

ผลของการผสมสารสกัดชาต่อปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
Effects of Tea Extract Blend on Phenolic Content and Antioxidant Capacity

ภาคิน เตชะกัลยาณิน

อีเมล: 6551701274@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง

อีเมล: sarita.san@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

ชาหลากหลายชนิดมีสารองค์ประกอบที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกัน การค้นคว้าวิจัยอิสระนี้ผู้วิจัยสนใจศึกษาและวิเคราะห์ผลของการเสริมฤทธิ์ที่ได้จากการผสมสารสกัดชาแต่ละชนิด โดยมีการเตรียมสารสกัดจากชาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และ ชาขาว ด้วย 50% เอทานอล ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม และ ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP รวมไปถึงศึกษาการผสมสารสกัดชา 3 ชนิดที่มีฤทธิ์มากที่สุดเพื่อให้เกิดการเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพ ในงานวิจัยนี้ได้นำผงชาทั้ง 4 ชนิด มาทำการสกัดด้วย 50% เอทานอล อัตราส่วน 1:10 โดยใช้เครื่องเขย่าคลื่นเสียงอัลตราโซนิก (40 kHz) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นกรองด้วยระบบน้ำไหลผ่าน และนำสารสกัดที่ได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดชารูปแบบเดี่ยวที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (ค่า IC_{50}) และ FRAP มากที่สุด คือ ชาขาว มีค่าเท่ากับ 750.15 ± 12.54 mg GAE/g extract, 43.409 ± 2.209 μ g/mL และ $9,173.38 \pm 29.47$ mg TEAC/g extract ตามลำดับ สารสกัดชารูปแบบผสมที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH (ค่า IC_{50}) และ FRAP มากที่สุด คือ การผสมชาเขียว ชาขาว และชาอู่หลง มีค่าเท่ากับ 793.08 ± 23.28 mg GAE/g extract, 66.007 ± 11.450 μ g/mL และ $8,337.27 \pm 142.11$ mg TEAC/g extract ตามลำดับ นอกจากนี้สารสกัดชารูปแบบเดี่ยว และรูปแบบผสมที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด คือ ชาเขียว และ การผสมชาเขียว และชาขาว มีค่าเท่ากับ $11,006.02 \pm 195.94$ และ $18,668.67 \pm 474.24$ mg QE/g extract

ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าชาดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP ต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับชาทั้งหมด จึงไม่นำมารวมในการศึกษาการผสมชารูปแบบต่าง ๆ ดังนั้น ชาขาว และ การผสมชาเขียว ชาขาวและชาอู่หลง มีศักยภาพเป็นสารสกัดสำคัญที่สามารถเพิ่มมูลค่าในการพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์ ช่วยเสริมฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางหรืออุตสาหกรรมอื่น ๆ ได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ชา, สารประกอบฟีนอลิกรวม, สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม, ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ, การเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพ

Abstract

Variety of teas contain different bioactive compounds that exhibit diverse biological activities. This independent research aimed to investigate and analyze the synergistic effects resulting from the combination of different tea extracts. Four types of tea were prepared as extracts using 50% ethanol: green tea, oolong tea, black tea, and white tea. The study examined the total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity using DPPH and FRAP assays. Furthermore, it investigated the combination of the three tea extracts with the highest individual activities to achieve biological synergism. In this research, the four types of tea powder were extracted with 50% ethanol at a ratio of 1:10 using an ultrasonic shaker (40 kHz) at 40 °C for 30 minutes. The extracts were then filtered through a flow-through system and evaporated using a rotary evaporator at 40-50 °C. The results showed that the single tea extract with the highest total phenolic content and antioxidant activity as determined by DPPH (IC_{50}) and FRAP was white tea, with values of 750.15 ± 12.54 mg GAE/g extract, 43.409 ± 2.209 μ g/mL, and $9,173.38 \pm 29.47$ mg TEAC/g extract, respectively. The mixed tea extract with the highest total phenolic content and antioxidant activity as determined by DPPH (IC_{50}) and FRAP was the combination of green tea, white tea, and oolong tea, with values of 793.08 ± 23.28 mg GAE/g extract, 66.007 ± 11.450 μ g/mL, and $8,337.27 \pm 142.11$ mg TEAC/g extract, respectively. Additionally, the single and mixed tea extracts with the highest total flavonoid content were green tea and the combination of green tea and white tea,

with values of $11,006.02 \pm 195.94$ and $18,668.67 \pm 474.24$ mg QE/g extract, respectively. The experimental results indicated that black tea had the lowest total phenolic content, total flavonoid content, and DPPH and FRAP antioxidant activities compared to all other teas. Therefore, black tea was not included in the study of various tea combinations. In conclusion, white tea and the combination of green tea, white tea, and oolong tea have the potential to be important extracts that can add value to product development, enhance antioxidant activity, and can be applied in the cosmetic or other industries in the future.

Keywords: Tea, Phenolic Compounds, Flavonoid Compounds, Antioxidant, Synergistic Effects

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

ต้นชามีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze เป็นพืชในวงศ์ Theaceae ซึ่งโดยทั่วไปสายพันธุ์ของชาในประเทศไทยได้แบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์ใหญ่ ๆ คือ ชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) ซึ่งมีใบชาขนาดใหญ่ และ ชาจีน (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) ซึ่งมีใบชาขนาดเล็กและขนาดปานกลาง (Tang et al., 2022) โดยการจำแนกประเภทคุณลักษณะต่าง ๆ คุณภาพ องค์ประกอบทางเคมี ลักษณะเฉพาะทางกลิ่นและสีของชา ซึ่งสิ่งเหล่านี้สอดคล้องกับกระบวนการต่าง ๆ ในการผลิตใบชา ได้แก่ การเก็บเกี่ยว การทำความสะอาดใบชา การเลือกและคัดสรรใบชา การทำให้ใบชาแห้ง การบดและการเก็บรักษาใบชา รวมไปถึงระดับของกระบวนการหมักชา ได้แก่ ไม่มีกระบวนการหมัก กระบวนการหมักบางส่วน กระบวนการหมักทั้งหมด และ หลังกระบวนการหมัก จากกระบวนการผลิตของชาสามารถจำแนกชาชนิดต่าง ๆ ได้เป็น ชาเหลือง ชาขาว ชาเขียว ชาอู่หลง ชาแดง และ ชาดำ (Bortolini et al., 2021) ชาเป็นแหล่งที่มาของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะสารในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenols) ซึ่งพบในปริมาณมาก โดยโพลีฟีนอลส่วนใหญ่ที่พบมากในชาจะเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ flavones, flavanones, isoflavones, flavonols, flavanols และ anthocyanins ทั้งนี้ฟลาโวนอยด์ที่พบมากที่สุดใบชา คือ ฟลาวานอล (flavanols) ซึ่งเรียกว่า คาเทชิน (catechins) โดยมีประมาณ 60-70% ของโพลีฟีนอลทั้งหมด กลุ่มของคาเทชินที่พบมากในชาอาทิเช่น (-)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Epicatechin-3-gallate (ECG) และ (-)-Epicatechin (EC) กลุ่มของ Catechins ที่พบในปริมาณน้อยลงมา ได้แก่

(-)-Gallocatechin (GC), (+)-Catechin (C), (-)-Gallocatechin gallate (GCG) และ (-)-Catechin gallate (CG) (สถาบันชาและกาแฟ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, ม.ป.ป.)

ชาเป็นพืชที่นิยมอย่างมาก และสายพันธุ์ของชาในประเทศไทยได้แบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์ใหญ่ ๆ คือ ชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) และ ชาจีน (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) (Tang et al., 2022) ชาอุดมด้วยคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน การบรรเทาการอักเสบ การเสริมสร้างสุขภาพหัวใจและหลอดเลือด การยับยั้งเซลล์มะเร็ง การปกป้องตับ การควบคุมน้ำหนัก การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และอื่น ๆ (Shang et al., 2021) ชายังคงไว้ซึ่งสารสำคัญทางชีวภาพนานาชนิด ตัวอย่างเช่น สารกลุ่มโพลีฟีนอล โดยเน้นไปที่สารฟลาโวนอยด์ กรดอะมิโน และสารประกอบกลุ่มฟีนอลอื่น ๆ (Xu et al., 2019) ในปัจจุบันชามีสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันตลอดจนสารสำคัญอื่น ๆ ชาดำพบสารสำคัญอย่าง Thearubigins (TR) และ Theaflavins (TF) ในปริมาณมาก ชาอู่หลงมี Theasinensins และสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ในส่วนของชาขาวพบสารสำคัญที่โดดเด่น เช่น โพลีฟีนอล (polyphenol) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารคาเทชิน (catechin) ซึ่งมีปริมาณสูงและมีคุณสมบัติสำหรับการต้านอนุมูลอิสระ สารสำคัญที่อยู่ในชาเขียว คือ Epigallocatechin gallate (EGCG) ซึ่งมีปริมาณมากที่สุด, Epicatechin gallate (ECG), Epicatechin (EC) และ Epigallocatechin (EGC) (Koch et al., 2019) ทั้งนี้ชาเขียว ชาอู่หลง ชาขาว และ ชาดำ ได้รับความสนใจในด้านคุณประโยชน์เป็นอย่างมาก

ด้วยเหตุนี้การทำงานร่วมกัน หรือ การเสริมฤทธิ์ (synergy หรือ synergism) หมายถึง การทำงานร่วมกัน และ ผลลัพธ์ที่ได้อาจนิยามได้ว่าเป็นการรวมกันที่มากกว่าผลรวมของส่วนต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการคำนวณค่าการเสริมฤทธิ์ (synergist) และการจัดระดับของผลการเสริมฤทธิ์ (synergistic level) เป็นกระบวนการวิเคราะห์ว่าการรวมกันนั้นส่งผลให้ฤทธิ์ของสารเพิ่มขึ้น (synergy) เมื่อเปรียบเทียบกับการออกฤทธิ์ของสารแต่ละชนิดเมื่อใช้แยกกันหรือไม่ โดยการคำนวณค่าการเสริมฤทธิ์ได้อิงมาจากวิธีของ Chou-Talalay Method ซึ่งวิธี Chou-Talalay ถือเป็นหนึ่งในวิธีที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวางในการตรวจวิเคราะห์และประเมินเชิงปริมาณของปฏิกิริยาการเสริมฤทธิ์ระหว่างยาอย่างน้อยสองชนิดขึ้นไป โดยหนึ่งในวิธีที่ได้รับความนิยมในการประเมินผลการเสริมฤทธิ์กันของสารสองชนิด คือ ดัชนีการผสม (Combination Index: CI) ซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Chou และ Talalay (Roell & Motsinger-Reif, 2017) ทั้งนี้ค่าดัชนี CI ที่น้อยกว่า 1 บ่งชี้ถึงฤทธิ์เสริมกันของยา (synergism) ค่าที่มากกว่า 1 แสดงถึงฤทธิ์ต้านกัน (antagonism) และ ค่าที่เท่ากับ 1 สะท้อนถึงฤทธิ์รวมกันแบบเพิ่มพูน (additivity) (Ma & Motsinger-Reif, 2019)

โดยงานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่ กรรมวิธีในการแยกสาร ประสิทธิภาพของการแยกสาร ตัวกลางที่ใช้ในกระบวนการแยกสาร ศักยภาพในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน องค์ประกอบสำคัญที่พบในชา และปัจจัยอื่น ๆ อีกมากมาย (Das et al., 2019; Vural et al., 2020; Imran et al.,

2021) การศึกษาของ Rohadi et al. (2019) ได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของชาดำ ชาเขียว และชาอู่หลง พบว่าชาอู่หลงมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลสูงกว่าชาเขียวและชาดำ ชาเขียวมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดดเด่น รองลงมาคือ ชาอู่หลงและชาดำ อีกทั้งการศึกษาของ Makanjuola et al. (2015) ได้ทำการศึกษาการผสมผสานของสารต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งต่าง ๆ เพื่อทำให้เกิดผลในการเสริมฤทธิ์กัน จึงได้ศึกษาการผสมสารสกัดของชาและชิงจากนั้นพบว่า สารสกัดชาผสมชิงแสดงผลในการเสริมฤทธิ์กัน (Synergistic effects) และ งานวิจัยของ Hung et al. (2021), Vural et al. (2020) และ Imran et al. (2021) กล่าวว่า สารละลายเอทานอล 50% ให้ผลลัพธ์การแยกสารที่ดีเยี่ยมที่สุด ทั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้ทำการสกัดใบชาด้วย 50% เอทานอล โดยมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาผลของปริมาณสารประกอบที่ออกฤทธิ์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชาทั้งรูปแบบเดี่ยวและรูปแบบผสมที่สกัดด้วย 50% เอทานอล และ วิเคราะห์ผลของการเสริมฤทธิ์ที่ได้จากการผสมสารสกัดชาแต่ละชนิด

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. เตรียมใบชาแห้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชาเขียว สายพันธุ์อู่หลงไทย เบอร์ 17 ชาอู่หลง สายพันธุ์จินแถบปูเจียน ชาดำจูยิเชียน สายพันธุ์จินแถบปูเจียน และ ชาขาว สายพันธุ์อัสสัมไทย จากนั้นนำใบชาทั้ง 4 ชนิดมาบดละเอียดให้เป็นผงด้วยเครื่องปั่น และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh จากนั้นเก็บไว้ในตู้เก็บความเย็นที่อุณหภูมิ 4 °C จนกว่าจะนำไปทำการสกัดต่อไป

2. เตรียมสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด โดยนำตัวอย่างผงชาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชาเขียว สายพันธุ์อู่หลงไทย เบอร์ 17 ชาอู่หลง สายพันธุ์จินแถบปูเจียน ชาดำจูยิเชียน สายพันธุ์จินแถบปูเจียน และ ชาขาว สายพันธุ์อัสสัมไทย มาสกัดด้วย 50% เอทานอล เขย่าด้วยเครื่องเขย่าคลื่นเสียงอัลตราโซนิก (ultra-sonication) ที่คลื่นความถี่ 40 kHz เพื่อให้สารตัวอย่างกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำไปกรอง เมื่อได้สารสกัดสีที่ผ่านการกรองแล้วนำไปเข้าเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary evaporator) เพื่อทำการระเหยแห้ง จากนั้นเก็บตัวอย่างสารสกัดในตู้เย็นจนกว่าจะนำสารสกัดไปทำการทดสอบในด้านต่าง ๆ ต่อไป โดยการสกัดชาทั้ง 4 ชนิดต้องทำการสกัดตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate)

3. การทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกได้ดัดแปลงวิธีการมาจาก Rahman et al. (2022) โดยเตรียมสารละลาย 95 % เอทานอล 1 mg/mL ของตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ และเตรียมสารละลาย 7.5% Na_2CO_3 เริ่มแรกปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาณ 20 μL ผสมกับ FC reagent ปริมาณ 90 μL ลงในหลุมของไมโครเวลเพลท และตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาณ 90 μL และตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้นำส่วนผสมทั้งหมดไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm โดย

ใช้เครื่อง Microplate reader แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก (gallic acid equivalent, GAE) ต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/ g extract) โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

4. การทดสอบหาสารประกอบฟลาโวนอยด์ได้ดัดแปลงวิธีการมาจาก Junsathian et al. (2022) โดยเตรียมสารละลาย 95 % เอทานอล 1 mg/mL ของตัวอย่างที่ต้องการทดสอบ และเตรียมสารละลาย 5% NaNO_2 10% AlCl_3 และ 10% NaOH เริ่มแรกปิเปตสารละลายตัวอย่าง ปริมาณ 45 μL ผสมรวมกับ 36 μL ของ 5% NaNO_2 และตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที ถัดไปเติม 10% AlCl_3 ปริมาณ 36 μL และตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำ 10% NaOH ปริมาณ 180 μL ใส่รวมกับสารละลายก่อนหน้าที่ได้เตรียมเอาไว้ และปรับปริมาตรด้วย น้ำจนถึง 300 μL แล้วจึงทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำส่วนผสมที่เตรียมไว้และสารละลายมาตรฐานไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm โดยใช้เครื่อง Microplate reader แสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของเคอร์เซทิน (quercetin equivalent, QE) ต่อกรัมของสารสกัด (mg QE/ g extract) โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดชาด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ได้ดัดแปลงวิธีการจาก Rahman et al. (2022) โดยเตรียมสารละลาย 95 % เอทานอลของ DPPH จากการผสม 2.4 มิลลิกรัมของ DPPH และ 25 มิลลิลิตรของ 95 % เอทานอล เริ่มแรกปิเปต 180 μL ของสารละลาย DPPH ผสมรวมกับ 20 μL ของสารละลายตัวอย่าง (1 mg/mL) ที่ต้องการทดสอบลงในหลุมของไมโครเวลเพลท และบ่มไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader แล้วคำนวณค่า % Scavenging

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดชาด้วยวิธี FRAP radical scavenging assay ได้ดัดแปลงวิธีการจาก Panyatip et al. (2022) โดยการเตรียม FRAP reagent ซึ่งเป็นการผสม 25 mL ของ 300 mM acetate buffer (pH 3.6) และ 2.5 mL ของ 10 mM TPTZ ใน 40 mM HCl และ 2.5 mL ของ 20 mM FeCl_3 solution (สัดส่วน 10:1:1) เริ่มแรกปิเปตสารละลายตัวอย่าง (1 mg/mL) ปริมาณ 20 μL ผสมรวมกับ FRAP reagent ปริมาณ 80 μL ลงในหลุมของไมโครเวลเพลท และตั้งทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader รายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อกรัมของสารสกัด (mg TEAC/g extract) โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง

7. การคำนวณค่าการเสริมฤทธิ์ (synergist) และการจัดระดับของผลการเสริมฤทธิ์ (synergistic level) เป็นกระบวนการที่ใช้ในการประเมินผลของการผสมผสานสารเคมีหรือยาหลายชนิดเข้าด้วยกัน เพื่อวิเคราะห์ว่าการรวมกันนั้นส่งผลให้ฤทธิ์ของสารเพิ่มขึ้น (synergy) โดยการแปลผล คือ ดัชนี CI ที่น้อยกว่า 1 บ่งชี้ถึงฤทธิ์เสริมกันของยา (synergism) ค่าที่มากกว่า 1 แสดงถึงฤทธิ์

ต้านกัน (antagonism) และ ค่าที่เท่ากับ 1 สะท้อนถึงฤทธิ์รวมกันแบบเพิ่มพูน (additivity) โดยคำนวณจากสูตร $CI = ((A+B)/2)/Blend$

8. การวิเคราะห์ผลที่ได้จากสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล ซึ่งทุกการทดลองมีการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง ข้อมูลทั้งหมดได้ถูกเก็บพร้อมทั้งนำเสนอเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ standard deviation) โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science (SPSS Statistic 27) และได้มีการกำหนดนัยสำคัญทางสถิติเป็น $p < 0.05$

ผลวิจัย (Results)

1. สารสกัดจากชาด้วยวิธี 50% เอทานอล

การสกัดผงชาทั้ง 4 ชนิดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล พบว่าลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบของชาทั้ง 4 ชนิด มีลักษณะเป็นผงหยาบที่แห้ง มีสีน้ำตาลไปจนถึงสีดำ และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัวของชาแต่ละชนิด โดยร้อยละผลผลิตของชาเขียวสายพันธุ์อุหลงไทย เบอร์ 17 ชาอุหลงสายพันธุ์จินแถบฟูเจี้ยน ชาดำสายพันธุ์จินแถบฟูเจี้ยน และ ชาขาวสายพันธุ์อัสสัมไทย ได้แก่ 20.1 ± 1.75 , 18.97 ± 1.68 , 18.20 ± 1.80 และ 16.38 ± 1.32 ตามลำดับ

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดชา

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method ของสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 50% เอทานอลพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมของชาทั้ง 4 ชนิดอยู่ระหว่าง 355.40 ± 17.19 ถึง 750.15 ± 12.54 mg GAE/g extract อย่างไรก็ตามชาขาวมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุดอยู่ที่ 750.15 ± 12.54 mg GAE/g extract อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมากกว่าชาอุหลง ชาเขียว และ ชาดำ โดยมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 489.27 ± 10.31 , 357.19 ± 14.76 และ 355.40 ± 17.19 mg GAE/g extract ตามลำดับ ทั้งนี้ชาเขียวและชาดำแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ส่วนชาอุหลงและชาขาวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminum chloride colorimetric method ของสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 50% เอทานอลพบว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของชาทั้ง 4 ชนิดอยู่ระหว่าง $3,830.91 \pm 43.45$ ถึง $11,006.02 \pm 195.94$ mg QE/g extract อย่างไรก็ตามชาเขียวมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอยู่ที่ $11,006.02 \pm 195.94$ mg QE/g extract อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมากกว่าชาขาว ชาอุหลง และ ชาดำ โดยมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ $7,844.96 \pm 114.97$, $5,804.48 \pm 256.26$ และ $3,830.91 \pm 43.45$ mg QE/g extract ตามลำดับ ทั้งนี้ชาเขียว

ชาขาว ชาอู่หลง และ ชาดำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ชาดำมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมต่ำที่สุด จึงเป็นที่มาของการนำชาดำออกจากการผสมสารสกัด แสดงผลดังตารางที่ 1.1

การผสมชาทั้ง 4 รูปแบบทำให้มีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าสารสกัดชาเขียว สารสกัดชาอู่หลง และสารสกัดชาดำ โดยสารสกัดชาอู่หลง และ การผสมชาเขียวและชาอู่หลง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามสารสกัดชาขาวมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าการผสมชาเขียวและชาขาว การผสมชาเขียวและชาอู่หลง และ การผสมชาขาวและชาอู่หลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้การผสมชาเขียว ชาขาวและชาอู่หลง มีค่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุดและมากกว่าชาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และ ชาขาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปได้ว่าการนำชาเขียวกับชาอู่หลงมาผสมรวมกับชาขาวทำให้ลดปริมาณการใช้ชาขาวลงได้จำนวน 3 เท่า โดยทำให้ปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าชาขาวรูปแบบเดียว ในส่วนของการผสมชาเขียวและชาขาว และ การผสมชาเขียว ชาขาวและชาอู่หลง ให้ผลลัพธ์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมที่โดดเด่นมากกว่าสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ชาเขียว ชาอู่หลง ชาดำ และ ชาขาว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งการผสมชาเขียว ชาขาว และชาอู่หลง และ สารสกัดชาเขียวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามสารสกัดชาเขียวมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าการผสมชาเขียวและชาอู่หลง และ การผสมชาขาวและชาอู่หลง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถสรุปได้ว่าการนำชาเขียวผสมรวมกับชาขาวทำให้ลดปริมาณการใช้ชาเขียวลงได้จำนวน 2 เท่า โดยทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าชาเขียวรูปแบบเดียว แสดงผลดังตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และ สารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดชา รูปแบบเดียว และ รูปแบบผสม

ชื่อตัวอย่างแต่ละชนิด	ปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)	ปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์รวม (mg QE/g extract)
Green Tea	357.19 ± 14.76 ^{Ce}	11,006.02 ± 195.94 ^{Ab}
Oolong Tea	489.27 ± 10.31 ^{Bd}	5,804.48 ± 256.26 ^{Ce}
Black Tea	355.40 ± 17.19 ^{Ce}	3,830.91 ± 43.45 ^{Df}
White Tea	750.15 ± 12.54 ^{Ab}	7,844.96 ± 114.97 ^{Bd}
GW (Green + White)	652.36 ± 34.75 ^{Bc}	18,668.67 ± 474.24 ^{Aa}
GO (Green + Oolong)	477.04 ± 25.38 ^{Cd}	9,168.76 ± 437.42 ^{Cc}
WO (White + Oolong)	640.43 ± 19.92 ^{Bc}	7,529.69 ± 352.42 ^{Dd}
GWO (Green + White + Oolong)	793.08 ± 23.28 ^{Aa}	11,108.88 ± 361.82 ^{Bb}

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean $\pm$ SD), $n=3$ และด้วยก
อักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แสดงถึงความแตกต่างภายในกลุ่มตัวอย่างสารสกัดชารูปแบบ
เดี่ยว และภายในกลุ่มตัวอย่างสารสกัดชารูปแบบผสม และ ด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัว
เล็กแสดงถึงความแตกต่างโดยรวมของทั้งสารสกัดชารูปแบบเดี่ยว และรูปแบบผสม โดยมี
ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

3. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชา

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay ของสารสกัด
ชาทั้ง 4 ชนิด โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 50% เอทานอลพบว่าปริมาณการต้านอนุมูล
อิสระ DPPH (ค่า IC₅₀) ของชาทั้ง 4 ชนิดอยู่ระหว่าง 43.409 ± 2.209 ถึง 268.783 ± 24.758
 $\mu\text{g/mL}$ อย่างไรก็ตามชาขาวมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC₅₀) สูงที่สุดอยู่ที่
 $43.409 \pm 2.209 \mu\text{g/mL}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมากกว่าชาอู่หลง ชาเขียว และชา
ดำ โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 76.655 ± 6.817 92.656 ± 3.476 และ $268.783 \pm$
 $24.758 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ ซึ่งชาอู่หลงและชาเขียวแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ส่วนชาขาวและชา
ดำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ชาดำมีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC₅₀)
ต่ำที่สุด เนื่องจากมีค่า IC₅₀ สูงกว่าชาอีก 3 ชนิด สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี
FRAP radical scavenging assay ของสารสกัดชาทั้ง 4 ชนิด โดยมีการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์
50% เอทานอลพบว่า ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของชาทั้ง 4 ชนิดอยู่ระหว่าง $6,314.54 \pm$
 49.51 ถึง $9,173.38 \pm 29.47 \text{ mg TEAC/g extract}$ อีกทั้งชาขาวมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล
อิสระ FRAP สูงที่สุดอยู่ที่ $9,173.38 \pm 29.47 \text{ mg TEAC/g extract}$ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$) ซึ่งมากกว่าชาอู่หลง ชาเขียว และชาดำ โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ $8,363.00$
 ± 67.76 $8,063.93 \pm 22.28$ และ $6,314.54 \pm 49.51 \text{ mg TEAC/g extract}$ ตามลำดับ ทั้งนี้ชาขาว
ชาอู่หลง ชาเขียว และชาดำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ชาดำมีปริมาณการต้านอนุมูล
อิสระ FRAP ต่ำที่สุดจึงเป็นที่มาของการนำชาดำออกจากการผสมสารสกัด แสดงผลดังตารางที่ 1.2

การผสมชาทั้ง 4 รูปแบบทำให้มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC₅₀) สูงกว่าสาร
สกัดชาเขียว สารสกัดชาอู่หลง และสารสกัดชาดำ โดยสารสกัดชาอู่หลง และ การผสมชาเขียวและชา
ขาว และ การผสมชาเขียวและชาอู่หลง แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามสารสกัดชาขาว
มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC₅₀) ที่โดดเด่นมากกว่าสารสกัดชารูปแบบผสมทั้งหมด
อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในส่วนของการผสมชาทั้ง 4 รูปแบบทำให้มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ
FRAP สูงกว่าสารสกัดชาดำ โดยสารสกัดชาเขียวและสารสกัดชาอู่หลงมีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ
FRAP สูงกว่าการผสมชาเขียวและชาขาว การผสมชาเขียวและชาอู่หลง และ การผสมชาขาวและชาอู่
หลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสารสกัดชาอู่หลง และ การผสมชาเขียว ชาขาวและชาอู่หลงแตกต่าง

กันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามสารสกัดชาขาวมีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP มากกว่าสารสกัดชารูปแบบผสมทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงผลดังตารางที่ 1.2

ตารางที่ 1.2 การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดชารูปแบบเดี่ยว และรูปแบบผสม

ชื่อตัวอย่างแต่ละชนิด	วิธี DPPH IC ₅₀ (µg/mL)	วิธี FRAP (mg TEAC/g extract)
Green Tea	92.656 ± 3.476 ^{Bc}	8,063.93 ± 22.28 ^{Cb}
Oolong Tea	76.655 ± 6.817 ^{Bbc}	8,363.00 ± 67.76 ^{Bb}
Black Tea	268.783 ± 24.758 ^{Cd}	6,314.54 ± 49.51 ^{Dd}
White Tea	43.409 ± 2.209 ^{Aa}	9,173.38 ± 29.47 ^{Aa}
GW (Green + White)	71.574 ± 11.731 ^{Abc}	7,600.86 ± 355.56 ^{Bc}
GO (Green + Oolong)	70.316 ± 7.838 ^{Abc}	7,658.74 ± 253.48 ^{Bc}
WO (White + Oolong)	67.808 ± 12.335 ^{Ab}	7,761.65 ± 87.00 ^{Bc}
GWO (Green + White + Oolong)	66.007 ± 11.450 ^{Ab}	8,337.27 ± 142.11 ^{Ab}

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Mean ± SD), n=3 และด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวใหญ่แสดงถึงความแตกต่างภายในกลุ่มตัวอย่างสารสกัดชารูปแบบเดี่ยว และภายในกลุ่มตัวอย่างสารสกัดชารูปแบบผสม และ ด้วยอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็กแสดงถึงความแตกต่างโดยรวมของทั้งสารสกัดชาแบบเดี่ยว และรูปแบบผสม โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

4. การผสมสารสกัดชาและทดสอบการเสริมฤทธิ์

การผสมระหว่างสารสกัดชาเขียวและชาขาว (GW) พบว่ามีค่า CI สำหรับ TPC และ TFC เท่ากับ 0.85 และ 0.50 ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ถึงการเสริมฤทธิ์ในการเพิ่มปริมาณสารประกอบทั้งสอง อย่างไรก็ตาม ค่า CI สำหรับ DPPH และ FRAP ที่ 1.05 และ 1.13 ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ถึงแนวโน้มของการต้านฤทธิ์เล็กน้อยในด้านการต้านอนุมูลอิสระ ในกรณีของการผสมสารสกัดชาเขียวและชาอู่หลง (GO) พบค่า CI สำหรับ TPC, TFC และ DPPH เท่ากับ 0.89, 0.92 และ 0.83 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการเสริมฤทธิ์ในการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และรวมถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในขณะที่ค่า CI สำหรับ FRAP เท่ากับ 1.07 สามารถบ่งชี้ถึงการต้านฤทธิ์เล็กน้อยสำหรับการผสมสารสกัดชาขาวและชาอู่หลง (WO) พบค่า CI สำหรับ TPC และ TFC ที่ 0.97 และ 0.91 ตามลำดับ แสดงถึงการเสริมฤทธิ์ในการเพิ่มปริมาณสารสำคัญทั้งสองกลุ่ม อย่างไรก็ตาม ค่า CI สำหรับ DPPH และ FRAP ที่ 1.12 และ 1.13 ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ถึงการต้านฤทธิ์ในด้านการต้าน

อนุมูลอิสระ ทั้งนี้การผสมสารสกัดทั้งสามชนิด (GWO) ให้ผลที่น่าสนใจ โดยมีค่า CI สำหรับ TPC และ TFC เท่ากับ 0.67 และ 0.74 ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงการเสริมฤทธิ์ที่เด่นชัดในการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ ยังพบการเสริมฤทธิ์ในด้านฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยมีค่า CI เท่ากับ 0.93 ในขณะที่ค่า CI สำหรับ FRAP เท่ากับ 1.02 ซึ่งบ่งชี้ถึงการต้านฤทธิ์เพียงเล็กน้อย

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ (Discussion and Suggestion)

จากการศึกษาของ Panyatip et al. (2022) พบว่าชาเขียวมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 129.93 ± 2.37 ถึง 194.69 ± 2.81 mg GAE/g dry sample และชาเขียวสายพันธุ์จีน 9 ชนิดของ Zhao et al. (2019) ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 148.16 ± 2.72 ถึง 252.65 ± 4.74 mg GAE/g dry sample โดยชาเขียวสายพันธุ์อุบลราชธานี เบอร์ 17 ได้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงกว่าอยู่ที่ 357.19 ± 14.76 mg GAE/g extract ส่วนชาดำของ Panyatip et al. (2022) ได้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 252.15 ± 4.72 ถึง 261.10 ± 1.69 mg GAE/g extract และชาดำสายพันธุ์จีน 4 ชนิดของ Zhao et al. (2019) ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 37.23 ± 0.28 ถึง 101.94 ± 4.14 mg GAE/g dry sample ซึ่งชาดำจ๊วยเซียนสายพันธุ์จีนแถบฟูเจี้ยนได้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงกว่า โดยมีเท่ากับ 355.40 ± 17.19 mg GAE/g สำหรับชาอู่หลงสายพันธุ์จีน 4 ชนิดของ Zhao et al. (2019) ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 86.83 ± 0.61 ถึง 150.10 ± 0.56 mg GAE/g dry sample และชาอู่หลงสายพันธุ์จีนแถบฟูเจี้ยนมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าอยู่ที่ 489.27 ± 10.31 mg GAE/g extract ทั้งนี้ชาขาวสายพันธุ์จีน 3 ชนิดของ Zhao et al. (2019) ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 51.92 ± 0.56 ถึง 77.29 ± 2.33 mg GAE/g dry sample และชาขาวสายพันธุ์อัสสัมไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมอยู่ที่ 750.15 ± 12.54 mg GAE/g extract โดยมีปริมาณฟีนอลิกสูงกว่าชาขาวสายพันธุ์จีน 3 ชนิดของ Zhao et al. (2019) อีกทั้งปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมชาเขียวของ Panyatip et al. (2022) มีค่าเท่ากับ 29.42 ± 1.06 ถึง 30.76 ± 0.05 mg QE/g dry sample โดยชาเขียวสายพันธุ์อุบลราชธานี เบอร์ 17 ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมที่สูงกว่าอยู่ที่ $11,006.02 \pm 195.94$ mg QE/g extract ส่วนชาดำของ Panyatip et al. (2022) มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 30.24 ± 0.17 ถึง 39.09 ± 0.48 mg QE/g extract ซึ่งชาดำจ๊วยเซียนสายพันธุ์จีนแถบฟูเจี้ยนนั้นปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ $3,830.91 \pm 43.45$ mg QE/g extract โดยมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมที่สูงกว่า ทั้งนี้การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ 50% เอทานอลได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมมากกว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์เมทานอล

สำหรับปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC₅₀) ในชาเขียวของ Panyatip et al. (2022) เท่ากับ 121.55 ± 1.23 ถึง 253.70 ± 1.71 µg/mL และชาเขียว 9 ชนิดของ Kumari et al.

(2022) ที่นำมาทดสอบให้ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) อยู่ระหว่าง 27.58 ± 4.74 ถึง 128.36 ± 4.24 $\mu\text{g/mL}$ GAE ในขณะที่ชาเขียวสายพันธุ์อุบลไทย เบอร์ 17 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) เท่ากับ 92.656 ± 3.476 $\mu\text{g/mL}$ จึงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) ที่ดีกว่า อย่างไรก็ตามชาดำของ Panyatip et al. (2022) มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) เท่ากับ 117.69 ± 0.90 ถึง 117.75 ± 1.42 $\mu\text{g/mL}$ และชาดำ 9 ชนิดของ Kumari et al. (2022) ที่นำมาทดสอบให้ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) อยู่ระหว่าง 39.3 ± 2.74 ถึง 144.8 ± 3.46 $\mu\text{g/mL}$ GAE โดยชาดำจ๊วยเขียนสายพันธุ์จีนแถบฟูเจี้ยนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) เท่ากับ 268.783 ± 24.758 $\mu\text{g/mL}$ จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (ค่า IC50) ที่น้อยกว่า สำหรับปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ในชาเขียวของ Panyatip et al. (2022) มีค่าเท่ากับ 143.15 ± 0.44 ถึง 173.52 ± 1.29 mmole/100 g Extract และชาเขียวสายพันธุ์จีน 9 ชนิดของ Zhao et al. (2019) มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ $2,824.80 \pm 107.63$ ถึง $4,647.47 \pm 57.87$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$ ในขณะที่ชาเขียวสายพันธุ์อุบลไทย เบอร์ 17 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ $8,063.93 \pm 22.28$ mg TEAC/g extract จึงทำให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP ดีกว่า อย่างไรก็ตามชาดำของ Panyatip et al. (2022) มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ 187.54 ± 0.94 ถึง 239.26 ± 1.78 mmole/100 g Extract และชาดำสายพันธุ์จีน 4 ชนิดของ Zhao et al. (2019) มีปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ 530.13 ± 23.44 ถึง 2670.13 ± 34.02 $\mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$ โดยชาดำจ๊วยเขียนสายพันธุ์จีนแถบฟูเจี้ยนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP เท่ากับ $6,314.54 \pm 49.51$ mg TEAC/g extract ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP มากกว่า

ค่าดัชนีการผสม (CI) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ma and Motsinger-Reif (2019) และงานวิจัยของ Caesar and Cech (2019) แสดงให้เห็นว่าการผสมสารสกัดมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันไป การผสมระหว่างชาเขียวและชาขาว (GW) และการผสมระหว่างชาขาวและชาอู่หลง (WO) ส่วนใหญ่แสดงการเสริมฤทธิ์การเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และมีแนวโน้มต้านฤทธิ์สำหรับการต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่การผสมระหว่างชาเขียวและชาอู่หลง (GO) แสดงการเสริมฤทธิ์ทั้งต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ส่วนการผสมทั้งสามชนิด (GWO) ให้ผลการเสริมฤทธิ์ที่เด่นชัดที่สุดในการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ และยังคงแสดงการเสริมฤทธิ์ในด้านฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ทั้งนี้ข้อเสนอแนะควรศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความคงตัวของสารสกัดในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เช่น กลีเซอริน และตรวจสอบความสามารถในการละลายของสารสกัด และศึกษา

เพิ่มเติมเกี่ยวกับการผสมสารสกัดชาชนิดต่าง ๆ ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด

รายการอ้างอิง

- สถาบันชาและกาแฟ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. (ม.ป.ป.). *กระบวนการผลิตชา*. สืบค้นเมื่อ 29 สิงหาคม 2565, จาก <https://teacoffee.mfu.ac.th/tc-tea-coffeeknowledge/tc-tea/tc-teaproductionprocess.html>
- Bortolini, D. G., Haminiuk, C. W. I., Pedro, A. C., Fernandes, I. D. A. A., & Maciel, G. M. (2021). Processing, chemical signature and food industry applications of *Camellia sinensis* teas: An overview. *Food Chemistry: X*, 12, 100160.
- Das, P. R., Kim, Y., Hong, S. J., & Eun, J. B. (2019). Profiling of volatile and non-phenolic metabolites—Amino acids, organic acids, and sugars of green tea extracts obtained by different extraction techniques. *Food Chemistry*, 296, 69–77.
- Das, A., Kalita, A., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2019). Synergistic effect of herbal plant extract (*Hibiscus sabdariffa*) in maintain the antioxidant activity of decaffeinated green tea from various parts of Assam. *Journal of Food Science and Technology*, 56, 5009-5016.
- Hung, Y. C., Hsiao, Y. H., & Hsieh, J. F. (2021). Catechin content and free radical scavenging activity of *Camellia sinensis* twig extracts. *International Food Research Journal*, 28(2).
- Imran, A., Arshad, M. U., Sherwani, H., Shabir Ahmad, R., Arshad, M. S., Saeed, F., . . . Anjum, F. M. (2021). Antioxidant capacity and characteristics of theaflavin catechins and ginger freeze-dried extract as affected by extraction techniques. *International Journal of Food Properties*, 24(1), 1097–1116.
- Junsathian, P., Nakamura, S., Katayama, S., & Rawdkuen, S. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of Thai edible plant extracts prepared using different extraction techniques. *Molecules*, 27(19), 6489.
- Koch, W., Zagórska, J., Marzec, Z., & Kukula-Koch, W. (2019). Applications of Tea (*Camellia sinensis*) and its Active Constituents in Cosmetics. *Molecules*, 24(23), 4277.
- Ma, J., & Motsinger-Reif, A. (2019). Current methods for quantifying drug synergism. *Proteomics & Bioinformatics: Current Research*, 1(2), 43.

- Makanjuola, S. A., Enujiugha, V. N., Omoba, O. S., & Sanni, D. M. (2015). Combination of antioxidants from different sources could offer synergistic benefits: a case study of tea and ginger blend. *Natural Product Communications*, 10(11), 1934578X1501001110.
- Panyatip, P., Padumanonda, T., Yongram, C., Kasikorn, T., Sungthong, B., & Puthongking, P. (2022). Impact of Tea Processing on Tryptophan, Melatonin, Phenolic and Flavonoid Contents in Mulberry (*Morus alba* L.) Leaves: Quantitative Analysis by LC-MS/MS. *Molecules*, 27(15).
- Rahman, H., Shah, M., Shinwari, Z. K., Ali, W., Khan, N. Z., Asim, M., . . . Ayaz, M. (2022). Total phenolic-flavonoids contents, anti-leishmanial, antimicrobial and antioxidant potentials of Pakistani tea brands and tea plant *Camellia sinensis*. *Pakistan Journal of Botany*, 54(2).
- Roell, K. R., Reif, D. M., & Motsinger-Reif, A. A. (2017). An introduction to terminology and methodology of chemical synergy—perspectives from across disciplines. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 158.
- Rohadi, D. I., & Putri, A. S. (2019). Antioxidant capacity of white tea (*Camellia sinensis*) extract: compared to green, oolong and black tea. IOP Conference Series: *Earth and Environmental Science*, 292, 012018.
- Tang, H., Zhang, M., Liu, J., & Cai, J. (2022). Metabolomic and Transcriptomic Analyses Reveal the Characteristics of Tea Flavonoids and Caffeine Accumulation and Regulation between Chinese Varieties (*Camellia sinensis* var. *sinensis*) and Assam Varieties (*C. sinensis* var. *assamica*). *Genes*, 13(11), 1994.
- Vural, N., Cavuldak, Ö. A., Akay, M., & Anlı, R. E. (2020). Determination of the various extraction solvent effects on polyphenolic profile and antioxidant activities of selected tea samples by chemometric approach. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 14(3), 1286–1305.
- Xu, L., Xia, G., Luo, Z., & Liu, S. (2019). UHPLC analysis of major functional components in six types of Chinese teas: Constituent profile and origin consideration. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologies*, 102, 52–57.