

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชง

ณภศศิ สุรวรรณ

สารนิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์

พ.ศ. 2564

STUDY OF ANTIOXIDANT OF TEA

NAPASASI SURAWAN

A Thematic Paper Submitted in Partial Fulfillment of Requirements

For the Degree of Master of Science

Department of Anti-aging and Regenerative Medicine

College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University

2021



ใบรับรองสารนิพนธ์

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

หัวข้อสารนิพนธ์ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมขง
เสนอโดย ณภศศิ สุวรรณ
สาขาวิชา วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
กลุ่มวิชา วิทยาศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพีชน์

ได้พิจารณาเห็นชอบ โดยคณะกรรมการสอบสารนิพนธ์แล้ว

..... ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันโท ดร. นายแพทย์ พิชชา สุวรรณหิตาทร)

..... กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เอกราช บำรุงพีชน์)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ พันธุ์ศักดิ์ สุกระฤกษ์)

วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ รับรองแล้ว

..... คณบดีวิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นายแพทย์พัฒนา เต็งอำนวย)

วันที่22... เดือน ..ม.ค.พ.ศ.ม... พ.ศ. 2564.....

หัวข้อสารนิพนธ์	การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชง
ชื่อผู้เขียน	ณภศศิ สุวรรณ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกราช บำรุงพีชน์
สาขาวิชา	วิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ
ปีการศึกษา	2563

บทคัดย่อ

ชาถือว่าเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมในการบริโภคเป็นอย่างมาก ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและคุณสมบัติอื่น ๆ ที่มีส่วนสำคัญในการช่วยสร้างเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรค การวิจัยนี้มุ่งเน้นไปที่การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชงในรูปแบบวิชัยเชิงทดลองด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และ Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว ชาจิง ชากุหลาบ ชาคาโมมายล์ และชาใบหม่อน จากผลการวิจัยพบว่าการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC ชาชนิดของพร้อมชงที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจนถึงต่ำที่สุด คือ ชาขาว (285.93 ± 82.34 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชาเขียว (245.63 ± 64.83 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชาอู่หลง (228.00 ± 171.70 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชาคาโมมายล์ (217.10 ± 101.54 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชาจิง (157.45 ± 76.44 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชากุหลาบ (122.05 ± 7.57 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ชาใบหม่อน (115.10 ± 40.45 $\mu\text{M Trolox/mg}$) และ ชาดำ (101.60 ± 52.55 $\mu\text{M Trolox/mg}$) ตามลำดับ และผลการศึกษาการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ชาชนิดของพร้อมชงที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจนถึงต่ำที่สุด คือ ชาดำ (41.30 ± 18.50 mM TE/mg) ชาขาว (34.77 ± 10.52 mM TE/mg) ชาเขียว (26.30 ± 4.50 mM TE/mg) ชาอู่หลง (19.83 ± 13.94 mM TE/mg) ชากุหลาบ (15.75 ± 6.58 mM TE/mg) ชาคาโมมายล์ (1.80 ± 1.70 mM TE/mg) ชาใบหม่อน (1.25 ± 0.92 mM TE/mg) และ ชาจิง (0.75 ± 0.35 mM TE/mg) ตามลำดับ ซึ่งผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชงถือเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่จะช่วยในการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระให้แก่ร่างกาย

คำสำคัญ: ชา / สารต้านอนุมูลอิสระ / Radical Absorbance Capacity (ORAC) / Ferric Reducing Antioxidant (FRAP)

Dissertation Title	STUDY OF ANTIOXIDANT OF TEA BAG
Author	Napasasi Surawan
Thematic Paper Advisor	Asst.Prof. Dr.Akkarach Bumrungpert
Department	Anti-aging and Regenerative Medicine
Academic Year	2020

ABSTRACT

Tea is a very popular drink that has antioxidant and other properties are a role in promoting health and preventing disease. This research focuses on the antioxidant activity of tea bag in an experimental research model by Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) and Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) in green tea, black tea, oolong tea, white tea, ginger tea, rose tea, chamomile tea and mulberry tea. The research results show that the antioxidant activity with ORAC method of ready-to-brew tea has the highest to the lowest score is White tea (285.93 ± 82.34 μM Trolox/mg), Green tea (245.63 ± 64.83 μM Trolox/mg), Oolong tea (228.00 ± 171.70 μM Trolox/mg), Chamomile tea (217.10 ± 101.54 μM Trolox/mg), Ginger tea (157.45 ± 76.44 μM Trolox/mg), Rose tea (122.05 ± 7.57 μM Trolox/mg), Mulberry Tea (115.10 ± 40.45 μM Trolox/mg) and Black tea (101.60 ± 52.55 μM Trolox/mg) respectively. And the antioxidant activity with FRAP method of ready-to-brew tea has the highest to the lowest score is Black tea (41.30 ± 18.50 mM TE/mg), White tea (34.77 ± 10.52 mM TE/mg), Green tea (26.30 ± 4.50 mM TE/mg), Oolong tea (19.83 ± 13.94 mM TE/mg), Rose tea (15.75 ± 6.58 mM TE/mg), Chamomile tea (1.80 ± 1.70 mM TE/mg), Mulberry Tea (1.25 ± 0.92 mM TE/mg) and Ginger tea (0.75 ± 0.35 mM TE/mg) respectively. The tea bag is the one of products that help to add antioxidants to the body.

KEYWORDS: TEA / ANTIOXIDANT / RADICAL ABSORBANCE CAPACITY (ORAC) / FERRIC REDUCING ANTIOXIDANT (FRAP)

กิตติกรรมประกาศ

สารนิพนธ์ฉบับนี้สามารถสำเร็จลุล่วงเป็นอย่างดีโดยได้รับการสนับสนุนและความช่วยเหลือจากหลายบุคคล โดยเฉพาะ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เอกราช บำรุงพืชน์ ที่กรุณารับเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาสารนิพนธ์ ที่ได้สละเวลาอันมีค่าตรวจสอบแก้ไขข้อบกพร่อง และเสนอแนวทางในการศึกษาค้นคว้าด้วยความเอาใจใส่เป็นอย่างดี ตั้งแต่เริ่มทำสารนิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ผู้ศึกษาขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ พ.ท.ศ.ดร.นพ.พิชา สุวรรณหิตาทร ที่ได้ให้ความกรุณาารับเป็นประธานกรรมการสอบสารนิพนธ์ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.พันธศักดิ์ สุกระฤกษ์ ที่ได้ให้ความกรุณาารับเป็นกรรมการสอบ โดยท่านคณะกรรมการสอบและท่านอาจารย์ที่ปรึกษาได้ให้ข้อคิดอันมีค่า ตลอดจนชี้แนะแนวทางในการปรับปรุงแก้ไขให้สารนิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณครอบครัวที่มอบ โอกาส ความรัก และความเอาใจใส่ให้แก่ผู้วิจัย และ กัลยาณมิตรที่ดีของผู้วิจัยทุกท่านที่เป็นกำลังใจ และมอบแรงสนับสนุนให้แก่ผู้วิจัยได้ดำเนินสารนิพนธ์ฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วง รวมทั้งขอขอบคุณเป็นพิเศษสำหรับทุกท่านที่ให้การสนับสนุนผู้วิจัยในการทำสารนิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ไม่ว่าทางตรงหรือทางอ้อม

สุดท้ายนี้หวังเป็นอย่างยิ่งว่าสารนิพนธ์ฉบับนี้คงเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่มีความสนใจศึกษาไม่มากนักน้อย

ณภศศิ สุวรรณ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	๗
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	๘
กิตติกรรมประกาศ.....	๑
สารบัญตาราง.....	๗
สารบัญภาพ.....	๘
บทที่	
1. บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและที่มาความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานของงานวิจัย.....	2
1.4 ขอบเขตของการศึกษา.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ.....	3
2. แนวคิด ทฤษฎี และการทบทวนวรรณกรรม.....	4
2.1 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับอนุมูลอิสระ (Free radicals) และ สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant).....	4
2.2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูล อิสระในหลอดทดลอง (In vitro).....	10
2.3 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชา...	13
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	18
3. วิธีดำเนินงานวิจัย.....	21
3.1 วิธีดำเนินการวิจัย.....	21
3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ.....	22
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล.....	25
4. ผลการวิจัย.....	25

สารบัญ (ต่อ)

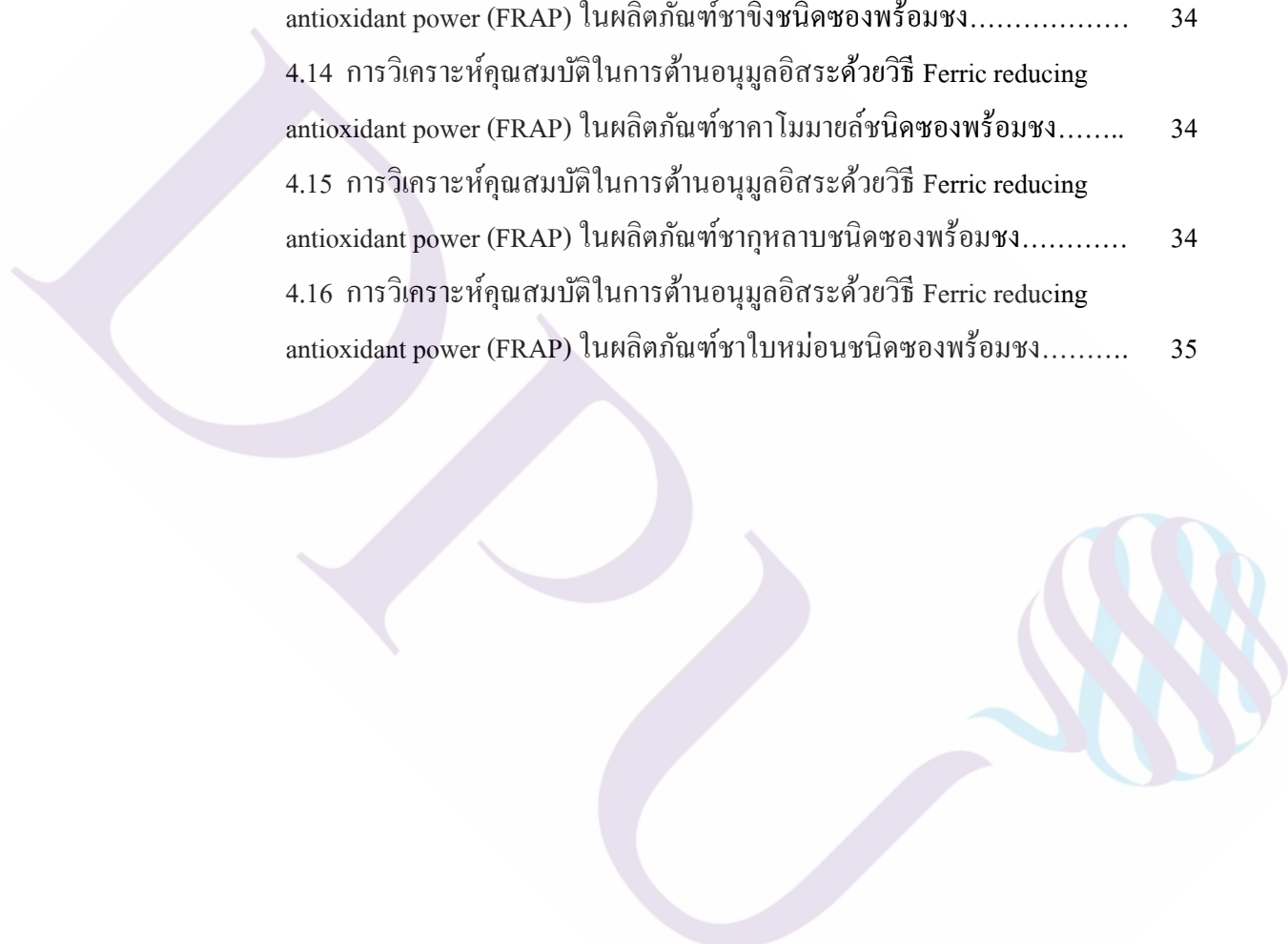
บทที่	หน้า
4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC).....	25
4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP).....	32
5. อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ.....	38
5.1 อภิปรายผลวิจัย.....	38
5.2 สรุปผลการวิจัย.....	39
5.3 ข้อจำกัด.....	40
5.4 ข้อเสนอแนะ.....	40
บรรณานุกรม.....	41
ประวัติผู้วิจัย.....	47

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ชนิดของ Reactive Oxygen Species และการเกิดปฏิกิริยา.....	5
2.2 ชนิดของชาแบ่งตามกระบวนการผลิต.....	13
2.3 ประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของชาแต่ละชนิด.....	15
4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง.....	25
4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง.....	26
4.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมชง.....	26
4.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมชง.....	27
4.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชิงชนิดของพร้อมชง.....	27
4.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง.....	28
4.7 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง.....	28
4.8 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง.....	28
4.9 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง.....	32
4.10 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง.....	32
4.11 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมชง.....	33

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมชง.....	33
4.13 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง.....	34
4.14 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง.....	34
4.15 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง.....	34
4.16 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง.....	35



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระ.....	8
2.2 การสร้างอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) และการต้านอนุมูลอิสระ ในร่างกายที่ส่งผลต่อสุขภาพ.....	9
2.3 หลักการทดสอบโดยวิธี Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC assay)...	11
2.4 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC assay).....	12
2.5 หลักการทดสอบโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay).....	12
2.6 กระบวนการผลิตชา (Camellia sinensis) แต่ละชนิด.....	15
2.7 แสดง chemical compounds ที่พบได้ในชาทั้ง 6 ชนิด.....	17
2.8 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ Catechins.....	18
4.1 แสดงการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง.....	30
4.2 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง.....	31
4.3 แสดงการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง.....	36
4.4 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง.....	37

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและที่มาความสำคัญ

“ชา” ซึ่งเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางมาหลายทศวรรษสืบมา ปัจจุบันความสนใจในการบริโภคชาครอบคลุมหลายกลุ่มอายุมากขึ้น ทั้งผู้สูงอายุ วัยรุ่นและวัยทำงาน ประกอบกับมีผลิตภัณฑ์ชาให้ผู้บริโภคเลือกดื่มได้หลากหลายมากขึ้น หนึ่งในนั้นคือชาชนิดซองพร้อมซอง (Tea bags) ทั้งนี้ ชาที่เป็นที่รู้จักและได้รับความนิยมในปัจจุบันนั้นมีหลายชนิด ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ ความแตกต่างของชาแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับกระบวนการในการผลิต (ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว) และประเภทของวัตถุดิบหลัก (ชาสมุนไพร) มีรายงานจากการศึกษาวิจัยจำนวนมาก ทั้งในหลอดทดลอง สัตว์ทดลอง และการศึกษาวิจัยในมนุษย์ ได้รายงานถึงคุณประโยชน์ของชาที่อยู่มามาย โดยเฉพาะการศึกษาถึงคุณสมบัติหลักที่สำคัญซึ่งพบในชาทุกชนิด คือ คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Luczaj, W et al., 2005; Tsai, Pu-His et al., 2006; Kart, Dilay et al., 2017 & Chen, W et al., 2014) และคุณสมบัติอื่น ๆ ที่มีส่วนช่วยในการสร้างเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรค เช่น ชาเขียวมีคุณสมบัติในการป้องกันโรคมะเร็ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคเกี่ยวกับการเสื่อมของระบบประสาท รวมถึงคุณสมบัติในการป้องกันการอักเสบ (Miyata, Y et al., 2019; Guo et al, 2017; Suzuki, T et al., 2016; Haidari, F et al., 2013; Pervin, M et al., 2018; Xu, R et al., 2020) ชาดำและชาอู่หลง ช่วยลดไขมันในเลือด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด และช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Vinson J.A et al., 1998; He R.R et al., 2009; Woodward K et al., 2018; van Dieren et al., 2009; Fuchs et al., 2016 & Yang et al., 2014) ชาขาว ช่วยลดความเครียด (Yoto A et al., 2014) และชาสมุนไพรต่าง ๆ อาทิ ชากุหลาบ ชาใบหม่อน ชาคาโมมายล์ และ ชาจิง ซึ่งล้วนมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลาย ๆ ด้าน ทั้งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือดเป็นต้น (Kart D et al., 2017; Luo H et al., 2017; Kim J.Y et al., 2015; Phimarn W et al., 2017; Huang J et al., 2018; Alizadeh-Navaei et al., 2008; Ryan et al., 2012; & Chen W et al., 2014)

มีหลายการศึกษาที่ผ่านมาได้รายงานถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาแต่ละชนิด ดังเช่นการศึกษาในปี 2002 พบว่า ชาเขียวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาดำ (Lee, Ket al., 2002) Xinguo และคณะ พบว่า สารคาเทชินในชาอู่หลง ได้แก่ EGC และ EGCG มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย (Su X et al.,2007) เป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาในปี 2015 ซึ่งได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาประเภทชาพร้อมดื่มระหว่าง ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และชาขาว โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และ Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) พบว่า ชาเขียวมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาอู่หลง ชาขาว และชาดำ ตามลำดับ (Bumrungpert et al, 2015) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Zeinab และคณะ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างชาชนิดของพร้อมชง และชาใบ (loose tea) ด้วยวิธี FRAP และ Folin-Ciocalteu methods พบว่า ชาชนิดชงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบอย่างมีนัยสำคัญ (Nikniaz Z et al., 2016) อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันข้อมูลการศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดชงพร้อมชงที่วางขายในท้องตลาดประเทศไทยยังมีอยู่จำกัด ทั้งนี้ ผลจากการศึกษานี้จะเป็นฐานข้อมูลให้กับผู้บริโภคเกี่ยวกับคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดชงพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย และเพื่อเป็นประโยชน์ในการเลือกพิจารณาบริโภคผลิตภัณฑ์ชาชนิดชงพร้อมชงของผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ชาชนิดชงพร้อมชง ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ

1.3 สมมติฐานของงานวิจัย

ชาชนิดชงพร้อมชงในท้องตลาด ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 ขอบเขตด้านเนื้อหา

งานวิจัยครั้งนี้ใช้รูปแบบวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) โดยนำชาชนิดชงพร้อมชงที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ มา

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และ Ferric Reducing Antioxidant (FRAP)

1.4.2 ขอบเขตเชิงตัวแปร

ตัวแปรต้น: ชาชนิดของพร้อมชง ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรร

ตัวแปรตาม: ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

ตัวแปรควบคุม: ตัวทำละลาย ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ น้ำหนักของตัวอย่างชา และระยะเวลาในการทดลอง

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 เพื่อเป็นฐานข้อมูลให้กับผู้บริโภคเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

1.5.2 เพื่อให้เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในการพิจารณาเลือกบริโภคชาชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1.6.1 Antioxidant activity หมายถึง ความสามารถของสารต้านออกซิเดชันที่จะยับยั้งหรือป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

1.6.2 ORAC score หมายถึง คะแนนที่ได้จากการทดลองหาค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาหารจากห้องปฏิบัติการ

1.6.3 FRAP หมายถึง วิธีการหนึ่งที่ใช้ในการตรวจความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนสีของสารประกอบเชิงซ้อน

1.6.4 ชาเขียว หมายถึง ใบชาที่ไม่ได้ถูกทิ้งให้สลดและไม่ได้ผ่านกระบวนการบ่ม

1.6.5 ชาดำ หมายถึง ใบชาที่ทิ้งให้สลด (อาจมีการนวดอย่างแรง) และผ่านการบ่มเต็มกระบวนการ

1.6.6 ชาอู่หลง หมายถึง ใบชาที่ทิ้งให้สลด นวดและผ่านกระบวนการบ่มเล็กน้อย (เป็นชาดำชนิดหนึ่ง)

1.6.7 ชาขาว หมายถึง ใบชาที่ถูกทิ้งให้สลด และไม่ได้ผ่านกระบวนการบ่ม

1.6.8 ชาสมุนไพรร หมายถึง ใบไม้ ดอกไม้ หรือผลของพืช/สมุนไพรรชนิดอื่นที่ไม่ใช่ต้นชา โดยนำมาผ่านกระบวนการอบหรือตากแห้งก่อนนำมาชง

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎี และ การทบทวนวรรณกรรม

การศึกษาด้านอนุมูลอิสระของชาชนิตของพร้อมขง ผู้วิจัยได้มีการทบทวนแนวคิด ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องเพื่อนำมาใช้เป็นกรอบในการศึกษาและวิเคราะห์ข้อมูลในการ ศึกษาวิจัยของตนเอง ดังนี้

- 2.1 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับอนุมูลอิสระ (Free radicals) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)
- 2.2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ
- 2.3 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชา
- 2.4 งานวิจัยก่อนหน้า

2.1 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวกับอนุมูลอิสระ (Free radicals) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

2.1.1 อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ (Free radicals) คืออะตอม โมเลกุลหรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ จึงมีความไม่เสถียร สามารถเข้าทำปฏิกิริยาทางเคมีกับโมเลกุลอื่นได้ว่องไว มีอายุสั้น (Kumar & Pandey, 2015) ซึ่งโดยปกติในร่างกายจะมีโมเลกุลหรืออะตอมที่มีอิเล็กตรอนอยู่เป็นจำนวนคู่ ในกรณีที่ร่างกายมีการสูญเสียอิเล็กตรอนจากการถูกอนุมูลอิสระแย่งจับ ผลที่ตามมาคือโมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียอิเล็กตรอนหรือรับอิเล็กตรอน จะกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ซึ่งจะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้ขาดความสมดุลและส่งผลให้เซลล์ในร่างกายถูกทำลายเกิดความเสียหายได้ โดยอนุมูลอิสระที่แย่งจับกับอิเล็กตรอนนี้เองทำให้เรียกได้ว่าเป็นสาร oxidants ส่วนโมเลกุลที่สูญเสียอิเล็กตรอนเช่นสารต้านอนุมูลอิสระเรียกว่า reductants (Lobo et al., 2010)

โดยปกติอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้ภายในร่างกายจากกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในไมโทคอนเดรียเพื่อผลิตพลังงานภายในเซลล์อยู่ตลอดเวลา (Adwas Almokhtar A et al., 2019) การทำปฏิกิริยาที่ใช้ Oxygen เรียกว่า Reactive Oxygen Species (ROS) และปฏิกิริยาที่ใช้ Nitrogen เรียกว่า

Reactive Nitrogen Species (RNS) โดยที่ส่วนใหญ่ ROS มีบทบาทสำคัญต่อการควบคุมการทำงานของเซลล์ (Devasagayam et al., 2004) มีความไวต่อปฏิกิริยา oxidation ในร่างกายและเป้าหมายหลักในการโจมตีของ ROS และอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ โปรตีน, กรดนิวคลีอิก (DNA และ RNA) น้ำตาล และไขมันในนิวเคลียสและเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์/DNA ถูกทำลายและเกิดความเสียหายต่ออวัยวะในร่างกายตามมา (Lobo et al., 2010, Kumar et al., 2015) ซึ่งชนิดของ ROS และการเกิดปฏิกิริยาแสดงดังตารางที่ 1 ส่วน RNS ที่สำคัญก็คือ Nitric oxide (NO•) เป็นโมเลกุลขนาดเล็กที่สร้างขึ้นในเซลล์เยื่อหุ้มผนังหลอดเลือดโดย Nitric oxide synthases (NOS)s ซึ่งแปลง L-arginine เป็น L-citrulline โดย Nitric oxide (NO•) มีส่วนสำคัญในการส่งสัญญาณกระตุ้น guanylate cyclase และ protein kinases เพื่อคลายกล้ามเนื้อเรียบในหลอดเลือด และมีส่วนช่วยเป็น neurotransmitter, จาก การกระตุ้น โดย macrophage เป็นส่วนหนึ่งของตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันและการอักเสบ (Adwas Almokhtar A et al., 2019)

ตารางที่ 2.1 ชนิดของ Reactive Oxygen Species และการเกิดปฏิกิริยา

ชื่อเรียก	โครงสร้าง	ครึ่งชีวิต	การเกิดปฏิกิริยา
Superoxide	$O_2^{\bullet-}$	10^{-6} วินาที	โมเลกุลออกซิเจน (O_2) รับอิเล็กตรอนเข้าไป ซึ่งเกิดขึ้นใน mitochondria ของเซลล์ทั่วไปและเกิดได้บ่อยที่สุด นอกจากนี้ยังให้อิเล็กตรอนกับเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) กลายเป็นสารอนุมูลอิสระ H_2O_2 เป็นตัวตั้งต้นในการเกิด ROS ตัวอื่นตามมา
Hydroxyl radical	$\bullet OH$	10^{-9} วินาที	เป็นโมเลกุลที่มีปฏิกิริยาไวที่สุดและอันตรายมากที่สุด โดยปฏิกิริยาเฟนตัน (Fenton) ระหว่าง H_2O_2 และ $O_2^{\bullet-}$ เร่งปฏิกิริยาโดยโลหะทรานซิชัน เช่น Fe (Fe^{2+} , Fe^{3+}) ซึ่งสามารถทำลายโมเลกุลทุกชนิดที่ใกล้เคียงรวมไปถึง โปรตีน DNA น้ำตาล และไขมัน $\bullet OH$ ไม่สามารถกำจัดได้โดยปฏิกิริยาที่ใช้เอนไซม์
Hydrogen peroxide	H_2O_2	เสถียร	เป็น non- free radical ที่แปลงรูปมาจาก Superoxide ($O_2^{\bullet-}$) โดยเอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) มี

ชื่อเรียก	โครงสร้าง	ครึ่งชีวิต	การเกิดปฏิกิริยา
			ความไวในการเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation และเป็นสารตั้งต้นที่นำไปสู่การเกิด $\cdot\text{OH}$ อย่างไรก็ตาม ในร่างกายจะมีเอนไซม์ catalase (CAT) และ glutathione peroxidase (GPX) ที่ทำหน้าที่เปลี่ยน H_2O_2 ไปเป็นน้ำและออกซิเจนได้
Peroxyl radical	$\text{ROO}\cdot$	17 วินาที	เป็นปฏิกิริยาที่เกิดกับพวกราดไขมันไม่อิ่มตัว (Polyunsaturated Free Fatty Acid, PUFAs) ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยา lipid peroxidation
Organic hydroperoxide	ROOH	เสถียร	เป็นสารที่มีความเสถียร (non-free radical) แต่หากมีไอออนโลหะเช่น Fe^{2+} จะทำให้ไอออนโลหะไปออกซิไดซ์ ROOH เกิดเป็น $\text{RO}\cdot$ ซึ่งเป็นลูกโซ่ต่อไปเรื่อย ๆ ในร่างกายมีเอนไซม์ glutathione peroxidase (GPX) ช่วยขจัด ROOH และ H_2O_2
Singlet oxygen	$^1\text{O}_2$	10^{-6} วินาที	โมเลกุลออกซิเจนที่ไม่มีอนุมูลหรืออิเล็กตรอนเดี่ยว (non-free radical) มีความว่องไวและเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันรุนแรง จากการกระตุ้นด้วยแสงและปฏิกิริยาเคมีอื่น ๆ
Ozone	O_3	วินาที	โอโซนไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระ (non-free radical) แต่เป็นสารออกซิไดซ์แรงสูงที่สามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิล ($\cdot\text{OH}$) จากการกระตุ้นด้วย UV

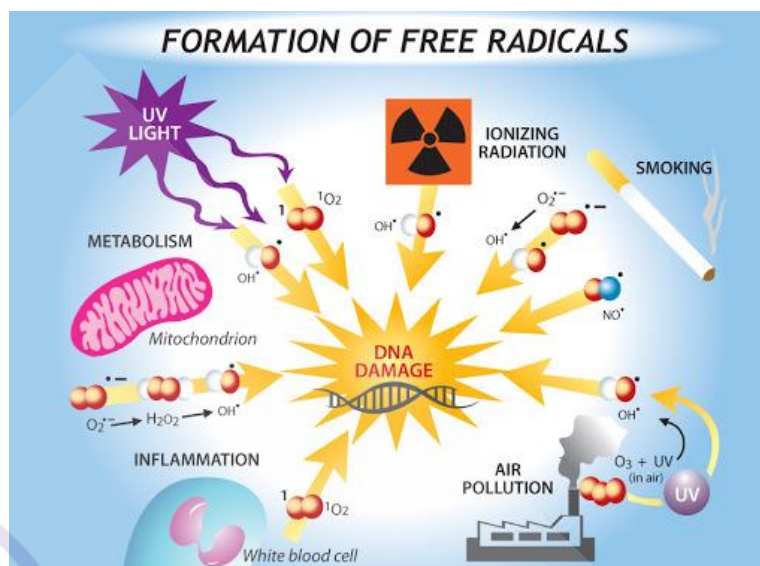
ที่มา: ดัดแปลงจาก Devasagayam et al., 2004; Gupta, 2014; Das Kaushik & Aryadeep Roychoudhury, 2014 & Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L., 2015

การที่ร่างกายสร้าง ROS/RNS ในปริมาณน้อยหรือปานกลางมีส่วนสำคัญในกระบวนการรักษาสมดุลของโครงสร้างภายในเซลล์ และเป็นอาวุธที่ป้องกันการทำลายจากสิ่งแปลกปลอมโดยกระตุ้นให้เซลล์เม็ดเลือดขาวทำงาน นอกจากนี้ยังมีบทบาทที่สำคัญได้แก่ การสร้าง ATP จาก ADP ในไมโทคอนเดรีย, กำจัดสิ่งแปลกปลอม โดยเอนไซม์ Cytochrome P450, กระตุ้น

ให้เกิด Apoptosis ของเซลล์ที่เสื่อมสภาพ, การสังเคราะห์ prostaglandin และ leukotrienes (Pham-Huy L.A et al., 2008; Lobo et al., 2010 & Devasagayam et al., 2004)

อนุมูลอิสระ และ ROS /RNS มีสาเหตุทั้งปัจจัยภายในร่างกาย (Endogenous Sources) และได้รับการกระตุ้นจากปัจจัยภายนอก (Exogenous Sources) (ภาพที่ 2.1) โดยปัจจัยที่เกิดภายในร่างกาย จะเกิดขึ้นจาก Mitochondria, Xanthine oxidase, Peroxisomes, การอักเสบ (Inflammation), Phagocytosis, Arachidonate pathways, การออกกำลังกาย, การขาดเลือด/บาดเจ็บซ้ำ (Ischemia/reperfusion injury) เป็นต้น ส่วนปัจจัยที่ถูกระตุ้นจากร่างกายได้แก่ การสูบบุหรี่/ควันบุหรี่ (cigarette smoke), รังสี (radiation), มลพิษจากสิ่งแวดล้อม (pollutants), ยาบางชนิด/สารเคมี/สารพิษจากยาฆ่าแมลง (certain drugs, industrial solvents, pesticides,) และ โอโซน (Ozone) เป็นต้น (Lobo et al., 2010 & S. Kumar and Abhay K. Pandey, 2015) โดยเฉพาะอย่างยิ่งรังสีต่างๆ เช่น UV, Xray, Gamma ray โดยรังสีเหล่านี้จะกระตุ้นให้ H_2O เปลี่ยนไปเป็น hydroxyl radical อย่างง่ายดาย หรือแม้แต่ มลภาวะทางเคมีเช่น paraquat ที่กระตุ้นให้เกิด peroxide หรือ ozone สารจำพวก quinones และ nitroaromatics ก็สารที่ทำให้เกิด superoxide ได้ นอกจากนี้ยังมีโลหะหนักซึ่งเมื่อได้รับไปมากๆ ก็เสี่ยงต่อการเกิด Fenton reaction ได้ สารต่างๆ เหล่านี้มักจะก่อให้เกิดมะเร็ง และโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมของอวัยวะต่างๆ อย่างไรก็ตามก็ยังมียาต้านมะเร็งที่ใช้ความสามารถของสารในการสร้าง ROS ขึ้นเพื่อฆ่าเซลล์มะเร็งเช่น cisplatin และ Adriamycin



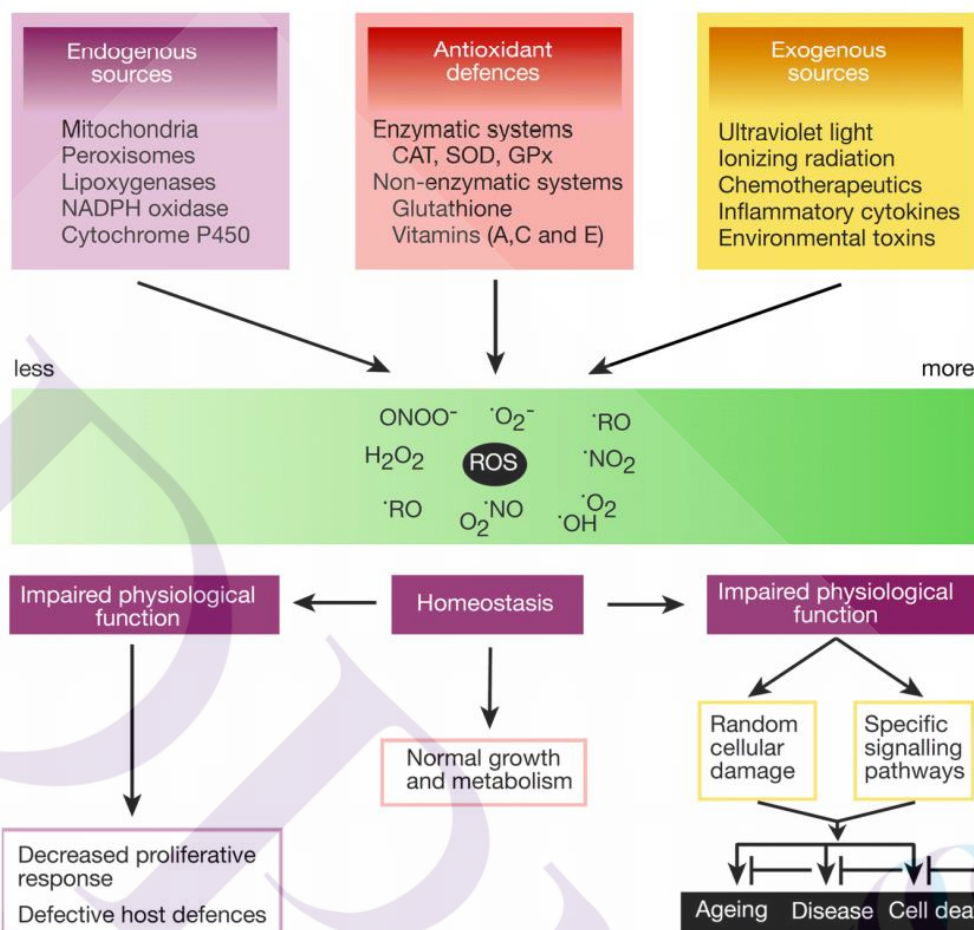


ภาพที่ 2.1 สาเหตุการเกิดอนุมูลอิสระ

ที่มา: <http://www.student.chula.ac.th/~59370755/freeredical.html>

2.1.2 ภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress)

ภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดจากร่างกายมีการสร้างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สมดุลกัน การที่มีอนุมูลอิสระมากเกินไปอาจก่อให้เกิดการทำลายโปรตีนและ DNA ควบคู่ไปกับ lipid per-oxidation ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างหน้าที่ของเซลล์ ความเครียดจากการออกซิเดชันในระยะสั้นอาจไม่ส่งผลต่อสุขภาพมากนัก โดยอาจเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บจากการติดเชื้อ, ความร้อน, ภาวะไขมันในเลือดสูง, สารพิษ และการออกกำลังกายมากเกินไป แต่หากเนื้อเยื่อที่ได้รับบาดเจ็บเหล่านี้เป็นระยะเวลายาวนานจะสร้างเอนไซม์ที่สร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น เช่น xanthine oxidase, lipogenase และ cyclooxygenase ไปกระตุ้นกระบวนการ phagocytes, กระตุ้นการปลดปล่อยไอออนของโลหะหนัก หรือการหยุดชะงักของห่วงโซ่การขนส่งอิเล็กตรอนของ oxidative phosphorylation ทำให้เกิด ROS ส่วนเกินมากขึ้นเช่น hydrogen peroxide (H_2O_2) และ superoxide radical anion ($O_2^{\bullet -}$) ซึ่งส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบเรื้อรัง เช่น arthritis, vasculitis, glomerulonephritis, lupus erythematosus, adult respiratory diseases syndrome, โรคที่เกิดจากการขาดเลือด เช่น heart diseases, stroke, intestinal ischemia, hemochromatosis, โรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน, โรคทางระบบประสาท เช่น Alzheimer's disease, Parkinson's disease, muscular dystrophy (Lobo et al., 2010) รวมไปถึงโรคมะเร็ง (cancer) และความชรา เป็นต้น (Adwas Almokhtar A et al., 2019) (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 การสร้างอนุมูลอิสระ reactive oxygen species (ROS) และการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายที่ส่งผลต่อสุขภาพ

ที่มา: Li, H., Horke, S., & Förstermann, U., 2013

2.1.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารที่ป้องกันและชะลอการเกิดปฏิกิริยา oxidation ได้ สามารถแบ่งได้ 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือ สารที่สร้างภายในร่างกาย และสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับมาจากธรรมชาติหรือสารสังเคราะห์ โดยปกติร่างกายมีการสร้างอนุมูลอิสระ และสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) มาเพื่อควบคุมความสมดุล โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างภายในร่างกายได้แก่เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPXs) หรือสารที่ไม่ใช่เอนไซม์เช่น bilirubin และ albumin และหากเกิดความเครียดออกซิเดชัน

ขึ้น การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร วิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ เช่นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่สำคัญคือ phenolic, carotenoids, vitamins C, vitamin E, selenium และ zinc เป็นต้น ถือเป็นสิ่งจำเป็นที่จะช่วยให้ลดภาวะเครียดออกซิเดชันและทำให้ร่างกายเกิดความสมดุล ลดสาเหตุของโรคต่าง ๆ (Santos-Sánchez et al., 2019; Kumar S et al., 2015)

กลไกการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระมี 2 กลไกใหญ่ ๆ คือยับยั้ง (chain-breaking) ไม่ให้มีการรับถ่ายอิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระ และกำจัด ROS/RNS โดย quenching chain-initiating catalyst โดยหน้าที่ของสารต้านอนุมูลอิสระ คือทำหน้าที่ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenger) โดยการให้ไฮโดรเจนและอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ, ย่อยสลายเปอร์ออกไซด์ (peroxide decomposer), ยับยั้งการทำงานของ singlet oxygen (singlet oxygen quencher) เช่น carotenoids, ยับยั้งเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (enzyme inhibition) เช่น flavonoids, เสริมฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ (synergist) เช่นวิตามินอี (alpha-tocopherol) ทำงานร่วมกับวิตามินซี (ascorbic acid), จับกับโลหะหนักที่สารเร่งปฏิกิริยา oxidation (metal-chelating agents) โดยจับกับเหล็ก Fe^{2+} และทองแดง Cu^{2+} เช่นสาร flavonoids, phosphoric acid, citric acid เป็นต้น (Lobo et al., 2010)

สารต้านอนุมูลอิสระจากอาหารช่วยเสริมสร้างกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายเพื่อต่อสู้กับอนุมูลอิสระโดยเฉพาะ ROS (Pisoschi, A. M., & Pop, A., 2015 & Adwas Almokhtar A et al., 2019) ได้แก่สารจำพวกวิตามิน (วิตามิน E (tocopherol), วิตามินซี (ascorbic) และวิตามิน A) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)/ โพลีฟีนอล (Polyphenol) เช่น carotenoids และที่โดดเด่นได้แก่ bioflavonoids เป็นสารที่มีการรายงานถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวนมาก โดยเฉพาะเป็น free radical scavenger ที่ช่วยป้องกันการทำลาย DNA โดย hydroxyl radicals ($\cdot OH$) จากปฏิกิริยา Fenton reaction โดยการเข้าจับกับโลหะหนัก Fe^{2+} และ Cu^{2+} และรวมไปถึงลดการกระตุ้นให้เกิดการสร้าง ROS อีกด้วย (Nimse, Satish & Pal, Dilipkumar, 2015) สารในกลุ่ม bioflavonoids มักพบในชา โกโก้ องุ่น และไวน์ (Tsao R., 2010; Adwas Almokhtar A et al., 2019)

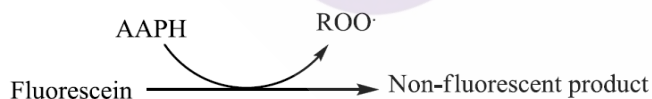
2.2 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง (In vitro)

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองเป็นวิธีเบื้องต้นที่ง่าย สะดวก และรวดเร็ว โดยมีหลากหลายวิธีที่ใช้วิเคราะห์ ขึ้นอยู่กับกลไกและสารออกฤทธิ์แต่ละชนิด เพราะฉะนั้นจึงควรเลือกวิธีที่เหมาะสมในการทดสอบเป็นการวัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาร โดยแบ่งเป็น 2 กลไกคือการประเมินจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนให้กับอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันแบบ single electron ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี (colorimetric) ของ

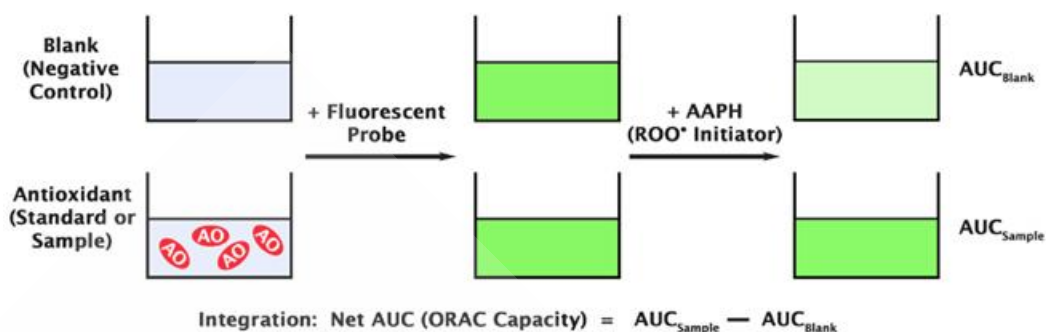
สารละลาย เช่น วิธี FRAP, DPPH และ TEAC และการประเมินจากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจนกับอนุมูลอิสระ (hydrogen atom transfer-based methods) เช่น วิธี ORAC, TRAP เป็นวิธีที่วัดคุณสมบัติเรืองแสง (chemiluminescence) (Pisoschi A.M et al., 2015) ซึ่งเป็นวิธีการที่นิยมวัดหาความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในเลือดหรือพลาสมา รวมไปถึง Phytochemical ของผักผลไม้ในการขจัดอนุมูลอิสระ โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันรวมจะเกิดกลไกทั้งสองควบคู่กันไปเสมอ (Loypimai, 2011)

2.2.1 Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC assay)

เป็นวิธีพื้นฐานที่นิยมใช้วิธีหนึ่งในการทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระรวม พัฒนาโดย Cao และคณะ, 1993 (Cao G et al., 1993) โดยหลักการทดสอบของวิธีนี้คือวัดความสามารถในการยับยั้งอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxy radicals) โดยการส่งผ่านอะตอมของไฮโดรเจน เพื่อไม่ให้มีการทำปฏิกิริยา oxidation ที่เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยการยับยั้งอนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยาโดยการเปลี่ยนสารเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ (Fluorescein) ที่ถูกสลายด้วย AAPH (2, 2'-azobis-2-methylpropanimidamide, dihydrochloride) ที่อุณหภูมิ 37°C ทำให้เกิด peroxy radical ขึ้นกลายเป็นสารที่ไม่เรืองแสง (oxidized fluorescein) (ภาพที่ 2.3) ซึ่งความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบจะแปรผันตรงกับการเรืองแสงฟลูออเรสเซนส์ คือถ้าสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะมี การเรืองแสง แต่ถ้าหากสารทดสอบไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระก็จะไม่เกิดการเรืองแสงเนื่องจากการส่งผ่านอิเล็กตรอนของไฮโดรเจน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสง (excitation) ที่ความยาวคลื่น 485 nm และการคายแสง (Emission) ที่ความยาวคลื่น 538 nm ของสารที่ทดสอบ ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารทดสอบ (ORAC capacity) คือค่า area under curve (AUC) สารทดสอบและสารมาตรฐานคือ Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ซึ่งเป็นสารที่สามารถละลายได้ในน้ำ (ภาพที่ 2.4) (Gupta, Deepshikha. 2015; Xu, D et al., 2017 & Santos-Sánchez et al, 2019)



ภาพที่ 2.3 หลักการทดสอบโดยวิธี Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC assay)

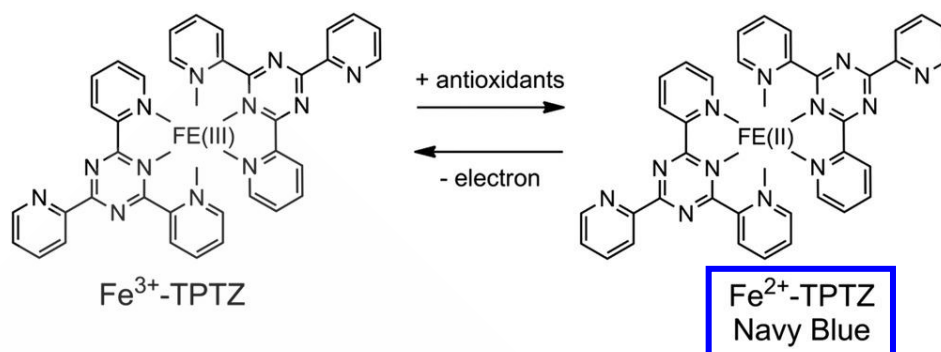


ภาพที่ 2.4 กลไกการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Oxygen radical antioxidant capacity (ORAC assay)

ที่มา: Assay Principle for the OxiSelect™ ORAC Activity Assay.)

2.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

วิธีนี้เป็นการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยการสังเคราะห์ (redox-linked colorimetric method) โดยมีหลักการคือใช้สารต้านอนุมูลอิสระเป็นตัว reductants เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา redox ของเหล็กที่จะไปส่งเสริมให้เกิดอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะ ROS (Gupta, Deepshikha, 2015) โดยกลไกที่เกิดขึ้นจะวัดค่าความสามารถในการรีดิวซ์สารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Fe^{3+} -TPTZ (ferric tripyridyl triazine) ให้กลายเป็น Fe^{2+} -TPTZ (ferrous tripyridyl triazine) ซึ่งมีสีน้ำเงิน (ภาพที่ 2.5) วัดค่าดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 593 nm ปฏิกิริยานี้จะเกิดภายใต้สภาวะที่เป็นกรด (pH 3.6) สีน้ำเงินที่เกิดขึ้นแปรผันตรงกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ถ้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงจะให้สีน้ำเงินเข้ม โดยเทียบกับสารมาตรฐาน ferrous sulphate ($FeSO_4$) หรือ Trolox (6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) อย่างไรก็ตามการวัดค่า FRAP value เหมาะกับสารต้านอนุมูลอิสระที่มีการใช้เวลา conjugation ในระยะเวลาอันสั้นประมาณ 4-6 นาที (Xu D et al., 2017 & Santos-Sánchez et al, 2019) แต่ก็เป็นวิธีที่นิยมที่ง่าย ไม่แพง และรวดเร็วกว่า ORAC



ภาพที่ 2.5 หลักการทดสอบโดยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP assay)

2.3 แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชา

2.3.1 ชา (Tea) และคุณประโยชน์ของชา

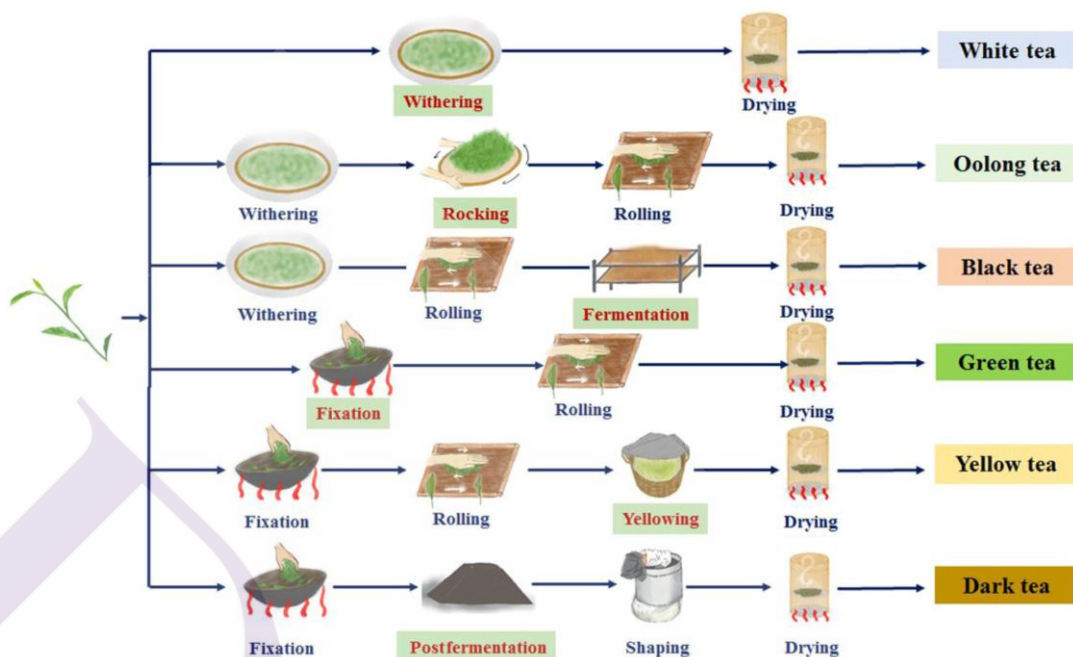
ชาเป็นเครื่องดื่มที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายทั่วโลกเนื่องจากน้ำดื่ม ชาที่ผลิตทางการค้าส่วนใหญ่คือ *Camellia sinensis* L. โดยสามารถแยกเอกลักษณ์อย่างเห็นได้ชัด 2 สายพันธุ์คือ ชาจีน (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) ที่มีขนาดเล็กกว่า และชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) ที่มีขนาดใหญ่กว่า (ธีรพงษ์ เทพกรณ์, 2015) โดยชาแบ่งออกเป็น 4 ชนิดใหญ่ ๆ ตามกระบวนการผลิตได้แก่ ชาขาว (White Tea) ชาอู่หลง (Oolong Tea) ชาดำ (Black Tea) และชาเขียว (Green Tea) แบ่งออกเป็น 6 ชนิดตามกระบวนการผลิตได้แก่ ชาขาว (White Tea) ชาอู่หลง (Oolong Tea) ชาดำ (Black Tea) ชาเขียว (Green Tea) ชาเหลือง (Yellow Tea) และชาหมัก (Dark Tea) ดังแสดงในตารางที่ 2.2 และภาพที่ 2.6 (Sharangi, 2009; Zhang, L et al., 2019)

ตารางที่ 2.2 ชนิดของชาแบ่งตามกระบวนการผลิต

ชนิดของชา	กระบวนการผลิต	วิธีการผลิต
ชาขาว (White Tea)	ไม่บ่ม (non-fermented tea)	ยอดตูมของต้นชาที่เก็บในช่วงต้นฤดูใบไม้ผลิ นำไปผึ่งและอบแห้ง
ชาอู่หลง (Oolong Tea)	ชากึ่งบ่ม (semi-fermented tea)	ตากชา (outdoor withering) ประมาณ 20-40 นาที โดยการผึ่งแดด ต่อมาผึ่งในร่ม (indoor withering) พร้อมเขย่ากระตุ้นเพื่อให้ใบชาซ้ําในบริเวณขอบ ใบ การผึ่งในร่มและเขย่าให้ใบชาซ้ําทำให้เกิดการ หมักเพียงบางส่วนที่ทำให้เอนไซม์พอลิฟิโนล ลอกซิเดสเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของคาเทชิน

ชนิดของชา	กระบวนการผลิต	วิธีการผลิต
		เกิดการรวมตัวกันของคาเทชินเป็นสารประกอบใหม่ทำให้ชาอู่หลงมีสี กลิ่น และรสชาติที่ต่างไปจากชาเขียว จากนั้นนำไปนวด (rolling) ขึ้นรูปให้เป็นเม็ด และนำไปอบแห้ง
ชาดำ (Black Tea) หรือ Red Tea	บ่ม (fermented tea)	เป็นชาที่ผ่านกระบวนการหมักอย่างสมบูรณ์ ใบชาสดจะถูกผึ่งเพื่อลดความชื้น ตามด้วยนวดและ/หรือตีป่น จากนั้นเป็นกระบวนการหมักที่ปล่อยให้ออนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันคาเทชินอย่างสมบูรณ์ คาเทชินจะเกิดออกซิเดชันและรวมตัวกันเป็นสารประกอบใหม่ที่มีสีเข้มขึ้นกว่าชาอู่หลง และชาเขียว จากนั้นอบแห้ง
ชาเขียว (Green Tea)	ไม่บ่ม (non-fermented tea)	ใบชาที่หนึ่งหรือคั่วเพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase, PPO) ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของคาเทชินจึงไม่เกิดการหมัก จากนั้นนำไปนวด (rolling) ให้เป็นเส้น และนำไปอบแห้ง (drying)
ชาเหลือง (Yellow Tea)	ไม่บ่ม (non-fermented tea)	ใบชาที่หนึ่งหรือคั่ว จากนั้นนวดชา แล้วทิ้งใบชาให้เป็นสีเหลือง แล้วนำไปอบแห้ง
ชาหมัก (Dark Tea) หรือ Pu'erh Tea	บ่ม (fermented tea)	ชาที่หนึ่งหรือคั่ว หมักนานนับปี จากนั้นอัดแผ่นและอบแห้ง

ที่มา: ดัดแปลงจาก ชีรพงษ์ เทพภรณ์, 2015, Sharangi, 2009; Zhang, L et al., 2019)



ภาพที่ 2.6 กระบวนการผลิตชา (*Camellia sinensis*) แต่ละชนิด

ปัจจุบันนอกจากชาพร้อมดื่ม ยังมีชาที่นิยมชงดื่มเองที่สะดวกและมีให้เลือกหลากหลายตามท้องตลาดคือชาชนิดของพร้อมชง เช่นชาเขียว ชาขาว ชาอู่หลง ชาดำ และชาสมุนไพรต่าง ๆ เป็นต้น โดยสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) มีคุณสมบัติหลักเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในชาได้แก่ สารประกอบคาเทชิน (Catechins) (Cabrera C et al., 2006) โดยคุณประโยชน์ของชาต่อการส่งเสริมสุขภาพแสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของชาแต่ละชนิด

ชนิดของชา	ประโยชน์ต่อสุขภาพ	แหล่งอ้างอิง
ชาเขียว	ป้องกันโรคมะเร็ง	Miyata et al, 2019; Guo et al, 2017
	โรคอ้วน	Suzuki, T et al, 2016
	โรคเบาหวาน	Haidari, F et al, 2013
	ป้องกันการอักเสบ	Xu, R et al, 2020
	โรคเกี่ยวกับการเสื่อมของระบบประสาท	Pervin, M et al., 2018
ชาขาว	คลายความเครียด	Yoto A et al., 2014

ชนิดของชา	ประโยชน์ต่อสุขภาพ	แหล่งอ้างอิง
ชาอู่หลง	โรคเบาหวาน	Yang et al., 2014
	ไขมันในเลือดสูง	He RR et al., 2009
	โรคอ้วน	Wu, T et al., 2017
ชาดำ	โรคหลอดเลือดและหัวใจ (CVDs)	Woodward, K. A et al., 2018
	โรคเบาหวาน	van Dieren et al.,2009 & Fuchs et al., 2016
	ไขมันในเลือดสูง	Joe & Yousef, 1998
ชาสมุนไพร		
ชากุหลาบ	ยับยั้งเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมของเซลล์	Luo, H et al, 2017
ชาใบหม่อน	ควบคุมระดับ postprandial glyceimic	Kim, J. Y et al, 2015 & Phimarn, W et al, 2017
	ลดคอเลสเตอรอลในเลือด และกระตุ้นการหลั่งน้ำดี (bile acid)	Huang, J et al, 2018
ชาชิง	ช่วยลดไตรกลีเซอไรด์ คอเลสเตอรอลรวม LDL และ VLDL	Alizadeh-Navaei R et al. 2008
	ช่วยลดความรุนแรงของอาการอาเจียนหลังการรับเคมีบำบัดในผู้ป่วยมะเร็ง	Ryan J. L et al. 2012
ชาคาโมมายล์	ช่วยลดอาการอักเสบ รักษาโรคไขรูมาติก และคลายเครียด	Sami, G et al, 2015
	ช่วยรักษาโรคไข้ตะอองฟาง ความผิดปกติของประจำเดือน โรคนอนไม่หลับ ความผิดปกติของโรคทางเดินอาหาร และริดสีดวง	Srivastava, J.K et al, 2010

2.3.2 สารต้านอนุมูลอิสระในชา

สารต้านอนุมูลอิสระหลักในชาคือสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ประเภทพอลิฟีนอล (Polyphenol) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) โดยสารที่ออกฤทธิ์ที่โดดเด่นในชาคือสารประกอบทาทะซิน (Catechins) Flavanols or flavan-3-ols are often commonly

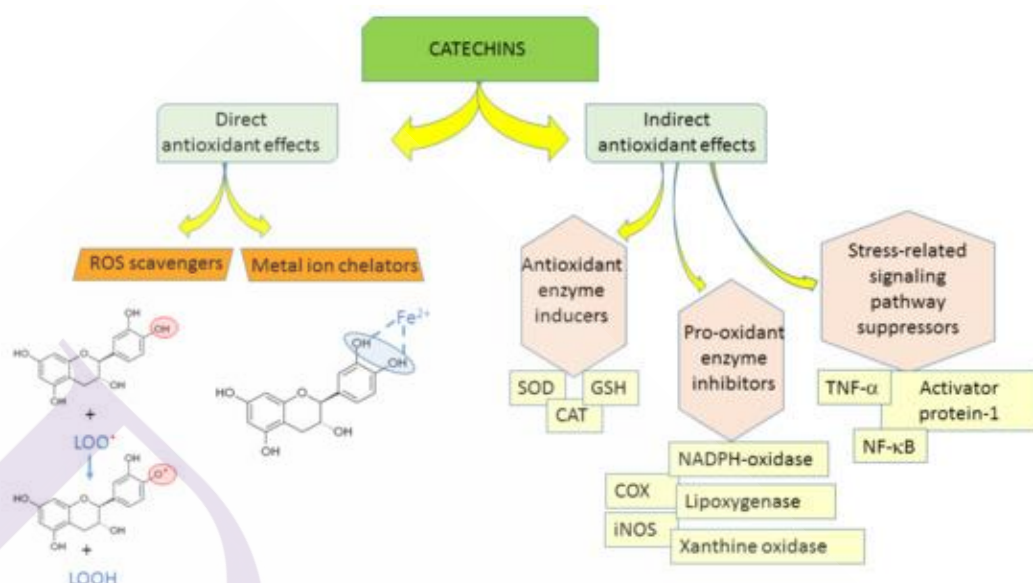
called catechins โดยสารประกอบดังกล่าวได้แก่ catechin, galocatechin, epicatechin, epigallocatechin, epicatechin gallate and epigallocatechin gallate (EGCG) (Sharangi, 2009) In general, catechins largely include catechin, epicatechin (EC), epicatechingallate (ECG), epigallocatechin (EGC), and epigallocatechin-3-O-gallate (EGCG)

Chemical classification	Green tea	White tea	Yellow tea	Oolong tea	Black tea	Dark tea	Ref.
Caffeine	34.86 ± 4.32	27.17 ± 5.37	33.32 ± 7.10 24.49 ± 1.37	19.67 ± 2.95	28.54 ± 3.68	31.78 ± 4.94	Yi et al., 2015 Zhou et al., 2019
Theobromine	1.29 ± 0.60	0.52 ± 0.42	0.91 ± 0.45 0.40 ± 0.02	0.37 ± 0.13	1.06 ± 0.62	1.42 ± 0.45	Yi et al., 2015 Zhou et al., 2019
GA	2.01 ± 0.92	2.33 ± 1.20	1.56 ± 1.22 1.97 ± 0.10	0.69 ± 0.71	4.43 ± 1.47	3.09 ± 1.99	Yi et al., 2015 Zhou et al., 2019
Catechins (total)	105.85 ± 35.69 112.72	56.62 ± 12.53 54.55	118.55	86.91 ± 23.54 75.15	10.18 ± 6.68 7.22	5.01 ± 1.79 6.25	Wang et al., 2011 Yi et al., 2015
EGCG	18.10–35.46		35.59 ± 1.90 53.96 ± 8.69	7.36–12.24	5.52–9.18		Lee & Ong, 2000 Zhou et al., 2019
EGC	54.06 ± 6.83 50.29 ± 13.88 21.06–36.53	23.73 ± 4.19 27.09 ± 6.14	6.52 ± 0.47	27.44 ± 3.66 38.36 ± 16.82 3.57–30.61	2.19 ± 2.40 3.46 ± 1.86 2.84–3.23	1.43 ± 1.74 0.13 ± 0.15	Yi et al., 2015 Wang et al., 2011 Lee & Ong, 2000 Zhou et al., 2019
EC	13.44 ± 10.58 15.48 ± 9.02 4.90–7.27	1.87 ± 0.62 9.29 ± 4.68	20.83 ± 8.48	16.78 ± 5.09 26.89 ± 5.63 1.75–4.85	0.31 ± 0.31 0.78 ± 0.58 1.41–2.19	1.18 ± 0.36 0.75 ± 0.78	Yi et al., 2015 Lee & Ong, 2000 Zhou et al., 2019
ECG	7.25 ± 2.26 5.78 ± 4.18 5.34–9.97	5.11 ± 3.88 1.22 ± 0.34	1.96 ± 0.05 8.14 ± 3.48	7.00 ± 1.24 4.12 ± 1.18 3.07–3.58	0.71 ± 0.57 1.21 ± 1.29 6.82–8.92	1.19 ± 0.85 1.40 ± 0.72	Yi et al., 2015 Wang et al., 2011 Lee & Ong, 2000 Zhou et al., 2019
GCG	17.10 ± 3.34 12.67 ± 15.14 17.16 ± 6.73	8.12 ± 3.05 13.25 ± 3.73 11.33 ± 3.21	8.10 ± 0.39 16.23 ± 7.01	5.09 ± 1.64 15.30 ± 6.62 8.02 ± 3.16	2.65 ± 2.25 0.60 ± 0.26 3.59 ± 2.73	1.57 ± 2.46 0.18 ± 0.08 0.20 ± 0.22	Yi et al., 2015 Wang et al., 2011 Wang et al., 2011 Zhou et al., 2019
GC	9.44 ± 1.97 4.02 ± 2.19	3.71 ± 1.84 2.54 ± 1.45	7.44 ± 0.32 9.17 ± 3.01	2.70 ± 0.74 5.02 ± 1.10	0.23 ± 0.46 0.14 ± 0.30	0.35 ± 0.43 0.40 ± 0.36	Yi et al., 2015 Yi et al., 2015 Zhou et al., 2019
Catechin	6.51 ± 4.47	1.87 ± 0.40	1.40 ± 0.05 4.37 ± 1.63	4.34 ± 1.75	1.00 ± 1.34	1.94 ± 0.72	Wang et al., 2011 Zhou et al., 2019
Theaflavins (total)	5.37 ± 1.73 0.88–5.56	2.05 ± 0.90	4.37 ± 1.63	1.01 ± 0.28 0.66–3.63	0.52 ± 0.77 10.70–17.28	0.56 ± 0.39	Yi et al., 2015 Lee & Ong, 2000
L-theanine	0.91–1.57 2.16–4.03	0.72–1.82	1.04–1.70	0.17–0.38 0.41–1.29 1.57–3.03	0.65–1.09 0.88–1.37 1.19–1.85	0.03–0.09	Ning et al., 2016 Wang et al., 2010 Wang et al., 2010
Amino acids (total)	4.37–6.99						
Quercetin	1.79–4.05					1.04–3.03	Wang & Helliwell, 2001
Kaempferol	1.56–3.31					1.72–2.31	Wang & Helliwell, 2001
Myricetin	0.93–1.59					0.24–0.52	Wang & Helliwell, 2001

^a All data were presented with unit of mg/g, except the unit of L-theanine of ref. (Ning et al., 2016) was wt%.

ภาพที่ 2.7 แสดง chemical compounds ที่พบได้ในชาทั้ง 6 ชนิด

Catechins มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีกลไกทั้งทางตรงและทางอ้อมโดยทางตรงจะทำหน้าที่ไปกำจัด ROS และจับกับโลหะหนักในร่างกายเช่น Fe^+ และ Cu^+ เพื่อลดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ที่ ส่วนบทบาททางอ้อมได้แก่ช่วยส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSHx), ทำหน้าที่เป็น Pro oxidant enzyme inhibitor ยับยั้งการทำงานของ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase (NADPH-oxidase), cyclooxygenase (COX), inducible nitric oxide synthase (iNOS), Lipoxygenase และ Xanthin oxidase, และนอกจากนี้ยังทำหน้าที่เป็นตัวส่งสัญญาณให้ tumor necrosis factor alpha (TNF- α), NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) และ Activator Protein-1 ในการลดการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Bernatoniene, J., & Kopustinskiene, D. M, 2018)



ตัวย่อ: ROS-reactive oxygen species, SOD-superoxide dismutase, CAT-catalase, GSH-glutathione peroxidase, NADPH-oxidase-nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase, COX-cyclooxygenase, iNOS-inducible nitric oxide synthase, TNF- α tumor necrosis factor alpha, NF- κ B-nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells. (Bernatoniene, J., & Kopustinskiene, D. M, 2018)

ภาพที่ 2.8 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของ Catechins

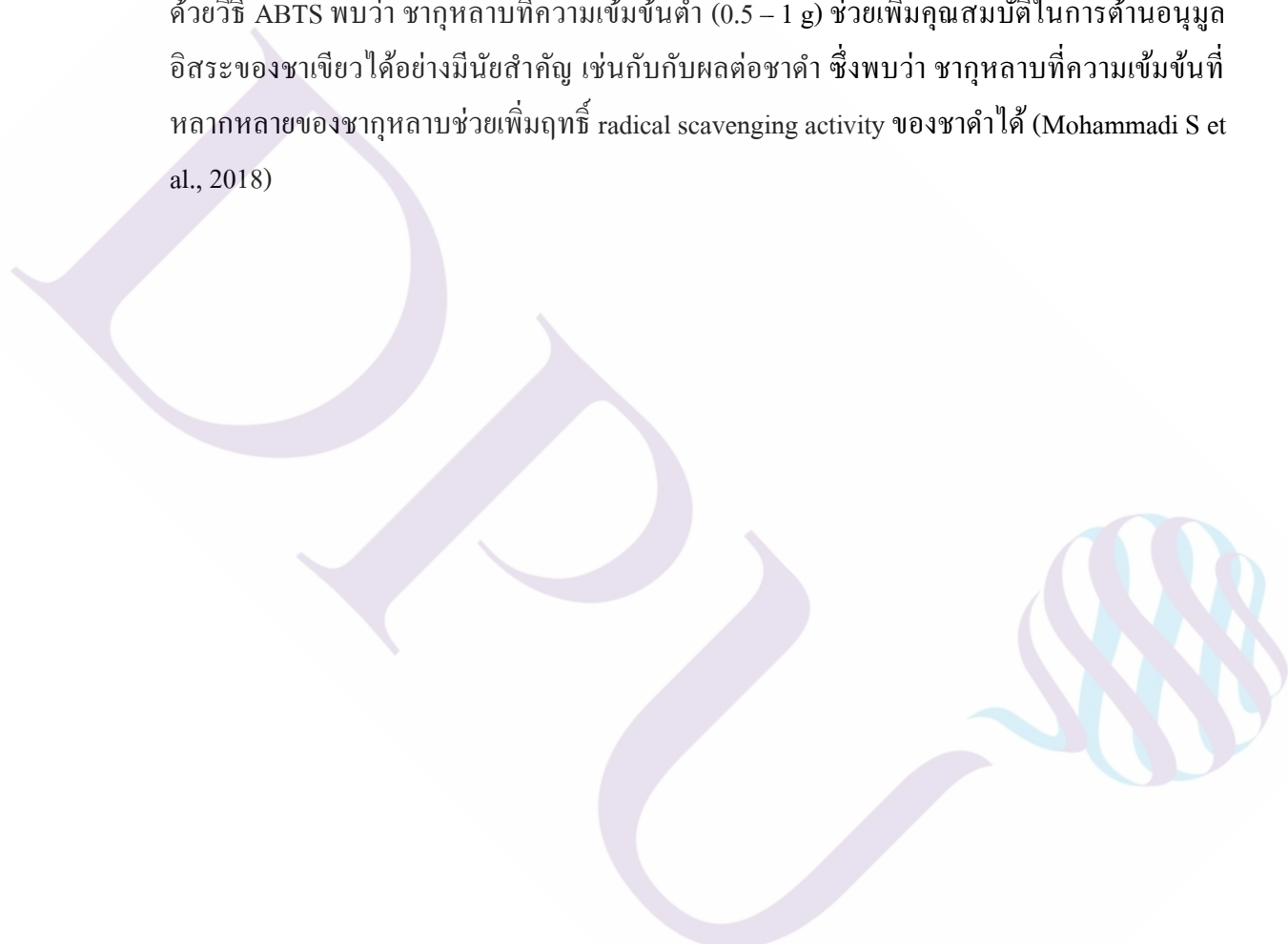
ซึ่งชาเขียว เป็นแหล่งที่พบฟลาโวนอยด์มากโดยเฉพาะ catechins และ quercetin มากกว่าชาดำ 4-6 เท่า ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant), ต้านสารก่อมะเร็ง (anticarcinogenic), ต้านการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูง (antihypercholesterolemic), ต้านแบคทีเรีย (antibacterial) และ ต้านการอักเสบ (anti-inflammatory) (Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C, 2008)

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยก่อนหน้าหลายการศึกษาได้รายงานถึงคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาแต่ละชนิด ดังเช่นการศึกษาของ Xinguo และคณะ พบว่า สารคาเทชินในชาอู่หลง ได้แก่ EGC และ EGCG มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย (Su X et al., 2007) การศึกษาก่อนหน้าของ Langley-Evans ในปี 2000 ได้ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบระหว่างชาเขียว ชาดำชนิดใบ และชาดำชนิดของพร้อมชง วัดค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric Reducing Power (FRAP) พบว่า หากชงตัวอย่างชาทั้ง 3 ชนิดในน้ำอุณหภูมิ 90

องศาเซลเซียส ทดสอบในช่วงเวลา 0.25 – 15 นาที ผลปรากฏว่าชาเขียวมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาดำชนิดใบและชนิดของพร้อมชง 2.5 เท่า ทั้งชาเขียวและชาดำปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระในระดับที่มีนัยสำคัญลงในน้ำร้อนภายใน 2 นาทีของการชง นอกจากนี้การเตรียมชาในช่วงอุณหภูมิ 20 - 90 องศาเซลเซียส พบว่าแม้สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกปล่อยจากใบชาในน้ำที่เย็นลงแล้วก็ตาม แต่การเพิ่มอุณหภูมิสามารถเพิ่มศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ 4 ถึง 9.5 เท่า และยังมีรายงานอีกว่า ชาดำชนิดชงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชาดำชนิดใบอย่างมีนัยสำคัญที่อุณหภูมิ 20 – 70 องศาเซลเซียส โดยคาดว่าวัสดุที่นำมาผลิตของที่ใช้ในการบรรจุชาดำอาจมีส่วนในการป้องกันการสกัดสารฟลาโวนอยด์ลงในน้ำชาที่ชง ทั้งนี้ ยังพบว่าการเติมนมลงในชาดูเหมือนจะลดศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระของชาดำลง โดยเฉพาะนมวัวครบส่วน (whole cow milk) (Langley-Evans S. C, 2000) เป็นไปในทิศทางเดียวกับการศึกษาในปี 2002 วัดค่าการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่า ชาเขียวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาดำ (Lee K.W et al., 2002) การศึกษาของ Unachukwu และคณะ ทำการศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของชาขาวและชาเขียว โดยวัดด้วยวิธี (DPPH) และ Folin-Ciocalteu พบว่าชาขาวมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชาเขียว (Unachukwu U.J et al., 2010) นอกจากนี้ การศึกษาในปี 2015 ซึ่งได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาประเภทชาพร้อมดื่มระหว่าง ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และชาขาว โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) และ Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) ผลการวิเคราะห์ชาพร้อมดื่มด้วยวิธี ORAC พบว่า ชาเขียวมีค่า ORAC มากที่สุด (14.86 ± 0.29 mM TE*/100 ml) รองลงมาได้แก่ ชาอู่หลง (10.37 ± 0.39 mM TE*/100 ml) ชาขาว (8.58 ± 0.29 mM TE*/100 ml) และชาดำ (8.23 ± 0.26 mM TE*/100 ml) ตามลำดับ เช่นกันกับการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ซึ่งพบว่าชาเขียวมีค่า FRAP มากที่สุด (5.11 ± 0.03 mM TE*/100 ml) รองลงมาได้แก่ชาอู่หลง (3.07 ± 0.04 mM TE*/100 ml) ชาขาว (2.37 ± 0.02 mM TE*/100 ml) และชาดำ (1.68 ± 0.03 mM TE*/100 ml) ตามลำดับ (Bumrungpert A et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Zeinab และคณะ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างชาชนิดของพร้อมชง และชาใบ (loose tea) ด้วยวิธี FRAP และ Folin-Ciocalteu methods พบว่า ชาชนิดชงมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบอย่างมีนัยสำคัญเมื่อนำไปชงเป็นระยะเวลา 5 นาที เปรียบเทียบตัวอย่างชาจากยี่ห้อเดียวกัน (Nikniaz Z et al., 2016) Vinokur และคณะ ศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของกุหลาบ จำนวน 12 สายพันธุ์ โดยใช้ค่าการต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวเป็นค่าอ้างอิง ศึกษากุหลาบจากสายพันธุ์ที่แตกต่างกันมีความสามารถในการกำจัดต่อ 2,2'-azino-bis- (3-ethylbenzothiazoline) -6-sulfonate cation radical (ABTS +) อยู่ระหว่าง 712.7 ถึง 1770.7 μ M เทียบเท่า Trolox (TE) ต่อกกรัมของกลีบดอกแห้ง เมื่อ

เทียบกับน้ำหนักแห้ง 1227.6 $\mu\text{M TE/g}$ ในชาเขียว สรุปได้ว่าชากลีบกุหลาบแห้งสามารถใช้เป็นเครื่องดื่มที่ปราศจากคาเฟอีนที่อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ (Vinokur V et al., 2006) และในปี 2018 มีการศึกษาวิจัยถึงผลของชากุหลาบ (กลีบดอกกุหลาบแห้ง) ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวและชาดำ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH พบว่า ความเข้มข้นที่หลากหลายของชากุหลาบสามารถเพิ่ม radical scavenging activity ของชาเขียวได้ ในทางกลับกัน ความเข้มข้นที่สูงของชากุหลาบ (2 g) ให้ผลลบในการกระตุ้น radical scavenging activity ของชาดำ และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS พบว่า ชากุหลาบที่ความเข้มข้นต่ำ (0.5 – 1 g) ช่วยเพิ่มคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวได้อย่างมีนัยสำคัญ เช่นเดียวกับผลต่อชาดำ ซึ่งพบว่า ชากุหลาบที่ความเข้มข้นที่หลากหลายของชากุหลาบช่วยเพิ่มฤทธิ์ radical scavenging activity ของชาดำได้ (Mohammadi S et al., 2018)



บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การศึกษารั้วนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง (Experimental research) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชง ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ มีรายละเอียดในการศึกษา ดังนี้

3.1 วิธีดำเนินการวิจัย

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง

สุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชงที่วางขายตามท้องตลาด ร้านสะดวกซื้อ และห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครฯ และปริมณฑล โดยเลือกตัวอย่างชาชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ โดยเลือกตัวอย่างชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง และชาขาว อย่างละ 3 ตัวอย่าง ชาสมุนไพร ได้แก่ ชากุหลาบ ชาคาโมมายล์ ชาจิง และชาใบหม่อน อย่างละ 2 ตัวอย่าง รวมตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาทั้งหมด 20 ตัวอย่าง จากนั้นกำหนดรหัสแต่ละตัวอย่าง ดังนี้

ชาเขียว	A B C
ชาดำ	A B C
ชาอู่หลง	A B C
ชาขาว	A B C
ชากุหลาบ	A B
ชาคาโมมายล์	A B
ชาจิง	A B
ชาใบหม่อน	A B

สารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 1) สารละลายมาตรฐาน Trolox
- 2) สารละลาย Fluorescein
- 3) สารละลาย AAPH (substrate)

- 4) สารละลายมาตรฐาน $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 5) น้ำกลั่น
- 6) acetate buffer
- 7) $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
- 8) TPTZ (2, 4, 6-Tripyridyl-s-Triazine)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 1) ปิเปต (measuring pipette)
- 2) หลอดทดลอง (test tube)
- 3) ช้อนตักสาร (spatula)
- 4) แท่งแก้ว (stirring rod)
- 5) ปีกเกอร์
- 6) หลอดหยด (dropper)
- 7) 96-well plate
- 8) microplate fluorescence reader
- 9) microplate reader

3.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีมาตรฐานที่นิยม ได้แก่ Oxygen absorbance capacity (ORAC) และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

3.2.1 Oxygen absorbance capacity (ORAC) (Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L, 2002)

ORAC เป็นการวัดความสามารถในการกำจัดออกซิเจนในรูปอนุมูลอิสระ
ขั้นตอนการทดสอบ

- (1) ใส่ตัวอย่างชา และสารละลายมาตรฐาน Trolox ที่ระดับความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500 และ 1,000 μM ปริมาณ 25 ไมโครลิตร ในไมโครเพลท (ขนาด 96 หลุม)
- (2) เติมสารละลาย Fluorescein ปริมาณ หลุมละ 150 ไมโครลิตรลงในไมโครเพลททุกหลุม

(3) ใส่สารละลาย AAPH (substrate) 25 ไมโครลิตร ทำการวัดการเรืองแสงของ ฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร สำหรับ excitation และ 530 นาโนเมตร สำหรับ emission ด้วยเครื่อง microplate fluorescence reader

3.2.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (Bumrungpert A., Prajai T., Thintawee W., Wong-Amnuay S., Pattanaprasert S. & Chongsuwat R, 2015)

FRAP เป็นการวัดคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระโดยการรีดิวซ์ ferric tripyridyl triazine ให้กลายเป็น ferrous tripyridyl triazine

ขั้นตอนการทดสอบ

- (1) เตรียมสารละลาย FRAP reagent
- (2) เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท
- (3) ใส่ตัวอย่างชา และสารละลายมาตรฐาน $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ที่ระดับความเข้มข้น 62.5, 125, 250, 500, 1,000 μM ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในไมโครเพลท (ขนาด 96 หลุม)
- (4) ปั่นที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที
- (3) นำไปอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำเสนอข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

3.3.1 ค่าเฉลี่ย (Mean)

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

โดยที่ \bar{x} = ค่าเฉลี่ย
 $\sum x$ = ผลรวมของคะแนนทั้งหมดของกลุ่ม
 N = จำนวนของคะแนนในกลุ่ม

3.3.2 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) (กัลยา วาณิชย์บัญชา, 2545)

$$\text{S.D.} = \frac{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}}{n-1}$$

โดยที่ S.D. = ค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน

$\sum x^2$	=	ผลรวมคะแนนแต่ละตัวยกกำลังสอง
$(\sum x)^2$	=	ผลรวมคะแนนทั้งหมดยกกำลังสอง
n	=	ขนาดของกลุ่มตัวอย่าง



บทที่ 4

ผลการวิจัย

การศึกษาด้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชง มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาด้านการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ โดยสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชงที่วางขายตามท้องตลาด ร้านสะดวกซื้อ และห้างสรรพสินค้าในเขตกรุงเทพมหานครฯ และปริมาณทลมาศึกษาวิจัย ซึ่งผลการทดสอบมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC)

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.1 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง

ชาเขียวชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาเขียว A	179.0
ชาเขียว B	249.4
ชาเขียว C	308.5

จากตารางที่ 4.1 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาเขียวชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 308.5 รองลงมา คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC ได้ 249.4 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 179.0

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง

ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาอู่หลง A	262.4
ชาอู่หลง B	379.9
ชาอู่หลง C	41.7

จากตารางที่ 4.2 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 379.9 รองลงมา คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 262.4 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า ORAC ได้ 41.7

ตารางที่ 4.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมชง

ชาขาวชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาขาว A	205.1
ชาขาว B	283.0
ชาขาว C	369.7

จากตารางที่ 4.3 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาขาวชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 369.7 รองลงมา คือ ชาขาวชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC ได้ 283.0 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาขาวชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 205.1

ตารางที่ 4.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมชง

ชาดำชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาดำ A	49.0
ชาดำ B	101.7
ชาดำ C	154.1

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาดำชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 154.1 รองลงมา คือ ชาดำชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC ได้ 101.7 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาดำชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 49.0

ตารางที่ 4.5 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง

ชาเขียวชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาเขียว A	211.5
ชาเขียว B	103.4

จากตารางที่ 4.5 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาเขียวชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 211.5 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC ได้ 103.4

ตารางที่ 4.6 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง

ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาคาโมมายล์ A	145.3
ชาคาโมมายล์ B	288.9

จากตารางที่ 4.6 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 288.9 และที่ต่ำที่สุด คือ ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 145.3

ตารางที่ 4.7 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง

ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชากุหลาบ A	116.7
ชากุหลาบ B	127.4

จากตารางที่ 4.7 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง พบว่า ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 127.4 และที่ต่ำที่สุด คือ ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 116.7

ตารางที่ 4.8 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง

ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง	ORAC ($\mu\text{M Trolox/mg}$)
ชาใบหม่อน A	86.5
ชาใบหม่อน B	143.7

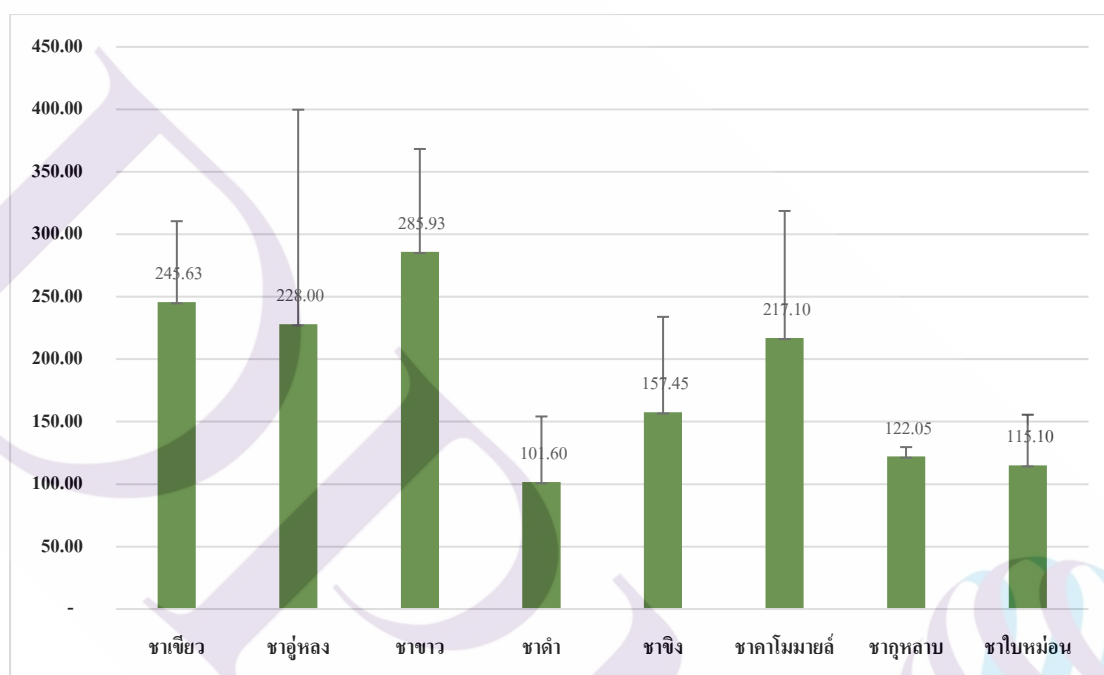
จากตารางที่ 4.8 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง พบว่า ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 143.7 และที่ต่ำที่สุด คือ ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า ORAC ได้ 86.5





ภาพที่ 4.1 แสดงการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง

จากภาพที่ 4.1 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาชนิดของพร้อมชงที่มีค่า ORAC สูงที่สุดที่ได้จากการศึกษาวิจัยจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า ORAC เท่ากับ $379.9 \mu\text{M Trolox/mg}$ และชาชนิดของพร้อมชงที่มีค่า ORAC ต่ำที่สุด คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง C มีค่าเท่ากับ $41.7 \mu\text{M Trolox/mg}$



ภาพที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง

จากภาพที่ 4.2 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่าชาขาวชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากชนิดชาอื่น ๆ มีค่าอยู่ที่ $285.93 \pm 82.34 \mu\text{M Trolox/mg}$ และค่าการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด คือ ชาดำชนิดของพร้อมชง มีค่าอยู่ที่ $101.60 \pm 52.55 \mu\text{M Trolox/mg}$

4.2 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตารางที่ 4.9 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง

ชาเขียวชนิดของพร้อมชง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาเขียว A	21.2
ชาเขียว B	29.7
ชาเขียว C	28.0

จากตารางที่ 4.9 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาเขียวชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาเขียวชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 29.7 รองลงมา คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า FRAP value อยู่ที่ 28.0 และต่ำที่สุด คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 21.2

ตารางที่ 4.10 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง

ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาอู่หลง A	23.6
ชาอู่หลง B	31.5
ชาอู่หลง C	4.4

จากตารางที่ 4.10 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 31.5 รองลงมา

คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมซง A ตรวจพบค่า FRAP value อยู่ที่ 23.6 และต่ำที่สุด คือ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมซง C ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 4.4

ตารางที่ 4.11 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมซง

ชาขาวชนิดของพร้อมซง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาขาว A	28.2
ชาขาว B	29.2
ชาขาว C	46.9

จากตารางที่ 4.11 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาขาวชนิดของพร้อมซง พบว่า ชาขาวชนิดของพร้อมซง C ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 46.9 รองลงมา คือ ชาขาวชนิดของพร้อมซง B ตรวจพบค่า FRAP value อยู่ที่ 29.2 และต่ำที่สุด คือ ชาขาวชนิดของพร้อมซง A ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 28.2

ตารางที่ 4.12 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมซง

ชาดำชนิดของพร้อมซง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาดำ A	21.8
ชาดำ B	43.5
ชาดำ C	58.6

จากตารางที่ 4.12 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาดำชนิดของพร้อมซง พบว่า ชาดำชนิดของพร้อมซง C ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 3 ชนิด มีค่าเท่ากับ 58.6 รองลงมา คือ ชาดำชนิดของพร้อมซง B ตรวจพบค่า FRAP value อยู่ที่ 43.5 และต่ำที่สุด คือ ชาดำชนิดของพร้อมซง A ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 21.8

ตารางที่ 4.13 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วย Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาอิงชนิดของพร้อมชง

ชาอิงชนิดของพร้อมชง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาอิง A	1.0
ชาอิง B	0.5

จากตารางที่ 4.13 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาอิงชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาอิงชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1.0 และต่ำที่สุดคือ ชาอิงชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 0.5

ตารางที่ 4.14 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง

ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาคาโมมายล์ A	0.6
ชาคาโมมายล์ B	3.0

จากตารางที่ 4.14 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง B ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 3.0 และต่ำที่สุดคือ ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง A ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 0.6

ตารางที่ 4.15 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง

ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง	FRAP value (mM TE/mg)
ชากุหลาบ A	20.4

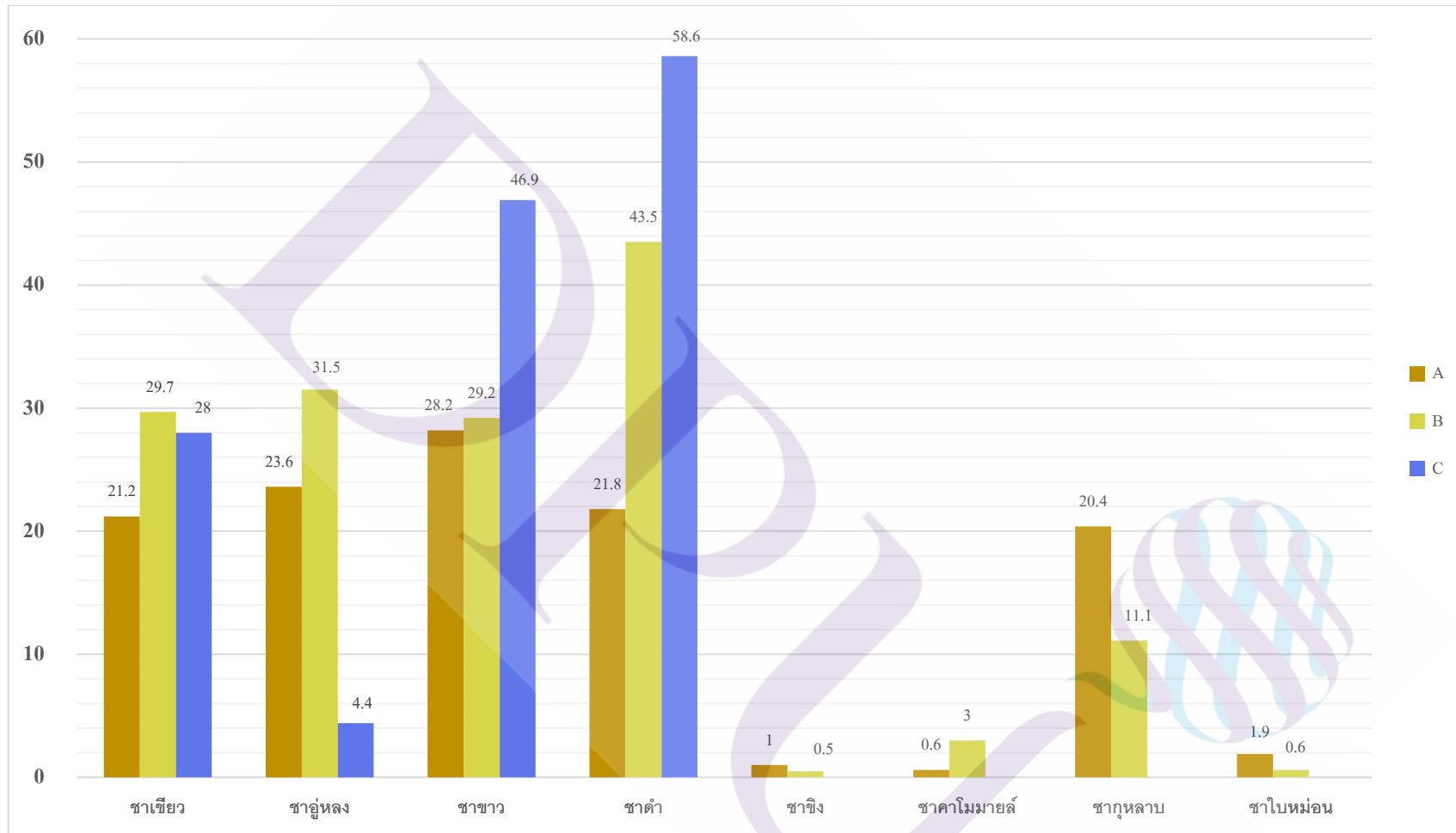
ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาภูหลาย B	11.1

จากตารางที่ 4.15 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง พบว่า ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง A ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 20.4 และต่ำที่สุด คือ ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง B ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 11.1

ตารางที่ 4.16 การวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมซง

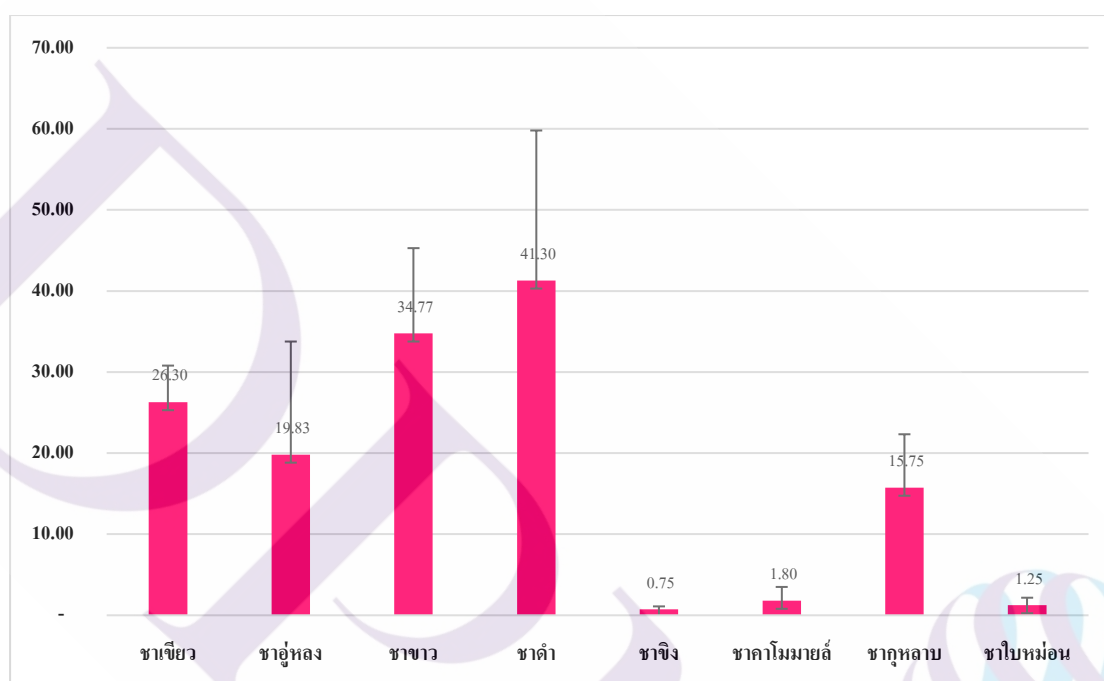
ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง	FRAP value (mM TE/mg)
ชาใบหม่อน A	1.9
ชาใบหม่อน B	0.6

จากตารางที่ 4.16 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาภูหลายชนิดของพร้อมซง พบว่า ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมซง A ตรวจพบค่า FRAP value สูงที่สุดจากกลุ่มตัวอย่าง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 1.9 และต่ำที่สุด คือ ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมซง B ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 0.6



ภาพที่ 4.3 แสดงการวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง

จากภาพที่ 4.3 แสดงผลวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาชนิดของพร้อมชง ที่มีค่า FRAP value สูงที่สุดที่ได้จากการศึกษาวิจัยจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 20 ตัวอย่าง คือ ชาดำ ชนิดของพร้อมชง C ตรวจพบค่า FRAP value ที่ 379.9 mM TE/mg และชาชนิดของพร้อมชงที่มีค่า FRAP value ต่ำที่สุด คือ ชาอิงชนิดของพร้อมชง B ที่ 0.5 mM TE/mg



ภาพที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง

จากภาพที่ 4.4 แสดงค่าเฉลี่ยในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่าชาดำชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากชนิดชาอื่น ๆ มีค่าอยู่ที่ 41.30 ± 18.50 mM TE/mg และค่าการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด คือ ชาอิงชนิดของพร้อมชง มีค่าอยู่ที่ 0.75 ± 0.35 mM TE/mg

บทที่ 5

อภิปราย สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชงเป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง ได้แก่ ชาเขียว ชาดำ ชาอู่หลง ชาขาว และชาสมุนไพรต่าง ๆ การวิจัยครั้งนี้ถูกออกแบบมาเพื่อเป็นฐานข้อมูลให้กับผู้บริโภคเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของชาชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย รวมทั้งเพื่อให้เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในการพิจารณาเลือกบริโภคชาชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยได้ศึกษาชาชนิดของพร้อมชงชนิดต่าง ๆ เพื่อตรวจสอบหาคุณสมบัติของการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) และ วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ซึ่งประกอบด้วยชาชนิดของพร้อมชงทั้งหมด 8 ชนิด คือ ชาเขียว ชาอู่หลง ชาขาว ชาดำ ชาอิง ชาคาโมมายด์ ชากุหลาบ และ ชาใบหม่อน โดยผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Oxygen absorbance capacity (ORAC) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่าชาขาวชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากชนิดชาอื่น ๆ มีค่าอยู่ที่ $285.93 \pm 82.34 \mu\text{M Trolox/mg}$ รองลงมา คือ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง มีค่า $245.63 \pm 64.83 \mu\text{M Trolox/mg}$ ชาอู่หลงชนิดของพร้อมชง มีค่า $228.00 \pm 171.70 \mu\text{M Trolox/mg}$ ชาคาโมมายด์ชนิดของพร้อมชง มีค่า $217.10 \pm 101.54 \mu\text{M Trolox/mg}$ ชาอิงชนิดของพร้อมชง มีค่า $157.45 \pm 76.44 \mu\text{M Trolox/mg}$ ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง มีค่า $122.05 \pm 7.57 \mu\text{M Trolox/mg}$ ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง มีค่า $115.10 \pm 40.45 \mu\text{M Trolox/mg}$ และค่า ORAC ต่ำที่สุด คือ ชาดำชนิดของพร้อมชง มีค่าอยู่ที่ $101.60 \pm 52.55 \mu\text{M Trolox/mg}$ ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ในผลิตภัณฑ์ชาชนิดของพร้อมชง พบว่า ชาดำชนิดของพร้อมชงที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดจากชนิดชาอื่น ๆ มีค่าอยู่ที่ $41.30 \pm 18.50 \text{ mM TE/mg}$ รองลงมา คือ ชาขาวชนิดของพร้อมชง มีค่า $34.77 \pm 10.52 \text{ mM TE/mg}$ ชาเขียวชนิดของพร้อมชง มีค่า $26.30 \pm 4.50 \text{ mM TE/mg}$ ชา

อู่หลงชนิดของพร้อมชง มีค่า 19.83 ± 13.94 mM TE/mg ชากุหลาบชนิดของพร้อมชง มีค่า 15.75 ± 6.58 mM TE/mg ชาคาโมมายล์ชนิดของพร้อมชง มีค่า 1.80 ± 1.70 mM TE/mg ชาใบหม่อนชนิดของพร้อมชง มีค่า 1.25 ± 0.92 mM TE/mg และค่า FRAP ต่ำที่สุด คือ ชาอิงชนิดของพร้อมชง มีค่าอยู่ที่ 0.75 ± 0.35 mM TE/mg ตามลำดับ

จากการศึกษางานวิจัยที่ในปี 2015 ได้มีการศึกษาเปรียบเทียบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของชาประเภทชาพร้อมดื่มระหว่าง ทั้ง 4 ชนิด ประกอบด้วย ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และชาขาว โดยทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) พบว่า ชาเขียวพร้อมดื่มมีค่า ORAC มากที่สุด คือ 14.86 ± 0.29 mM TE*/100 ml รองลงมา คือ ชาอู่หลงพร้อมดื่ม มีค่า 10.37 ± 0.39 mM TE*/100 ml ชาขาวพร้อมดื่ม มีค่า 8.58 ± 0.29 mM TE*/100 ml และ ชาดำพร้อมดื่ม มีค่า 8.23 ± 0.26 mM TE*/100 ml ตามลำดับ และการวิเคราะห์ด้วยวิธี Ferric Reducing Antioxidant (FRAP) พบว่า ชาเขียวพร้อมดื่มมีค่า FRAP มากที่สุด คือ 5.11 ± 0.03 mM TE*/100 ml รองลงมา คือ ชาอู่หลงพร้อมดื่ม มีค่า 3.07 ± 0.04 mM TE*/100 ml ชาขาวพร้อมดื่ม มีค่า 2.37 ± 0.02 mM TE*/100 ml และ ชาดำพร้อมดื่ม มีค่า 1.68 ± 0.03 mM TE*/100 ml ตามลำดับ (Bumrungpert A et al., 2015) เมื่อเทียบกับผลการศึกษามีความสอดคล้องกัน นอกจากนั้น งานวิจัยที่ผ่านมามีค่า FRAP ของผลไม้ชนิดอื่น ๆ อาทิเช่น ส้มมีค่า FRAP อยู่ที่ $9,420$ $\mu\text{mol/kg}$ และ ค่า ORAC อยู่ที่ 750 $\mu\text{g TE/mL}$ กล้วยมีค่า FRAP อยู่ที่ $8,200$ $\mu\text{mol/kg}$ และ ค่า ORAC อยู่ที่ 602 $\mu\text{g TE/mL}$ แอปเปิ้ลแดง FRAP มีค่าอยู่ที่ $4,200$ $\mu\text{mol/kg}$ และสับปะรดมีค่า FRAP อยู่ที่ $3,480$ $\mu\text{mol/kg}$ (Yim T.S et al, 2002) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชาแล้วนั้น สารต้านอนุมูลอิสระในผลไม้ไม่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าชาชนิดต่าง ๆ

5.2 สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่า ชาชนิดของพร้อมชงทั้งหมด 8 ชนิดที่นำมาวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของการต้านอนุมูลอิสระ พบว่า ชาชนิดของพร้อมชง 3 อันดับแรกที่มีค่า ORAC และ FRAP สูงที่สุดประกอบด้วย ชาขาว ชาเขียว และชาอู่หลง ส่วนชาสมุนไพรมีประสิทธิภาพต่ำกว่าชาทั่วไป อันเนื่องมาจากการที่ใบชาที่ได้มานั้นผ่านขั้นตอนการหมักจึงทำให้ใบชามีสารต้านอนุมูลอิสระที่น้อยลง โดยสารต้านอนุมูลอิสระในชาส่วนใหญ่เป็นสารโพลีฟีนอล (Polyphenol) จำพวกสารคาเทชิน (Catechin) ซึ่งพบได้มากถึงร้อยละ 70 ของปริมาณสารโพลีฟีนอลทั้งหมด

5.3 ข้อจำกัด

งานวิจัยครั้งนี้ศึกษาเพียงชาชนิตของพร้อมขงบางชนิดเท่านั้น ไม่ได้ศึกษาชาชนิตของพร้อมขงทุกชนิด

5.4 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการใช้วิธีการอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากการวิจัยในครั้งนี้ในการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทดสอบมากยิ่งขึ้น
2. ควรทำการศึกษาษาประเภทอื่น ๆ ที่นอกเหนือจากชาชนิตของพร้อมขง





บรรณานุกรม

ภาษาอังกฤษ

- Adwas, Almokhtar & Elsayed, Ata & Azab, Azab & Quwaydir, Fawzia. (2019). Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *Journal of Biotechnology*. 6. 43-47.
- Alizadeh-Navaei, R., Roozbeh, F., Saravi, M., Pouramir, M., Jalali, F., & Moghadamnia, A. A. (2008). Investigation of the effect of ginger on the lipid levels. A double blind controlled clinical trial. *Saudi medical journal*, 29(9), 1280–1284.
- Bernatoniene, J., & Kopustinskiene, D. M. (2018). The Role of Catechins in Cellular Responses to Oxidative Stress. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(4), 965.
- Bumrungpert A., Prajai T., Thintawee W., Wong-Amnuay S., Pattanaprasert S. & Chongsuwat R. (2015). The study of anti-oxidant activity and pesticide residues in ready-to-drink tea products. *Journal of Nutrition Association of Thailand*, 50(1), 1-10.
- Cabrera, C., Artacho, R., & Giménez, R. (2006). Beneficial effects of green tea--a review. *Journal of the American College of Nutrition*, 25(2), 79–99.
- Cao, G., Alessio, H. M., & Cutler, R. G. (1993). Oxygen-radical absorbance capacity assay for antioxidants. *Free radical biology & medicine*, 14(3), 303–311.
- Chen, W., Zhang, Z., Shen, Y., Duan, X., & Jiang, Y. (2014). Effect of tea polyphenols on lipid peroxidation and antioxidant activity of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit during cold storage. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 19(10), 16837–16850.
- Das, Kaushik & Roychoudhury, Aryadeep. (2014). Reactive oxygen species (ROS) and response of antioxidants as ROS-scavengers during environmental stress in plants. *Frontiers in Environmental Science*. 2. 10.3389/fenvs.2014.00053.
- Devasagayam, T. P., Tilak, J. C., Boloor, K. K., Sane, K. S., Ghaskadbi, S. S., & Lele, R. D. (2004). Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. *The Journal of the Association of Physicians of India*, 52, 794–804.
- Fuchs, D., Nyakayiru, J., Draijer, R., Mulder, T. P., Hopman, M. T., Eijsvogels, T. M., & Thijssen, D. H. (2016). Impact of flavonoid-rich black tea and beetroot juice on postprandial peripheral vascular resistance and glucose homeostasis in obese, insulin-resistant men: a randomized controlled trial. *Nutrition & metabolism*, 13, 34.

- Guo, Y., Zhi, F., Chen, P., Zhao, K., Xiang, H., Mao, Q., Wang, X., & Zhang, X. (2017). Green tea and the risk of prostate cancer: A systematic review and meta-analysis. *Medicine*, 96(13), e6426.
- Gupta, Deepshikha. (2015). Methods for determination of antioxidant capacity: A review. *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH*. 6. 546-566. 10.13040/IJPSR.0975-8232.6(2).546-66.
- Haidari, F., Omidian, K., Rafiei, H., Zarei, M., & Mohamad Shahi, M. (2013). Green Tea (*Camellia sinensis*) Supplementation to Diabetic Rats Improves Serum and Hepatic Oxidative Stress Markers. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 12(1), 109–114.
- He, R. R., Chen, L., Lin, B. H., Matsui, Y., Yao, X. S., & Kurihara, H. (2009). Beneficial effects of oolong tea consumption on diet-induced overweight and obese subjects. *Chinese journal of integrative medicine*, 15(1), 34–41.
- Huang, D., Ou, B., Hampsch-Woodill, M., Flanagan, J. A., & Prior, R. L. (2002). High-throughput assay of oxygen radical absorbance capacity (ORAC) using a multichannel liquid handling system coupled with a microplate fluorescence reader in 96-well format. *Journal of agricultural and food chemistry*, 50(16), 4437–4444.
- Huang, J., Wang, Y., Ying, C., Liu, L., & Lou, Z. (2018). Effects of mulberry leaf on experimental hyperlipidemia rats induced by high-fat diet. *Experimental and therapeutic medicine*, 16(2), 547–556.
- Kart, Dilay & Çağrı, Özlem. (2017). Determination of Antioxidant Properties of Dry Rose Tea. *International Journal of Secondary Metabolite*. 4. 384-390. 10.21448/ijsm.374630.
- Kim, J. Y., Ok, H. M., Kim, J., Park, S. W., Kwon, S. W., & Kwon, O. (2015). Mulberry leaf extract improves postprandial glucose response in prediabetic subjects: a randomized, double-blind placebo-controlled trial. *Journal of medicinal food*, 18(3), 306–313.
- Kumar, Shashank & Pandey, Abhay K. (2015). Free Radicals: Health Implications and their Mitigation by Herbals. *British J Med Med Res*. 7. 438-457.
- Langley-Evans S. C. (2000). Antioxidant potential of green and black tea determined using the ferric reducing power (FRAP) assay. *International journal of food sciences and nutrition*, 51(3), 181–188.

- Lee, K. W., Lee, H. J., & Lee, C. Y. (2002). Antioxidant activity of black tea vs. green tea. *The Journal of nutrition*, 132(4), 785–786.
- Li, H., Horke, S., & Förstermann, U. (2013). Oxidative stress in vascular disease and its pharmacological prevention. *Trends in pharmacological sciences*, 34(6), 313–319.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy reviews*, 4(8), 118–126.
- Loypimai P. (2012). Total Antioxidant Capacity Assessments invitro. *J Sci Technol MSU*, 31(2), 164-170.
- Łuczaj, W., & Skrzydlewska, E. (2005). Antioxidative properties of black tea. *Preventive medicine*, 40(6), 910–918.
- Luo, H., Deng, S., Fu, W., Zhang, X., Zhang, X., Zhang, Z., & Pang, X. (2017). Characterization of Active Anthocyanin Degradation in the Petals of *Rosa chinensis* and *Brunfelsia calycina* Reveals the Effect of Gallated Catechins on Pigment Maintenance. *International journal of molecular sciences*, 18(4), 699.
- Miyata, Y., Shida, Y., Hakariya, T., & Sakai, H. (2019). Anti-Cancer Effects of Green Tea Polyphenols Against Prostate Cancer. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 24(1), 193.
- Mohammadi, Shadieh & Aliakbarlu, Javad & Sadaghiani, Surur & Dehestaniathar, Saeed. (2018). Effects of dried Rose Petals (*Rosa damascena*) on the antioxidant capacity of Green and Black Tea. *Advances in Environmental Research*. 240-245.
- Nikniaz, Z., Mahdavi, R., Ghaemmaghami, S. J., Lotfi Yagin, N., & Nikniaz, L. (2016). Effect of different brewing times on antioxidant activity and polyphenol content of loosely packed and bagged black teas (*Camellia sinensis* L.). *Avicenna journal of phytomedicine*, 6(3), 313–321.
- Nimse, Satish & Pal, Dilipkumar. (2015). Free Radicals, Natural Antioxidants, and their Reaction Mechanisms. *RSC Adv*. 5. 10.1039/C4RA13315C.
- Pervin, M., Unno, K., Ohishi, T., Tanabe, H., Miyoshi, N., & Nakamura, Y. (2018). Beneficial Effects of Green Tea Catechins on Neurodegenerative Diseases. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 23(6), 1297.
- Pham-Huy, L. A., He, H., & Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International journal of biomedical science: IJBS*, 4(2), 89–96.

- Phaniendra, A., Jestadi, D. B., & Periyasamy, L. (2015). Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry: IJCB*, 30(1), 11–26.
- Phimarn, W., Wichaiyo, K., Silpsavikul, K., Sungthong, B., & Saramunee, K. (2017). A meta-analysis of efficacy of *Morus alba* Linn. to improve blood glucose and lipid profile. *European journal of nutrition*, 56(4), 1509–1521.
- Pisoschi, A. M., & Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European journal of medicinal chemistry*. 97, 55–74.
- Ryan, J. L., Heckler, C. E., Roscoe, J. A., Dakhil, S. R., Kirshner, J., Flynn, P. J., Hickok, J. T., & Morrow, G. R. (2012). Ginger (*Zingiber officinale*) reduces acute chemotherapy-induced nausea: A URCC CCOP study of 576 patients. *Supportive care in cancer: official journal of the Multinational Association of Supportive Care in Cancer*, 20(7), 1479–1489.
- Sami, G, et al. (2015). The effects of Chamomile tea on antioxidative biomarkers in operating room staff. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 4(3), 98-101.
- Santos Sánchez, Norma & Salas-Coronado, Raul & Villanueva, Claudia & Hernandez-Carlos, Beatriz. (2019). Antioxidant Compounds and Their Antioxidant Mechanism. 10.5772/intechopen.85270.
- Sharangi, Amit. (2009). Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.) – A review. *Food Research International*. 42. 529-535.
- Srivastava, J.K., et al. (2010). Chamomile: A herbal medicine of the past with bright future. *Molecular Medicine Reports*. 3(6), 895–901.
- Su, X., Duan, J., Jiang, Y., Duan, X., & Chen, F. (2007). Polyphenolic Profile and Antioxidant Activities of Oolong Tea Infusion under Various Steeping Conditions. *International Journal of Molecular Sciences*, 8(12), 1196–1205.
- Suzuki, T., Pervin, M., Goto, S., Isemura, M., & Nakamura, Y. (2016). Beneficial Effects of Tea and the Green Tea Catechin Epigallocatechin-3-gallate on Obesity. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 21(10), 1305.
- Tsai, Pu-Hsi & Kan, Nean-Been & Ho, Su-Chen & Liu, Chieh-Chung & Lin, Chih-Cheng. (2006). Effects of Oolong Tea Supplementation on Lipid Peroxidation of Athletes at Rest and

- Post-exhaustive Exercise. *Journal of Food Science*. 70. S581 - S585. 10.1111/j.1365-2621.2005.tb08332.x.
- Tsao R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246.
- Unachukwu, U. J., Ahmed, S., Kavalier, A., Lyles, J. T., & Kennelly, E. J. (2010). White and green teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): variation in phenolic, methylxanthine, and antioxidant profiles. *Journal of food science*, 75(6), C541–C548.
- Van Dieren, Susan & Uiterwaal, C & Van der Schouw, Yvonne & van der A, Daphne & Boer, Jolanda & Spijkerman, A & Grobbee, Diederick & Beulens, Joline. (2009). Coffee and tea consumption and risk of type 2 diabetes. *Diabetologia*. 52. 2561-9. 10.1007/s00125-009-1516-3.
- Vinokur, Yakov & Rodov, Victor & Reznick, Natalie & Goldman, Genady & Horev, Batia & Umiel, Nakdimon & Friedman, Haya. (2006). Rose Petal Tea as an Antioxidant-rich Beverage: Cultivar Effects. *Journal of Food Science*. 71. S42 - S47.
- Vinson, J. A., & Dabbagh, Y. A. (1998). Effect of green and black tea supplementation on lipids, lipid oxidation and fibrinogen in the hamster: mechanisms for the epidemiological benefits of tea drinking. *FEBS letters*, 433(1-2), 44–46.
- Woodward, K. A., Hopkins, N. D., Draijer, R., de Graaf, Y., Low, D. A., & Thijssen, D. (2018). Acute black tea consumption improves cutaneous vascular function in healthy middle-aged humans. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)*, 37(1), 242–249.
- Wu, T., Xu, J., Chen, Y., Liu, R., & Zhang, M. (2018). Oolong tea polysaccharide and polyphenols prevent obesity development in Sprague-Dawley rats. *Food & nutrition research*, 62, 10.29219/fnr.v62.1599.
- Xu, D. P., Li, Y., Meng, X., Zhou, T., Zhou, Y., Zheng, J., Zhang, J. J., & Li, H. B. (2017). Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. *International journal of molecular sciences*, 18(1), 96.
- Xu, R., Yang, K., Li, S., Dai, M., & Chen, G. (2020). Effect of green tea consumption on blood lipids: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrition journal*, 19(1), 48.

- Yang, J., Mao, Q. X., Xu, H. X., Ma, X., & Zeng, C. Y. (2014). Tea consumption and risk of type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis update. *BMJ open*, 4(7), e005632.
- Yim, T.S., et al. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *British Journal of Nutrition*, 87, 55–59.
- Yoto, A., Murao, S., Nakamura, Y., & Yokogoshi, H. (2014). Intake of green tea inhibited increase of salivary chromogranin A after mental task stress loads. *Journal of physiological anthropology*, 33(1), 20.
- Zhang, L., Ho, C. T., Zhou, J., Santos, J. S., Armstrong, L., & Granato, D. (2019). Chemistry and Biological Activities of Processed *Camellia sinensis* Teas: A Comprehensive Review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 18(5), 1474–1495.

ภาษาไทย

- ธีรพงษ์ เทพกรณ์. (2015) ชา: กระบวนการผลิต และองค์ประกอบทางเคมีจากการหมัก. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 17 (2555) 2: 189-196.

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ณกศศิ สุรวรรณ
วัน เดือน ปี เกิด	16 สิงหาคม พ.ศ. 2534
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	515/62 คอนโดสุภาลัยออเรียนทัลเพลส สวนพลู 8 แขวงทุ่งมหาเมฆ เขตสาทร จังหวัดกรุงเทพมหานคร 10120
ประวัติการศึกษา	นิเทศศาสตรบัณฑิต (นศ.บ.) สาขาวารสารสนเทศ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตฯ พ.ศ. 2562 - ปัจจุบัน
ประวัติการทำงาน	ธุรกิจส่วนตัว บริษัท ไทย เซอร์เบิล โชลูชั่น จำกัด

