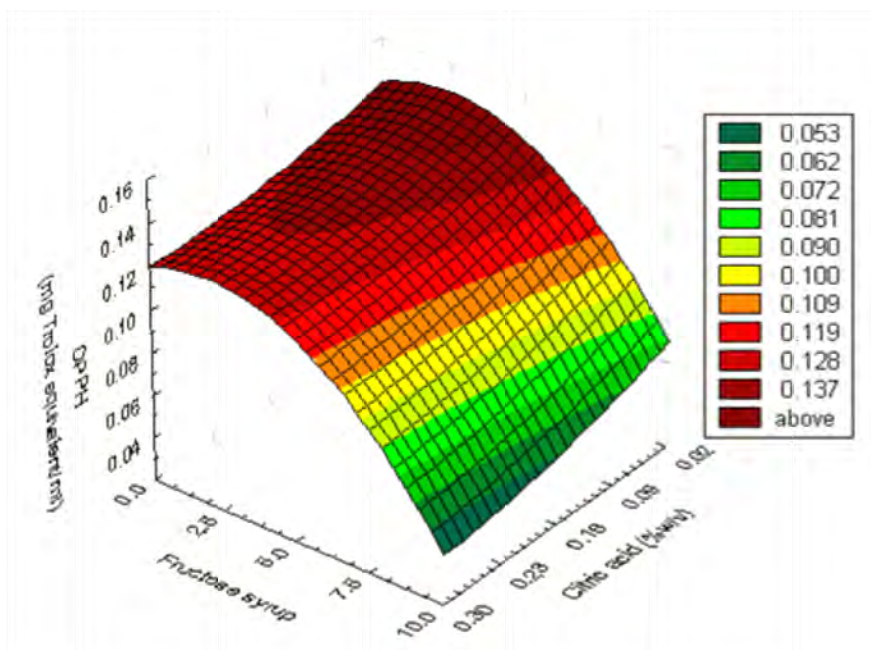
| Parameters | DPPH | FRAP |
|-------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | (mg Trolox equivalent/ml) | (mg Trolox equivalent/ml) |
| Model | 0.0003* | 0.0053* |
| Intercept | 0.13893 | 0.16924 |
| Citric acid (X_1) | -0.11945* | 0.13666* |
| Fructose syrup (X_2) | 6.34802×10^{-3} ** | 5.46020×10^{-3} |
| Honey (X_3) | 6.98987×10^{-4} | 2.57158×10^{-3} ** |
| Citric acid * Fructose syrup($X_1 X_2$) | -3.66133×10^{-3} | - |
| Citric acid * Honey($X_1 X_3$) | -4.92783×10^{-3} | - |
| Fructose syrup * Honey($X_2 X_3$) | -2.67198×10^{-5} | - |
| Citric acid ² (X_1^2) | 0.23243** | - |
| Fructose syrup ² (X_2^2) | -1.30984×10^{-3} | - |
| Honey ² (X_3^2) | 4.22549×10^{-4} | - |
| R^2 | 0.9632 | 0.6117 |

*ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% ($p < 0.01$)

**ปัจจัยที่มีผลต่อค่าตอบสนองที่คำนวณได้จากแบบทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

พบว่าแบบจำลองที่ใช้สำหรับอธิบายความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญจชันธุ์ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99% และมีค่า R^2 เท่ากับ 0.9632 และ 0.6117 ตามลำดับ ซึ่งความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริกไม่สามารถนำมาอธิบายความสัมพันธ์ได้เนื่องจากมีค่า R^2 ที่ต่ำ จึงมีเฉพาะแบบจำลองของค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPHที่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตสและน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญจชันธุ์ได้

จากแบบจำลองของค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่ากรดซิตริกและน้ำผึ้งที่เติมลงในเครื่องดื่มมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ปริมาณของกรดซิตริกและน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เติมลงในเครื่องดื่มเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง (รูปที่28)



รูปที่ 28 แผนภาพพื้นผิวตอบสนองของกรดซิตริกและน้ำเชื่อมฟรุกโตสที่เติมในเครื่องดื่มชาปัญจขันธ์ต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง ($X_3=5\%w/v$)

4.4 ปริมาณกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้ง ที่มีความเหมาะสม

ถึงแม้ว่าชนิดและสารปรุงแต่งที่เติมลงไปในการเครื่องดื่มจะมีผลต่อสี กลิ่น และรสชาติ ซึ่งส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค แต่จากการศึกษาพบว่าชนิดและปริมาณของสารปรุงแต่งที่เติมลงไปในการเครื่องดื่มยังมีผลทั้งต่อการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนั้นเครื่องดื่มชาสมุนไพรปัญจขันธ์นอกจากจะได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคแล้วจะต้องมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพอยู่สูงด้วย และเครื่องดื่มจะต้องมีค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการฆ่าเชื้อที่ใช้อุณหภูมิไม่สูงมากและใช้ระยะเวลาสั้น ดังนั้นเครื่องดื่มที่ได้จะต้องมีค่า pH ต่ำกว่า 4.6 ดังนั้นปริมาณกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้งสำหรับการผลิตเครื่องดื่มชาสมุนไพรปัญจขันธ์คือ กรดซิตริก 0.15 % (w/v) น้ำเชื่อมฟรุกโตส 2.14 % (w/v) น้ำผึ้ง 10% (w/v) โดยที่ปริมาณการเติมดังกล่าวมีค่า Desirability 0.689 และมีค่าการคาดคะเนของลักษณะเครื่องดื่มที่ได้ ดังนี้คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ 9 °Brix, pH เท่ากับ 4.28 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 0.1666 mg Gallic acid equivalent/ml ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 0.2337 mg Rutin equivalent/ml ปริมาณชาโพลีนทั้งหมด 4.0409 mg Gypenoside equivalent/ml ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH 0.1360 mg Trolox equivalent/ml และฤทธิ์การรีดิวซ์เฟอริก 0.2270 mg Trolox equivalent/ml

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง และข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

1. ปัจจัยที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ความคงตัวของซาโปนิน และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระหว่างกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มชาสมุนไพรปัญจชันธุ์ได้แก่

1.1 วัตถุดิบ : วัตถุดิบที่ใช้สำหรับทำชาปัญจชันธุ์นั้นจะมีอยู่ 2 แบบ คือ ใบ และลำต้นปัญจชันธุ์ จากการศึกษาพบว่าใบปัญจชันธุ์มีปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ น้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าในส่วนที่เป็นใบ ดังนั้นใบปัญจชันธุ์จึงมีความเหมาะสมที่จะนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเครื่องดื่มมากกว่าในส่วนที่เป็นลำต้น

1.2 การเตรียมใบชาปัญจชันธุ์ : ขั้นตอนในผลิตใบชาปัญจชันธุ์แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ซึ่งในแต่ละขั้นตอนนั้นจะใช้เวลาและใบปัญจชันธุ์จะมีอุณหภูมิที่แตกต่างกันคือ ขั้นตอนที่ 1 การตากแดดครั้งที่ 1 ใช้เวลา 120 นาที อุณหภูมิใบปัญจชันธุ์อยู่ระหว่าง 24-32 °C ขั้นตอนที่ 2 การคั่วครั้งที่ 1 ใช้เวลา 20 นาที อุณหภูมิใบปัญจชันธุ์อยู่ระหว่าง 32-82 °C ขั้นตอนที่ 3 การตากแดดครั้งที่ 2 ใช้เวลา 60 นาที อุณหภูมิใบปัญจชันธุ์ 82-26 °C ขั้นตอนที่ 4 การคั่วครั้งที่ 2 ใช้เวลา 10 นาที อุณหภูมิใบปัญจชันธุ์อยู่ระหว่าง 26-92 °C เนื่องจากในแต่ละขั้นตอนใช้เวลาและใบปัญจชันธุ์ได้รับความร้อนในปริมาณที่แตกต่างกันจึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมี ปริมาณของซาโปนิน และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระหว่างการเตรียมใบชาปัญจชันธุ์ที่แตกต่างกันดังนี้

การตากแดดครั้งที่ 1 มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลงในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์กลับเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับใบปัญจชันธุ์ก่อนตากแดด

การคั่วครั้งที่ 1 มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ซาโปนินทั้งหมด และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลงเมื่อเทียบกับใบปัญจชันธุ์ก่อนการคั่ว

การตากแดดครั้งที่ 2 และการคั่วครั้งที่ 2 มีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ปริมาณซาโปนินทั้งหมด และการออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดลงเมื่อเทียบกับใบปัญจชันธุ์ก่อนการตากแดดครั้งที่ 2 และการคั่วครั้งที่ 2

1.3 ขั้นตอนในการสกัดน้ำชา : ในสภาวะการสกัดที่ทำการศึกษาในช่วงอุณหภูมิ (50-90 °C) ระยะเวลา(5-55 นาที) และสัดส่วนใบชาปัญจชันธุ์ : น้ำ(0.32-3.68 %w/v) พบว่าอุณหภูมิ และสัดส่วนใบชาปัญจชันธุ์: น้ำ ที่ใช้ในการสกัดน้ำชามีผลต่อความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด และซาโปนินทั้งหมด และมีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำชาปัญจชันธุ์ที่สกัดได้ โดยเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นความสามารถในการสกัดสารเหล่านี้ก็เพิ่มสูงขึ้น เมื่อความสามารถในการสกัดเพิ่มสูงขึ้นจึงมีผลทำให้ปริมาณสารที่เป็นองค์ประกอบในน้ำชาที่สกัดได้มากขึ้นด้วย ส่วนปริมาณใบชาปัญจชันธุ์ที่ใช้ในการสกัดนั้นการใช้ปริมาณใบชาที่มากขึ้นนั้นจะทำให้ความสามารถหรือประสิทธิภาพในการสกัดสารต่างๆออกมาจากใบชาลดลงเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดเท่ากัน ในขณะที่ปริมาณของสารเหล่านี้และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำชาจะ

เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้น จากผลการทดลองถ้าปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นอาจต้องใช้เวลาในการสกัดให้นานกว่านี้จึงจะสามารถสกัดสารต่างๆได้เพิ่มมากขึ้น

1.4 ชนิดและปริมาณสารปรุงแต่งที่เติมลงในน้ำชา: สารปรุงแต่งที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ กรดซิตริก (0.02-0.30 %w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส(0-1.5 %w/v)) และน้ำผึ้ง(0-10 %w/v) ซึ่งสารปรุงแต่งต่างๆเหล่านี้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณซาโปนิน และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ การเติมสารปรุงแต่งทั้งสามชนิดนี้มีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเพิ่มสูงขึ้นเมื่อปริมาณที่เติมลงไปมากขึ้น ในขณะที่การเติมกรดซิตริกนอกจากจะทำให้รสชาติเปรี้ยวแก่เครื่องดื่มแล้วยังมีผลทำให้ค่า pH ของเครื่องดื่มลดลง ส่งผลให้การฆ่าเชื้อของเครื่องดื่มง่ายขึ้น สามารถทำการพาสเจอร์ไรซ์ได้ที่อุณหภูมิต่ำและระยะเวลาสั้นลง การเติมสารปรุงแต่งลงไปเครื่องดื่มทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ซาโปนินทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง

น้ำผึ้งเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่อยู่ในเครื่องดื่มที่เพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณน้ำผึ้งที่เติมในเครื่องดื่มมากขึ้น ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดนั้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำผึ้ง และปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างกรดซิตริกและน้ำผึ้ง โดยที่ระดับความเข้มข้นของน้ำผึ้ง 0-5 %w/v การเติมกรดซิตริกมากขึ้นทำให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ลดลง แต่ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำผึ้งมากกว่า 5 %w/v ปริมาณกรดซิตริกที่เติมลงไปมากขึ้นทำให้ปริมาณฟลาโวนอยด์กลับเพิ่มขึ้น ส่วนปริมาณซาโปนินทั้งหมดนั้นพบว่าสารปรุงแต่งทั้งสามชนิดมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณซาโปนินในเครื่องดื่ม โดยการเติมน้ำผึ้งลงในเครื่องดื่มในปริมาณที่มากขึ้นมีผลทำให้ปริมาณซาโปนินเพิ่มขึ้นในขณะที่การเติมน้ำเชื่อมฟรุคโตสและกรดซิตริกในปริมาณน้อยกว่าหรือมากกว่า 1.5 และ 0.16 %w/v ตามลำดับทำให้ปริมาณซาโปนินในเครื่องดื่มลดลง

กรดซิตริกที่เติมลงในเครื่องดื่มมีผลต่อทั้งความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และการรีดิวซ์เฟอร์ริกของเครื่องดื่ม ในขณะที่การเติมน้ำเชื่อมฟรุคโตสมีผลต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แต่ไม่มีผลต่อความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก ในทางกลับกันน้ำผึ้งที่เติมลงในเครื่องดื่มกลับมีผลต่อความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกแต่ไม่มีผลต่อความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

2.สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการแปรรูปเครื่องดื่มชาปัญจชัน

2.1 ใบปัญจชันที่เหมาะสมที่จะใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเครื่องดื่มชาสมุนไพรเนื่องจากมีสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าในลำต้น

2.2 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำชาปัญจชัน คือ สกัดที่อุณหภูมิ 90 °C ใช้เวลาในการสกัด 25 นาที และปริมาณใบชาที่ใช้ในการสกัดคือ 3%w/v

2.3 ปริมาณกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุคโตส และน้ำผึ้ง ที่มีความเหมาะสมสำหรับผลิตเครื่องดื่มชาปัญจชัน คือกรดซิตริก 0.15 % (w/v) น้ำเชื่อมฟรุคโตส 2.14 % (w/v) น้ำผึ้ง 10% (w/v)

3. ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

3.1 ถึงแม้ว่าในลำต้นจะมีปริมาณสารสำคัญและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าในใบ แต่ก็สามารถใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตเครื่องดื่มได้เช่นกัน ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาในส่วนลำต้นด้วย

3.2 การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาปริมาณสารแสดงผลออกมาในรูปสารสำคัญทั้งหมด จึงควรมีการศึกษาให้ละเอียดในเชิงลึกถึงขั้นการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณสารสำคัญที่สนใจ รวมทั้งควรมีการทดสอบการออกฤทธิ์ทางชีวภาพในด้านอื่นๆเพิ่มเติมด้วย

3.3 สารปรุงแต่งที่ใช้ในเครื่องดื่มมีหลากหลายจึงควรมีการศึกษาผลการใช้สารปรุงแต่งชนิดอื่นๆต่อสารสำคัญและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพเพิ่มเติม

เอกสารอ้างอิง

- คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2550. Glycoside. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา <http://www.friedli.com/herbs/phytochem/glycosides.html> (30 มีนาคม 2550).
- จารย์บัณฑิตและสุทธิดาไชยราช. 2547. *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb) Makino – 3.
นันทบุรี: สถาบันวิจัยสมุนไพรกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์.
- ณัฐวิ สิทธิไกรพงษ์. 2550. ประสิทธิภาพในการสกัดซาโปนินจากเจียวกู่หลาน โดยใช้เทคนิคไมโครเวฟและเทคนิคความดันสูงยิ่ง. คณะอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ไพโรจน์วิริยจारी, ตะวันบุ รีแก้ว และกนิษฐา บุญสวัสดิ์. 2542. การศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตชาจากเจียวกู่หลานหรืออมาชาซูรุ. รายงานความก้าวหน้าโครงการวิจัยการใช้ประโยชน์พืชสมุนไพรพื้นที่มูลนิธิโครงการหลวงคณะอุตสาหกรรมเกษตรมหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- วิรัชชัย อารีกุล. 2554. กระบวนการแปรรูปมีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สำคัญในชา. คณะอุตสาหกรรมเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- วีรศักดิ์เชื่อมโนชาญ. 2547. การควบคุมคุณภาพเจียวกู่หลาน. คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศิริวรรณสุทธจิตต์. 2548. ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติเพื่อสุขภาพ. เชียงใหม่: ธนุขพรินต์ติ้ง.
- สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2548. ปัญจชันธ์ *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. นันทบุรี: 1241 มิราคูลัส.
- สถาบันวิจัยสมุนไพร. 2551. ปัญจชันธ์หรือเจียวกู่หลานได้รับการประกาศยกย่องให้เป็นพืชสมุนไพรแห่งชาติปี 2548. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.pentamarket.net/jiavscha.php> (1 กรกฎาคม 2551).
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ พี.เอส.พรินท์, 2549
- Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong S.K., Lim K.K., Tan S.P., Lianto F.S. and Yong M.Y. (2009). Effects of drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food chemistry*. 113 : 166-172.
- Hostettmann, K. and Marston, A. 1995. saponin. NY. U.S.A: Cambridge University.
- Kimura, Y. Okuda, H. Arichi, S. and Takemoto, T. 1983. Effects of crude saponins of *Gynostemma pentaphyllum* on lipid metabolism. *Shoyakugaku Zasshi*, 37: 272-275.
- Li, L., Jiao, L. and Lau, B.H. 1993. Protection effect of gypenosides against oxidative stress in phagocytes, vascular endothelial cells and liver microsomes. *Cancer Biother*, 8(3): 263-272.
- Utama-ang, N. 2006. Development of Jiaogulan tea. Bangkok: Ph.D. Thesis, Kasetsart University.
- Xie, Z., Huang, H. Zhao, Y., Shi, H., Wang, S., Wang T. T. Y., Chen, P., and Yu, L. (2012). Chemical composition and anti-proliferative and anti-inflammatory effects of the leaf and whole-plant sample of diploid *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. *Journal of food chemistry*, 132: 125-13

7. ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่ยกไว้ในสัญญาโครงการ

ผลงานที่ยกไว้ในสัญญาโครงการ :

The Effect of Extraction Conditions on Antioxidant Properties in Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) Infusions.

2013 CIGR Section VII International Technical Symposium on “Advanced food processing and quality management” Guangzhou, China, 3-7 November, 2013

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- เชิงพาณิชย์ (มีการนำไปผลิต/ขาย/ก่อให้เกิดรายได้ หรือมีการนำไปประยุกต์ใช้โดยภาคธุรกิจ/บุคคลทั่วไป)
-
- เชิงนโยบาย (มีการกำหนดนโยบายอิงงานวิจัย/เกิดมาตรการใหม่/เปลี่ยนแปลงระเบียบข้อบังคับหรือวิธีทำงาน)
-
- เชิงสาธารณะ (มีเครือข่ายความร่วมมือ/สร้างกระแสความสนใจในวงกว้าง)
-
- เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)

ในงานวิจัยเรื่องนี้มีการศึกษาเฉพาะในใบของปลูจชั้นซึ่งมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าในส่วนลำต้น ถึงแม้ว่าในส่วนของลำต้นจะมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพน้อยกว่าแต่ก็สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้เช่นเดียวกับส่วนของใบ ดังนั้นจึงสนใจทำการศึกษาเพิ่มเติมในส่วนที่เป็นลำต้นควบคู่ไปกับการศึกษาในใบด้วยโดยนำมาใช้เป็นหัวข้อปัญหาพิเศษสำหรับนิสิตปริญญาตรี สาขาเทคโนโลยีการอาหาร ดังนี้ คือ

จิรัชศักดิ์ เหยียงเหี้ย, พรรณฤดี ประไพวีย์ และพัชรี โคแสงรักษา. 2554. **ปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีการอาหาร: การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในปลูจชั้นระหว่างการผลิต**. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ฉันทพร วิริยะดำรง และ วันัส ฉัตรชฎานุกูล. 2555. **ปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีการอาหาร: ผลของสภาวะในการสกัดต่อองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสารสกัดน้ำจากปลูจชั้น**. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

วิลาวัลย์ สุขสมแดน และ ปัญญา ชาลี. 2555. **ปัญหาพิเศษทางเทคโนโลยีการอาหาร: ผลของการเติมกรดซิตริก น้ำเชื่อมฟรุกโตส และน้ำผึ้งต่อสี องค์ประกอบทางเคมีและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเครื่องดื่มชาสมุนไพรปลูจชั้น**. ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนาศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

- อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)

ผลงานการศึกษาต่อยอดจากการทำวิจัยเรื่องนี้ นำเสนอในที่ประชุมวิชาการเกษตรครั้งที่ 14 วันที่ 28-29 มกราคม 2556 ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และตีพิมพ์ในวารสารแก่นเกษตร ฉบับพิเศษ

สุดาทิพย์ อินทร์ชื่น. 2556. **ซอร์พชันไอโซเทอมของความชื้นของชาสมุนไพรปลูจชั้น (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino).** *แก่นเกษตร*. 41: ฉบับพิเศษ 1, 585-591.

Manuscript

The Effect of Extraction Conditions on Antioxidant Properties in Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) Infusions

Sudathip Inchuen^{1*} and Sirithon Siriamornpun¹

¹Department of Food Technology and Nutrition, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantarawichai, Mahasarakham 44150, Thailand.

* The corresponding author: Tel. +6643 754085 ext. 1822 and
E-mail: sudathip4@hotmail.com,

Written for presentation at the
2013 CIGR Section VII International Technical Symposium on

“Advanced food processing and quality management”

Guangzhou, China, 3-7 November, 2013

Abstract. Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) is a Chinese medical herb used as a food and herbal tea which becomes popular in Thailand. In our research, Central Composite Design (CCD) was used to investigate the effect of process parameters of extraction from Panjakan tea on chemical compositions (total phenolic, total flavonoids and total saponin and reducing sugar contents) and antioxidant activities (DPPH-radical scavenging activity and ferric reducing antioxidative potential) in the infusions as well as to optimize for extraction process. Three independent variables namely extraction temperature (50 to 90 °C), extraction time (5 to 55 min) and tea : water ratio (0.32 to 3.68 %w/v) were studied. An increase of the tea : water ratio resulted in an increase of all values of parameters tested in the infusion tea while increasing the extraction temperature did not change total phenolic content and DPPH-radical scavenging activity. The extraction time significantly effected on only total flavonoids content, an increase in the content was observed when the extraction time was increased from 5 to 30 min while the longer extraction above 30 min caused the opposite effect. Considering the chemical composition and biological activity, the optimum conditions for extraction of Panjakan tea were extraction temperature of 90 °C, extraction time of 25 min and tea : water ratio of 3 %w/v.

Keywords: Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino), extraction, Antioxidant property, Response surface methodology

Introduction

Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino (Cucurbitacea) is a Chinese medical herb which is called “Jiaogulan” in Chinese and “Amachazura” in Japanese (Cui, et al., 1999). The important active components of Panjakan are saponin glycosides (called gypenosides) that closely related to the ginseng saponins. Indeed, gypenosides III, IV, VIII, XII and malonyl gypenosides III and VIII are identical to ginsenosides Rb₁, Rb₃, Rd, F₂ and malonyl ginsenosides Rb₁ and R_d, found in the roots of *Panax ginseng*. Because of this similarity to the expensive ginseng root, Panjakan has attracted much interest as a potential new plant drug. Pharmacological studies of the herb and the isolated saponins have shown various biological activities such as antitumor, cholesterol-lowering, immunopotentiating, antiulcer (Lewis and Hanson, 1991) antioxidants and the others (Chen et al, 1996; Hou et al., 1991; Li and Lau, 1993). From these activities, Panjakan becomes a popular health food supplements in Thailand. Tea beverage from Panjakan extracts is one of the most famous kinds of Panjakan products. The application of Panjakan infusions as functional food ingredients would require a study to establish the stability of active constituents to food processing treatment that including extraction. Recovery of extracts with the desired bioactive and their practical suitability for food and beverage production is an important aspect. Therefore, the objective of this research is to investigate the effect of process parameters of extraction from Panjakan tea on chemical compositions and antioxidant activities in the infusions as well as to optimize for extraction process.

Materials and methods

Materials: Panjakan (*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino) tea was supported from Phuchiangta Herbland Ltd. (Chaiyaphom province, Thailand).

Extraction: The tea powder was extracted by immersion in distilled water at selected ratio and time, then heating in water bath at selected temperature for several of time. The supernatant was collected for determination of reducing sugar, bioactive compound and antioxidant activity.

Determination of total phenolic content (TPC): The TPC was determined using the Folin-Ciocalteu methods described by Choi et al. (2006) with some modifications. In brief, 1 ml of each sample extract was mixed with 9 ml of distilled water, then added 0.5 ml the Folin-Ciocalteu reagent and finally added 2 ml of 10% sodium carbonate. After standing for 1 h at ambient temperature, the absorbance was read at 730 nm on UV-visible spectrophotometer (Shimadzu 1700, Japan). Gallic acid was used as the standard. The results were expressed as mg gallic acid equivalent (GAE) per ml of extract.

Determination of total flavonoid content (TFC): The TFC was determined using the aluminum colorimetric method described by Xie et al. (2010) with some modifications. In brief, 0.5 ml of each sample extract was mixed with 2.25 ml of distilled water and 0.15 ml of 5% sodium nitrite, then added 0.3 ml of 10% of aluminium nitrate and finally added 1 ml of 1 M sodium hydroxide. After standing for 15 min at ambient temperature, the absorbance was read at 502 nm on UV-visible spectrophotometer (Shimadzu 1700, Japan). Rutin was used as the standard. The results were expressed as mg rutin equivalents (RE) per ml of extract.

Determination of total saponin content (TSC): The TSC was determined using the method described by Xie et al. (2010). In brief, 0.1 ml of each sample extract was mixed with 0.2 ml of 5% vanillin in acetic and 0.8 ml of 70% perchloric acid. After incubating for 15 min at 60 °C and cooling down to ambient temperature, the absorbance was read at 550 nm on UV-visible spectrophotometer (Shimadzu 1700, Japan). Extraction of gypenosides from *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. The results were expressed as mg gypenosides equivalents (GPE) per ml of extract.

Determination of reducing sugar content (RSC): The RSC was determined using the dinitrosalicylate (DNS) method. Glucose was used as the standard. The results were expressed as mg glucose equivalents (GE) per ml of extract.

Determination of DPPH-radical scavenging activity (DPPH): DPPH was determined using the method described by Choi et al. (2006) with some modifications. In brief, 0.4 ml of each sample extract was mixed with 5 ml of 40% ethanol and 0.6 ml of 0.8 mM DPPH solution. After standing for 15 min under subdued light at ambient temperature, the absorbance was read at 517 nm on UV-visible spectrophotometer (Shimadzu 1700, Japan). The results were expressed as mg trolox equivalents (TE) per ml of extract.

Determination of ferric reducing antioxidative potential (FRAP): FRAP was determined using the method described by Wong et al. (2006) with some modifications. In brief, 0.1 ml of each sample extract was added with 3 ml of FRAP reagent which consist of 10 mM TPTZ in 40 mM HCl, 20 mM FeCl₃.6H₂O and 0.1 mM sodium acetate buffer, pH 3.6 in the ratio of 1:1:10. After standing for 8 min at ambient temperature, the absorbance was read at 593 nm on UV-visible spectrophotometer (Shimadzu 1700, Japan). The results were expressed as mg trolox equivalents (TE) per ml of extract.

Bioactive compounds yield: Bioactive compounds (total phenolic, total flavonoid, total saponin and reducing sugar) yield is calculated as the chemical content of extract divided by dried sample weight.

Experimental design and statistical analysis: A central composite design (CCD) was used to investigate the effect of process parameters of extraction from Panjakan on bioactive compounds and antioxidant activity as well as to determine those conditions that optimized the extraction process. For CCD and subsequent analysis, the software namely Design-expert 7 was used to generate the experimental designs, statistical analysis and regression model. The selected experimental design had three independent variables and five levels (Table 1) and consisted of seventeen runs, including three replicates of the center point. Three independent variables namely extraction temperature (X_1 , ranged from 50 to 90 °C), extraction time (X_2 , ranged from 5 to 55 min) and tea : water ratio (X_3 , ranged from 0.32 to 3.68 %w/v) were studied. For each independent variable, an experimental range was based on the performance of preliminary. Reducing sugar, total phenolic, total flavonoid, total saponin contents, DPPH-radical scavenging activity and ferric reducing antioxidative potential were chosen as the dependent variables or responses. Response surface plot was obtained using the fitted model, by keeping the least effective independent variable that generated with the software namely STATISITICA Module Switch.

Table 1 Experimental actual values and coded levels of the independent variables utilized for the CCD.

| Independent variable | Coded units | Coded variable level | | | | |
|-----------------------------|-------------|----------------------|----|----|----|------------|
| | | - α | -1 | 0 | +1 | + α |
| Extraction temperature (°C) | X_1 | 50 | 58 | 70 | 82 | 90 |
| Extraction time (min) | X_2 | 5 | 15 | 30 | 45 | 55 |
| Sample : water ratio (%w/v) | X_3 | 0.32 | 1 | 2 | 3 | 3.68 |

Results and discussion

The antioxidant activity of Panjakan is caused mainly by phenolic compounds, saponin and sugar. In this study, the total phenolic, total flavonoid, total saponin, reducing sugar and antioxidant activity of the extracts were studied. The extracts contained total phenolic ranging 0.0139 to 0.125 mg GAE/ml, total flavonoid ranging 0.0602 to 0.5105 g RE/ml, total saponin ranging 0.2672 to 2.6272 g GPE /ml and reducing sugar ranging 0.1040 to 0.7352 g GE/ml while it had DPPH and FRAP values of 0.0166 to 0.163 and 0.0198 to 0.2276 mg TE/ml.

Table 2 Regression equation coefficients and R² value for TPC, TFC, TSC and RSC

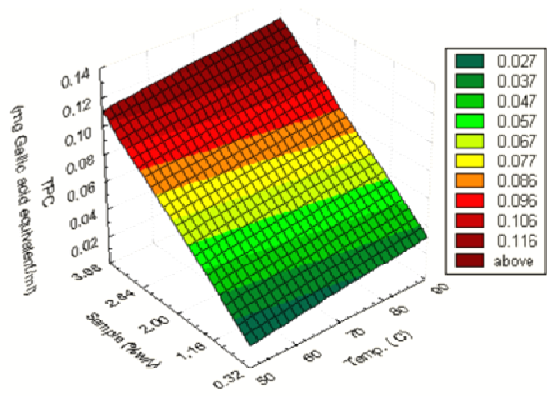
| Parameters | TPC (mg GAE/ml) | TFC (mg RE/ml) | TSC (mg GPE/ml) | RSC (mg GE/ml) | DPPH (mg TE/ml) | FRAP (mg TE/ml) |
|---------------------------------------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| Intercept | -0.0115708 | -0.0685478 | -0.2704996 | -0.108216 | 0.0273423 | -0.0393411 |
| Temperature (X ₁) | 3.7918x10 ⁻⁴ | 4.5214x10 ^{-4*} | 7.2348x10 ^{-3*} | 2.2488x10 ^{-3**} | -1.3813x10 ⁻³ | -7.065x10 ^{-4**} |
| Time (X ₂) | 1.69085x10 ⁻⁵ | 3.9403x10 ⁻³ | -1.5466x10 ⁻⁴ | 4.927x10 ⁻⁴ | -1.4152x10 ⁻⁴ | -6.5077x10 ⁻⁵ |
| Sample (X ₃) | 0.0280339* | 0.1148735* | 0.6083783* | 0.1712703* | 0.0650632* | 0.0591054* |
| Temperature * Time (X ₁ X ₂) | - | 8.06645x10 ⁻⁶ | - | - | -3.50743x10 ⁻⁶ | - |
| Temperature * Sample (X ₁ X ₃) | - | 9.5453x10 ⁻⁴ | - | - | -7.10965x10 ⁻⁶ | - |
| Time * Sample (X ₂ X ₃) | - | 6.9141x10 ⁻⁵ | - | - | -3.98141x10 ⁻⁵ | - |
| Temperature ² (X ₁ ²) | - | -6.43651x10 ⁻⁶ | - | - | 1.28407x10 ⁻⁵ | - |
| Time ² (X ₂ ²) | - | -7.63948x10 ^{-5*} | - | - | 7.61745x10 ⁻⁶ | - |
| Sample ² (X ₃ ²) | - | -0.013391** | - | - | -8.9432x10 ^{-3*} | - |
| Model | p<0.0001* | p<0.0001* | p<0.0001* | p<0.0001* | p<0.0001* | p<0.0001* |
| R ² | 0.9308 | 0.9938 | 0.9748 | 0.9438 | 0.9809 | 0.9609 |

* Parameter is significant to the predictive regression model (p<0.01)

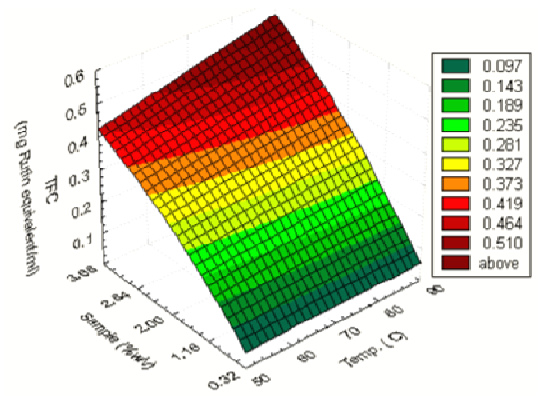
**Parameter is significant to the predictive regression model (p<0.05)

The suitable regression equation describing the effect of process variables of the extraction on TPC, TFC, TSC, RSC, DPPH and FRAP values in infusions are shown in Table 2. The results indicated that the correlation of experimental data and the results obtain from the model was acceptable (R² >0.93). The coefficients in the regression equation can be used to examine the significance of each parameter term relative to the predictive regression model.

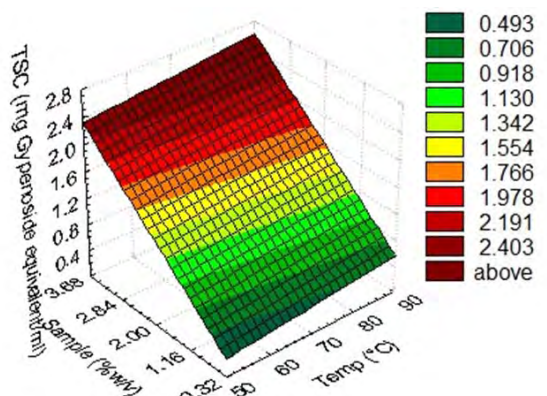
Fig.1 (A) shows the response surface for TPC, where the linear term of tea: water ratio had significant effect of the value (p<0.01). The content of TPC in the extract increased when tea: water ratio increased. The terms that had significant effects on flavonoid compounds were the linear term of extraction temperature (p<0.01), the linear term of tea : water ratio (p<0.01), the quadratic term of extraction time (p<0.01) and the quadratic term of tea : water ratio (p<0.05) had significant effect. As extraction temperature and tea : water ratio increased, TFC values significantly increased (Fig.1(B)). An increase in the extractability was observed when extraction time was increased from 5-30 min, while extraction time longer 30 min caused the opposite effect Fig.1(C) and (D) shows the response surface for TSC and RSC, where the linear term of extraction temperature (p<0.01 for TSC and p<0.05 for RSC) and the linear term of tea : water ratio (p<0.01) had significant effect on extractability of saponin and reducing sugar from the tea. Similarly to TFC, TSC and RSC in the extract increased when the temperature and tea : water ratio of extraction increased. Only the linear term and the quadratic of tea : water ratio (p<0.01) had significant effect on DPPH value while the linear term of extraction temperature (p<0.05) and the linear term of tea : water ratio (p<0.01) had significant effect on FRAP value. (Fig.1(E) and (F)) Considering the chemical composition and biological activity, the optimum conditions for extraction of Panjakan tea were extraction temperature of 90 °C, extraction time of 25 min and tea : water ratio of 3 %w/v.



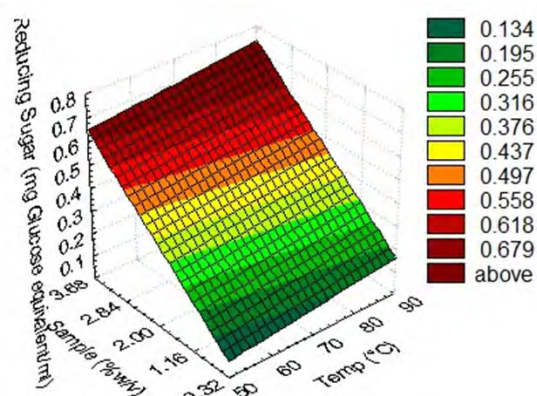
(A)



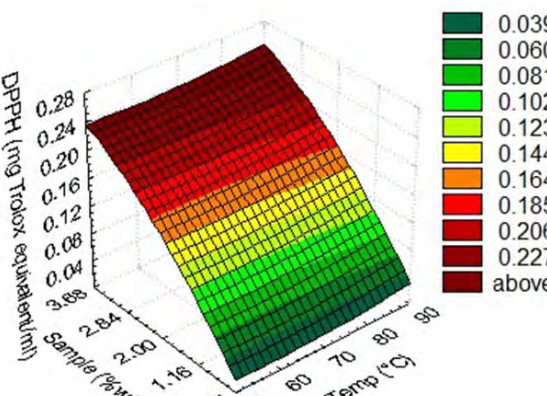
(B)



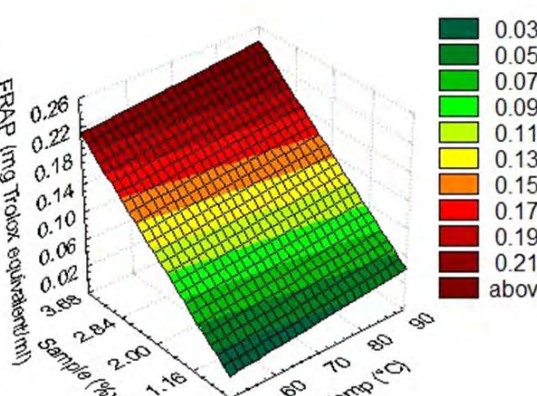
(C)



(D)



(E)



(F)

Fig1. Response surface for TPC (A), TFC (B), TSC (C), RSC (D), DPPH (E) and FRAP (F) values where extraction time was kept constant at 30 min ($X_2 = 30$ min)

Conclusions

In conclusion, The increasing extraction temperature and tea : water ratio, increased the bioactive compounds extractability. For extraction time had significance effect on only the flavonoids value. An increase in the flavonoids extractability was observed when extraction time was increased from 5-30 min, while extraction time longer 30 min caused the opposite effect. The optimum conditions for extraction of Panjakan tea were extraction temperature of 90 °C, extraction time of 25 min and tea : water ratio of 3 %w/v.

Acknowledgements

I would like to thank the Thailand Research Found (TRF) and the Commission on Higher Education and Mahasarakham University for research found.

References

- Chan E.W.C., Lim Y.Y., Wong S.K., Lim K.K., Tan S.P., Lianto, F.S. Yong M.Y., 2009. Effects of drying methods on the antioxidant properties of leaves and tea of ginger species. *Food chemistry*. 113 : 166-172.
- Chen, W.C., Hau, D.M., Chen, K.T., Wang, M.I., Lin, I.H., 1996. Protective effects of *Gynostemma pentaphyllum* in γ -irradiated mice. *Am.J.Chin.Med*, 24, 83-92.
- Cui, J.-F, Eneroth, P., Bruhn, J.G., 1999. *Gynostemma pentaphyllum* : idenrification of major saponins and differentiation from *Panax* species. *European J. Phamaceutical Science*. 8, 187-191.
- Hou, J., Liu, S., Ma, Z., Lang, X., Wang, J., Liang, Z., 1991. Effect of *Gynostemma pentaphyllum* Makino and the immunological function of cancer patient. *J. Trad. Chin.Med*. 11, 47-52.
- Lewis, D.A., Hanson, P.J., 1991. Anti-ulcer drugs of plant origin. *Progress in Medical Chemistry*. 28, 201-231.
- Li, L., Lau, B.H.S., 1993. Production of vascular endothelial cells from hydrogen peroxide induced oxidant injury by gypenosides, saponins of *Gynostemma pentaphyllum* . *Phytother. Res*. 7, 299-304.
- Xie, Z., Huang, H. Zhao, Y., Shi, H., Wang, S., Wang T. T. Y., Chen, P., Yu, L., 2012. Chemical composition and anti-proliferative and anti-inflammatory effects of the leaf and whole-plant sample of diploid *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino. *Journal of food chemistry*, 132: 125-133