การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

EXTRACTION OF ACTIVE CHEMICAL CONSTITUENT FROM GREEN TEA LEAVE BY LIQUEFIED DIMETHYL ETHER

นางสาวกัลยานุช อุฤทธิ์ รหัส 57360985

นายประสิทธิ์ เพชรสุ่น รหัส 57365720

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี ภาควิชาวิศวกรรมอุตสาหการ

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

ปีการศึกษา 2560

ใบรับรองปริญญานิพนธ์

ชื่อหัวข้อโครงงาน การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

ผู้ดำเนินโรงงาน นายประสิทธิ์ เพชรสุ่น รหัส 57365720

นางสาวภัสยานุช อุฤทธิ์ รหัส 57360985

ที่ปรึกษาโครงงาน ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล

สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

ภาควิชา วิศวกรรมอุตสาหการ

ปีการศึกษา 2560

.....

คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร อนุมัติให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

.....ที่ปรึกษาโครงงาน

(ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล)

.....กรรมการ

(ดร.วัฒนชัย เยาวรัตน์)

.....กรรมการ

(อาจารย์อาภาภรณ์ จันทร์ปิรักษ์)

ชื่อหัวข้อโครงงาน	การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว
ผู้ดำเนินโรงงาน	นายประสิทธิ์ เพชรสุ่น รหัส 57365720
	นางสาวกัลยานุช อุฤทธิ์ รหัส 57360985
ที่ปรึกษาโครงงาน	ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ภาควิชา	วิศวกรรมอุตสาหการ
ปีการศึกษา	2560

.....

บทคัดย่อ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ได้มุ่งเน้นศึกษาการสกัดสารสำคัญในใบชาเขียว โดยการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และนำสารดังกล่าวไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ โดยได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ดังนี้ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (กรัมต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (นาที) จากผลการทดลองพบว่า ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม ที่ ร้อยละ 15 ถึง ร้อยละ 20 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น ทั้งนี้เมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมที่มากเกินไป จนถึงร้อยละ 30 ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระลดลง สำหรับอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (กรัมต่อกรัม) ส่งผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เมื่อเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อชาเขียวที่อัตราส่วน 3 ต่อ 1 จนถึง 6 ต่อ 1 กรัมต่อกรัม ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระแนวโน้มลดลง ในส่วนของอุณหภูมิในการสกัด มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เมื่อเพิ่มอุณหภูมิ ที่ อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง สำหรับเวลาในการสกัด ในช่วงเวลาที่ 15 ถึง 60 นาที ไม่มีผลต่อการสกัดการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เนื่องด้วยปริมาณสารประกอบฟีนิอลิกมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว ได้แก่ ร้อยละ 20 ของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวเท่ากับ 3 กรัม ต่อ 1 กรัม สกัดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสโดยใช้เวลาในการสกัด 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 617.88 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมสารสกัดชาเขียว และฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) 0.00593 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีฤทธิ์ที่ดีกว่าเมื่อเทียบกับ ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน (Trolox) และเมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว จึงทำการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอล เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว ในสภาวะเดียวกัน และสัดส่วนที่

เท่ากัน โดยพบว่า ไดเมทิลอีเทอร์เหลวสามารถสกัดสารสำคัญในชาเขียว ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าการใช้ตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม สามารถสกัดสารสำคัญในชาเขียวได้ดีกว่า ตัวทำละลายน้ำและเอทานอล

มหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ผู้ดำเนินโครงงานขอขอบคุณ ดร.ปณัฐพงศ์ บุญนวล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงาน รวมถึงอาจารย์ ดร.วัฒนชัย เยาวรัตน์ และอาจารย์อาภาภรณ์ จันทร์ปิรักษ์ อาจารย์กรรมการโครงงาน ที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และวิธีแก้ปัญหา รวมถึงข้อคิดเห็นต่างๆ ตลอดจนความดูและเอาใจใส่ ติดตามการดำเนินโครงงานมาโดยตลอด และขอขอบคุณอาจารย์ประจำสาขาวิศวกรรมเคมี มหาวิทยาลัยนเรศวรทุกท่าน ที่ได้ให้วิชาความรู้ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

นอกจากนี้ขอขอบคุณ อาจารย์ รศ.ดร.กรกนก อิงคนินันท์ และนางสาวณัฐพร อมรนพรัตนกุล ที่คอยให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการทดสอบสารที่คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เพื่อใช้ในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ เป็นอย่างดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ผู้ดำเนินโครงงานใคร่ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ได้ให้การดูแล อบรมสั่งสอนและให้กำลังใจด้วยดีเสมอมา ตลอดการดำเนินโครงงานจนสำเร็จการศึกษา

ผู้ดำเนินโครงงาน
ประสิทธิ์ เพชรสุ่น
กัลยานุช อุฤทธิ์

พฤษภาคม 2561

สารบัญ

หน้า

ใบรับรองปริญญานิพนธ์ ..... ก
บทคัดย่อ ..... ข
กิตติกรรมประกาศ ..... ง
สารบัญ ..... จ
สารบัญตาราง ..... จ
สารบัญรูปภาพ ..... ฌ

บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ที่มาและความสำคัญ 1
1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา 3
1.3 ขอบเขตการศึกษา 3
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 ชาเขียว (Green Tea) 4
2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) 5
2.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) 7
2.4 คาเทชิน (Catechins) 8
2.5 สารอื่นๆ ที่พบในชา 9
2.6 เทคนิคการสกัด 10
2.7 การวิเคราะห์ปริมาณสาร 20

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ 22
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี 22
3.2 แผนผังการดำเนินการ 22
3.3 การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลว 24
3.4 การวิเคราะห์สารสำคัญ 25

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง 27
4.1 ศึกษาผลของปริมาณร้อยละของน้ำในผงพืชที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม 27
4.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว 29

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) 32
4.4 ศึกษาผลของเวลาในการสกัด (นาที) 34
4.5 ศึกษาตัวทำละลายอื่นๆ (น้ำและเอทานอล) 36

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 39
5.1 สรุปผลการทดลอง 39
5.2 ข้อเสนอแนะ 40

บรรณานุกรม 41
ภาคผนวก 45

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ.....6
ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว.....11
ตารางที่ 3 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพของ ไดเมทิลอีเทอร์.....16
ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเอทานอล.....18
ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของน้ำ.....19

มหาวิทยาลัยนเรศวร

สารบัญรูปภาพ

หน้า

รูปที่ 2.1 ชาเขียว (Green Tea).....5
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล.....7
รูปที่ 2.3 (ก) โครงสร้างโมเลกุลของฟีนอล (Phenols) (ข) โครงสร้างโมเลกุลของกรดฟีนอลิก (Phenolic acids) และ (ค) โครงสร้างโมเลกุลของฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) 7
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของคาเทชินทั้ง 8 อนุพันธุ์ 9
รูปที่ 2.5 องค์ประกอบและสัดส่วนของใบชาสด.....9
รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของไดเมทิลอีเทอร์ 16
รูปที่ 2.7 โครงสร้างโมเลกุลของเอทานอล.....18
รูปที่ 2.8 โครงสร้างโมเลกุลของน้ำ.....19
รูปที่ 2.9 สูตรโครงสร้างของดีพีพีเฮช.....20
รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว22
รูปที่ 3.2 แผนผังสภาวะในการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว.....23
รูปที่ 3.3 เครื่องสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์.....25
รูปที่ 4.1 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกสกัดชาเขียว) กับปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม.....28
รูปที่ 4.2 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ ปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม.....29
รูปที่ 4.3 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว.....30
รูปที่ 4.4 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ50 (IC_{50}) กับ อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว 31
รูปที่ 4.5 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับ อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) 33
รูปที่ 4.6 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส).....34
รูปที่ 4.7 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับ เวลาในการสกัด (นาที).....35
รูปที่ 4.8 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ เวลาในการสกัด (นาที).....36

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

รูปที่ 4.9 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) ของแต่ละตัวทำละลาย.....37
รูปที่ 4.10 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ของแต่ละตัวทำละลาย.....38

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

“ชาเขียว (Green Tea)” เป็นชาที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งเตรียมได้โดยการนำใบชาสดมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อทำให้ใบชาแห้ง จากนั้นนำไปอบแห้ง เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งชาเขียวได้จากพืชต้นชา (*Camellia sinensis*) สำหรับทางการเกษตรมีการปลูกต้นชาประมาณ 30 ประเทศทั่วโลก [1] โดยมีการผลิตชาเขียวประมาณ 5 แสนตันต่อปี [2] ในปัจจุบัน คนส่วนใหญ่ได้ให้ความสำคัญกับสุขภาพ ทั้งการออกกำลังกาย และการเลือกใช้ของอุปโภค บริโภค ซึ่งชาเขียวเป็น หนึ่งในตัวเลือก ของการบริโภคสำหรับผู้ดูแลสุขภาพ ชาเขียวได้รับความนิยมและมีการบริโภคชาเขียวที่เพิ่มขึ้น [3] เนื่องจาก มีรสชาติที่อร่อย ทำให้รู้สึกสดชื่น สามารถหาซื้อได้ในรูปแบบเครื่องดื่มสำเร็จรูป ทำให้สะดวกต่อการบริโภค อย่างไรก็ตามเครื่องดื่มชาเขียวในรูปแบบสำเร็จรูป มีปริมาณน้ำตาลผสมอยู่ในเครื่องดื่ม ซึ่งอาจทำให้เสี่ยงในการเกิด โรคเบาหวาน และ โรคอ้วน ดังนั้นผู้บริโภคควรให้ความสำคัญในการเลือกบริโภคเครื่องดื่มชาเขียว เช่น ในรูปแบบไม่มีน้ำตาล [4] นอกจากรสชาติของชาเขียวที่ส่งผลต่อความนิยมในการบริโภค ชาเขียวยังมีประโยชน์ และ สรรพคุณต่อร่างกายมากมาย

สรรพคุณและประโยชน์ของชาเขียวที่มีต่อร่างกายนั้นสัมพันธ์กับปริมาณสารสำคัญที่อยู่ในชาเขียว โดยสารสำคัญที่พบมากในชาเขียวคือ คาเทชิน (Catechins) เป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) ประเภทพอลิฟีนอล (Polyphenol) ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ซึ่งมีประมาณร้อยละ 15-20 ในชาเขียว สำหรับสารคาเทชินที่พบมากในชาเขียว แบ่งออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ เอพิกัลโลคาเทชินกัลแลต (Epigallocatechin Gallate, EGCG) คิดเป็นร้อยละ 59 ของคาเทชินทั้งหมด เอพิคาเทชินกัลเลต (Epicatechin Gallate, ECG) คิดเป็นร้อยละ 19 ของคาเทชินทั้งหมด เอพิกัลโลคาเทชิน (Epigallocatechin, EGC) คิดเป็นร้อยละ 14 ของคาเทชินทั้งหมด และ เอพิคาเทชิน (Epicatechin, EC) คิดเป็นร้อยละ 6 ของคาเทชินทั้งหมด [2] ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกทุกชนิด เป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ซึ่งเป็นสารประกอบที่ช่วยการยับยั้ง หรือ ป้องกันเซลล์จากสารพิษ ที่อาจเกิดจากอนุมูลอิสระ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิก ประเภทพอลิฟีนอล ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในช่องปากและช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง เช่น มะเร็งกระเพาะปัสสาวะ มะเร็งทรวงอก มะเร็งรังไข่ มะเร็งปลายลำไส้ใหญ่หรือไส้ตรง มะเร็งหลอดอาหาร มะเร็งปอด มะเร็งตับอ่อน มะเร็งต่อมน้ำอสุจิ มะเร็งผิวหนัง มะเร็งกระเพาะอาหาร นอกจากนี้ ในชาเขียวยังมีสารสำคัญอยู่อีกหลายชนิด เช่น วิตามินบี วิตามินซี วิตามินอี สารในกลุ่มอนุพันธุ์แซนทีน (Xanthine alkaloids) คือ กาเฟอีน (Caffeine) และ ธิโอฟิลลีน (Theophylline) ทำให้ชาเขียวมีคุณค่าในการส่งเสริมสุขภาพและใช้ในการบำบัดรักษาโรคได้อีก

ด้วยสรรพคุณต่างๆ ของชาเขียวทำให้ปัจจุบันนอกจากเป็นเครื่องดื่มทางเลือก ชาเขียวเริ่มมีบทบาทในทางด้านการแพทย์ หรือ สร้างผลิตภัณฑ์เพื่อดูแลสุขภาพ อาทิ ผลิตภัณฑ์ถนอมผิว เครื่องสำอาง น้ำยาดับกลิ่นตัว ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก ฯลฯ ดังนั้นจึงมีการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์

สำหรับการสกัดสารสำคัญในชาเขียว เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ สามารถทำได้โดยการใช้ตัวทำละลาย (Solvent) รู้จักในอีกชื่อหนึ่งว่า การสกัดของแข็งด้วยของเหลว หรือการชะ (Solid-Liquid Extraction หรือ Leaching) ซึ่งเป็นการละลายส่วนประกอบที่ต้องการออกจากของผสมของของแข็งด้วยตัวทำละลาย [5] โดยตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารสำคัญจากชาเขียวคือ คลอโรฟอร์ม (Chloroform) อย่างไรก็ตาม คลอโรฟอร์ม เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นพิษต่อตับและไต ทำให้มีความจำเป็นต้องแยกออกจากสารสำคัญที่สกัดออกมาได้ และเนื่องด้วยคลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย ที่มีจุดเดือดสูงกว่าอุณหภูมิห้อง (61.2 องศาเซลเซียส) จึงต้องใช้พลังงานมากในการระเหยแยกออกจากสารสกัดซึ่งเป็นกระบวนการที่ยุ่งยาก ทำให้เสียเวลา และเพิ่มขั้นตอนในการแยกอีกทั้งคลอโรฟอร์มยังจัดอยู่ในตัวทำละลายที่ไม่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม [6] ซึ่งสารสำคัญดังกล่าวจะถูกนำไปใช้เกี่ยวกับทางด้านการแพทย์ และ ผลิตภัณฑ์เพื่ออุปโภค บริโภค ทำให้คลอโรฟอร์มอาจถูกพิจารณาเป็นตัวทำละลายที่ไม่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญดังกล่าว นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาทางด้านความปลอดภัย ตัวทำละลายที่สามารถนำมาใช้ได้ คือ น้ำและเอทานอล ซึ่งเป็นสารที่มีความปลอดภัยมากกว่าคลอโรฟอร์ม อย่างไรก็ตาม การใช้น้ำหรือเอทานอลเป็นตัวทำละลายอาจมีประสิทธิภาพในการสกัดได้ดีไม่เท่าคลอโรฟอร์มเนื่องจากสภาพความมีขั้วที่อาจไม่เหมาะสมกับการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นการเลือกตัวทำละลายที่ปลอดภัย และ มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงจึงเป็นสิ่งสำคัญและน่าสนใจ ทั้งนี้เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณและคุณภาพสูงสุด

ในปัจจุบันโรงงานอุตสาหกรรมเริ่มให้ความสนใจการใช้ตัวทำละลาย ที่เรียกว่า ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether หรือ DME) ซึ่งเป็นตัวเลือกหนึ่งในอุตสาหกรรมประเภท อาหาร เครื่องสำอาง และยา เนื่องจากไดเมทิลอีเทอร์เป็นตัวทำละลายที่ปลอดภัย ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกาย และยังเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม [7] ไดเมทิลอีเทอร์ เป็นก๊าซกลุ่มอีเทอร์ ไร้สี มีกลิ่นอ่อนๆ เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้บางส่วน เป็นไอที่ความดันบรรยากาศ (ความดัน 1 ความดันบรรยากาศ) และมีจุดเดือดที่ -24 องศาเซลเซียส โดยปรกติไดเมทิลอีเทอร์จะถูกให้ความดันเพื่อทำให้เป็นของเหลว เพื่อความสะดวกในการขนส่ง และ เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด ด้วยคุณสมบัติดังกล่าว ไดเมทิลอีเทอร์ จึงสามารถแยกออกจากสารสกัดได้ง่ายเพียงการลดความดันสู่ความดันบรรยากาศ ทำให้ไม่เสียเวลา และไม่ต้องเพิ่มขั้นตอนในการแยกตัวทำละลาย โดยที่ผ่านมาไดเมทิลอีเทอร์ได้ถูกใช้ในการสกัดสารต่างๆได้ดี เช่น การสกัดสารแซนโทฟิลล์ (Xanthophyll) ออกจาก ดอกดาวเรืองแห้ง ซึ่งพบว่าสามารถสกัดสารดังกล่าวได้ในปริมาณมาก ไดเมทิลอีเทอร์จึงถูกพิจารณาว่าเป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพ [8]

จากคุณสมบัติทั้งหมดที่กล่าวมาจึงทำให้ผู้ดำเนินโครงงาน เลือก ไดเมทิลอีเทอร์เหลว เป็นตัวทำละลาย ในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว โดยปัจจุบันได้มีงานวิจัยที่เลือกใช้ ไดเมทิลอีเทอร์เหลว เป็น

ตัวทำละลาย ในการสกัดซึ่งเป็นงานวิจัยที่เกี่ยวกับ สกัดคาเฟอีนออกจากชาเขียว (Decaffeinated Green Tea) [9] แต่ไม่ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญจากชาเขียวและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดังกล่าว โดยการใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นตัวทำละลาย ซึ่งปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (กรัมต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (นาที) นอกจากนี้ ยังได้เปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระกับสารสกัดโดยใช้น้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่สภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้างต้น

1.2 จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในชาเขียวด้วยตัวทำละลาย ไดเมทิลอีเทอร์เหลว

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลาย ไดเมทิลอีเทอร์เหลว กับตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 และ ตัวทำละลายน้ำ

1.3 ขอบเขตการศึกษา

ในงานวิจัยนี้ เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว ซึ่งมีรายละเอียดของแต่ละปัจจัยดังนี้

1.3.1 ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม คือ 15 20 25 และ 30

1.3.2 อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว ระหว่าง 3 ต่อ 1 ถึง 6 ต่อ 1 กรัมต่อกรัม

1.3.3 อุณหภูมิในการสกัด คือ 30 35 40 และ 45 องศาเซลเซียส

1.3.4 เวลาในการสกัด คือ 15 30 45 และ 60 นาที

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

ผลที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย คือ ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลาย ไดเมทิลอีเทอร์เหลว ทั้งนี้ เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาเพิ่มเติม รวมถึงการขยายขนาดการสกัด สู่ระดับที่ใหญ่ขึ้น เช่น กึ่งอุตสาหกรรม และ อุตสาหกรรมต่อไป

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ชาเขียว (Green Tea)

ชาเขียว (Green Tea) โดยมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Camellia sinensis* โดยชาชนิดนี้จะไม่ผ่านขั้นตอนในการหมัก ซึ่งจะเตรียมได้โดยการนำใบชาสดไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อให้ใบชาแห้งอย่างอย่างรวดเร็ว จึงทำให้ใบชาแห้งแต่ยังคงมีสีเขียวอยู่ จึงทำให้มีสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) มากกว่าชาชนิดอื่นๆ จึงทำให้ชาเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าชาชนิดอื่นๆ และใบชาเขียวยังพบว่ามีสาร EGCG [10] ที่ถือว่าเป็นสารที่สำคัญและพบมากที่สุดซึ่งมีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้ชาเขียวมีคุณสมบัติในช่วยป้องกันโรคมากมาย เช่น โรคมะเร็ง ช่วยลดการดูดซึมไขมันและคอเลสเตอร์รอลที่ช่วยลดอัตราการเป็นโรคหลอดเลือดตีบตันและโรคหัวใจ โดยใบชามีลักษณะตามรูปที่ 2.1

ชาเขียวแบ่งได้ 2 ประเภท คือ ชาเขียวแบบญี่ปุ่นและชาเขียวแบบจีน ซึ่งทั้ง 2 ชนิดจะต่างกัน คือ ชาเขียวแบบจีนจะมีการนำใบชาเขียวไปคั่วแต่ชาเขียวแบบญี่ปุ่นจะไม่มีการคั่วใบชา และชาเขียวแบบญี่ปุ่นสามารถแบ่งได้ออกเป็นหลายเกรดตามคุณภาพของใบชา ซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น บันฉะ เซ็นฉะ เกียวกุโระฉะ และมัทฉะ

- บันฉะ (Bancha) เป็นชาที่มีคุณภาพต่ำที่สุดโดยจะเป็นใบชาแก่ เนื้อหยาบ รสค่อนข้างฝาด มีสีเขียวอมเหลือง เป็นชาที่ร้านอาหารญี่ปุ่นมีการบริการให้ฟรี
- เซ็นฉะ (Sencha) เป็นชาแก่เกรดกลาง โดยที่ 80% ของใบชาที่เก็บเกี่ยวได้จะเป็นเซ็นฉะ น้ำเซ็นฉะสีเขียวสด รสเข้ม เป็นชาเขียวญี่ปุ่นที่ใช้ในการรับแขกที่บ้าน ตามงานเลี้ยงรับรอง และตามที่ประชุมต่างๆ
- เกียวกุโระฉะ (Gyukurocha) เป็นชาที่เก็บจากพุ่มต้นชาเขียวที่ดีที่สุด ซึ่งมีผลผลิตที่น้อยจึงทำให้มีราคาค่อนข้างสูง น้ำชามีสีอ่อน
- มัทฉะ (Matcha) เป็นผงชาเขียว โดยที่สมัยก่อนจะนำใบเกียวกุโระฉะมาบดจนละเอียดเพื่อใช้ในงานพิธีต่างๆ โดยมัจฉะที่ได้จะมีลักษณะข้นสีเขียวเข้ม แต่ปัจจุบันได้มีการเปลี่ยนกระบวนการผลิตของใบมัทฉะ โดยจะมีการนำใบชาเซ็นฉะมาสกัดเป็นน้ำแล้วจึงพ่นโดยการฉีดผ่านไอความร้อนสูงให้ไอระเหยออกเหลือแต่ผงสีเขียวเข้ม

รูปที่ 2. 1 ชาเขียว (Green Tea)
ที่มา : https://kaohit.com. [11]

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) หรืออาจจะเรียกว่าสารต้านออกซิเดชัน คือ โมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลของสารอื่นๆ ได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ ซึ่งสารอนุมูลอิสระจะเกิดจากการเผาผลาญเพื่อให้เกิดพลังงาน หรือแม้กระทั่งความเครียดจากสิ่งแวดล้อมหรือจากพฤติกรรมการใช้ชีวิต เช่น การดื่มแอลกอฮอล์ ควันบุหรี่โรคภัยไข้เจ็บ จนไปถึงอาหารปิ้งย่าง ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย เพื่อรักษาระดับของสารอนุมูลอิสระร่างกายจึงมีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดแต่มีชินดที่โดเด่น คือ แคตตาเลส โคเอนไซม์คิว 10 กลูตาไทโอน เมลานิน วิตามินเอ แอลฟาและเบตาแคโรทีน วิตามินซี สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีหน้าที่เข้าไปหยุดยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าไปจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยังปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ [12]

สารต้านอนุมูลอิสระไม่ได้มีเฉพาะในร่างกายเท่านั้นแต่ยังมพบในพืช ผัก ผลไม้ บางชนิดที่สามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบตาแคโรทีน และสารที่ไม่ได้จัดอยู่ในกลุ่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการ (ในกลุ่มที่ไม่ใช่อาหารหลัก 5 หมู่) ซึ่งมีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะกลุ่มโพลีฟีนอล เช่น แซนโทนและฟลาโวนอยด์ ซึ่งประกอบไปด้วยหมู่ไฮดรอกซิลที่เกาะบนวงแหวนเบนซิล

สารต้านอนุมูลอิสระไม่ใช่ว่าจะมีแต่ประโยชน์แต่ยังมีโทษ ในกรณีที่มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มากเกินไปหรือน้อยเกินไปจะมีผลให้เกิดสภาวะออกซิเดชันมากเกินไป (Oxidative Stress) นำมาซึ่งการทำให้เซลล์เสียหายได้ สารต้านอนุมูลอิสระนอกจากจะมีได้ตามธรรมชาติแล้วยังมีการได้มาจากการสังเคราะห์

- บิวทิเลเทตไฮดรอกซีแอนิโซล (Butylated Hydroxy Anisole, BHA) เป็นวัตถุเจือปนในอาหาร ที่ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน ป้องกันการหืนของไขมัน จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด

- บิวทิลไฮดรอกซี่โทลูอีน (Butylated Hydroxy Toluene, BHT) เป็นสารประกอบฟีนอล ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน ป้องกันการหืนของไขมันและน้ำมัน เช่นเดียวกับบิวทิเลเทตไฮดรอกซีแอนิโซล
- เทอร์เธียรี่บิวทิลไฮโดรควินโนน (Tertiary Butyl Hydro Quinone, TBHQ) เปนวัตถุเจือปนอาหาร เป็นสารประกอบฟีนอล ใช้เพื่อเป็นสารกันหืน ป้องกันการหืน ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด
- เอทเทอร์รีนไดอะมีนเตรตะอะซีติกแอซิส (Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid, EDTA) ซึ่งเป็นเกลือของ EDTA ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร มีสมบัติเป็น chelating agent ช่วยป้องกันการเปลี่ยนสีของอาหาร ป้องกันการเหม็นหืน

ตารางที่ 1 สารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

สารต้านอนุมูอิสระ	ประโยชน์ต่อสุขภาพ
เบต้าแคลูทีน (β-Carotene) ลูทีน (lutein)	- ป้องกันมะเร็งเต้านม
โบรโมฟีนอล (Bromophenol)	- ยับยั้ง แอลฟา-กลูโคซิเดส
คาร์ราจีแนน (Carrageenan) โอลิโกแซ็กคาไรด์ (Oligosaccharide)	- ป้องกันมะเร็ง
ฟูคอยแดน (Fucoidan)	- ป้องกัน - ป้องกันโรคความผิดปรกติทางประสาท
ฟูโกโฟร์เรโตล (Fucophlorethols)	- ป้องกันการเกิดมะเร็ง
ฟูโกแซนชิน (Fucoxanthin)	- การสร้างเม็ดเลือดใหม่ - ผลกระทบต่อการป้องกันเรตินอล
กัลป์แลคแตนเซอร์เฟส (Galactan Sulfate)	- ป้องกันไวรัสสาเหตุของ ภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง
โฟโลแทนนิน (Phlorotannins)	- ป้องกันการอักเสบ - ยับยั้งการทำลายดีเอ็นเอของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์
ไฟโคอีรีทริน (Phycoerythrin)	- การปรับปรุงภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน
โพลิฟีนอล (Polyphenols)	- การยับยั้ง แอลฟา-กลูโคซิเดส - ยาต้านจุลชีพ

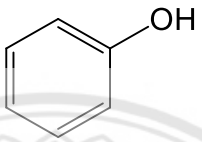
ที่มา : วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ [13]

2.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound)

สารประกอบฟีนอล (Phenolic Compound) เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติ มีหลายชนิดเช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร เป็นต้นซึ่งสารนี้ถูกสร้างขึ้นมาเพื่อช่วยในการเจริญเติบโต มีสรรพคุณต่อสุขภาพคือ มีคุณสมบัติในการต่อต้านอนุมูลอิสะ สามารถละลายในน้ำได้

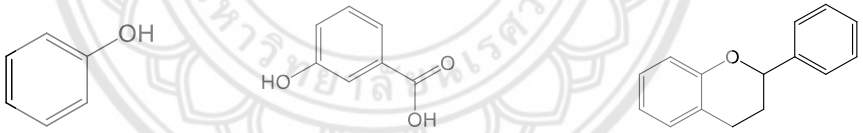
2.3.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่เกาะอยู่ สารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน คือ ฟีนอล (Phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ซึ่งสามารถเขียนสูตรโครงสร้างได้ตามรูปที่ 2.2



รูปที่ 2. 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอล
ที่มา : ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร [14]

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีอีกมากมาย และยังมีสูตรโครงสร้างที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละชนิด เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic Acids) รวมไปถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (Lignin) และกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (Flavoniod) ซึ่งมีโครงสร้างดังรูปที่ 2.3



(ก) (ข) (ค)

รูปที่ 2.3 (ก) โครงสร้างโมเลกุลของฟีนอล (Phenols) (ข) โครงสร้างโมเลกุลของกรดฟีนอลิก (Phenolic acids) และ (ค) โครงสร้างโมเลกุลของฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)
ที่มา : ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร [14]

2.3.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอล

2.3.2.1 สารประกอบฟีนอลมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagrns)

2.3.2.2 สารประกอบฟีนอลสามารถป้องกันโรคต่างๆ ได้เช่น โรคหัวใจขาดเลือด มะเร็ง

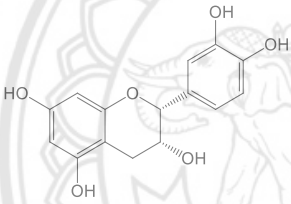
2.3.2.3 สารประกอบฟีนอลใช้ในการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (Lipid Oxidation) [14]

2.4 คาเทชิน (Catechins)

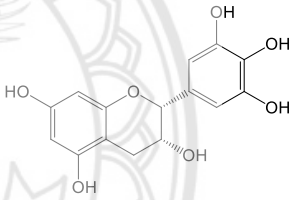
คาเทชิน (Catechins) มีสูตรทางเคมี คือ $C_{15}H_{14}O_6$ มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 290.28 กรัมต่อโมล จุดหลอมเหลวอยู่ระหว่าง 212-216 องศาเซลเซียส สามารถละลายน้ำได้เล็กน้อยในน้ำเย็น และสามารถละลายน้ำได้มากในน้ำร้อน แอลกอฮอล์ กรดน้ำส้ม และอะซิโตน

คาเทชิน เป็นสารในกลุ่มฟีนอล ประเภทพอลิฟีนอล (Polyphenol) ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ มีการพบมากที่สุดในใบชา มีสรรพคุณเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ปัจจัยที่ผลต่อปริมาณของคาเทชิน ได้แก่ พันธุ์ของชา ฤดูการเพาะปลูก การเก็บเกี่ยว และระยะความอ่อนแก่ของใบชา และปริมาณของคาเทชินนั้นก็จะแตกต่างกันไป ชาในฤดูใบไม้ผลิ มีคาเทชินประมาณ 12-13% ถ้าที่ชาในฤดูร้อน มีคาเทชินประมาณ 13-14% และในขณะที่ในใบชาอ่อนจะมีปริมาณคาเทชินมากกว่าใบชาแก่ [15]

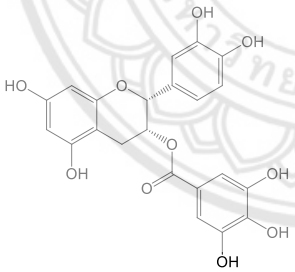
คาเทชิน ที่พบมากในใบชามีด้วยกันทั้งหมด 8 อนุพันธุ์ คาเทชิน (Catechin, C) อิพิคาเทชิน (Epicatechins, EC) แกลโลคาเทชิน (Gallocatechin, GC) อิพิแกลโลคาเทชิน (Epigallocatechin, EGC) คาเทชินแกลเลต (Catechin Gallate, CG) แกลโลคาเทชินแกลเลต (Gallocatechin Gallate, GCG) อิพิคาเทชินแกลเลต (Epicatechin Gallate, ECG) และ อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลต (Epigallocatechin Gallate, EGCG) [14] ซึ่งมีโครงสร้างตามรูปที่ 2.4



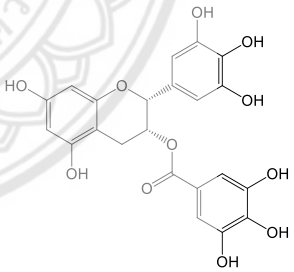
อิพิคาเทชิน



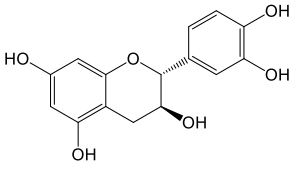
อิพิแกลโลคาเทชิน



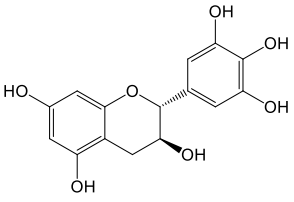
อิพิคาเทชินแกลเลต



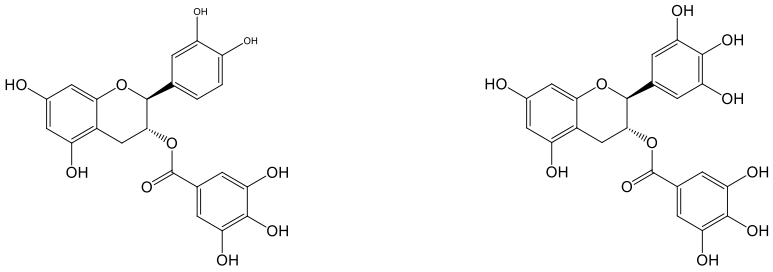
อิพิแกลโลคาเทชินแกลเลต



คาเทชิน



แกลโลคาเทชิน



คาเทชินแกลเลต แกลโลคาเทชินแกลเลต

รูปที่ 2. 4 โครงสร้างของคาเทชินทั้ง 8 อนุพันธุ์

ที่มา : วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น [16]

2.5 สารอื่นๆ ที่พบในชา

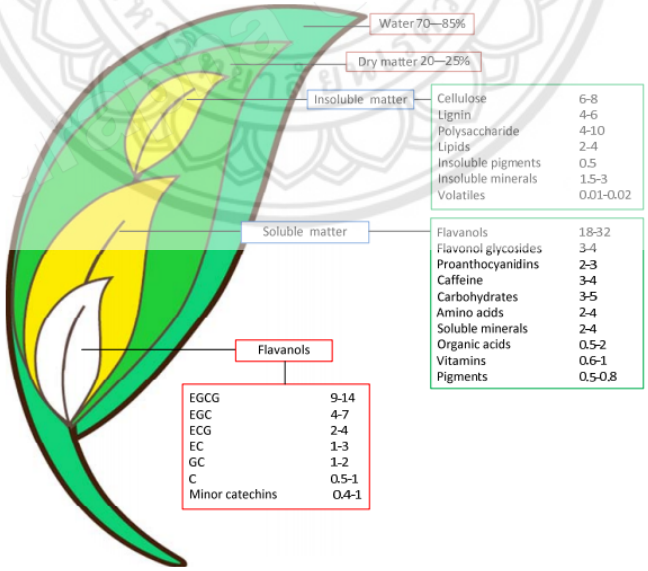
วิตามินซี เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพ ช่วยลดความเครียด ต่อต้านภาวะติดเชื้อและเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

วิตามินซีรวม ช่วยเสริมการทำงานในกระบวนการเมตาบอลิซึ่ม (Metabolism) ของคาร์โบไฮเดรต

วิตามินอี มีสรรพคุณเป็นสารต้านออกซิเดชัน และช่วยชะลอความแก่

ฟลูออไรด์ ช่วยเสริมความแข็งแรงให้แก่สารเคลือบฟัน ป้องกันฟันผุ [13]

ส่วนใหญ่สารที่พบในใบชาเขียว เป็นสารประกอบฟีนอลิก โดยสารอื่นที่พบในใบชาเขียวมีสัดส่วนปริมาณดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 องค์ประกอบและสัดส่วนของใบชาสด

ที่มา : วีรพงษ์ เทพกรณ์ / วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา [17]

2.6 เทคนิคการสกัด

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นการแยกสารที่เป็นของเหลวปนกับของเหลว หรือของแข็งปนของแข็ง โดยเป็นการแยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายในการสกัด ส่วนมากแล้วการสกัดแบบนี้มันจะใช้กับการแยกสารที่มาจากธรรมชาติ สารจากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการหรือจากผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรม การสกัดด้วยวิธีนี้จะอาศัยสมบัติของการทำละลายของสารที่แตกต่างกันในตัวทำละลายชนิดต่างๆ สารผสมที่นำมาสกัดนั้นอาจเป็นได้ทั้งของเหลวและของแข็ง แต่ตัวทำละลายที่นำมาสกัดมักเป็นของเหลว ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี

2.6.1 การสกัดสารจากของแข็ง (Solid-Liquid Extraction)

สารที่เป็นของแข็งนั้นที่พบเจอบ่อยในการสกัดส่วนมากก็จะเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เช่น รากพืช ใบไม้ เปลือกไม้ เมล็ด เป็นต้น การสกัดโดยทั่วไปนั้นจะทำให้ของแข็งแห้งเพื่อกำจัดน้ำออกไปก่อนแล้วจึงนำมาบดให้ละเอียดเพื่อให้มีพื้นที่ผิวให้มากขึ้น จากนั้นจึงนำไปแช่ในตัวทำละลายหรือ ต้มที่อุณหภูมิของจุดเดือดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยมีการใช้ตัวทำละลายได้แก่ เฮกเซน (Hexane) อีเธอร์ (Ether) อะซิโตน (Acetone) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เมธิลีนคลอไรด์ (Methylene Chloride) หรือน้ำ เมื่อแช่หรือต้มไประยะหนึ่งจึงจะเอาของแข็งออก และนำสารละลายที่ได้ไประเหยเอาตัวทำละลายออก

2.6.2 การสกัดสารจากของเหลว (Liquid-Liquid Extraction)

สารที่ต้องการจะนำมาสกัดที่อยู่ในรูปของเหลว หรือสารที่อยู่ในตัวทำละลาย การสกัดจะต้องเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม คือ ไม่ละลายกับตัวทำละลายที่มีอยู่แล้ว ซึ่งจะทำให้สารแยกชั้นออกจากกันและต้องละลายสารที่ต้องการได้ดีกว่าตัวทำละลายเดิม [18]

2.6.3 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว

ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว

ผู้เขียน/ปี	วิธีการสกัด	สารที่ใช้ในการสกัด	สภาวะที่ใช้ในการสกัด	ผลที่ได้
Hideki Kanda et al./2013 [9]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether)	- 0.51 เมกะปาสคาล - 20 องศาเซลเซียส - ใช้ใบชาที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำ	- คาเฟอีน 47 ไมโครกรัมต่อกรัมสารที่สกัดได้ - คาเทชิน 206 ไมโครกรัมต่อกรัมสารที่สกัดได้
Munevver Sokmenn et al./2017 [19]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลวโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด	ก๊าซคาร์บอนไดออกไซน์ (CO_2)	- 25 เมกะปาสคาล - 60 องศาเซลเซียส - เวลา 3 ชั่วโมง	- คาเฟอีน ความเข้มข้น 1.8 เปอร์เซ็นต์ -คาเทชิน ความเข้มข้น 2.77 เปอร์เซ็นต์ (ประมาณ 27.7 มิลลิกรัมต่อกรัมสารที่สกัดได้)
Xi et al./2014 [20]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	เอทานอลต่อน้ำ ในอัตราส่วน 50:50	- 500 เมกะปาสคาล - 25 องศาเซลเซียส - เวลา 4 นาที - 20 มวลตัวทำละลายต่อมาวของสารที่นำมาสกัด	- คาเฟอีน 40 มิลลิกรัมต่อกรัมสารที่สกัดได้ - คาเทชิน 232 มิลลิกรัมต่อกรัมสารที่สกัดได้

ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว (ต่อ)

ผู้เขียน/ปี	วิธีการสกัด	สารที่ใช้ในการสกัด	สภาวะที่ใช้ในการสกัด	ผลที่ได้
นายนิพัฒน์ ลิ้มสงวน/2004 [21]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	น้ำ	การทดลองตอนที่ 1 - อุณหภูมิ : 50 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส - เวลา : 10 20 30 40 50 และ 60 นาที - อัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร การทดลองตอนที่ 2 - อัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ : 1:20 1:30 1:40 1:50 1:100 1:150 และ 1:200 กรัมต่อมิลลิลิตร - อุณหภูมิ และ เวลา ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1	การทดลองตอนที่ 1 จากการทดลองที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิ 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส ได้คาเทชิน 0.56 0.61 และ 0.62 กรัมต่อ 100 กรัมใบชา ซึ่งพบว่าทั้ง 3 อุณหภูมินี้สกัดได้คาเทชินได้ปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน จึงเลือก 70 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดคาเทชินจากใบชา จากการทดลองที่เวลาต่างๆ พบว่าได้คาเทชินที่ไกล้เคียงกันมาก คือ 0.55 กรัมต่อ 100 กรัมใบชา จึงเลือกใช้ 10 นาทีเป็นเวลาที่เหมาะสมในการสกัดคาเทชินจากใบชา

ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว (ต่อ)

ผู้เขียน/ปี	วิธีการสกัด	สารที่ใช้ในการสกัด	สภาวะที่ใช้ในการสกัด	ผลที่ได้
นายนิพัฒน์ ลิ้มสงวน/2004 [21]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	น้ำ	การทดลองตอนที่ 1 - อุณหภูมิ : 50 60 70 80 และ 90 องศาเซลเซียส - เวลา : 10 20 30 40 50 และ 60 นาที - อัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ 1:30 กรัมต่อมิลิลลิตร การทดลองตอนที่ 2 - อัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ : 1:20 1:30 1:40 1:50 1:100 1:150 และ 1:200 กรัมต่อมิลลิลิตร - อุณหภูมิ และ เวลา ที่ได้จากการทดลองตอนที่ 1	การทดลองที่ 2 จากการทดลองที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าที่อัตราส่วน 1:150 และ 1:200 ได้ปริมาณคาเทชินไม่ต่างกัน คือ 2.06 กรัมต่อ 100 กรัมใบชา จึงเลือกใช้อัตราส่วน 1:150 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัดคาเทชินจากใบชา

ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว (ต่อ)

ผู้เขียน/ปี	วิธีการสกัด	สารที่ใช้ในการสกัด	สภาวะที่ใช้ในการสกัด	ผลที่ได้
นายนิพัฒน์ ลิ้มสงวน/2004 [21]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	น้ำ	- อุณหภูมิ : 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส - เวลา : 5 10 และ 15 นาที - อัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ : 1:100 1:150 และ 1:200 กรัมต่อมิลลิลิตร	จากการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดคาเทชินจากใบชาโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดคาเทชินจากใบชา คือ อุณหภูมิ 70.77 องศาเซลเซียส เวลา 13.17 นาที และอัตราส่วนระหว่างใบชาต่อน้ำ 1:175.77 กรัมต่อมิลลิลิตร โดยได้ปริมาณคาเทชิน เท่ากับ 2.66 กรัมต่อ 100 กรัมใบชา

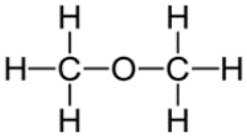
ตารางที่ 2 การสกัดสารสำคัญจากชาเขียว (ต่อ)

ผู้เขียน/ปี	วิธีการสกัด	สารที่ใช้ในการสกัด	สภาวะที่ใช้ในการสกัด	ผลที่ได้
Zimmermann and Gleichenhagen/2011 [22]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	น้ำที่ผสมกรดซิตริก (pH 3)	- เวลา 7 นาที - 70 องศาเซลเซียส - 100 มวลตัวทำละลายต่อมวลของใบชา	- คาเทชิน 588.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่สกัดได้
Zhang et al./2014 [22]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว	โคลีนคลอไรด์ต่อเอทิลินไกคอล (1:5) + น้ำ 30%	- เวลา 35 นาที - 75 องศาเซลเซียส - 62.5 มวลตัวทำละลายต่อมวลของใบชา	- คาเทชิน 3.6 มิลลิกรัมต่อกรัมใบชา - อีซีจี 35.5 มิลลิกรัมต่อกรัมใบชา - อีจีซีจี 114.2 มิลลิกรัมต่อกรัมใบชา
Choung et al./ 2014 [22]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลว โดยใช้อัลตราโซนิคช่วยในการสกัด	เอทานอลต่อน้ำ ในอัตราส่วน 40:60	- เวลา 30 นาที - 40 องศาเซลเซียส - 10 มวลตัวทำละลายต่อมวลของใบชา	- คาเทชิน 90.2 มิลลิกรัมต่อกรัมใบชา - คาเฟอีน 19.7 มิลลิกรัมต่อกรัมใบชา
Miyashita and Etoh/2013 [22]	การสกัดจากของแข็งด้วยของเหลวโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด	น้ำ	- เวลา 1 นาที - 130 องศาเซลเซียส - 50 มวลตัวทำละลายต่อมวลของใบชา - 3 เมกะปาสคาล	- คาเทชิน 3.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารที่สกัดได้ - คาเฟอีน 0.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของสารที่สกัดได้

2.6.4 ตัวทำละลายในการสกัด

2.6.4.1 ตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว [23]

การสกัดโดยใช้ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether, DME) มีสูตรโมเลกุลคือ C_2H_6O มีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 2.6 มีชื่อทางเคมี คือ เมทอคซี่มีเทน (Methoxymethane) เป็นก๊าซที่ไม่มีสี เป็นสารไวไฟสูง แต่ปลอยภัยเมื่อมีการจัดการอย่างเหมาะสม สมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับไดเมทิลอีเทอร์ ให้ไว้ในตารางที่ 2



รูปที่ 2.6 โครงสร้างโมเลกุลของไดเมทิลอีเทอร์
ที่มา : กลุ่มพัฒนามาตรฐานน้ำมันเชื้อเพลิง สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อ**เพลิง** [23]

ไดเมทิลอีเทอร์ ถูกนำมาใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัด**ในกระบวนการแปรรูปอาหาร ใช้เป็น**ตัวทำละลายในกระบวนการผลิตโปรตีนโดยเฉพาะอย่างยิ่งคลอ**ลาเจน โดยที่จะใช้ ไดเมทิลอีเทอร์** เป็นตัวทำละลายในการสกัด เพราะถูกควบคุมจาก Council Directive 88/344 / EEC **กฎหมายของ**ประเทศสมาชิกเกี่ยวกับตัวทำละลายการสกัดที่ใช้ในการผลิตอาหา**รและส่วนผสมอาหาร**

ตารางที่ 3 สมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับ ไดเมทิ**ลอีเทอร์**

น้ำหนักโมเลกุล	46.069 กรัมต่อโมล
จุดเดือด	-24.8 องศาเซลเซียส ที่ 1 บรรยากาศ
จุดหลอมเหลว	-141.5 องศาเซลเซียส ที่ 1 บรรยากาศ
จุดวาปไฟ	-41 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่นในสถานะของเหลว	0.665 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ 25 องศาเซลเซียส
ความหนาแน่นในสถานะก๊าซ	1.92 กรัมต่อลิตร ที่ 25 องศาเซลเซียส และ 1 บรรยากาศ
ความสามารถในการละลายน้ำ	7% โดยน้ำหนักที่ 18 องศาเซลเซียส และ 1 บรรยากาศ

ที่มา : Safety data sheet : dimethyl ether [24]

จากเซฟตี้ดาต้าชีทของไดเมทิลอีเทอร์ (Safety Data Sheet Dimethyl Ether) มีการระบุข้อมูลทางพิษวิทยา [22] คือ

อาการทั่วไป

สัมผัสทางตา : มีอาการคือตาถูกทำลายด้วยความเย็นจัด

การสูดดม : ไม่มีข้อมูลที่เฉพาะเจาะจง

สัมผัสทางผิวหนัง : มีอาการคือผิวหนังถูกทำลายด้วยความเย็นจัด

สารเข้าไปในร่างกาย : มีอาการคืออวัยวะถูกทำลายด้วยความเย็นจัด

ผลกระทบที่เกิดขึ้นล่าช้าและเกิดขึ้นทันทีรวมทั้งผลเรื้อรังจากการได้รับสารในระยะสั้นและระยะยาว

การสัมผัสระยะสั้น (Short Term Exposure)

ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นทันที : ไม่มีอันตราย

ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นในเวลาผ่านไป : ไม่มีอันตราย

การสัมผัสระยะยาว (Long Term Exposure)

ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นทันที : ไม่มีอันตราย

ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นในเวลาผ่านไป : ไม่มีอันตราย

ผลกระทบต่อสุขภาพเรื้อรัง (Potential Chronic Health Effects)

ทั่วไป : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

การก่อมะเร็ง : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

การกลายพันธุ์ : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

ความเป็นพิษต่อระบบนิเวศน์ : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

ผลกระทบต่อพัฒนาการ : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

ผลต่อการเจริญพันธุ์ : ไม่มีผลกระทบที่สำคัญหรือเป็นอันตรายร้ายแรง

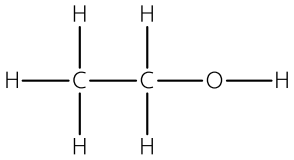
มาตราการเชิงตัวเลขของความเป็นพิษ (Numerical Measures of Toxicity)

การประเมินความเป็นพิษเฉียบพลัน : ไม่มีอันตราย

วัตถุประสงค์หลักของ ไดเมทิลอีเทอร์ ใช้สกัดไขมันจากอาหารเหลวและอาหารแห้ง และมีคุณสมบัติพิเศษเฉพาะ ที่เป็นตัวทำละลายในการสกัดโดยสามารถสกัดได้ทั้งไขมันมีขั้ว (Polar Lipids) และไขมันไม่มีขั้ว (Non-Polar Lipids) จากอาหาร หนึ่งในคุณสมบัติในการสกัดไขมันได้โดยไม่กลายเป็นโปรตีนที่ตกค้างอยู่ในอาหาร ไดเมทิลอีเทอร์ มีคุณสมบัติการสกัดที่เทียบเท่ากับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ เนื่องจากเป็นตัวทำละลายมีขั้วที่มีประสิทธิภาพเมื่อมีการทำให้เป็นของเหลวและใช้สำหรับในการสกัดที่จุดวิกฤต (40-50 องศาเซลเซียส) เป็นก๊าซที่อุณหภูมิห้องและความดันตกค้างสามารถกำจัดออกจากอาหารได้ง่ายไม่มีผลพลอยได้จากการสกัด

2.6.4.2 ตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) [25]

เอทานอล (Ethanol) หรือ เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethyl Alcohol) เป็นแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลดังรูปที่ 2.7 ซึ่งเกิดจากการนำเอาพืชมาหมักเพื่อเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล จากนั้นจึงเปลี่ยนจากน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้เอนไซม์หรือกรดบางชนิดช่วยย่อย เมื่อทำให้เป็นแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ 95% โดยการกลั่น ส่วนใหญ่ผลิตจากพืช สองประเภทคือ พืชประเภทน้ำตาล เช่น อ้อย บีทรูท และพืชจำพวกแป้งเช่น มันสำปะหลัง ข้าว ข้าวโพด เป็นต้น



รูปที่ 2. 7 โครงสร้างโมเลกุลของเอทานอล

ที่มา : http://www.tpa.or.th/writer/read_this_book_topic.php?bookID=1619&pageid=4&read=true&count=true [26]

ตารางที่ 4 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับเอทานอล

สูตรโมเลกุล	C_2H_6O
มวลโมเลกุล	46.07 กรัมต่อโมล
ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใสไม่มีสี
ความหนาแน่น	0.789 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร
จุดหลอมเหลว	−114.3 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	78.4 องศาเซลเซียส
ความสามาถละลายได้ในน้ำ	ละลายน้ำได้อย่างดี

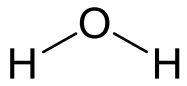
ที่มา : http://www.vcharkarn.com/varticle/40659 [25]

ประโยชน์ของเอทานอล

1. ใช้เป็นสารตั้งต้นหรือตัวทำละลาย เช่น การผลิตเครื่องสำอาง ยา น้ำหอม เป็นต้น
2. ใช้ผสมในเชื้อเพลิงเพื่อเพิ่มค่าออกเทน และลดปริมาณเชื้อเพลิงบางชนิด เช่น น้ำมันแก๊สโซฮอล์ E10 (แอลกอฮอล์ 1 ส่วน น้ำมันเบนซิน 9 ส่วน) E20 (แอลกอฮอล์ 2 ส่วน น้ำมันเบนซิน 8 ส่วน)
3. เป็นส่วนผสมของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่างๆ
4. ใช้สำหรับการฆ่าเชื้อหรือล้างแผล เช่น แอลกอฮอล์ 75%
5. ใช้สำหรับการทำความสะอาด และฆ่าเชื้อในส่วนผสมของน้ำยาฆ่าเชื้อ

2.6.4.3 ตัวทำละลายน้ำ [27]

น้ำบริสุทธิ์ ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีรส น้ำ 1 โมเลกุล (H_2O) ประกอบด้วยไฮโดรเจน 2 อะตอม และออกซิเจน 1 อะตอม เชื่อมต่อกันด้วยพันธะโควาเลนท์ (Covalent Bonds) ซึ่งใช้อีเล็กตรอนร่วมกัน โดยที่อะตอมทั้งสามตัวเรียงกันทำมุม 105 องศา โดยมีออกซิเจนเป็นขั้วลบและไฮโดรเจนเป็นขั้วบวกมีโครงสร้างโมเลกุลดังรูปที่ 2.8



รูปที่ 2. 8 โครงสร้างโมเลกุลของน้ำ
ที่มา : วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี น้ำ (โมเลกุล) [28]

ตารางที่ 5 คุณสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่เกี่ยวข้องกับน้ำ

สูตรโมเลกุล	H_2O
มวลโมเลกุล	18.01528 กรัมต่อโมล
ลักษณะทางกายภาพ	ของเหลวใสไม่มีสี
ความหนาแน่น	997 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตร
จุดหลอมเหลว	0 องศาเซลเซียส
จุดเดือด	100 องศาเซลเซียส

ที่มา : https://sites.google.com/site/alisa6280/sa-rx-ni-nth-riy/1-1na [27]

เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายพื้นฐาน สามารถละลายสารได้ ทั้ง 3 สถานะ ทั้ง ก๊าซ ของเหลว และของแข็ง จึงหาน้ำบริสุทธิ์ได้ยาก เพราะน้ำทั่วไปมีก๊าซ เกลือ และสารอื่นๆ ปนอยู่ ส่วนมากที่พบคือ ออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ โซเดียมคลอไรด์ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ฯ น้ำจากแหล่งต่างๆ จึงมีสี กลิ่น และรสต่างกันไป

คุณสมบัติหลักทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำ ได้แก่

1. น้ำเป็นโมเลกุลมีขั้ว เพราะว่าออกซิเจนมีค่าอิเล็กโทรเนกาติวิตี (Electronegativity: EN) สูงกว่าไฮโดรเจน ออกซิเจนมีขั้วลบ ในขณะที่ไฮโดรเจนมีขั้วบวก แสดงว่าน้ำเป็นโมเมนต์ขั้วคู่ ปฏิกิริยาระหว่างขั้วของแต่ละโมเลกุลเป็นเหตุให้เกิดแรงดึงดูดที่เชื่อมโยงกับมวลรวมของน้ำ ของความตึงผิว
2. น้ำมีสถานะเป็นของเหลวในสภาวะปกติ
3. แรงยึดเหนี่ยวสำคัญอื่นๆ ที่ทำให้โมเลกุลของน้ำเข้าสู่โมเลกุลอีกอันหนึ่งเรียกว่าพันธะไฮโดรเจน

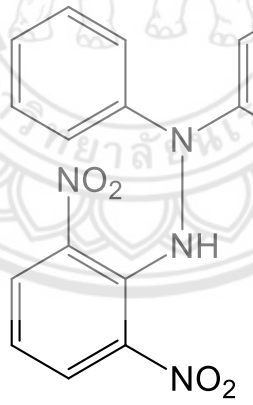
4. น้ำเป็นตัวทำละลายที่ดี เรียกได้ว่าน้ำเป็น ตัวทำละลายสากล สามารถละลายสสารได้หลายชนิด สสารที่ละลายกับน้ำได้ดี เช่น เกลือ น้ำตาล กรด ด่าง และแก๊สบางชนิด โดยเฉพาะออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ เรียกว่า ไฮโดรฟิลิก หรือสสารที่ชอบน้ำ ขณะที่สสารที่ละลายน้ำได้น้อยหรือไม่ได้เลย เช่น ไขมัน และน้ำมัน เรียกว่า ไฮโดรโฟบิก หรือสสารที่ไม่ชอบน้ำ

2.7 การวิเคราะห์ปริมาณสาร

เนื่องจากการวิเคราะห์ปริมาณสารในชาเขียวนั้นมีการตรวจวัดที่แตกต่างกันออกไป แล้วแต่ว่าจะมีจุดประสงค์ในการวัดสารใด

2.7.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน [29]

การวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยใช้วิธี ดีพีพีเฮชแอส (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay, DPPH assay) ซึ่งดีพีพีเอชมีสูตรโครงสร้างดังรูปที่ 2.9 วิธีนี้เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ซึ่งใช้สารที่เป็นตัวกระทำปฏิกิริยา (Reagent) คือ ดีพีพีเฮช (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, DPPH) เป็นอนุมูลอิสระ (Stable Radical) ในตัวทำละลาย ซึ่งสารละลายนี้จะมีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นานโนเมตร



รูปที่ 2. 9 สูตรโครงสร้างของดีพีพีเฮช
ที่มา : วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยพะเยา [22]

เมื่อดีพีพีเฮชทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลงๆ จนเป็นสีเหลือง ดังสมการที่ 1 ซึ่งก่อนที่จะนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลง

$$DPPH + AH \longrightarrow DPPH\text{-}H + A$$

สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่ตัวอย่าง) ดังนี้

โดย % inhibition สามารถหาได้จากสูตร

$$\%\text{inhibition} = \frac{(A_{control} - A_{sample})}{(A_{control})} * 100 \qquad \textbf{(2.1)}$$

เมื่อ A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของตัวอย่าง A

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของ DPPH

2.7.2 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay [30]

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก โดยวิธี โฟลินไซโอคาเทยูคัลโลเมท เป็นการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมด โดยใช้สารที่เป็นตัวกระทำปฏิกิริยาคือ โฟลินไซโอคาเทยู (Folin - Ciocalteu Reagent, FCR) สารประกอบฟีนอลิกจะทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ กรดฟอสโฟตังสติค (Phosphortungstic Acid) และ กรดฟอสโฟโมลิบดิค (Phosphomolybdic Acid) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำเงิน และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยการวัดผลนั้นจะมีการคำนวณคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของกรดแกลลิก (mg/g Gallic Acid Equivalent, GAE) จากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic Acid)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการ

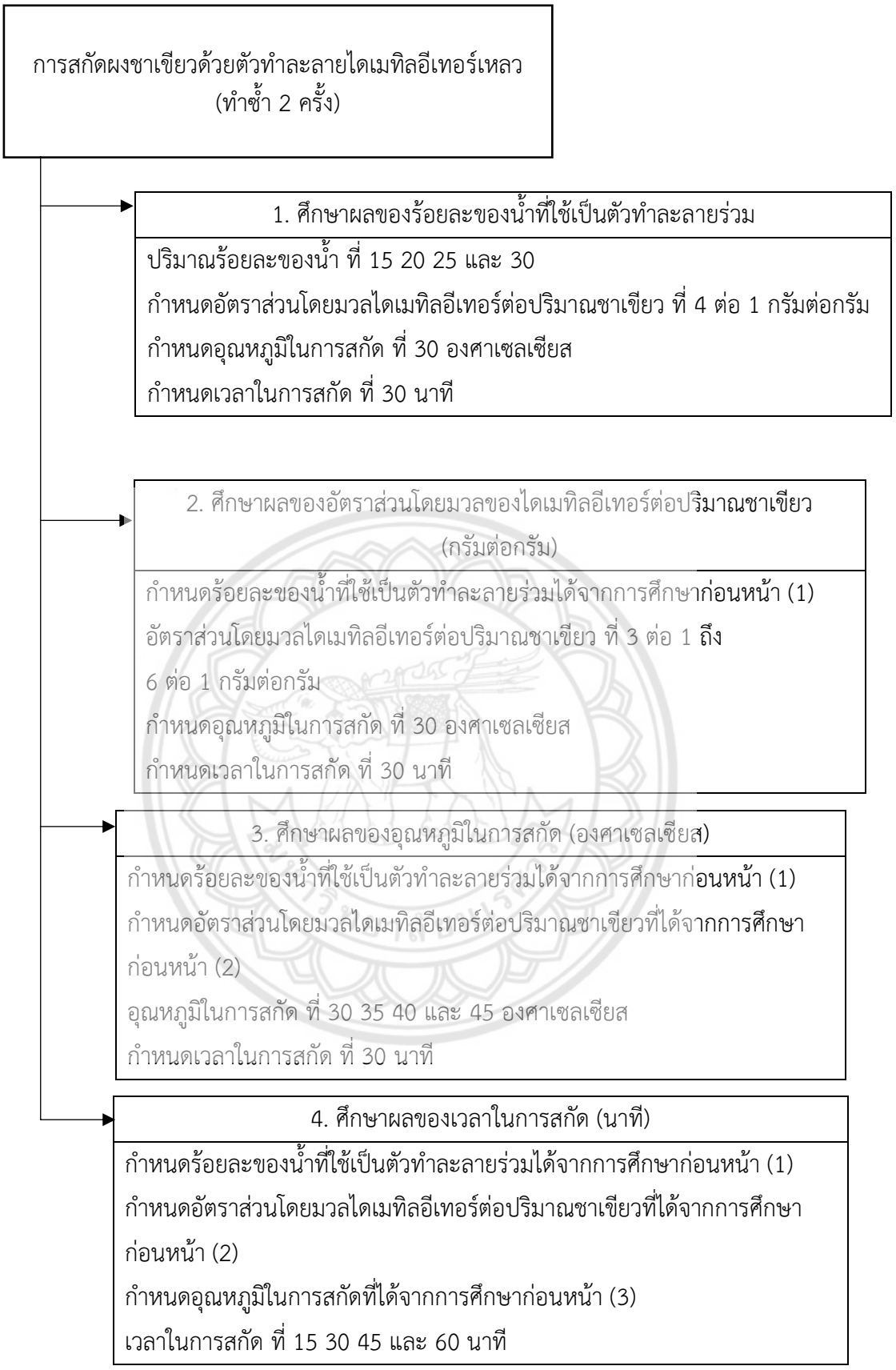
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 ใบชาเขียวอบแห้ง (Dried Green Tea Leaves) จาก บริษัท ชาฉุยฟง จำกัด จังหวัดเชียงราย ประเทศไทย

3.1.2 ไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether, DME) จากบริษัททามิย่า (Tamiya) ประเทศญี่ปุ่น

3.2 แผนผังการดำเนินการ

รูปที่ 3.1 แผนผังการดำเนินงานการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว



รูปที่ 3.2 แผนผังสภาวะในการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว

3.3 การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลว

เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์-เหลว ซึ่งปัจจัยที่ใช้ในการศึกษามี 4 ปัจจัย ได้แก่ อุณหภูมิในการสกัด, อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอิเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว ปริมาณตัวทำละลายร่วม และเวลาในการสกัดโดยรายละเอียดของแต่ละปัจจัย มีดังนี้

3.3.1 ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม 15 20 25และ 30

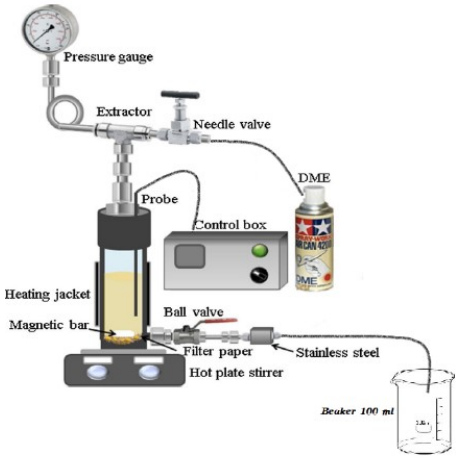
3.3.2 อัตราส่วนโดยมวลของ ไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 ถึง 6 ต่อ 1

3.3.3 อุณหภูมิในการสกัดที่ 30 35 40 และ 45 องศาเซลเซียส

3.3.4 เวลาในการสกัด ที่ 15 30 45 และ 60 นาที

วิธีการสกัด

ละลายผงชาเขียวในตัวทำละลายร่วม (น้ำ) ที่ปริมาณตามที่ต้องการ โดยมวลต่อปริมาตร (w/v) หลังจากนั้นนำบรรจุลงในหลอดกระดาษกรอง (Extraction Thimbles) (เซลลูโลส 30x100 มม.) พร้อมกับ ใส่แท่งแม่เหล็กกวนสาร (Magnetic Bar) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 มม. และบรรจุหลอดกระดาษกรอง ลงในเครื่องสกัดสแตนเลสสตีล (ปริมาตร 100 มล.) หลังจากนั้นบรรจุไดเมทิลอีเทอร์เหลวลงในเครื่องสกัด ซึ่งเป็นอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์ต่อปริมาณชาเขียว หลังจากนั้นนำเครื่องสกัดวางลงบนเครื่องกวน ที่ความเร็วรอบ 500 รอบต่อนาที โดยใช้เวลาในการสกัดตามที่ต้องการ จะเริ่มเปิดเครื่องกวน และจับเวลาเมื่ออุณหภูมิได้ตามที่ต้องการ ซึ่งอุณหภูมิได้จากกล่องควบคุมอุณหภูมิ (Control Box) โดยการ ต่อปลั๊กไฟ กับ กล่องควบคุมอุณหภูมิ ซึ่งอุณหภูมิควบคุมดังรูปภาพที่ 3.1 หลังจากสกัดตามเวลาที่ต้องการครบแล้ว ทำการเปิดบอลวาล์ว (Ball Valve) เพื่อให้ไดเมทิลอีเทอร์กับสารที่สกัดได้ไหลออกมาโดยผ่านไส้กรองแสตนเลส (เส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมโครเมตร) หลังจากสารจากการสกัดไหลหมดแล้ว ไดเมทิลอีเทอร์จะระเหยออก และเหลือสารสกัดน้ำของชาเขียว หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปวิเคราะห์สารสำคัญในชาเขียวต่อไป



รูปที่ 3.3 เครื่องสกัดด้วย ไดเมทิลอีเทอร์

ที่มา : Production of free lutein by simultaneousextraction and de-esterification of marigoldflowers in liquefied dimethyl ether (DME) –KOH–EtOH mixture [8]

3.4 การสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายอื่นๆ (น้ำและเอทานอล)

ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระของการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายน้ำและเอทานอลร้อยละ 95 เพื่อเปรียบเทียบกับการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว ซึ่งใช้สภาวะที่เหมาะสม ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว โดยมีขั้นตอนดังนี้

3.4.1 ละลายผงชาเขียวในตัวทำละลายในปริมาตรเทียบเท่าตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว รวมกับปริมาตรน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม ที่สภาวะที่เหมาะสม

3.4.2 นำสารละลายวางในเครื่องทำความสะอาดด้วยแรงสั่น (Ultrasonic Bath) โดยใช้อุณหภูมิและเวลาในการสกัด ที่สภาวะเหมาะสม

3.4.3 เมื่อครบเวลาตามที่กำหนด นำสารละลายกรองด้วยเครื่องกรองสารด้วยปั๊มสุญญากาศ

3.4.4 แยกตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสาร (Evaporator)

3.4.5 นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปวิเคราะห์สารสำคัญในชาเขียว

3.5 การวิเคราะห์สารสำคัญ

3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Content) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay [29]

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic Acid) เป็นสารมาตรฐานในการเทียบ Folin-Ciocalteu reagent เป็นสารละลายสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือน้ำเงิน

จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร และรายงานผลเป็นน้ำหนักเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรด โดยการรายงานผลของปริมาณฟินอลิกทั้งหมด เป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของกรดแกลลิก (mg/g Gallic Acid Equivalent, GAE)

3.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) ด้วยวิธี DPPH assay (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity) [30]

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) ของสารสกัดชาเขียวด้วยวิธี DPPH assay วัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ เครื่อง microplate reader ที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (%inhibition) แล้วสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้น เพื่อใช้หา IC_{50} ซึ่งหมายถึง ปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ 50% ค่าที่มีค่าน้อยจะแสดงฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าค่าที่มีค่ามาก

บทที่ 4

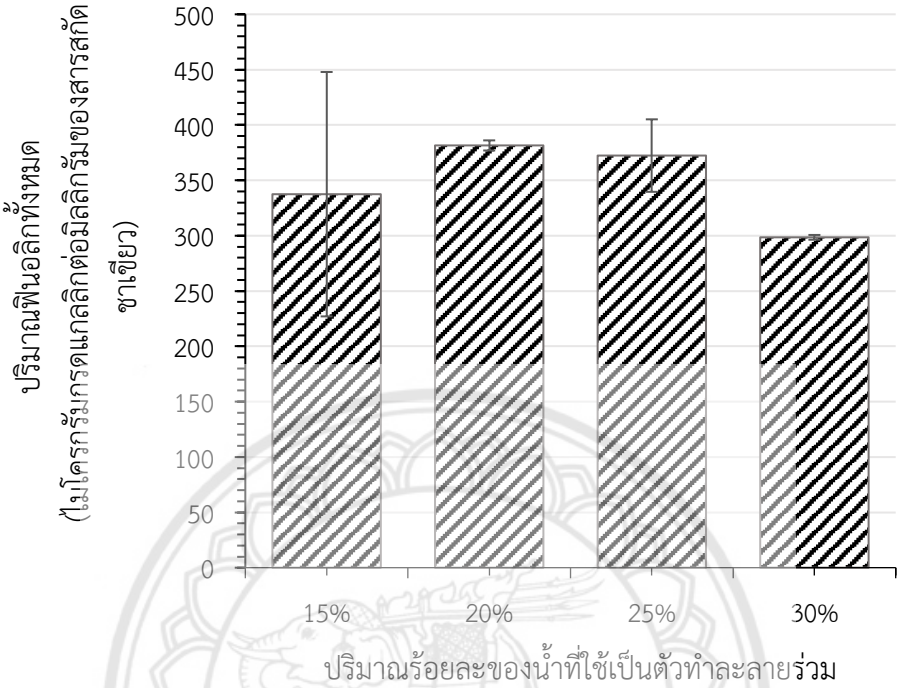
ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

ในบทนี้ได้มีการนำเสนอผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลองของการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดชาเขียวด้วยกระบวนการสกัดโดยใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลวโดยได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (กรัมต่อกรัม) อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส) และเวลาในการสกัด (นาที) โดยเมื่อได้สภาวะในการสกัดที่เหมาะสมจากการสกัดด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลวแล้วได้นำไปเปรียบเทียบผลจากการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นพิษเช่นเดียวกัน

4.1 ศึกษาผลของปริมาณร้อยละของน้ำในผงพืชที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม

ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาผลของการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวในการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำซึ่งใช้เป็นตัวทำละลายร่วมเนื่องจากน้ำมีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่ดี [25] รวมทั้งมีอยู่ในชาเขียวซึ่งอยู่ในรูปของความชื้น [16] ดังนั้นจึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมที่ส่งผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชาเขียว โดยควบคุมอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 4 ต่อ 1 อุณหภูมิในการสกัด ที่ 30 องศาเซลเซียส และเวลาในการสกัดที่ 30 นาที ซึ่งผลการทดลองเป็นดังรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 โดยรูปที่ 4.1 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อใช้ปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วมที่แตกต่างกันจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมในช่วงร้อยละ 15 ถึงร้อยละ 20 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากไดเมทิลอีเทอร์เหลวถูกจัดให้เป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย เมื่อผสมกับน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมซึ่งถูกจัดเป็นสารมีขั้วมาก ดังนั้นเมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมในช่วงร้อยละ 15 ถึงร้อยละ 20 อาจส่งผลให้สภาพขั้วของตัวทำละลายมีความมีขั้วที่เหมาะสมในการสกัดมากขึ้น จึงทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยของ Jihad Saif Ali Al-Qassabi และคณะ [31] พบว่าตัวทำละลายที่มีความเป็นมีขั้วน้อยมากหรือตัวทำละลายที่มีความเป็นมีขั้วมากไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก โดยศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากมะนาวโดยใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วต่างกันโดยพิจารณาสารที่มีขั้วต่ำสุดไปยังสารที่มีขั้วมากขึ้นได้แก่ เฮกเซน (Hexane) คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เอทิลอะซิเตท (Ethyl Acetate) บิวทานอล (Butanol) เมทานอล (Methanol) และน้ำ (Water) ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด สำหรับเฮกเซน คลอโรฟอร์ม เอทิลอะซิเตท บิวทานอลและน้ำ สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่มี

ปริมาณใกล้เคียงกัน ดังนั้นจากงานวิจัยดังกล่าวตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก คือ เมทานอลซึ่งอาจมีสภาพขั้วใกล้เคียงกับตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วมในอัตราส่วนที่เหมาะสม

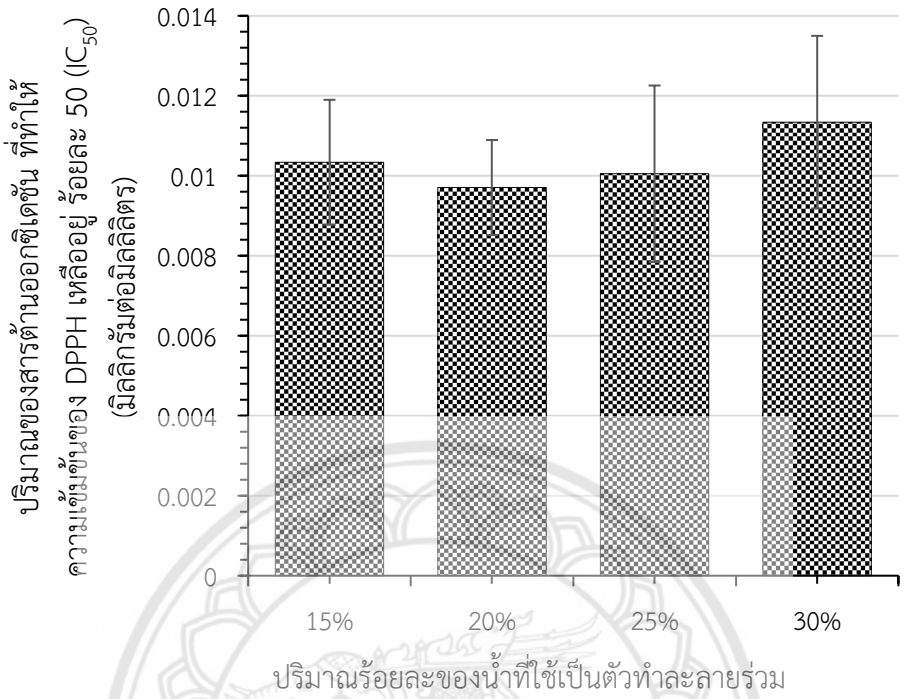


รูปที่ 4. 1 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกสกัดชาเขียว) กับปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม

อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วมที่มีปริมาณมากกว่าร้อยละ 20 จะเห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มลดลง อาจเนื่องด้วยสภาพขั้วของตัวทำละลายร่วมระหว่างไดเมทิลอีเทอร์เหลวซึ่งเป็นตัวทำละลายหลักกับน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายร่วมมีสภาพขั้วที่มีขั้วมากเกินไปซึ่งอาจไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจึงได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่น้อยลง

สำหรับรูปที่ 4.2 ค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมจากร้อยละ 15 ถึง ร้อยละ 20 ปริมาณของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) มีค่าลดลงซึ่งหมายถึงฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีแต่เมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมจากร้อยละ 20 จนถึงร้อยละ 30 ปริมาณของสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ (IC_{50}) มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งหมายถึง ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระน้อยลง จากรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมาก ค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระต่ำ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่าสอดคล้องกัน ที่ปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม เป็นปริมาณร้อยละที่เหมาะสมที่สุด

มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 381.516 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียวและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) คือ 0.00971 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้กับปัจจัยตัวต่อไป

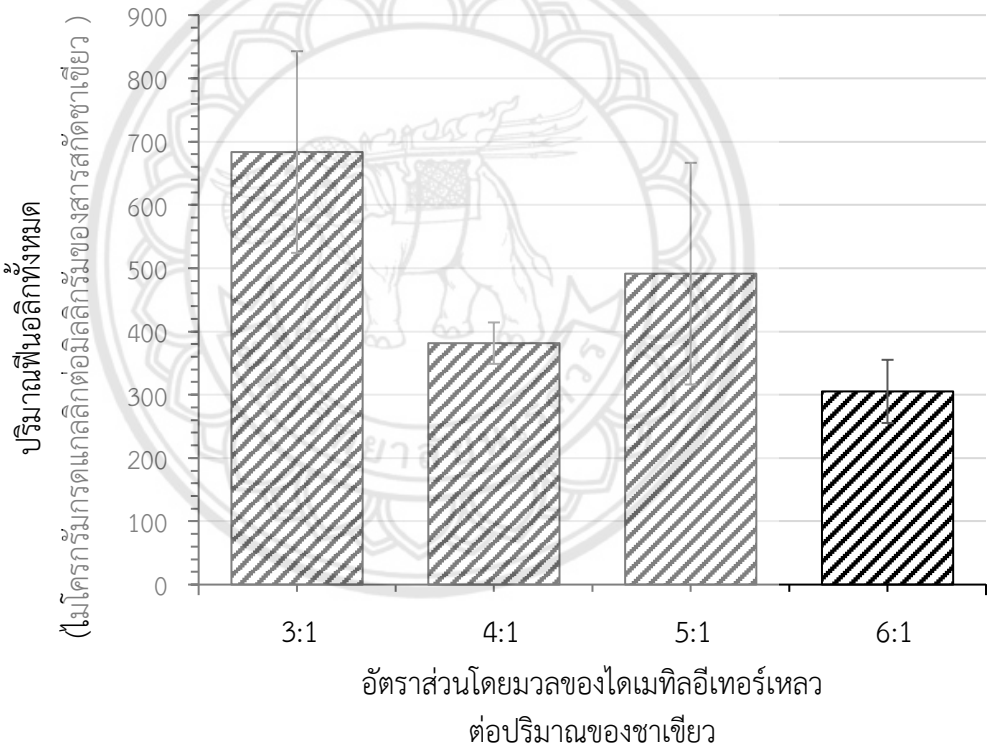


รูปที่ 4. 2 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ ปริมาณร้อยละของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม

4.2 ศึกษาผลของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (กรัมต่อกรัม)

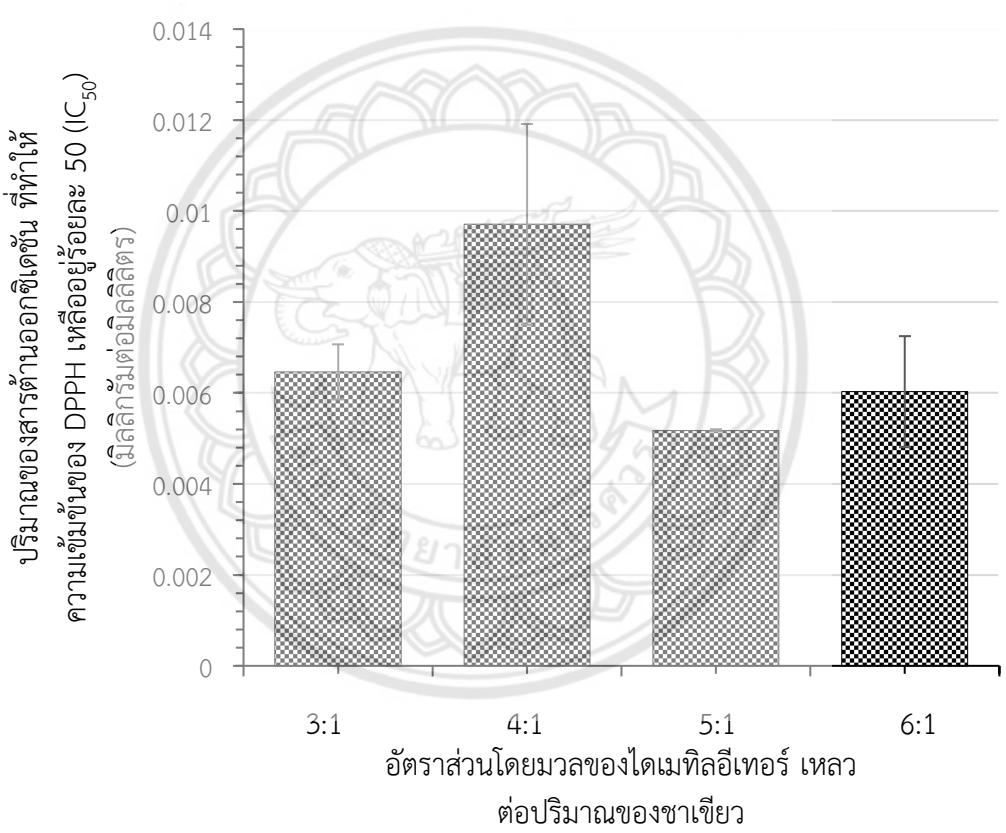
ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาผลของการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวในการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว เนื่องจากไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นสารที่กำลังได้รับความสนใจในโรงงานอุตสาหกรรม อาหาร เครื่องสำอาง และยา [7] อีกทั้งยังเป็นตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติเป็นก๊าซได้ที่ความดันบรรยากาศ [24] และปัจจุบันยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวในการสกัดชาเขียว ดังนั้นจึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ส่งผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชาเขียว โดยควบคุมปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำที่เป็นตัวทำละลายร่วม อุณหภูมิในการสกัดที่ 30 องศาเซลเซียสและเวลาในการสกัดที่ 30 นาที ผลการทดลองเป็นดังรูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.4 ซึ่งรูปที่ 4.3 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่แตกต่างกันจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มลดลงเนื่องด้วยสารประกอบฟีนอลิกถูกจัดอยู่ในกลุ่ม

สารประกอบที่มีทั้งมีขั้วและไม่มีขั้ว ซึ่งจากงานวิจัย Jihad Saif Ali Al-Qassabi และคณะ [31] พบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วมากและตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยมากทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง ดังนั้นการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียวเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วมากคือน้ำ [32] หรือเลือกใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยคือไดเมทิลอีเทอร์เหลวเพียงชนิดเดียวอาจส่งผลให้สภาพขั้วมีขั้วมากเกินไปหรือมีขั้วน้อยเกินไปทำให้สภาพขั้วไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก จึงมีการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายร่วมเพื่อให้มีสภาพขั้วเพิ่มขึ้นและเหมาะสมในการสกัด ดังนั้นการเพิ่มอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลว ส่งผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกสำหรับไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วน้อยเป็นตัวทำละลายได้ดีในสารที่มีขั้วน้อย เช่น คลอโรฟิลล์ บี (Chlorophyll B) ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีขั้วพบได้ในพืชผักใบเขียว [3] อย่างไรก็ตามไดเมทิลอีเทอร์เหลวสามารถละลายเข้ากันได้กับน้ำซึ่งเมื่อใช้ร่วมกันจะสามารถปรับสภาพความมีขั้วให้เหมาะสมกับการสกัดสารที่มีโครงสร้างที่มีทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว เช่น สารประกอบฟีนอลิกได้



รูปที่ 4. 3 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับอัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

สำหรับรูปที่ 4.4 แสดงค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 ถึง 4 ต่อ 1 มีค่าสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเมื่อสารประกอบฟีนอลิกลดลง ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระน้อยลงด้วยเนื่องด้วยสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้ค่ามีความสอดคล้องกันซึ่งที่อัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 5 ต่อ 1 และ 6 ต่อ 1 ควรมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่น้อยลงแต่จะเห็นว่ามีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น ซึ่งจากงานวิจัยของ S.Jayakeerthana พบว่าสารสำคัญในชาเขียวนอกจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระยังพบว่ามีสารประกอบอื่นๆที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูอิสระในชาเขียว เช่น วิตามิน อี [33] ดังนั้นเป็นไปได้ว่าที่อัตราส่วนของได-เมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 5 ต่อ 1 และ 6 ต่อ 1 มีสารประกอบอื่นๆที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระออกมาพร้อมสารประกอบฟีนอลิก จึงทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น



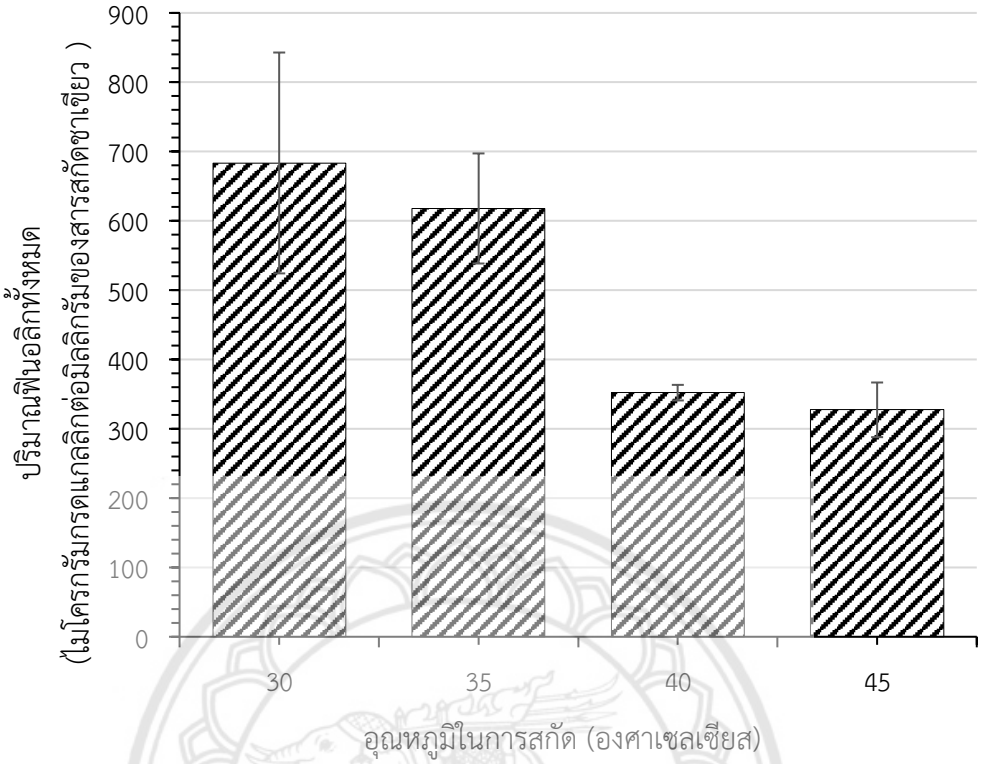
รูปที่ 4. 4 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ50 (IC_{50}) กับ อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

เมื่อพิจารณาจากรูปที่ 4.3 และรูปที่ 4.4 อัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดและอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 5 ต่อ 1 มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดซึ่งอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 และ 5 ต่อ 1 มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดตัวทำละลายจึงเลือกอัตราส่วนของไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 เพื่อ

นำไปใช้กับปัจจัยต่อไปโดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 683.578 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียวและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) 0.006463 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4.3 ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)

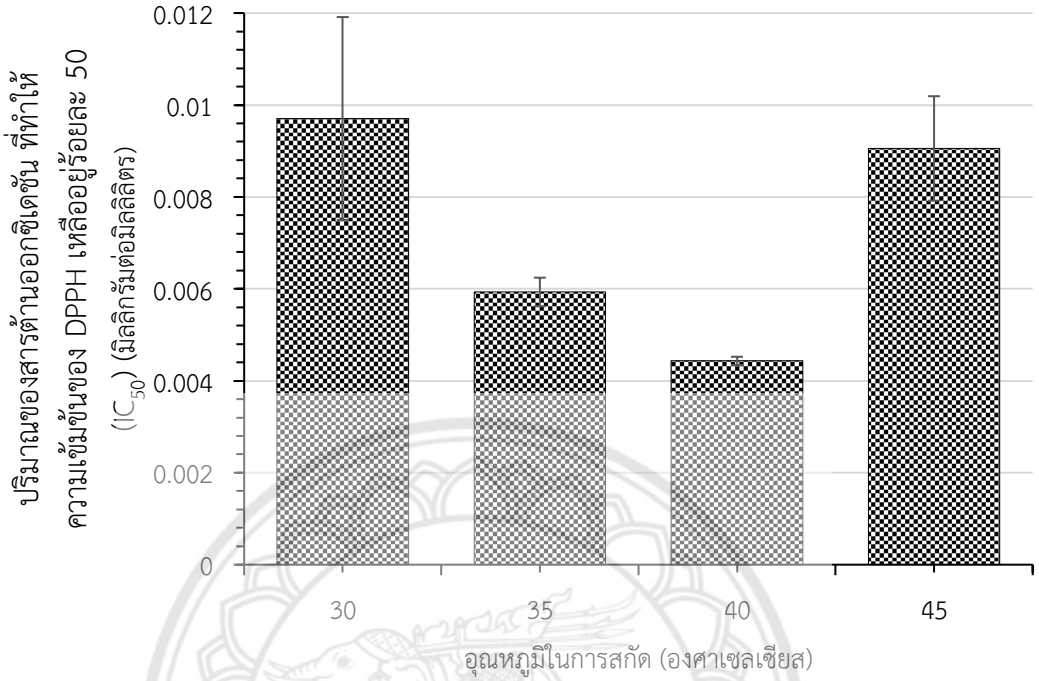
ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาผลของการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวในการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการสกัดเนื่องด้วยสารแต่ละชนิดมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ซึ่งหนึ่งในปัจจัยที่อาจส่งผลต่อการละลายของสารคือ อุณหภูมิ [34] รวมทั้งยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาผลของอุณหภูมิในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว ดังนั้นจึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชาเขียว โดยควบคุมร้อยละ 20 ของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนโดยมวลของไดเมทิลอีเทอร์เหลว 3 กรัมต่อปริมาณชาเขียว 1 กรัม และเวลาในการสกัดที่ 30 นาที ซึ่งผลการทดลองเป็นดังรูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 โดยรูปที่ 4.5 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด ที่อุณหภูมิ 30 จนถึง 45 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้ความหนาแน่นของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวลดลง โดยสอดคล้องกับจากงานวิจัยของ E. Christian Ihmels และ Eric W. Lemmon [35] ซึ่งการลดลงของความหนาแน่นของไดเมทิลอีเทอร์เหลวกับส่งผลให้ความสามารถในการสกัดหรือการเป็นตัวทำละลายลดลง เป็นเหตุให้สกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ปริมาณลดลงเช่นกัน [36] โดยช่วงอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจาก 30 จนถึง 45 องศาเซลเซียส อาจไม่ส่งผลต่อการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกมากนัก อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาปัจจัยเรื่องความหนาแน่นของไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่ลดลง จึงอาจสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้การสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยการใช้ไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นตัวทำละลายมีประสิทธิภาพลดลง



รูปที่ 4. 5 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับ อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)

สำหรับรูปที่ 4.6 แสดงฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดที่ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) น้อยลง ซึ่งหมายถึง มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น ซึ่งมีการค้นพบว่าสารสำคัญในชาเขียวที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระนอกจากสารประกอบฟีนอลิก ยังพบว่ามีสารประกอบอื่นๆ เช่นวิตามินอี อีกด้วย [33] ดังนั้นที่อุณหภูมิที่ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส อาจเป็นไปได้ว่ามีสารประกอบดังกล่าวออกมาพร้อมกับสารประกอบฟีนอลิกจึงทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้นในส่วนของฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ 45 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระน้อยอาจเกิดจากความหนาแน่นของตัวทำละลายที่ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นซึ่งส่งให้การสกัดสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระลดลง [36] เมื่อพิจารณารูปที่ 4.5 และรูปที่ 4.6 ที่อุณหภูมิในการสกัด 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมเพื่อนำไปใช้กับปัจจัยตัวต่อไป เนื่องจากอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกมากที่สุด แต่มีค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระน้อยในส่วนของอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่น้อยซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกใกล้เคียงและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีถัดจากอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 617.883 ไมโครกรัมกรด

แกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียวและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) 0.005931 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

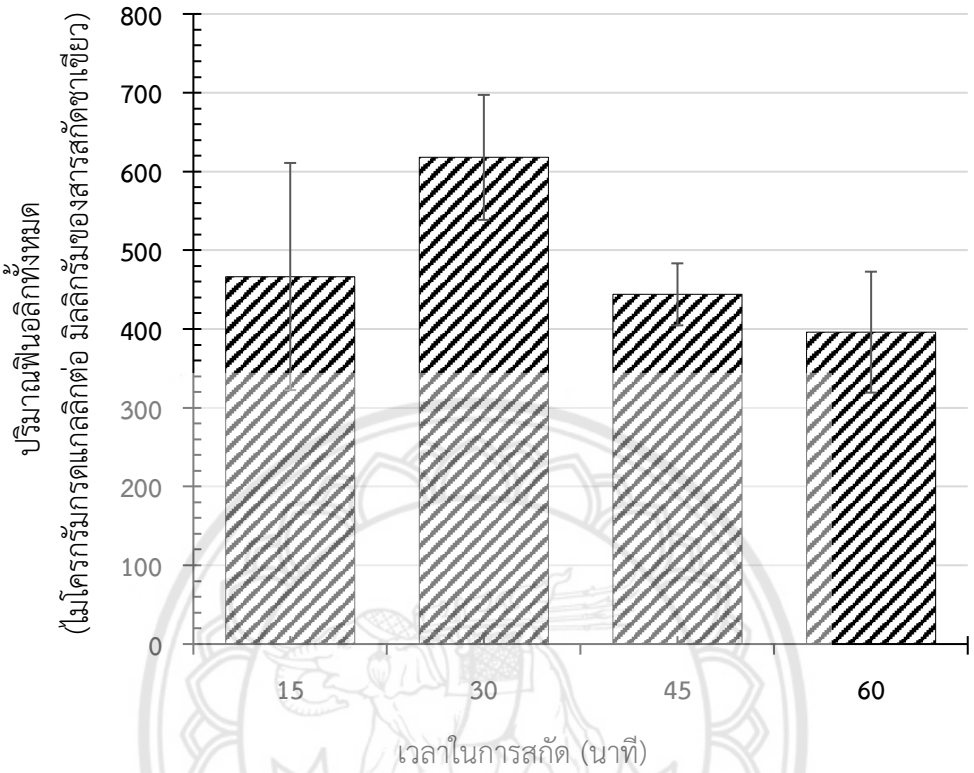


รูปที่ 4. 6 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)

4.4 ศึกษาผลของเวลาในการสกัด (นาที)

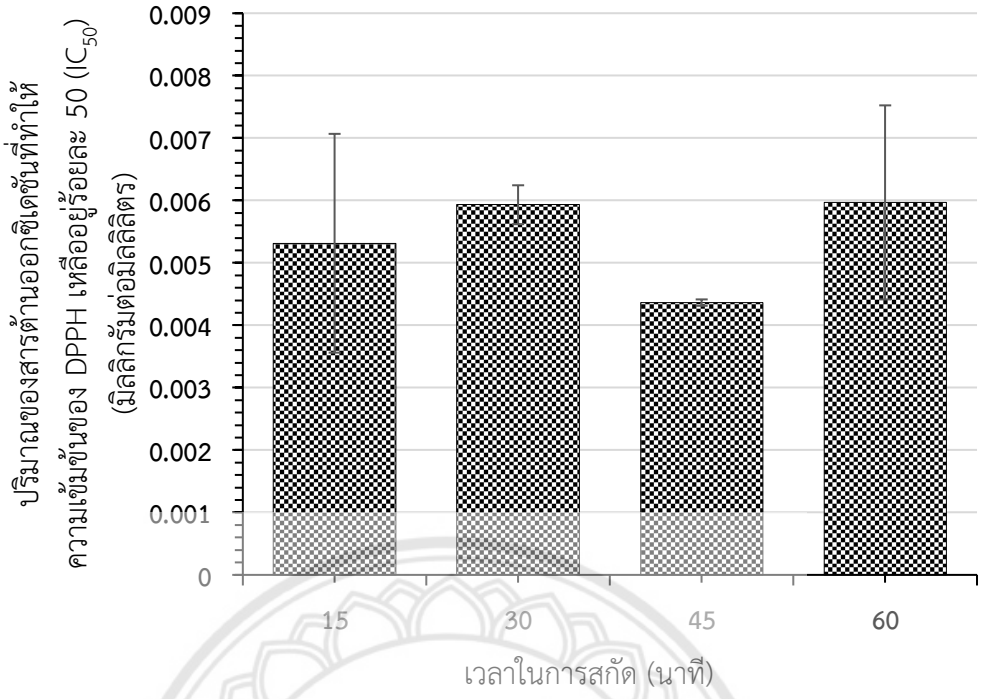
ในหัวข้อนี้เป็นการศึกษาผลของการสกัดสารสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลาย ไดเมทิลอีเทอร์เหลวในการเปลี่ยนแปลงเวลาในการสกัด เนื่องด้วยการสกัดสารสำคัญในชาเขียวเป็นการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเกิดปฏิกิริยาการละลาย [18] ซึ่งเวลาในการสกัดอาจส่งผลต่อสารสำคัญในชาเขียวรวมทั้งยังไม่มีงานวิจัยที่ศึกษาผลของเวลาในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว ดังนั้นจึงทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อการสกัดปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดชาเขียวโดยควบคุมร้อยละ 20 ของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนโดยมวลของได-เมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวที่ 3 ต่อ 1 และอุณหภูมิในการสกัดที่ 35 องศาเซลเซียส ซึ่งผลการทดลองเป็นดังรูปที่ 4.7 และรูปที่ 4.8 โดยรูปที่ 4.7 แสดงค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดช่วง 15-30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น เนื่องด้วยเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ทำให้ตัวทำละลายถูกสกัดออกมาในตัวทำละลายได้มากขึ้น จนถึงจุดสมดุลของการสกัด ซึ่งปริมาณตัวถูกละลายที่ถูกสกัดออกมาจะเริ่มคงที่ (Ederson R. Abaide และคณะ) [37] อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดมากกว่า 30 นาทีขึ้นไป ในงานวิจัยนี้พบว่าสารที่ถูกสกัดได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง ซึ่งยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่ามาจากสาเหตุใด ทั้งนี้ผลการทดลองที่มี

แนวโน้มเดียวกันสามารถพบได้ในงานวิจัยของ Abderrahmane Mokrani และ Khodir Madani [38] เช่นกัน



รูปที่ 4.7 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) กับ เวลาในการสกัด (นาที)

สำหรับรูปที่ 4.8 แสดงค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมีค่าใกล้เคียงกัน จึงทำให้เวลาในการสกัดไม่ส่งผลต่อฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ สำหรับการเลือกสภาวะที่เหมาะสมของปัจจัยนี้ ซึ่งที่เวลา 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับที่เวลา 45 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ดังนั้นเวลาที่เหมาะสมในการสกัด คือ 30 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 617.8831 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียวและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) 0.005932 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

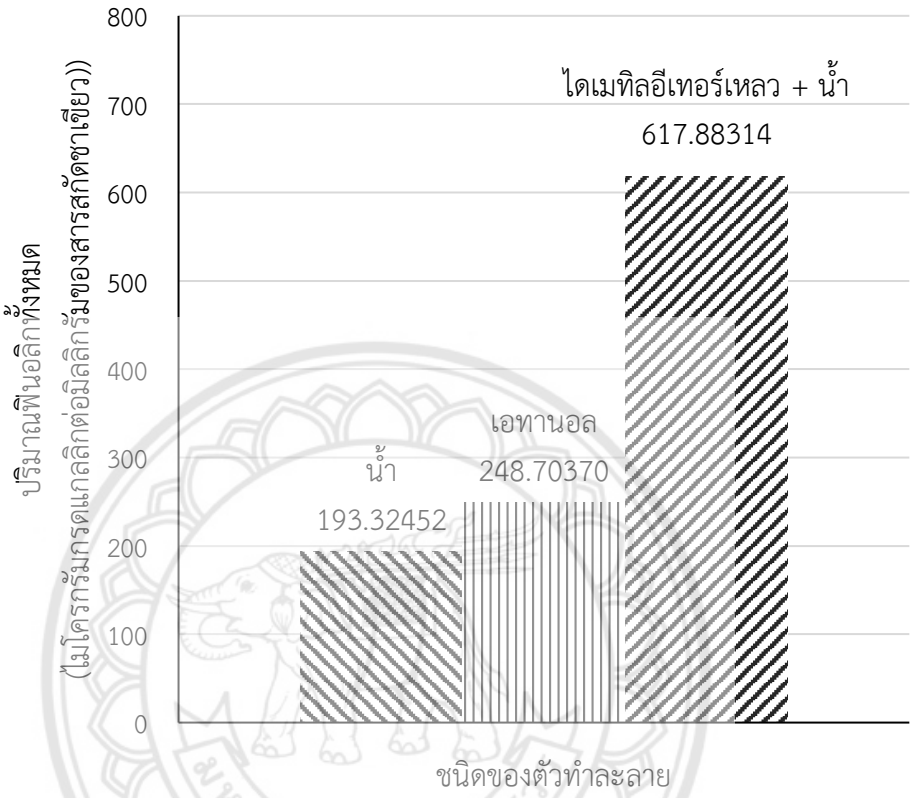


รูปที่ 4. 8 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) กับ เวลาในการสกัด (นาที)

4.5 ศึกษาตัวทำละลายอื่นๆ (น้ำและเอทานอล)

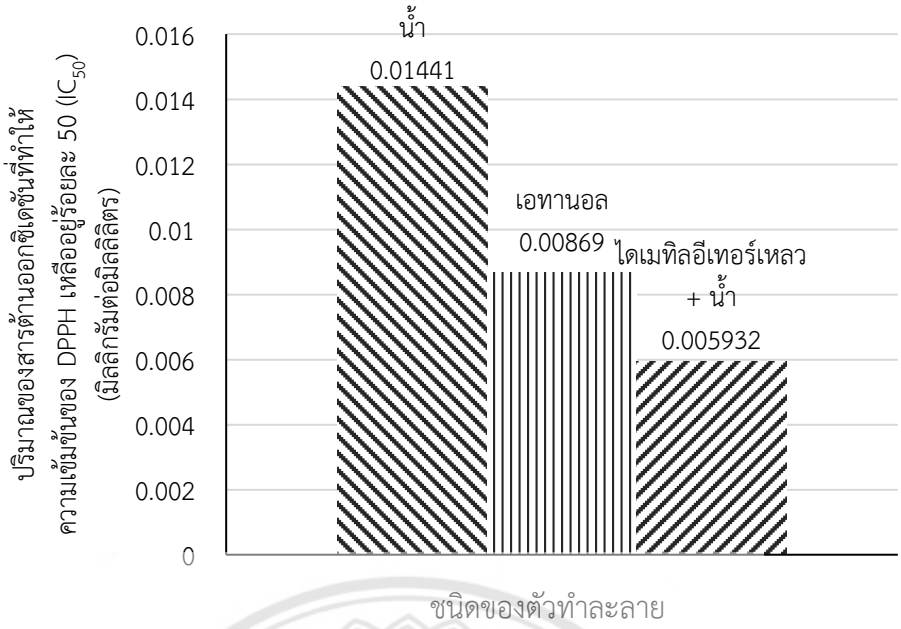
สำหรับการศึกษานี้ เป็นการสกัดชาเขียวโดยใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำและเอทานอล เพื่อนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดชาเขียวด้วยไดเมทิลอีเทอร์เหลว โดยใช้ปริมาณและสภาวะเดียวกันกับได-เมทิลอีเทอร์เหลวคือนำไปสกัดด้วยอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งผลการทดลองเป็นไปดังรูปที่ 4.9 และรูปที่ 4.10 จากรูปที่ 4.9 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะเห็นได้ว่าการสกัดสำคัญในชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วมสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และตัวทำละลายน้ำ เนื่องด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวเป็นสารที่มีขั้วน้อยผสมกับน้ำซึ่งเป็นตัวทำละลายร่วมที่มีขั้วมาก ส่งผลให้มีสภาพโดยรวมของตัวทำละลายมีความมีขั้วที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ในส่วนของตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นสารที่มีขั้ว ส่งผลทำให้สภาพขั้วในการสกัดไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นจึงทำให้การสกัดชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วมสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียวออกมาในปริมาณที่มากกว่าใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียว ในส่วนของตัวทำละลายน้ำในการสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกที่น้อยที่สุด เนื่องด้วยน้ำเป็นสารที่มีขั้วมาก ส่งผลทำให้สภาพขั้วไม่เหมาะสมกับสารประกอบฟีนอลิก จึงทำให้น้ำสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกน้อยกว่าเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และไดเมทิลอีเทอร์เหลว

ที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jihad Saif Ali Al-Qassabi และคณะ [31] โดยพบว่าตัวทำละลายที่มีขั้วมากเกินไปหรือมีขั้วน้อยเกินไป ส่งผลให้ความสามารถการสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้น้อยกว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วปานกลาง



รูปที่ 4. 9 ค่าระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิกรัมของสารสกัดชาเขียว) ของแต่ละตัวทำละลาย

สำหรับรูปที่ 4.10 แสดงค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระจะเห็นได้ว่ามีแนวโน้มเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีและที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อย มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระต่ำโดยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวมีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าน้ำและเอทานอลร้อยละ 95



รูปที่ 4. 10 ค่าระหว่างปริมาณของสารต้านออกซิเดชัน ที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH เหลืออยู่ร้อยละ 50 (IC_{50}) ของแต่ละตัวทำละลาย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว โดยปัจจัยที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว อุณหภูมิ และ เวลาในสกัด เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลในสภาวะเดียวกัน และสัดส่วนที่เท่ากัน โดยการนำไปวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถสรุปได้ดังนี้

5.1.1 สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว คือ ร้อยละ 20 ของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียวเท่ากับ 3 ต่อ 1 สกัดที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสโดยใช้เวลาในการสกัด 30 นาที

5.1.2 การเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม ที่ ร้อยละ 15 ถึง ร้อยละ 20 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีขึ้น เมื่อเพิ่มปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม จนถึงร้อยละ 30 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระลดลงเช่นกัน ซึ่งพบว่า ปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมที่มากเกินไป มีผลทำให้สภาพขั้วของตัวทำละลายรวม ซึ่งได้แก่ ตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม มีสภาพขั้วไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก

5.1.3 การเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อชาเขียวที่อัตราส่วน 3 ต่อ 1 จนถึง 6 ต่อ 1 ส่งผลต่อสภาพมีขั้วของตัวทำละลายโดยรวมทำให้มีความไม่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบ ฟีนอลิก จึงทำให้สารประกอบฟีนอลิกลดลง เมื่อเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อชาเขียว

5.1.4 การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด ที่ อุณหภูมิ 30 ถึง 45 องศาสเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยลง ซึ่งอาจเกิดการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก ส่งผลทำให้อุณหภูมิในการสกัด มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในชาเขียว ซึ่งฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลง และที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด อาจเกิดจากมีสารที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกแต่มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระออกมาจึงทำให้มีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น

5.1.5 ระยะเวลาในการสกัดไม่ใช่ปัจจัยในการสกัดสารสำคัญในชาเขียว

5.1.6 การสกัดชาเขียวด้วยตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวเมื่อนำมาเทียบกับการสกัดด้วยทำตัวละลายเอทานอลและน้ำ พบว่า ไดเมทิลอีเทอร์เหลวสามารถสกัดสารสำคัญในชาเขียว มีปริมาณฟีนอลิกมากที่สุด และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ซึ่งสามารถยืนยันได้ว่าการใช้ตัวทำละลาย

ไดเมทิลอีเทอร์เหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม มีสภาพขั้วที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก และมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่ดี

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เพื่อเป็นการทำงานวิจัยนี้ไปต่อยอดในด้านการแพทย์ ควรวิเคราะห์เพิ่มโดยการวิเคราะห์ปริมาณคาเทชิน เนื่องด้วยสารสำคัญในชาเขียวที่พบมากคือคาเทชินซึ่ง เป็นส่วนหนึ่งในสารประกอบ ฟีนอลิกและมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระได้ดี

5.2.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งใช้วิธี Folin-Ciocalteu Colorimatric assay ซึ่งเป็นการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งอาจวิเคราะห์ปริมาณสารดังกล่าวได้มากกว่าปริมาณที่แท้จริง เพื่อเพิ่มความแม่นยำของข้อมูล ควรมีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีอื่นๆ ด้วย เช่น การวิเคราะห์ด้วยวิธี High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แยกสารที่เราสนใจ ได้ ในส่วนของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ ในงานวิจัยนี้ใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระมีหลายหลาย ดังนั้น เพื่อเพิ่มความแม่นยำของข้อมูล ควรเพิ่มวิธีการวิเคราะห์ เช่นการวิเคราะห์ Ferric Reducing Antioxidant Power Assay (FRAP) และ 2, 2-azobis (3-ethylbenzothialzoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ทั้งนี้เพื่อนำผลมาเปรียบเทียบ

บรรณานุกรม

[1] Dev Anand Gupta, Dara John Bhaskar, Rajendra Kumar Gupta, Bushra Karim, Ankita Jain and Deepak Ranjan Dalai. (2014). **Green tea A review on its natural anti-oxidant therapy and cariostatic benefits**. Biological Sciences and Pharmaceutical Research, 008-012.

[2] S.Jayakeerthana and J. Pharm. (2016). **Benefits of Green Tea : A Review. Saveetha Dental College,Chennai**. Sciences and Research, 1184-1187**.**

[3] เหมือนดาว วาสุเทพรังสรรค์. (2559). **ปัจจัยที่ส่งผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อชาเขียวยี่ห้อโออิชิ และ อิชิตัน ของผู้บริโภคในเขตกรุงเทพมหานคร.** บริหารธุรกิจมหาบัณฑิต คณะพาณิชยศาสตร์และ การบัญชี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

[4] Wanda C. Reygaert. (2017). **An Update on the Health Benefits of Green Tea**. Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, USA, Sciences and Research, 567-579.

[5] Pichai Eawlex. (2016). **Extraction of Oil from Spent Coffee Grounds with Solid-liquid Extraction**. Mechanical Engineering Prince of Songkla University.

[6] Christy J. Rose. (2014). **Chloroform Formation from Swimming Pool Disinfection : A Significant Source of Atmospheric Chloroform in Phoenix**. Arizone state University.

[7] Eropean Food Safety Authority. (2009). **Safety in use of dimethyl ether as an extraction solvent**. Scientific Opinion of the Scientific Panel on Food Contact Materials, Enzymes, Flavourings and Processing aids (CEF), The EFSA Journal, 984, 1-13.

[8] Panatpong Boonnouna, Pemika Tunyasitikunb, Weerawat Clowutimonb and Artiwan Shotiprukb. (2017). **Production of free lutein by simultaneousextraction and de- esterification of marigoldflowers in liquefied dimethyl ether(DME) – KOH– EtOH mixture**. Faculty of Engineering, Naresuan University, Food and Bioproducts Processing, 193–200.

[9] Hideki Kanda, Peng Li and Hisao Makino. (2013). **Production of decaffeinated green tea leaves using liquefieddimethyl ether.** Energy Engineering Research Laboratory, Central Research Institute of Electric Power Industry, Yokosuka, Kanagawa 240-0196, Japan, Food and Bioproducts Processing, 9, 400-457.

[10] ดร.เริงฤทธิ์ สัปปพันธ์. (25 กรกฎาคม 2557). **สารสกัดจากชาเขียว.** สืบค้นเมื่อ 1 ธันวาคม 2560, จาก http : //www.greenclinic.in.th/catechin.html.

[11] ชุติมา มหาพรม. (16 มกราคม 2559). **เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ ช่วยสลายไขมันหน้าท้อง.** สืบค้นเมื่อ 23 ธันวาคม 2560, จาก https://kaohit.com

[12] บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). **อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยพะเยา.

[13] เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. (2554). **อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและ กลไกการเกิดปฏิกิริยา**. วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์.

[14] ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (4 กันยายน 2558). **สารประกอบฟีนอล.** สืบค้นเมื่อ 2 ธันวาคม 2560, จาก http: / / www. foodnetworksolution. com/ wiki/ word/ 2585/ phenolic-compound.

[15] ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. (10 กันยายน 2558). **แคทีชิน.** สืบค้นเมื่อ 5 ธันวาคม 2560, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3146/catechin.

[16] ธีรพงษ์ เทพกรณ์. (2556). **คาเทชินในชาเขียวและความคงตัวระหว่างเก็บรักษา**. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

[17] ธีรพงษ์ เทพกรณ์. (2555). **ชา กระบวนการผลิต และองค์ประกอบทางเคมีจากการหมัก.** วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

[18] ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. (10 กันยายน 2558). **การสกัด.** สืบค้นเมื่อ 10 ธันวาคม 2560, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0309 /extraction.

[19] Munevver Sokmenn et al. (2016). **Optimization of sequential supercritical fluid extraction (SFE) of caffeine and catechins from green tea**. Faculty of Engineering and Architecture, 133, 171-176.

[20] Xi, J., Yan, L., & He, L. (2014). **Pressure-dependent kinetic modeling of solid-liquid extraction of the major green tea constituents.** Separation and Purification Technology, 133, 155-159.

[21] นิพัฒน์ ลิ้มสงวน. (2547). **การศึกษากระบวนการสกัด คุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ และ สารต้านอนุมูอิสระ ของคาเทชินจากชาเขียวของไทย.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

[22] David Villanueva-Bermejo, Guillermo Reglero, Tiziana Fornari. (2017). **Recent advances in the processing of green tea biomolecules using ethyl lactate. A review**. Trends in Food Science & Technology, 1-12.

[23] กลุ่มพัฒนามาตรฐานน้ำมันเชื้อเพลิง. (สำนักคุณภาพน้ำมันเชื้อเพลิง). (20 พฤศจิกายน 2554). **ความรู้เกี่ยวกับไดเมทิลอีเทอร์ (Dimethyl Ether)**. กรุงเทพฯ: กรมธุรกิจพลังงาน.

[24] Airgas company. (10 ตุลาคม 2558). **Safety data sheet dimethyl ether version 0. 03**. สืบค้นวันที่ 5 ธันวาคม 2560, จาก https://www.airgas.com/msds/001021.pdf.

[25] ศรีวิชัย กลิ่นจันทร์. (20 มีนาคม 2558). **เอทานอล (Ethanol)**. สืบค้นวันที่ 19 พฤษภาคม 2561, จาก http://www.vcharkarn.com/varticle/40659.

[26] ชนิตพล. (16 ธันวาคม 2556). **เอทานอล (Ethanol)**. สืบค้นเมื่อ 4 พฤษภาคม 2561, จาก http://www.tpa.or.th/writer/read_this_book_topic.php?bookID=1619&pageid=4&read=true&count=true.

[27] อลิษา วารี. (30 เมษายน 2555). สารอนินทรีย์-น้ำ. สืบค้นวันที่ 19 พฤษภาคม 2561, จาก https://sites.google.com/site/alisa6280/sa-rx-ni-nth-riy/1-1na.

[28] ชุดการเรียนรู้วิทยาศาสตร์โลกและดาราศาสตร์. (20 พฤษภาคม 2559). **คุณสมบัติของน้ำ.** สืบค้นเมื่อ 4 พฤษภาคม 2561, จาก http://portal.edu.chula.ac.th/lesa_cd/assets/.document/lesa212/7/properties_water/properties_water/properties_water.html.

[29] Tiago Margraf, Ariadne Roberto Karnopp, Neiva Deliberali Rosso, and Daniel Granato. (2015). **Comparison between Folin-Ciocalteu and Prussian Blue Assays to Estimate The Total Phenolic Content of Juices and Teas Using 96-Well Microplates**. Institute of Food Technologists, Journal of Food Science Vol. 80.

[30] Kantayos, V and Paisooksantivattana, Y. (2011). **Screening for Antioxidant Activity and Total Curcuminoids Content in Some Zingiber spp**. Agricultural Sci. J, 42 (2) (Suppl.), 389-392.

[31] Jihad Saif Ali Al-Qassabi, Afaf Mohammed Weli and Mohammad Amzad Hossain. (2017). **Comparison of total phenols content and antioxidant potential**

of peelextracts of local and imported lemons samples, Sustainable Chemistry and Pharmacy, 71–75.

[32] Pallav Chemicals & Solvent Pvt. Ltd. (2013). **Miscibility and Polarity Chart**. สืบค้นเมื่อ 24 พฤษภาคม 2561, จาก http://www.pallavchemicals.com/miscibility_and_polarity_chart.html

[33] S.Jayakeerthana. (2016). **Benefits of Green Tea : A Review**. Sci. & Res. Vol. 8(10), 1184-1187.

[34] ศศิธร เรืองสินแสง. (2559). **การละลาย**. สืบค้นเมื่อ 24 พฤษภาคม 2561, จาก https://th.wikipedia.org/wiki/การละลาย.

[35] E. Christian Ihmels and Eric W. Lemmonb. (2007). **Experimental densities, vapor pressures, and critical point, and a fundamental equation of state for dimethyl ether**. Fluid Phase Equilibria 260, 36–48.

[36] สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม และ อาทิตย์ รังษีสันติวานนท์. (2546). **การสกัดสารด้วยการไหลวิกฤติยิ่งยวด (Supercritical Fluid Extraction)**. วารสารศูนย์บริการวิชาการ ปีที่ 11 ฉบับที่ 2 ประจำเดือนเมษายน-มิถุนายน 2546 มหาวิทยาลัยสุรนารี.

[37] Ederson R. Abaide, Giovani L. Zabot, Marcus V. Tres, Rafael F. Martins, Jean L. Fagundez, Lucielle F. Nunes, Susanne Druziana, Juliana F. Soares, Valéria Dal Prá, Juliana R.F. Silva, Raquel C. Kuhn and Marcio A. Mazutti. (2017). **Yield, composition, and antioxidant activity of avocado pulp oil extracted by pressurized fluids**, Food and bioproducts processing 1 0 2, 289–298.

[38] Abderrahmane Mokrani and Khodir Madani. (2016). **Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (Prunus persica L.) fruit**. Separation and Purification Technology, 68-76

ภาคผนวก

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1.1 ขั้นตอนการเตรียมสาร

1.1.1 เตรียมสารตัวอย่าง : เตรียมสารสกัดชาเขียวให้ได้ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ใช้น้ำละลาย)

1.1.2 เตรียมสารมาตรฐาน : เตรียมกรดแกลลิก แอซิด ที่ความเข้มข้น 180 150 120 90 60 30 และ 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ใช้น้ำละลาย)

1.1.3 เตรียมสาร folin-ciocalteu reagent 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำ 3 มิลลิลิตร เตรียมโซเดียมไบคาร์บอเนต 10.06 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร

1.2 ขั้นตอนการนำสารละลายลง 96 well-plate

1.2.1 สารตัวอย่าง (Sample) : สารสกัดชาเขียว 25 ไมโครลิตร + folin-ciocalteu reagent 25 ไมโครลิตร + น้ำ 200 ไมโครลิตร

1.2.2 สารมาตรฐาน (Standard) : กรดแกลลิก แอซิด 25 ไมโครลิตร + folin-ciocalteu reagent 25 ไมโครลิตร + น้ำ 200 ไมโครลิตร

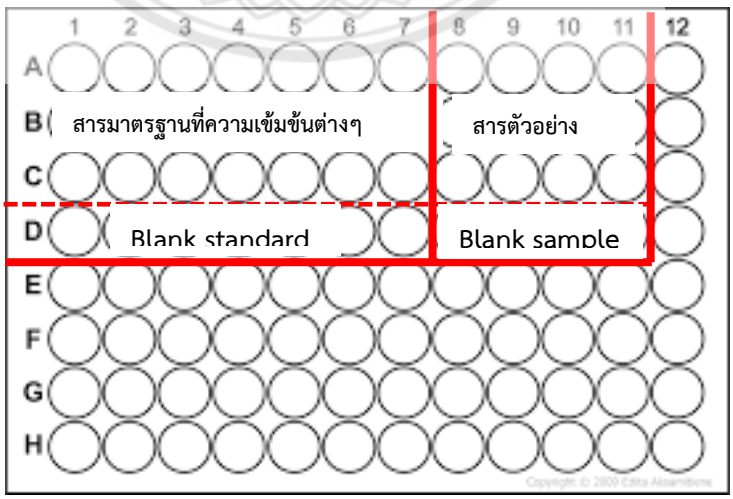
1.2.3 Blank sample, Blank standard : น้ำ 25 ไมโครลิตร + folin-ciocalteu reagent 25 ไมโครลิตร + น้ำ 200 ไมโครลิตร

1.2.4 ทิ้งไว้ 5 นาที

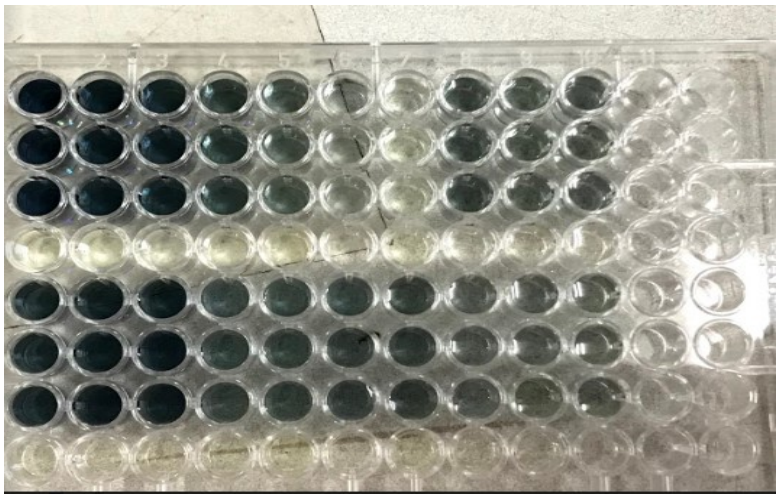
1.2.5 เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต 25 ไมโครลิตร

1.2.6 ทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง

1.2.7 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร



รูปที่ 1 ตัวอย่างการนำสารละลายลง 96 well-plate ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด



รูปที่ 2 ตัวอย่างหลังจากนำสารละลายลง 96 well-plate ของสารประกอบฟีนอลิก

แกลลิค เอซิด	180	150	120	90	60	30	10	เอทานอล ครั้งที่ 1	เอทานอล ครั้งที่ 2	เอทานอล ครั้งที่ 3	น้ำ ครั้งที่ 1	น้ำ ครั้งที่ 2	น้ำ ครั้งที่ 3
ค่าดูดกลืนแสง	1.158	1.013	0.778	0.545	0.379	0.212	0.097	0.377	0.296	0.323	0.286	0.265	0.243
	1.141	0.966	0.832	0.554	0.376	0.21	0.095	0.391	0.302	0.299	0.289	0.26	0.241
	1.147	0.954	0.776	0.565	0.374	0.21	0.097	0.393	0.294	0.298	0.286	0.243	0.238
Blank	0.045	0.044	0.043	0.044	0.043	0.044	0.044	0.045	0.043	0.043	0.046	0.045	0.042

รูปที่ 3 ตัวอย่างผลการวัดค่าการดูกลืนแสงของการสกัดด้วยเอทานอล

1.3 ขั้นตอนการคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

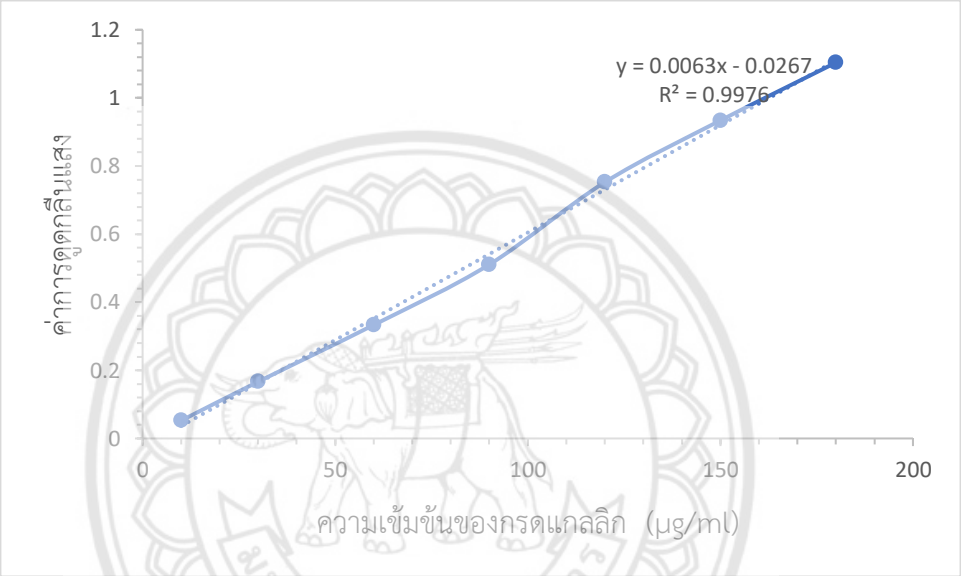
1.3.1 หาค่าเฉลี่ยของสารมาตรฐานและสารตัวอย่าง

1.3.2 นำค่าเฉลี่ยของสามาตรฐานลบกับ Blank standard นำค่าที่ไปพล็อตกราฟระหว่างความเข้าข้นต่างๆ ของสารมาตรฐาน (แกน X) และ ค่าเฉลี่ยของสารมาตรฐานลบกับ Blank standard (แกน Y) จะได้กราฟเส้นตรงซึ่งเป็น calibration curve และสมการเส้นตรง (Y=mX+C)

1.3.3 นำค่าเฉลี่ยของสารตัวอย่างลบกับ Blank sample

แกลลิค เอซิด	180	150	120	90	60	30	10	เอทานอล ครั้งที่ 1	เอทานอล ครั้งที่ 2	เอทานอล ครั้งที่ 3	น้ำ ครั้งที่ 1	น้ำ ครั้งที่ 2	น้ำ ครั้งที่ 3
ค่าดูดกลืนแสง	1.158	1.013	0.778	0.545	0.379	0.212	0.097	0.377	0.296	0.323	0.286	0.265	0.243
	1.141	0.966	0.832	0.554	0.376	0.210	0.095	0.391	0.302	0.299	0.289	0.260	0.241
	1.147	0.954	0.776	0.565	0.374	0.210	0.097	0.393	0.294	0.298	0.286	0.243	0.238
เฉลี่ย	1.149	0.978	0.795	0.555	0.376	0.211	0.096	0.387	0.297	0.307	0.287	0.256	0.241
Blank	0.045	0.044	0.043	0.044	0.043	0.044	0.044	0.045	0.043	0.043	0.046	0.045	0.042
เฉลี่ย-Blank	1.104	0.934	0.752	0.511	0.333	0.167	0.052	0.342	0.254	0.264	0.241	0.211	0.199

รูปที่ 4 ตัวอย่างการคำนวณของการสกัดด้วยเอทานอล



รูปที่ 5 ตัวอย่าง calibration curve ของการสกัดด้วยเอทานอล

1.3.4 นำค่าจากข้อ 3 ไปแทนค่า Y ในสมการเส้นตรงเพื่อหาค่า X

1.3.5 จากนั้นไปคำนวณในสูตร (1*ค่าที่จากข้อ 4)/ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

1.3.6 ค่าที่ได้จากข้อ 5 จะเป็นค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในหน่วย ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของแต่ละตัวแปรที่ทำการทดลอง

ครั้งที่	ร้อยละของน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม	อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (µg GAE/mg)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
1	10	1:4	30	30	254.47	110.41
2	15	1:4	30	30	337.46	4.57
3	20	1:4	30	30	381.52	32.74
4	25	1:4	30	30	372.36	2.17
5	20	1:3	30	30	683.58	159.33
6	20	1:4	30	30	381.52	32.74
7	20	1:5	30	30	491.36	175.20
8	20	1:6	30	30	305.30	49.89
9	20	1:3	30	30	683.58	159.33
10	20	1:3	35	30	617.88	79.38
11	20	1:3	40	30	352.17	11.24
12	20	1:3	45	30	327.40	39.41

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของแต่ละตัวแปรที่ทำการทดลอง

ครั้งที่	ร้อยละของน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม	อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (µg GAE/mg)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
13	20	1:3	35	15	466.64	144.19
14	20	1:3	35	30	617.88	79.38
15	20	1:3	35	45	444.03	39.35
16	20	1:3	35	60	396.00	76.80

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ

สารที่ใช้ในการสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (µg GAE/mg)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
เอทานอล	248.70	38.21
น้ำ	193.32	17.27

2. การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

2. 1 ขั้นตอนการเตรียมสาร

2.1.1 เตรียมสารสกัดชาเขียวที่ความเข้มข้น 3 1 0.3 0.1 0.03 0.01 0.003 0.001 และ 0.0003 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ใช้น้ำละลาย)

2.1.2 ชั่ง DPPH 7.8864 มิลลิกรัม ละลายด้วย เมทานอล 100% แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้จนครบ 100 มิลลิลิตร

2.2 ขั้นตอนการนำสารละลายลง 96 well-plate

2.2.1 สารตัวอย่าง (Sample) : สารสกัดชาเขียว 75 ไมโครลิตร + DPPH 75 ไมโครลิตร

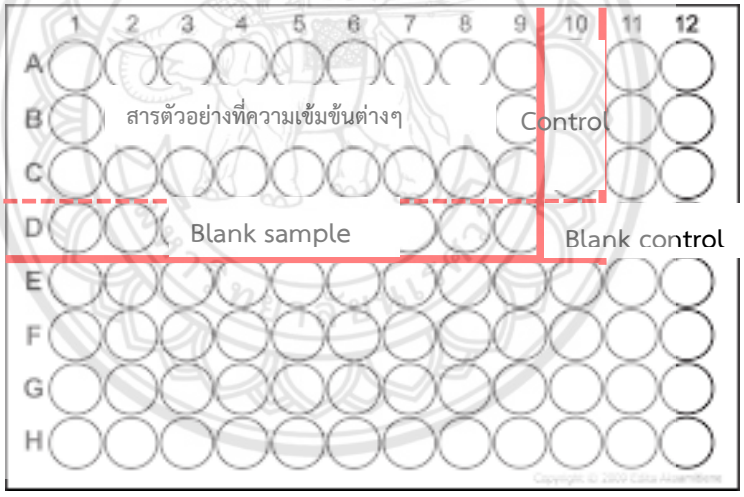
2.2.2 Blank sample : สารสกัดชาเขียว 75 ไมโครลิตร + เมทานอล 150 ไมโครลิตร

2.2.3 Control : น้ำ 75 ไมโครลิตร + DPPH 150 ไมโครลิตร

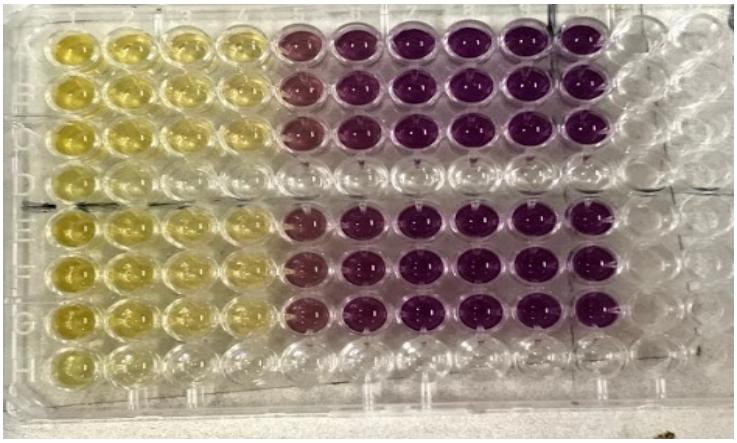
2.2.4 Blank control : น้ำ 75 ไมโครลิตร + เมทานอล 150 ไมโครลิตร

2.2.5 ทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที

2.2.5 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร



รูปที่ 6 ตัวอย่างการนำสารละลายลง 96 well-plate ของสารต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 7 ตัวอย่างหลังจากนำสารละลายลง 96 well-plate ของสารต้านอนุมูลอิสระ

ความเข้มข้นสารสกัด	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ค่าดูดกลืนแสง	0.295	0.171	0.12	0.115	0.484	0.684	0.849	0.86	0.845	0.839
	0.282	0.17	0.119	0.113	0.493	0.67	0.837	0.841	0.863	0.844
	0.344	0.174	0.12	0.12	0.494	0.673	0.812	0.829	0.828	0.81
Blank	0.22	0.119	0.056	0.045	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04	0.041

รูปที่ 8 ตัวอย่างผลการวัดค่าการดูดกลืนแสงของการสกัดด้วยเอทานอล

2.3 ขั้นตอนการคำนวณหาฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 หาค่าเฉลี่ยของสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นและ Control

2.3.2 นำค่าที่ค่าเฉลี่ยของสารสกัดชาเขียวไปลบกับ Blank sample และ ค่าเฉลี่ยของ Blank Control

2.3.3 นำค่าจากข้อที่ 2 ของสารตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นไปคำนวณ %inhibition โดยคำนวณจากสมการ 2.1

ความเข้มข้นสารสกัด	3.000	1.000	0.300	0.100	0.030	0.010	0.003	0.001	0.0003	Control
ค่าดูดกลืนแสง	0.295	0.171	0.120	0.115	0.484	0.684	0.849	0.860	0.845	0.839
	0.282	0.170	0.119	0.113	0.493	0.670	0.837	0.841	0.863	0.844
	0.344	0.174	0.120	0.120	0.494	0.673	0.812	0.829	0.828	0.810
เฉลี่ย	0.307	0.172	0.120	0.116	0.490	0.676	0.833	0.843	0.845	0.831
Blank	0.220	0.119	0.056	0.045	0.042	0.041	0.040	0.040	0.040	0.041
เฉลี่ย-Blank	0.087	0.053	0.064	0.071	0.448	0.635	0.793	0.803	0.805	0.790
Control-Blank control	0.790	0.790	0.790	0.790	0.790	0.790	0.790	0.790	0.790	
%scarvaging	88.987	93.333	91.941	91.013	43.249	19.662	-0.338	-1.688	-1.941	

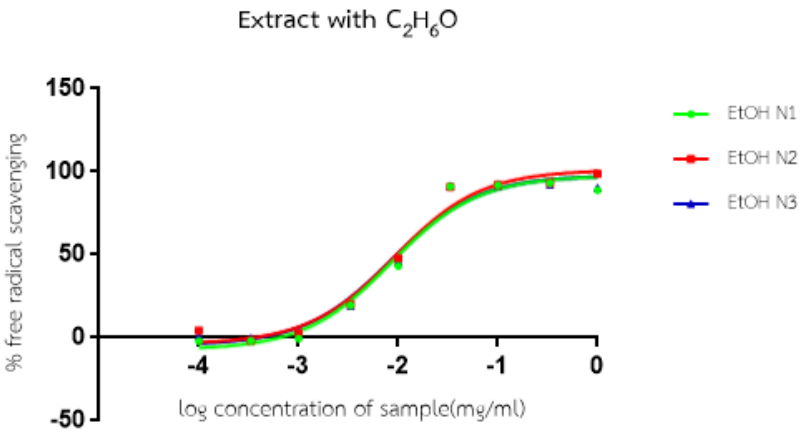
รูปที่ 9 ตัวอย่างการคำนวณของการสกัดด้วยเอทานอล

2.3.4 คำนวณค่า log final concentration ได้ตามตารางที่ 3

ตารางที่ 3 การคำนวณค่า และ log final concentration

Initial concentration	Final concentration	Log Final concentration
3	1	0
1	0.33	-0.47712
0.3	0.1	-1
0.1	0.033	-1.47712
0.03	0.01	-2
0.01	0.0033	-2.47712
0.003	0.001	-3
0.001	0.00033	-3.47712
0.0003	0.0001	-4

2.3.5 นำค่าจากข้อที่ 2.3.3 ไปพล็อตกราฟระหว่าง %free radical scavenging (แกน Y) และ log final concentration (แกน x) ในโปรแกรม GraphPad Prim 7



รูปที่ 10 ตัวอย่างกราฟ S curve เพื่อหาค่า IC_{50} ของการสกัดด้วยเอทานอล

2.3.6 ค่า IC_{50} หาได้จากโปรแกรม GraphPad Prim 7 ที่บอกค่ามาแล้ว หรือหาได้จากการดูค่า %free radical scavenging ที่ 50 แล้วจะรู้ค่า log final concentration แล้วทำการคำนวณกลับไปเป็นเป็นค่า Final concentration ก็จะคือค่า IC_{50} เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 4 ค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของแต่ละตัวแปรที่ทำการทดลอง

ครั้งที่	ร้อยละของน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม	อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
1	10	1:4	30	30	0.01020	0.00156
2	15	1:4	30	30	0.01034	0.00119
3	20	1:4	30	30	0.00971	0.00221
4	25	1:4	30	30	0.01005	0.00216
5	20	1:3	30	30	0.00646	0.00061
6	20	1:4	30	30	0.00971	0.00221
7	20	1:5	30	30	0.00518	0.00002
8	20	1:6	30	30	0.00603	0.00122
9	20	1:3	30	30	0.00593	0.00220
10	20	1:3	35	30	0.00646	0.00031
11	20	1:3	40	30	0.00443	0.00009
12	20	1:3	45	30	0.00905	0.00113
13	20	1:3	35	15	0.00531	0.00175

ตารางที่ 4 ค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดของแต่ละตัวแปรที่ทำการทดลอง

ครั้งที่	ร้อยละของน้ำเป็นตัวทำละลายร่วม	อัตราส่วนตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลว (น้ำหนัก/น้ำหนัก)	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
14	20	1:3	35	30	0.00593	0.00031
15	20	1:3	35	45	0.00436	0.00005
16	20	1:3	35	60	0.00597	0.00155

ตารางที่ 5 ค่าฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ

สารที่ใช้ในการสกัด	ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าเบี่ยงเบนมาตราฐาน
เอทานอล	0.00869	0.00031
น้ำ	0.01441	0.00273

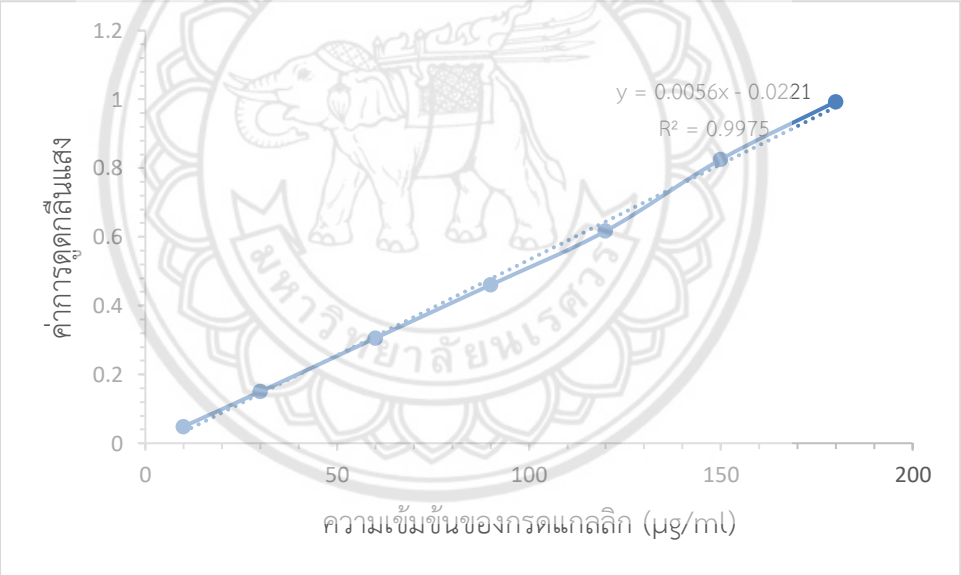
3. ข้อมูลทั้งหมดที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.1 ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว

3.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 6 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณกราฟมาตรฐานของปร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว

กรดแกลลิก (ug/mg)	180	150	120	90	60	30	10
ค่าการดูดกลืนแสง	1.028	0.89	0.686	0.482	0.356	0.193	0.093
	0.979	0.823	0.644	0.495	0.344	0.193	0.089
	1.043	0.82	0.641	0.455	0.35	0.188	0.093
Blank	0.044	0.044	0.044	0.044	0.045	0.045	0.045



รูปที่ 11 กราฟมาตราฐานของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว

ตารางที่ 7 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว

ปริมาณร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วม	15 สกัด 1	15 สกัด 2	20 สกัด 1	20 สกัด 2	25 สกัด 1	25 สกัด 2	30 สกัด 1	30 สกัด 2
ครั้งที่ 1	0.432	0.413	0.504	0.477	0.423	0.377	0.304	0.353
	0.473	0.422	0.513	0.478	0.431	0.379	0.315	0.352
	0.469	0.428	0.488	0.479	0.402	0.373	0.305	0.379
Blank	0.044	0.047	0.043	0.043	0.042	0.041	0.042	0.039
ครั้งที่ 2	0.383	0.406	0.49	0.39	0.454	0.457	0.356	0.431
	0.394	0.407	0.513	0.462	0.438	0.45	0.364	0.423
	0.382	0.417	0.525	0.406	0.458	0.461	0.387	0.421
Blank	0.046	0.045	0.045	0.044	0.047	0.045	0.043	0.044
ครั้งที่ 3					0.438	0.473	0.294	0.281
					0.44	0.493	0.3	0.24
					0.448	0.491	0.298	0.332
Blank					0.042	0.042	0.043	0.041

3.1.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.391	0.168	0.12	0.112	0.49	0.725	0.831	0.865	0.869	0.89
	0.364	0.165	0.119	0.112	0.48	0.715	0.825	0.856	0.865	0.889
	0.342	0.166	0.117	0.106	0.458	0.708	0.796	0.841	0.852	0.882
Blank	0.34	0.109	0.056	0.045	0.041	0.04	0.041	0.036	0.04	0.04
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.348	0.16	0.117	0.112	0.477	0.711	0.819	0.862	0.852	0.865
	0.315	0.155	0.116	0.11	0.469	0.713	0.818	0.863	0.86	0.873
	0.342	0.17	0.116	0.112	0.477	0.696	0.811	0.85	0.85	0.864
Blank	0.273	0.103	0.055	0.044	0.042	0.041	0.04	0.04	0.041	0.04
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.358	0.166	0.114	0.109	0.45	0.678	0.804	0.83	0.839	0.836
	0.365	0.168	0.117	0.109	0.459	0.671	0.797	0.826	0.826	0.849
	0.342	0.161	0.117	0.111	0.473	0.677	0.783	0.827	0.826	0.838
Blank	0.337	0.13	0.056	0.047	0.042	0.04	0.04	0.04	0.041	0.039

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.325	0.155	0.12	0.161	0.544	0.735	0.822	0.837	0.833	0.837
	0.364	0.159	0.117	0.16	0.537	0.739	0.818	0.849	0.856	0.86
	0.349	0.155	0.114	0.167	0.525	0.713	0.8	0.819	0.83	0.842
Blank	0.324	0.121	0.057	0.046	0.042	0.04	0.04	0.04	0.039	0.04
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.307	0.165	0.121	0.142	0.511	0.709	0.793	0.823	0.817	0.834
	0.429	0.164	0.119	0.142	0.515	0.699	0.792	0.805	0.817	0.841
	0.357	0.162	0.12	0.144	0.522	0.704	0.791	0.816	0.821	0.835
Blank	0.312	0.116	0.061	0.046	0.043	0.04	0.04	0.04	0.04	0.043
ร้อยละ 15 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.391	0.169	0.123	0.124	0.528	0.721	0.839	0.858	0.839	0.825
	0.374	0.171	0.122	0.117	0.412	0.746	0.841	0.876	0.859	0.866
	0.385	0.177	0.126	0.131	0.515	0.753	0.874	0.854	0.84	0.828
Blank	0.338	0.12	0.06	0.045	0.044	0.04	0.04	0.039	0.039	0.041

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.354	0.153	0.117	0.108	0.366	0.658	0.778	0.832	0.833	0.852
	0.334	0.159	0.116	0.107	0.37	0.646	0.773	0.821	0.831	0.846
	0.321	0.16	0.117	0.107	0.37	0.638	0.759	0.809	0.817	0.788
Blank	0.337	0.11	0.06	0.047	0.042	0.04	0.041	0.04	0.04	0.04
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.336	0.151	0.12	0.112	0.451	0.675	0.794	0.823	0.831	0.834
	0.338	0.158	0.119	0.112	0.442	0.676	0.784	0.812	0.827	0.845
	0.376	0.166	0.118	0.113	0.441	0.668	0.777	0.821	0.828	0.837
Blank	0.311	0.104	0.055	0.045	0.042	0.04	0.043	0.04	0.039	0.04
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.308	0.154	0.116	0.107	0.424	0.654	0.784	0.822	0.832	0.852
	0.347	0.161	0.118	0.108	0.41	0.669	0.77	0.828	0.825	0.838
	0.339	0.157	0.119	0.108	0.41	0.665	0.771	0.828	0.825	0.837
Blank	0.247	0.102	0.057	0.045	0.042	0.04	0.04	0.04	0.041	0.044

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.321	0.155	0.116	0.135	0.516	0.626	0.774	0.815	0.823	0.821
	0.31	0.157	0.116	0.126	0.512	0.675	0.768	0.797	0.802	0.811
	0.31	0.152	0.113	0.115	0.508	0.695	0.79	0.809	0.823	0.829
Blank	0.28	0.102	0.056	0.044	0.042	0.04	0.042	0.039	0.039	0.042
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.353	0.169	0.12	0.14	0.555	0.746	0.844	0.874	0.888	0.891
	0.34	0.167	0.118	0.126	0.52	0.715	0.804	0.844	0.847	0.855
	0.34	0.163	0.118	0.132	0.541	0.729	0.809	0.841	0.843	0.85
Blank	0.348	0.119	0.057	0.045	0.041	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
ร้อยละ 20 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.326	0.156	0.115	0.111	0.505	0.709	0.809	0.835	0.848	0.855
	0.342	0.16	0.116	0.112	0.502	0.707	0.816	0.841	0.834	0.843
	0.332	0.156	0.117	0.11	0.557	0.699	0.817	0.849	0.85	0.854
Blank	0.283	0.106	0.055	0.044	0.042	0.04	0.04	0.039	0.039	0.041

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.378	0.163	0.125	0.117	0.438	0.725	0.869	0.907	0.693	0.746
	0.397	0.177	0.127	0.117	0.433	0.728	0.852	0.889	0.728	0.769
	0.383	0.175	0.124	0.114	0.43	0.71	0.855	0.889	0.759	0.865
Blank	0.397	0.123	0.061	0.046	0.041	0.041	0.039	0.04	0.039	0.041
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.386	0.178	0.125	0.115	0.404	0.693	0.847	0.908	0.78	0.813
	0.38	0.175	0.123	0.112	0.38	0.673	0.822	0.874	0.798	0.858
	0.383	0.176	0.124	0.113	0.392	0.689	0.841	0.882	0.742	0.768
Blank	0.338	0.129	0.061	0.047	0.043	0.041	0.041	0.042	0.04	0.04
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.325	0.165	0.122	0.114	0.425	0.719	0.862	0.909	0.646	0.727
	0.348	0.171	0.121	0.114	0.406	0.705	0.851	0.897	0.705	0.807
	0.334	0.164	0.122	0.113	0.404	0.709	0.861	0.899	0.734	0.853
Blank	0.277	0.109	0.056	0.044	0.042	0.041	0.039	0.04	0.039	0.039

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

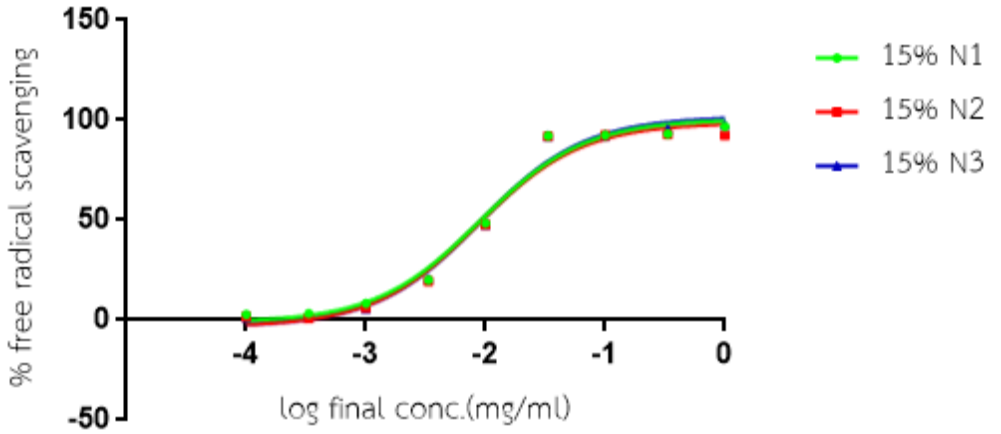
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.207	0.132	0.113	0.153	0.538	0.785	0.87	0.902	0.752	0.838
	0.216	0.133	0.113	0.15	0.536	0.768	0.849	0.887	0.801	0.857
	0.21	0.134	0.114	0.16	0.554	0.784	0.858	0.895	0.774	0.773
Blank	0.151	0.073	0.048	0.044	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04	0.04
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.223	0.135	0.115	0.14	0.547	0.768	0.873	0.92	0.687	0.8
	0.222	0.14	0.117	0.132	0.554	0.782	0.895	0.912	0.725	0.769
	0.228	0.135	0.116	0.143	0.547	0.781	0.904	0.919	0.711	0.743
Blank	0.165	0.074	0.05	0.042	0.04	0.04	0.039	0.04	0.039	0.042
ร้อยละ 25 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.22	0.134	0.116	0.143	0.56	0.784	0.899	0.933	0.879	0.791
	0.222	0.136	0.115	0.141	0.548	0.774	0.887	0.912	0.839	0.795
	0.227	0.137	0.117	0.141	0.551	0.791	0.879	0.916	0.89	0.867
Blank	0.17	0.075	0.051	0.043	0.041	0.041	0.04	0.041	0.04	0.04

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

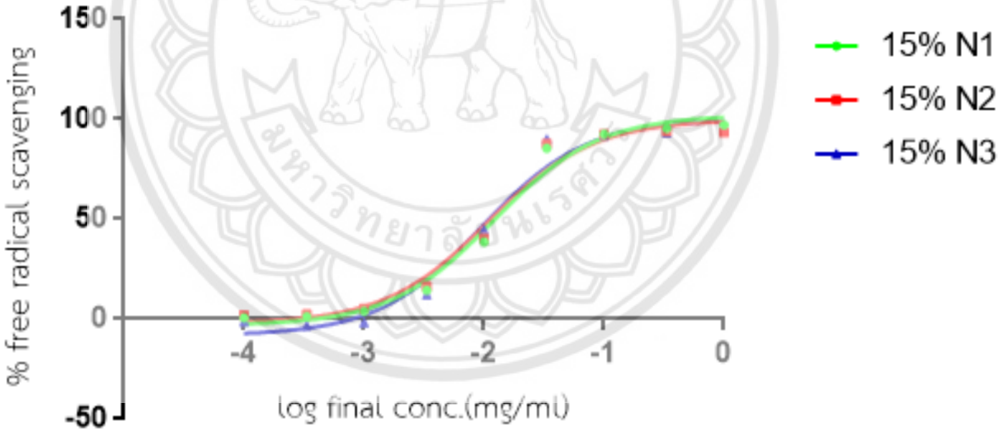
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.198	0.145	0.116	0.251	0.624	0.803	0.867	0.89	0.851	0.815
	0.193	0.145	0.114	0.253	0.622	0.817	0.888	0.911	0.786	0.782
	0.186	0.136	0.112	0.24	0.608	0.813	0.871	0.883	0.878	0.849
Blank	0.139	0.083	0.048	0.042	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.233	0.142	0.118	0.119	0.494	0.732	0.85	0.887	0.927	0.887
	0.254	0.143	0.118	0.121	0.496	0.752	0.864	0.89	0.908	0.866
	0.216	0.143	0.117	0.122	0.508	0.752	0.85	0.9	0.9	0.794
Blank	0.199	0.084	0.053	0.047	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04	0.041
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.251	0.144	0.116	0.112	0.494	0.757	0.87	1.004	0.792	0.824
	0.258	0.146	0.12	0.114	0.502	0.742	0.879	0.992	0.832	0.787
	0.262	0.147	0.116	0.114	0.5	0.753	0.874	0.949	0.895	0.767
Blank	0.197	0.084	0.051	0.044	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04

ตารางที่ 8 ค่าการดูดกลืนแสงของร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

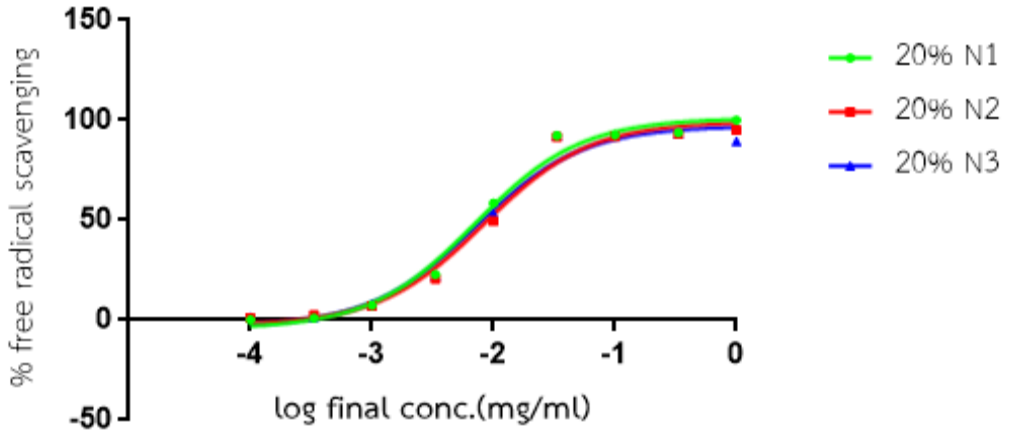
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.199	0.132	0.114	0.216	0.612	0.801	0.885	0.915	0.425	0.808
	0.198	0.132	0.115	0.211	0.593	0.803	0.872	0.896	0.687	0.778
	0.201	0.134	0.115	0.218	0.61	0.803	0.892	0.93	0.663	0.766
Blank	0.149	0.071	0.047	0.043	0.041	0.041	0.04	0.04	0.039	0.04
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.239	0.141	0.115	0.12	0.509	0.715	0.858	0.911	0.731	0.685
	0.244	0.139	0.116	0.121	0.493	0.752	0.864	0.896	0.757	0.721
	0.236	0.141	0.117	0.119	0.501	0.746	0.878	0.891	0.828	0.76
Blank	0.192	0.08	0.051	0.043	0.04	0.04	0.039	0.04	0.039	0.039
ร้อยละ 30 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.216	0.135	0.113	0.117	0.499	0.754	0.85	0.88	0.856	0.763
	0.227	0.134	0.114	0.117	0.513	0.747	0.863	0.89	0.864	0.762
	0.225	0.195	0.116	0.116	0.515	0.76	0.857	0.89	0.792	0.761
Blank	0.173	0.075	0.049	0.043	0.041	0.04	0.04	0.04	0.039	0.04



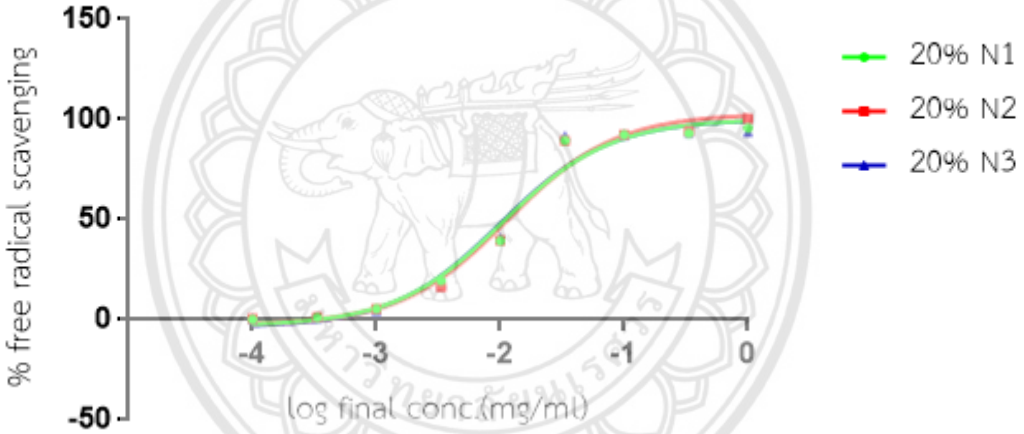
รูปที่ 12 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 15 ทำการสกัดครั้งที่ 1



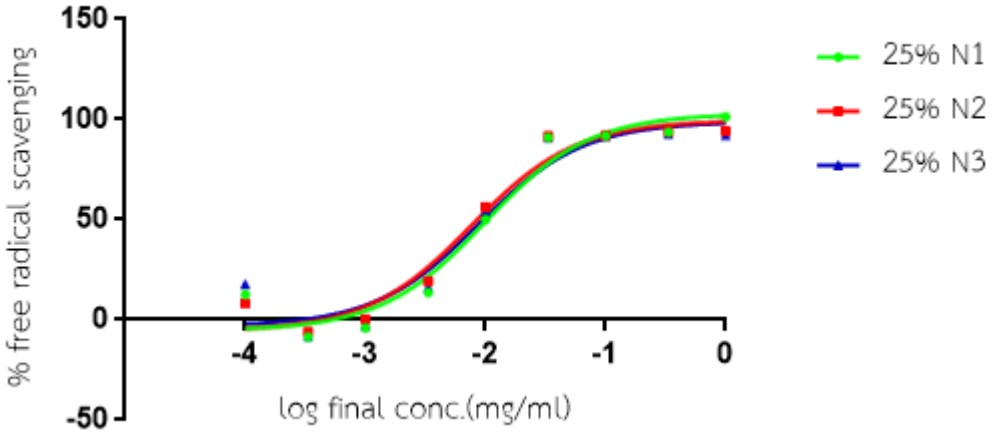
รูปที่ 13 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 15 ทำการสกัดครั้งที่ 2



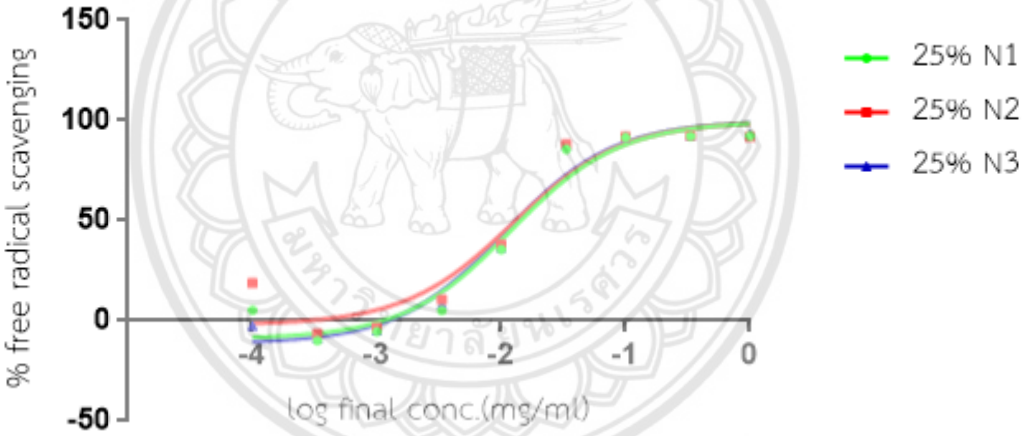
รูปที่ 14 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 20 ทำการสกัดครั้งที่ 1



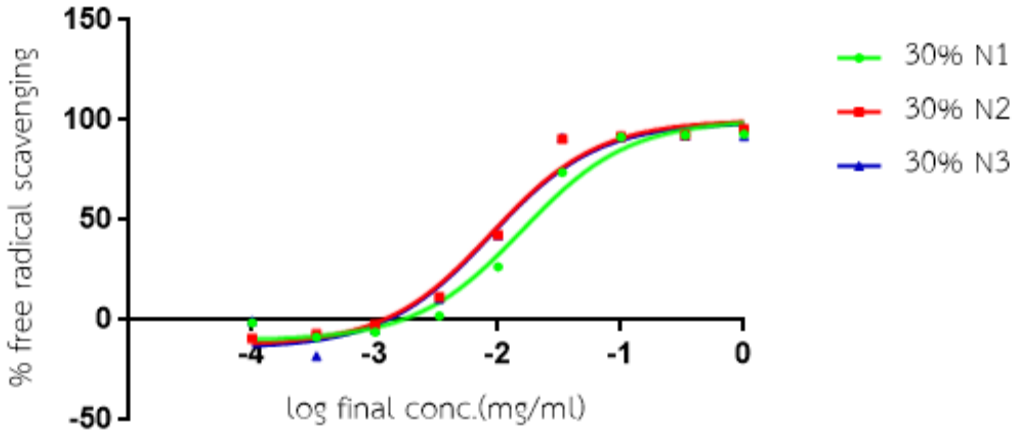
รูปที่ 15 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 20 ทำการสกัดครั้งที่ 2



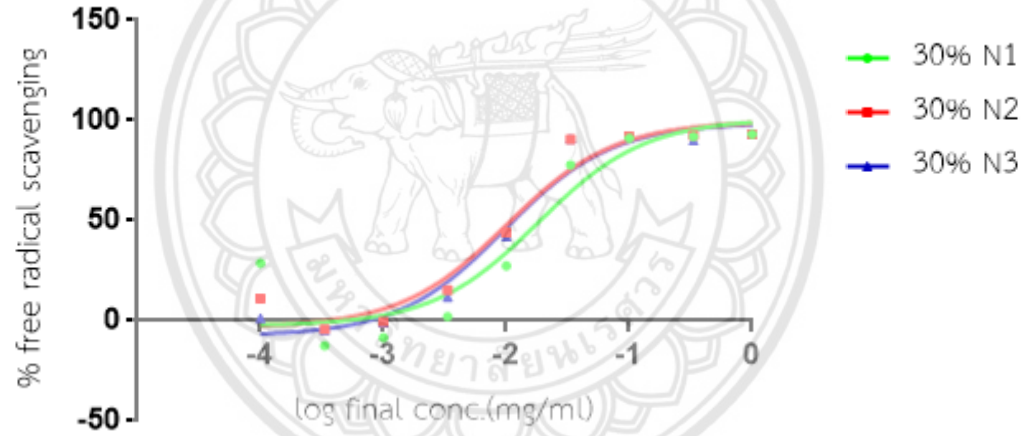
รูปที่ 16 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 25 ทำการสกัดครั้งที่ 1



รูปที่ 17 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 25 ทำการสกัดครั้งที่ 2



รูปที่ 18 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 30 ทำการสกัดครั้งที่ 1



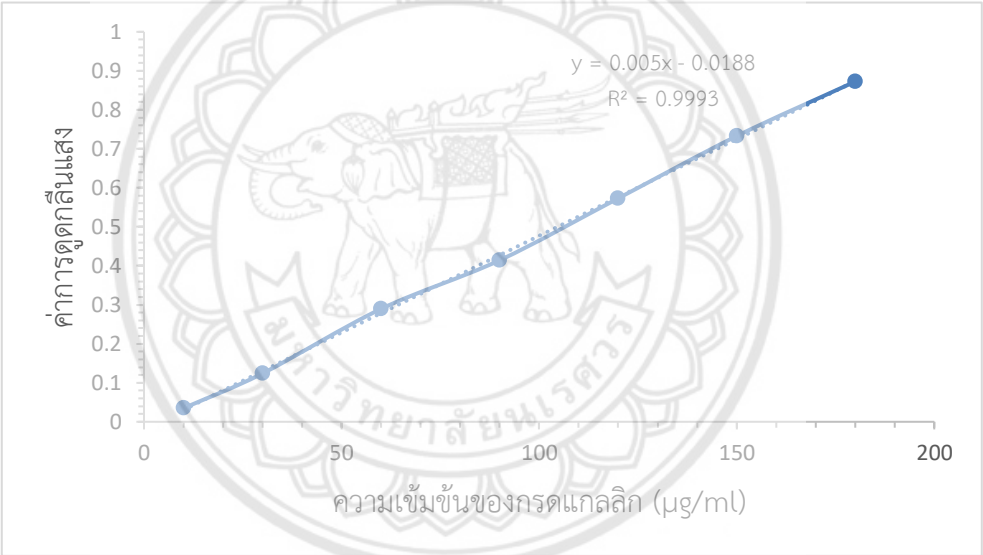
รูปที่ 19 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้ร้อยละของน้ำที่ใช้เป็นตัวทำละลายร่วมต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 30 ทำการสกัดครั้งที่ 2

3.2 อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 9 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณกราฟมาตรฐานของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

กรดแกลลิก (ug/mg)	180	150	120	90	60	30	10
ค่าการดูดกลืนแสง	0.915	0.756	0.621	0.465	0.326	0.153	0.077
	0.955	0.773	0.627	0.463	0.323	0.158	0.072
	0.953	0.791	0.636	0.468	0.329	0.154	0.072
Blank	0.044	0.041	0.04	0.041	0.041	0.038	0.039



รูปที่ 20 กราฟมาตรฐานของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

ตารางที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

อัตราส่วนตัวทำละลาย ไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อชาเขียว	3 ต่อ 1 สกัด 1	3 ต่อ 1 สกัด 2	5 ต่อ 1 สกัด 1	5 ต่อ 1 สกัด 2	6 ต่อ 1 สกัด 1	6 ต่อ 1 สกัด 2
ครั้งที่ 1	0.83	0.568	0.404	0.685	0.298	0.408
	0.73	0.596	0.381	0.625	0.287	0.371
	0.816	0.57	0.389	0.651	0.31	0.379
Blank	0.035	0.04	0.04	0.038	0.039	0.041
ครั้งที่ 2	0.803	0.61	0.387	0.616	0.295	0.385
	0.829	0.632	0.379	0.682	0.293	0.383
	0.821	0.617	0.372	0.621	0.277	0.316
Blank	0.035	0.039	0.038	0.037	0.035	0.041
ครั้งที่ 3	0.844	0.602	0.409	0.658	0.324	0.406
	0.874	0.61	0.411	0.622	0.295	0.396
	0.776	0.529	0.379	0.612	0.261	0.354
Blank	0.042	0.04	0.039	0.041	0.041	0.04

3.2.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.152	0.143	0.113	0.444	0.661	0.836	0.861	0.852	0.74
	0.148	0.146	0.11	0.401	0.662	0.841	0.867	0.855	0.845
	0.159	0.143	0.108	0.406	0.646	0.847	0.869	0.87	0.863
Blank	0.097	0.063	0.044	0.04	0.039	0.039	0.039	0.04	0.04
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.129	0.134	0.108	0.406	0.667	0.82	0.847	0.845	0.856
	0.133	0.136	0.108	0.411	0.658	0.828	0.859	0.856	0.8
	0.133	0.137	0.109	0.411	0.66	0.854	0.855	0.877	0.84
Blank	0.071	0.061	0.045	0.049	0.04	0.039	0.039	0.041	0.04
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.125	0.143	0.112	0.344	0.601	0.738	0.745	0.818	0.794
	0.128	0.148	0.103	0.337	0.605	0.732	0.744	0.819	0.811
	0.128	0.142	0.103	0.325	0.603	0.73	0.742	0.796	0.806
Blank	0.07	0.065	0.043	0.042	0.039	0.04	0.038	0.039	0.042

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.129	0.11	0.104	0.266	0.623	0.714	0.769	0.828	0.796
	0.132	0.111	0.105	0.226	0.622	0.699	0.724	0.84	0.739
	0.128	0.111	0.103	0.209	0.594	0.685	0.715	0.81	0.732
Blank	0.078	0.05	0.041	0.04	0.039	0.039	0.038	0.04	0.039
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.118	0.131	0.113	0.348	0.705	0.828	0.878	0.875	0.753
	0.12	0.131	0.109	0.333	0.699	0.806	0.87	0.857	0.799
	0.119	0.127	0.109	0.335	0.703	0.819	0.862	0.865	0.779
Blank	0.063	0.052	0.041	0.039	0.04	0.044	0.039	0.04	0.039
3 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.118	0.13	0.108	0.368	0.672	0.81	0.86	0.871	0.778
	0.117	0.134	0.105	0.338	0.66	0.789	0.84	0.839	0.771
	0.118	0.13	0.107	0.362	0.661	0.822	0.874	0.858	0.743
Blank	0.062	0.053	0.041	0.042	0.039	0.039	0.039	0.04	0.039

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.148	0.134	0.107	0.163	0.619	0.626	0.742	0.796	0.826
	0.143	0.14	0.11	0.196	0.713	0.722	0.819	0.88	0.859
	0.146	0.143	0.11	0.186	0.71	0.715	0.819	0.878	0.853
Blank	0.092	0.059	0.042	0.042	0.039	0.039	0.039	0.039	0.04
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.149	0.141	0.111	0.312	0.685	0.751	0.812	0.882	0.845
	0.153	0.142	0.109	0.264	0.682	0.727	0.824	0.877	0.836
	0.144	0.135	0.104	0.214	0.617	0.672	0.733	0.816	0.838
Blank	0.104	0.055	0.043	0.041	0.04	0.039	0.041	0.04	0.04
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.133	0.13	0.102	0.174	0.613	0.632	0.732	0.743	0.676
	0.132	0.131	0.107	0.221	0.659	0.685	0.757	0.771	0.692
	0.132	0.13	0.106	0.207	0.662	0.67	0.768	0.77	0.68
Blank	0.08	0.053	0.042	0.041	0.039	0.039	0.038	0.039	0.041

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

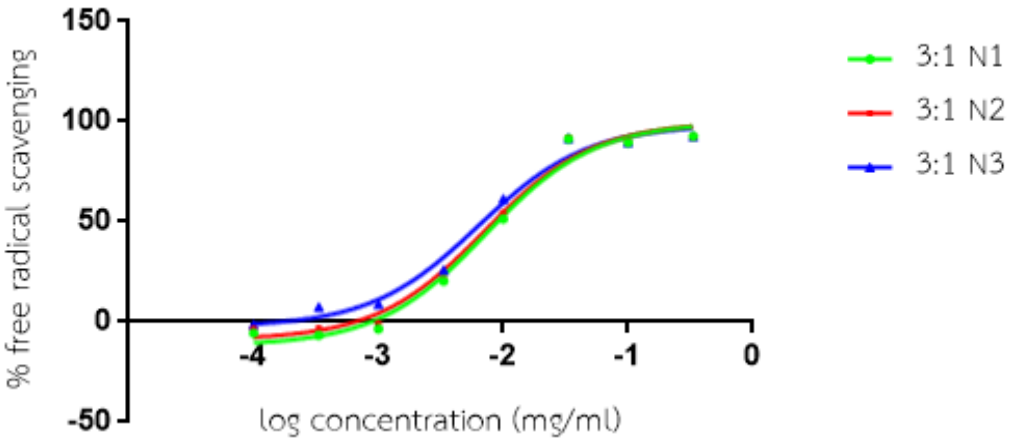
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.142	0.135	0.104	0.275	0.552	0.732	0.759	0.8	0.681
	0.152	0.134	0.104	0.279	0.556	0.735	0.759	0.791	0.674
	0.151	0.137	0.105	0.292	0.567	0.759	0.776	0.802	0.648
Blank	0.106	0.058	0.043	0.041	0.04	0.041	0.038	0.041	0.04
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.158	0.146	0.111	0.297	0.616	0.822	0.877	0.889	0.785
	0.158	0.147	0.111	0.288	0.623	0.814	0.869	0.873	0.806
	0.16	0.146	0.112	0.301	0.636	0.822	0.877	0.875	0.812
Blank	0.099	0.058	0.045	0.04	0.039	0.039	0.038	0.039	0.04
5 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.152	0.135	0.111	0.308	0.638	0.817	0.864	0.88	0.789
	0.153	0.135	0.111	0.317	0.636	0.803	0.86	0.872	0.79
	0.15	0.14	0.111	0.321	0.642	0.816	0.862	0.881	0.812
Blank	0.1	0.056	0.043	0.04	0.04	0.04	0.039	0.041	0.039

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

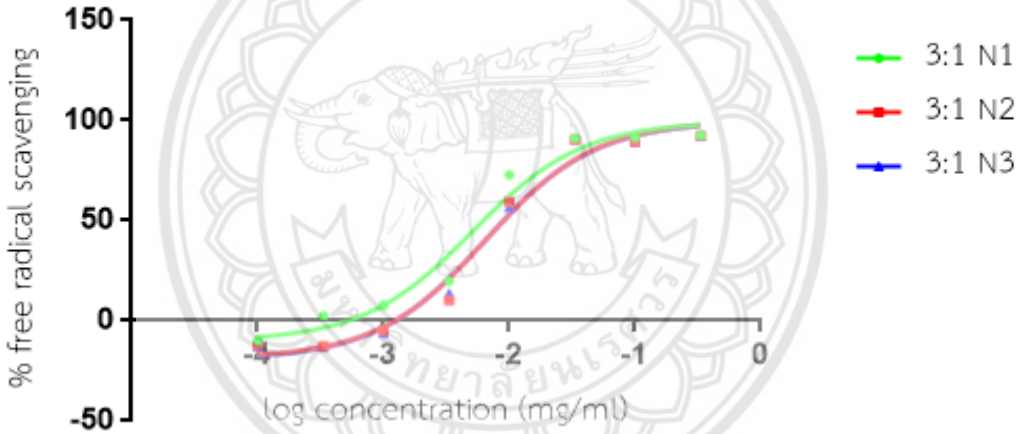
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.147	0.14	0.107	0.176	0.638	0.738	0.821	0.83	0.852
	0.155	0.151	0.117	0.23	0.688	0.782	0.888	0.901	0.893
	0.157	0.147	0.111	0.223	0.69	0.788	0.897	0.894	0.883
Blank	0.101	0.062	0.043	0.041	0.039	0.038	0.039	0.299	0.041
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.145	0.142	0.11	0.216	0.665	0.803	0.899	0.905	0.841
	0.147	0.141	0.106	0.189	0.62	0.76	0.841	0.866	0.883
	0.144	0.136	0.112	0.207	0.656	0.784	0.867	0.886	0.867
Blank	0.096	0.058	0.043	0.041	0.041	0.039	0.04	0.049	0.039
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.136	0.139	0.105	0.191	0.604	0.721	0.772	0.833	0.752
	0.135	0.144	0.102	0.182	0.594	0.712	0.761	0.813	0.822
	0.136	0.142	0.101	0.18	0.593	0.676	0.742	0.759	0.793
Blank	0.086	0.07	0.043	0.041	0.039	0.043	0.038	0.042	0.039

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงของอัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว (ต่อ)

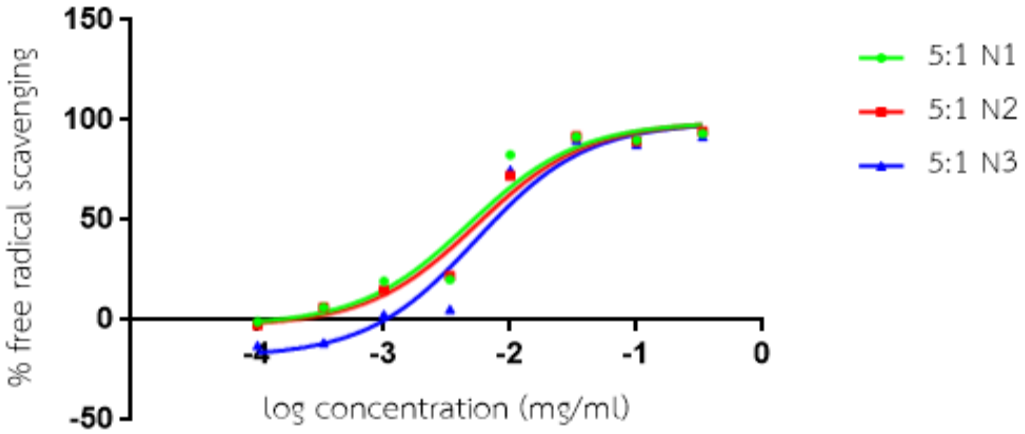
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.129	0.135	0.106	0.353	0.662	0.761	0.768	0.806	0.781
	0.127	0.134	0.105	0.347	0.655	0.748	0.77	0.815	0.741
	0.132	0.132	0.103	0.33	0.637	0.751	0.751	0.81	0.676
Blank	0.082	0.056	0.042	0.041	0.039	0.039	0.039	0.042	0.044
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.126	0.158	0.128	0.372	0.768	0.855	0.871	0.9	0.899
	0.129	0.156	0.133	0.371	0.78	0.865	0.878	0.908	0.906
	0.133	0.155	0.137	0.376	0.791	0.861	0.893	0.918	0.889
Blank	0.079	0.068	0.042	0.042	0.039	0.042	0.038	0.039	0.04
6 ต่อ 1 สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.154	0.152	0.115	0.375	0.668	0.867	0.894	0.926	0.864
	0.153	0.15	0.112	0.367	0.651	0.848	0.885	0.928	0.893
	0.153	0.148	0.11	0.364	0.662	0.849	0.876	0.923	0.859
Blank	0.098	0.063	0.043	0.041	0.04	0.044	0.038	0.04	0.039



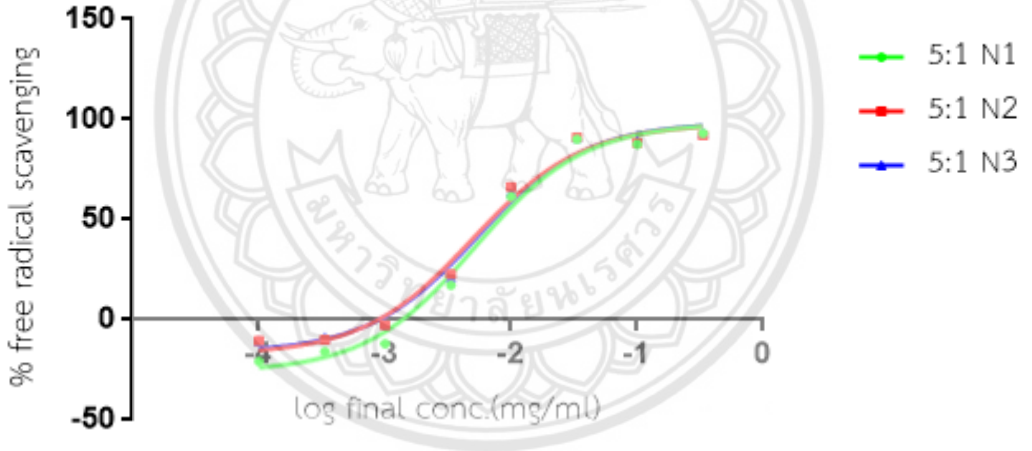
รูปที่ 21 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 3 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 1



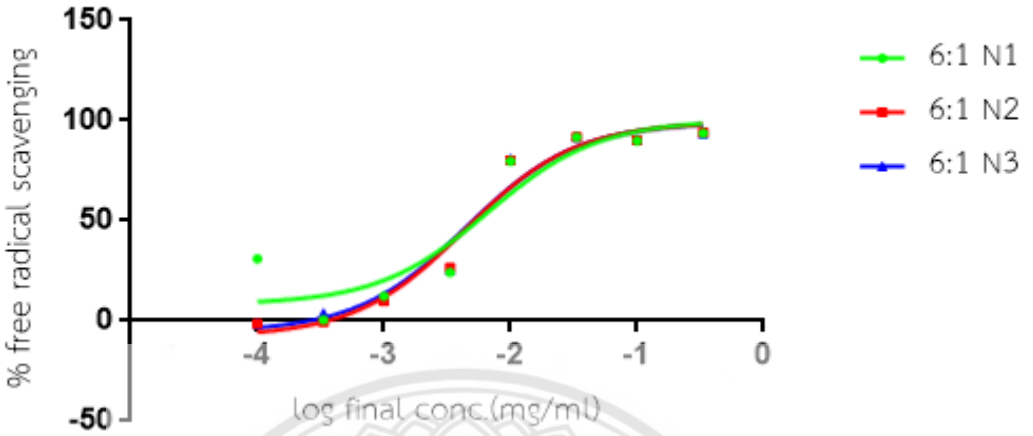
รูปที่ 22 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 3 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 2



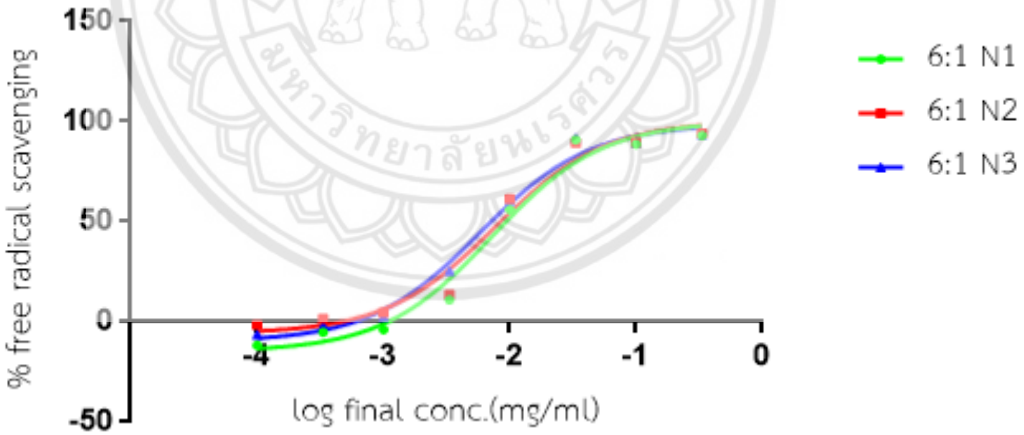
รูปที่ 23 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 5 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 1



รูปที่ 24 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 5 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 2



รูปที่ 25 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 6 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 1



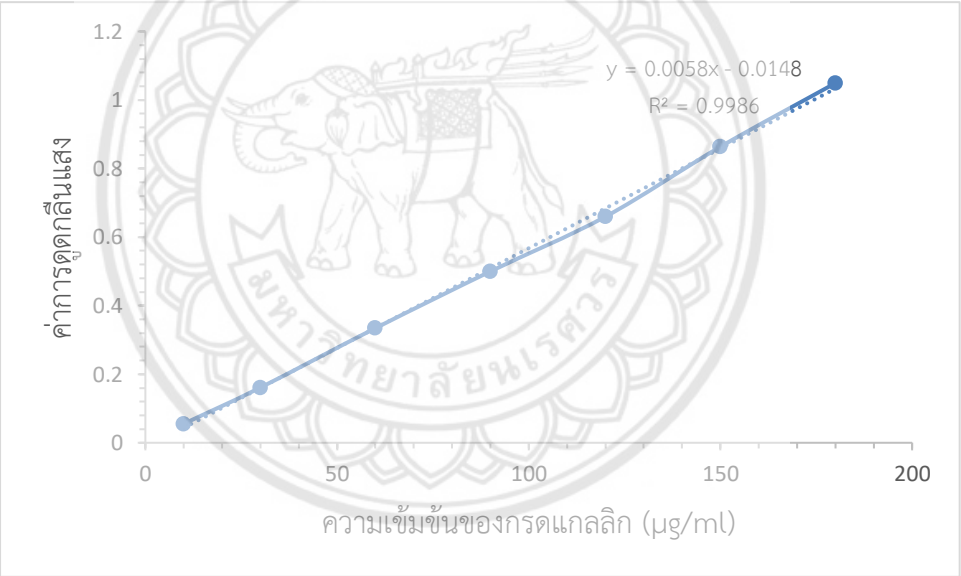
รูปที่ 26 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายไดเมทิลอีเทอร์เหลวต่อปริมาณชาเขียว คือ ร้อยละ 6 ต่อ 1 ทำการสกัดครั้งที่ 2

3.3 อุณหภูมิในการสกัด

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 12 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณกราฟมาตรฐานของอุณหภูมิในการสกัด

กรดแกลลิก (ug/mg)	180	150	120	90	60	30	10
ค่าการดูดกลืนแสง	1.096	0.878	0.685	0.479	0.265	0.167	0.083
	1.077	0.852	0.605	0.458	0.333	0.179	0.086
	1.08	0.807	0.631	0.461	0.329	0.175	0.083
Blank	0.041	0.043	0.041	0.041	0.041	0.044	0.038



รูปที่ 27 กราฟมาตรฐานของอุณหภูมิในการสกัด

ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	35 สกัด 1	35 สกัด 2	40 สกัด 1	40 สกัด 2	45 สกัด 1	45 สกัด 2
ครั้งที่ 1	0.584	0.79	0.618	0.644	0.48	0.461
	0.643	0.79	0.767	0.631	0.489	0.469
	0.627	0.786	0.6	0.627	0.483	0.434
Blank	0.041	0.044	0.042	0.04	0.144	0.044
ครั้งที่ 2	1.378	0.786	0.695	0.643	0.49	0.599
	1.379	0.783	0.691	0.579	0.496	0.586
	1.218	0.732	0.632	0.519	0.465	0.56
Blank	0.041	0.042	0.039	0.043	0.039	0.043
ครั้งที่ 3	0.666	0.733	0.533	0.583	0.49	0.507
	0.666	0.763	0.548	0.621	0.509	0.517
	0.638	0.769	0.517	0.6	0.446	0.512
Blank	0.041	0.045	0.041	0.043	0.042	0.043

3.3.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.183	0.122	0.108	0.108	0.364	0.603	0.741	0.831	0.782	0.824
	0.199	0.124	0.108	0.107	0.368	0.599	0.748	0.835	0.742	0.787
	0.202	0.126	0.107	0.105	0.382	0.603	0.748	0.827	0.694	0.804
Blank	0.132	0.064	0.047	0.042	0.041	0.04	0.04	0.042	0.04	0.044
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.183	0.123	0.11	0.105	0.362	0.632	0.77	0.829	0.759	0.738
	0.203	0.128	0.109	0.106	0.375	0.642	0.783	0.837	0.781	0.764
	0.209	0.125	0.107	0.105	0.386	0.646	0.785	0.846	0.776	0.761
Blank	0.141	0.068	0.047	0.042	0.04	0.04	0.04	0.041	0.04	0.039
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.18	0.125	0.108	0.107	0.395	0.656	0.773	0.831	0.783	0.762
	0.183	0.132	0.108	0.107	0.415	0.655	0.782	0.842	0.786	0.779
	0.181	0.126	0.108	0.105	0.429	0.661	0.774	0.837	0.776	0.758
Blank	0.159	0.071	0.048	0.043	0.041	0.04	0.04	0.043	0.04	0.04

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.183	0.122	0.108	0.108	0.364	0.603	0.741	0.831	0.782	0.824
	0.199	0.124	0.108	0.107	0.368	0.599	0.748	0.835	0.742	0.787
	0.202	0.126	0.107	0.105	0.382	0.603	0.748	0.827	0.694	0.804
Blank	0.132	0.064	0.047	0.042	0.041	0.04	0.04	0.042	0.04	0.044
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.183	0.123	0.11	0.105	0.362	0.632	0.77	0.829	0.759	0.738
	0.203	0.128	0.109	0.106	0.375	0.642	0.783	0.837	0.781	0.764
	0.209	0.125	0.107	0.105	0.386	0.646	0.785	0.846	0.776	0.761
Blank	0.141	0.068	0.047	0.042	0.04	0.04	0.04	0.041	0.04	0.039
35 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.18	0.125	0.108	0.107	0.395	0.656	0.773	0.831	0.783	0.762
	0.183	0.132	0.108	0.107	0.415	0.655	0.782	0.842	0.786	0.779
	0.181	0.126	0.108	0.105	0.429	0.661	0.774	0.837	0.776	0.758
Blank	0.159	0.071	0.048	0.043	0.041	0.04	0.04	0.043	0.04	0.04

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.463	0.213	0.124	0.111	0.283	0.591	0.776	0.825	0.784	0.758
	0.461	0.197	0.123	0.109	0.262	0.615	0.788	0.84	0.821	0.832
	0.493	0.204	0.124	0.109	0.281	0.592	0.764	0.82	0.823	0.83
Blank	0.59	0.219	0.089	0.052	0.045	0.043	0.04	0.042	0.04	0.042
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.367	0.17	0.12	0.107	0.314	0.612	0.775	0.821	0.821	0.808
	0.37	0.174	0.12	0.108	0.311	0.61	0.768	0.812	0.82	0.812
	0.348	0.173	0.119	0.107	0.307	0.608	0.764	0.819	0.823	0.833
Blank	0.427	0.201	0.073	0.051	0.044	0.041	0.047	0.04	0.042	0.043
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.285	0.16	0.121	0.109	0.324	0.643	0.795	0.744	0.755	0.774
	0.299	0.162	0.118	0.11	0.319	0.633	0.782	0.719	0.767	0.786
	0.313	0.164	0.119	0.108	0.303	0.622	0.774	0.736	0.802	0.797
Blank	0.253	0.094	0.057	0.045	0.043	0.044	0.04	0.04	0.037	0.038

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด (ต่อ)

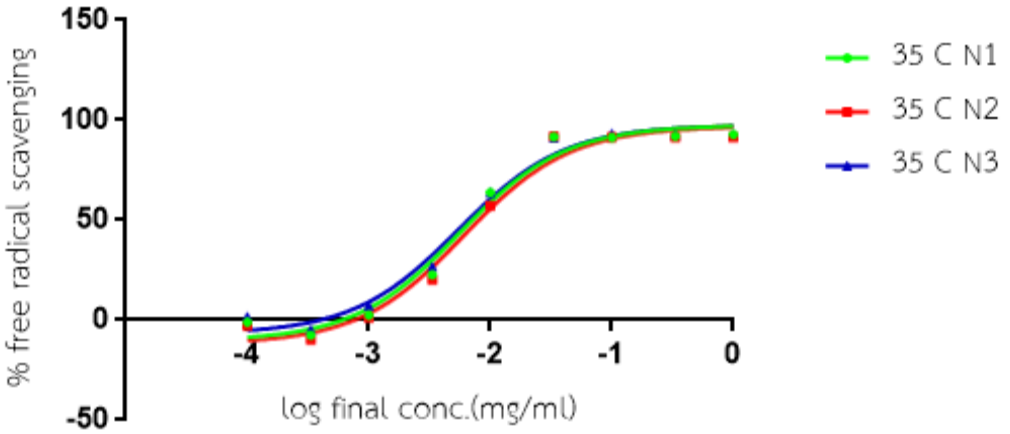
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.262	0.146	0.114	0.105	0.343	0.663	0.778	0.717	0.753	0.723
	0.26	0.145	0.114	0.108	0.353	0.666	0.771	0.708	0.828	0.813
	0.264	0.144	0.114	0.106	0.349	0.654	0.772	0.722	0.75	0.72
Blank	0.286	0.112	0.06	0.046	0.043	0.042	0.041	0.04	0.039	0.039
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.369	0.18	0.121	0.11	0.276	0.574	0.736	0.788	0.758	0.78
	0.356	0.17	0.12	0.106	0.323	0.591	0.693	0.811	0.781	0.766
	0.346	0.172	0.118	0.107	0.323	0.607	0.792	0.831	0.789	0.802
Blank	0.395	0.16	0.078	0.051	0.045	0.042	0.041	0.041	0.051	0.046
40 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.275	0.152	0.117	0.107	0.402	0.658	0.802	0.84	0.716	0.738
	0.281	0.152	0.115	0.108	0.385	0.647	0.794	0.824	0.794	0.804
	0.28	0.149	0.116	0.107	0.39	0.645	0.787	0.825	0.798	0.844
Blank	0.32	0.123	0.066	0.046	0.043	0.041	0.067	0.041	0.052	0.045

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด (ต่อ)

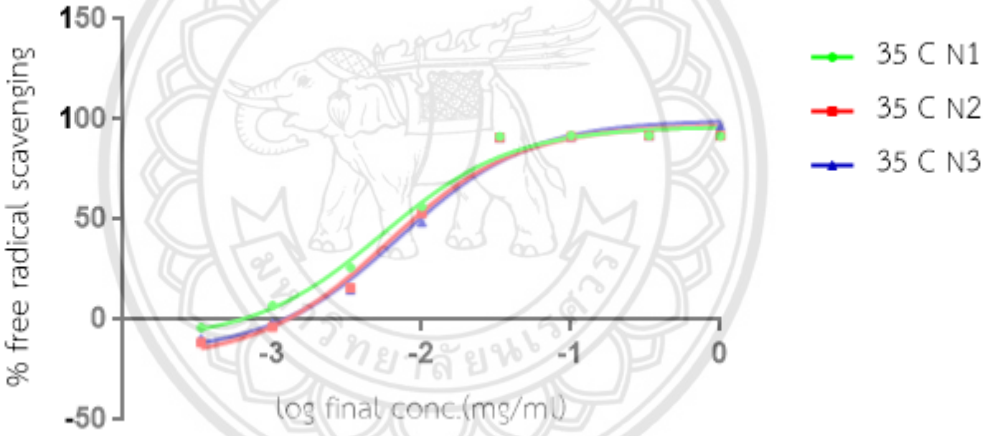
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.339	0.174	0.115	0.107	0.282	0.53	0.755	0.823	0.808	0.789
	0.357	0.169	0.116	0.105	0.278	0.541	0.757	0.832	0.782	0.757
	0.346	0.165	0.116	0.107	0.272	0.614	0.759	0.833	0.81	0.773
Blank	0.439	0.177	0.079	0.052	0.044	0.041	0.04	0.04	0.04	0.04
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.466	0.198	0.122	0.107	0.284	0.528	0.763	0.82	0.802	0.765
	0.422	0.187	0.122	0.107	0.292	0.532	0.755	0.817	0.759	0.704
	0.486	0.19	0.123	0.106	0.287	0.536	0.747	0.816	0.809	0.812
Blank	0.513	0.209	0.088	0.056	0.044	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.463	0.213	0.124	0.111	0.283	0.591	0.776	0.825	0.784	0.758
	0.461	0.197	0.123	0.109	0.262	0.615	0.788	0.84	0.821	0.832
	0.493	0.204	0.124	0.109	0.281	0.592	0.764	0.82	0.823	0.83
Blank	0.59	0.219	0.089	0.052	0.045	0.043	0.04	0.042	0.04	0.042

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอุณหภูมิในการสกัด (ต่อ)

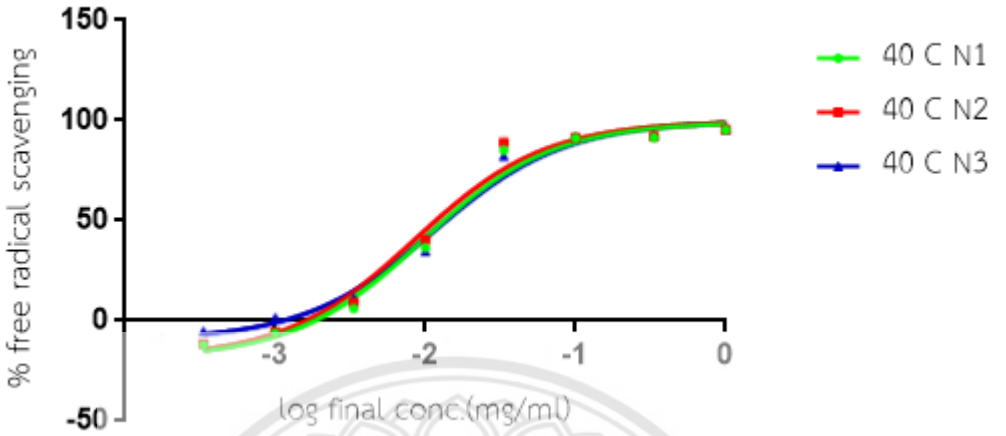
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.485	0.224	0.132	0.175	0.491	0.604	0.632	0.609	0.771	0.766
	0.446	0.188	0.124	0.109	0.387	0.638	0.827	0.777	0.767	0.771
	0.442	0.189	0.124	0.108	0.387	0.651	0.786	0.814	0.802	0.825
Blank	0.45	0.171	0.075	0.051	0.043	0.042	0.04	0.04	0.04	0.041
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.251	0.142	0.111	0.109	0.5	0.642	0.792	0.836	0.776	0.756
	0.243	0.143	0.11	0.107	0.487	0.633	0.799	0.841	0.805	0.757
	0.248	0.143	0.111	0.108	0.479	0.634	0.803	0.849	0.799	0.799
Blank	0.27	0.115	0.059	0.049	0.041	0.041	0.04	0.042	0.04	0.05
45 องศาเซลเซียส สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.367	0.168	0.119	0.116	0.517	0.76	0.717	0.864	0.783	0.772
	0.37	0.183	0.12	0.116	0.509	0.762	0.702	0.849	0.804	0.776
	0.368	0.178	0.12	0.116	0.521	0.769	0.712	0.858	0.772	0.804
Blank	0.429	0.178	0.078	0.05	0.044	0.041	0.041	0.04	0.04	0.045



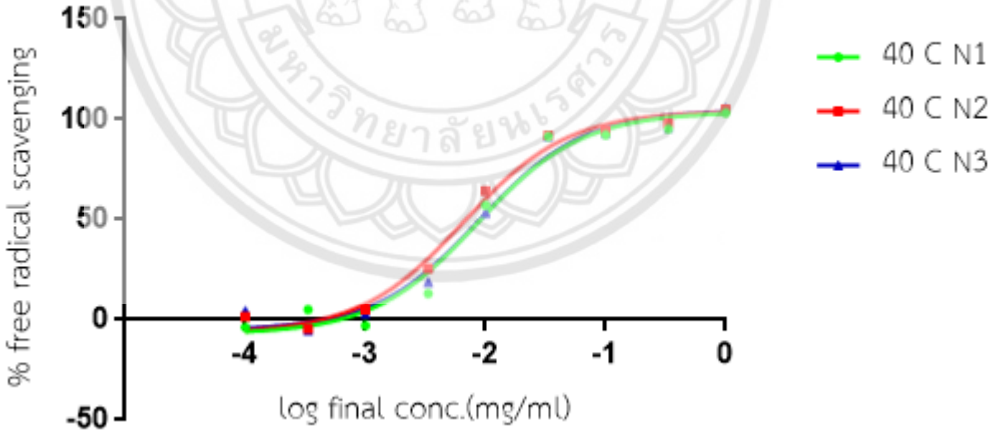
รูปที่ 28 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 35 องศาเซลเซียส ทำการสกัดครั้งที่ 1



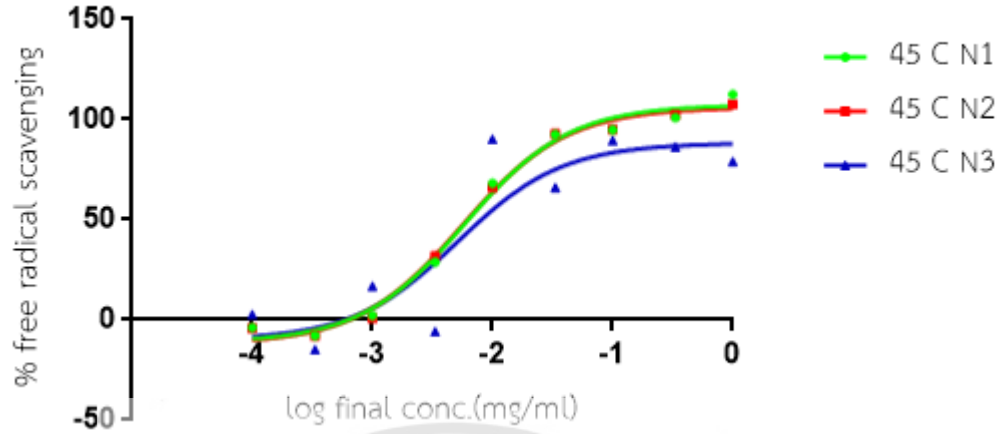
รูปที่ 29 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 35 องศาเซลเซียส ทำการสกัดครั้งที่ 2



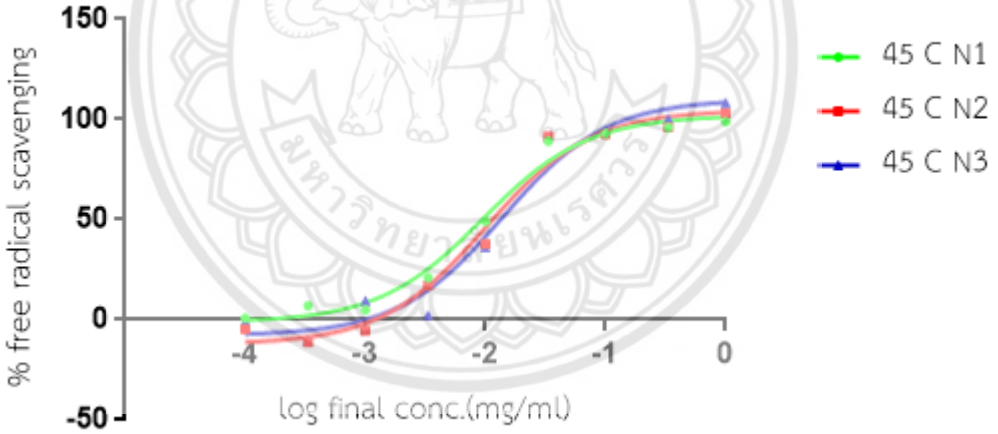
รูปที่ 30 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 40 องศาเซลเซียสทำการสกัดครั้งที่ 1



รูปที่ 31 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 40 องศาเซลเซียส ทำการสกัดครั้งที่ 2



รูปที่ 32 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 45 องศาเซลเซียส ทำการสกัดครั้งที่ 1



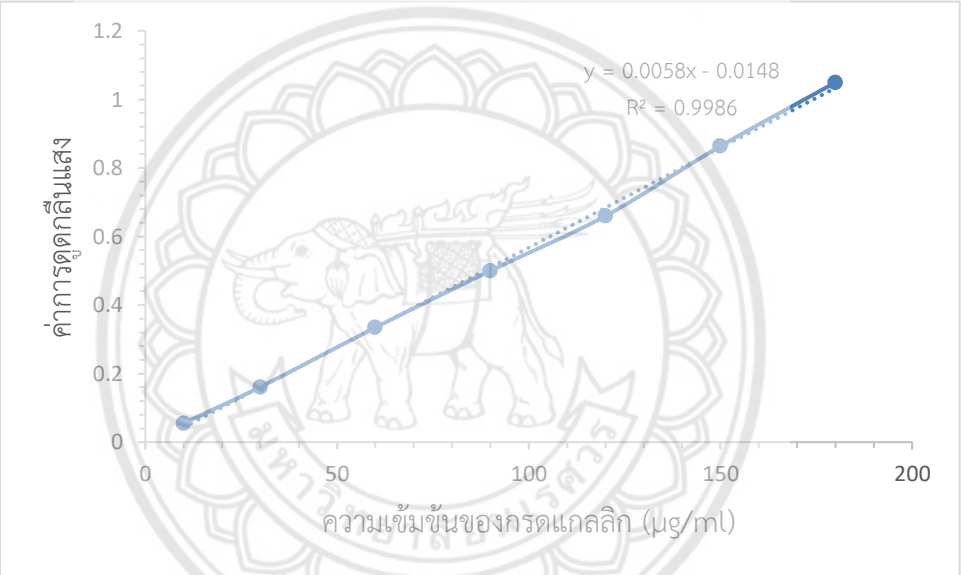
รูปที่ 33 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยอุณหภูมิในการสกัด คือ 45 องศาเซลเซียส ทำการสกัดครั้งที่ 2

3.4 เวลาในการสกัด

3.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 15 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณกราฟมาตรฐานของเวลาในการสกัด

กรดแกลลิก (ug/mg)	180	150	120	90	60	30	10
ค่าการดูดกลืนแสง	1.092	0.891	0.705	0.54	0.372	0.21	0.105
	1.092	0.907	0.717	0.562	0.389	0.208	0.105
	1.117	0.943	0.719	0.551	0.392	0.215	0.106
Blank	0.051	0.05	0.054	0.051	0.05	0.05	0.05



รูปที่ 34 กราฟมาตรฐานของเวลาในการสกัด

ตารางที่ 16 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด

เวลา (นาที)	15 สกัด 1	15 สกัด 2	45 สกัด 1	45 สกัด 2	60 สกัด 1	60 สกัด 2
ครั้งที่ 1	0.632	0.515	0.486	0.581	0.562	0.452
	0.704	0.534	0.507	0.56	0.57	0.481
	0.665	0.538	0.5	0.559	0.551	0.465
Blank	0.05	0.051	0.05	0.043	0.043	0.052
ครั้งที่ 2	0.687	0.425	0.57	0.598	0.604	0.442
	0.706	0.414	0.553	0.56	0.622	0.433
	0.673	0.432	0.556	0.538	0.636	0.437
Blank	0.051	0.056	0.052	0.055	0.05	0.051
ครั้งที่ 3	0.733	0.441	0.5	0.642	0.51	0.379
	0.736	0.436	0.474	0.61	0.465	0.394
	0.726	0.416	0.543	0.571	0.468	0.386
Blank	0.052	0.052	0.057	0.044	0.047	0.042

3.4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
15 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.437	0.203	0.127	0.113	0.258	0.575	0.774	0.835	0.828	0.819
	0.449	0.187	0.126	0.111	0.264	0.579	0.777	0.845	0.872	0.852
	0.451	0.188	0.123	0.112	0.261	0.591	0.774	0.838	0.877	0.842
Blank	0.414	0.13	0.063	0.047	0.043	0.043	0.041	0.039	0.039	0.042
15 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.455	0.198	0.129	0.109	0.254	0.551	0.751	0.823	0.855	0.814
	0.445	0.183	0.122	0.109	0.243	0.565	0.76	0.832	0.861	0.834
	0.416	0.183	0.124	0.11	0.245	0.578	0.773	0.844	0.837	0.845
Blank	0.375	0.123	0.061	0.047	0.043	0.04	0.041	0.04	0.04	0.042
15 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.401	0.183	0.12	0.11	0.248	0.51	0.659	0.736	0.743	0.77
	0.446	0.183	0.12	0.111	0.257	0.535	0.664	0.819	0.751	0.76
	0.417	0.181	0.119	0.109	0.247	0.53	0.698	0.786	0.768	0.789
Blank	0.344	0.127	0.064	0.048	0.043	0.041	0.04	0.04	0.04	0.04

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
15 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.262	0.143	0.116	0.11	0.418	0.673	0.808	0.849	0.809	0.854
	0.268	0.143	0.116	0.114	0.438	0.69	0.814	0.858	0.85	0.863
	0.265	0.144	0.115	0.112	0.435	0.694	0.818	0.867	0.851	0.866
Blank	0.197	0.083	0.052	0.043	0.041	0.04	0.04	0.039	0.043	0.04
15 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.283	0.151	0.117	0.109	0.342	0.621	0.797	0.849	0.839	0.883
	0.29	0.149	0.115	0.109	0.338	0.616	0.796	0.835	0.857	0.877
	0.27	0.15	0.116	0.109	0.337	0.606	0.786	0.839	0.839	0.851
Blank	0.228	0.09	0.053	0.048	0.042	0.041	0.041	0.04	0.043	0.041
15 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.29	0.152	0.117	0.11	0.412	0.658	0.771	0.822	0.818	0.775
	0.287	0.152	0.118	0.109	0.408	0.652	0.766	0.814	0.785	0.779
	0.29	0.155	0.118	0.109	0.402	0.65	0.768	0.816	0.788	0.793
Blank	0.228	0.094	0.056	0.045	0.043	0.041	0.04	0.04	0.042	0.041

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด (ต่อ)

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
45 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.341	0.163	0.12	0.109	0.281	0.604	0.776	0.846	0.792	0.811
	0.293	0.163	0.12	0.109	0.288	0.602	0.782	0.864	0.841	0.85
	0.333	0.164	0.119	0.111	0.285	0.606	0.778	0.859	0.841	0.846
Blank	0.256	0.107	0.057	0.045	0.041	0.04	0.041	0.039	0.04	0.039
45 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.39	0.169	0.123	0.11	0.23	0.531	0.735	0.779	0.822	0.803
	0.396	0.181	0.125	0.114	0.243	0.568	0.761	0.828	0.838	0.881
	0.401	0.177	0.126	0.112	0.241	0.568	0.753	0.828	0.816	0.807
Blank	0.337	0.121	0.061	0.046	0.044	0.041	0.042	0.041	0.042	0.055
45 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.289	0.151	0.114	0.109	0.314	0.59	0.775	0.816	0.736	0.764
	0.315	0.155	0.115	0.108	0.32	0.596	0.77	0.836	0.739	0.761
	0.311	0.157	0.116	0.109	0.324	0.616	0.77	0.814	0.772	0.782
Blank	0.265	0.099	0.057	0.045	0.042	0.043	0.041	0.04	0.04	0.04

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด (ต่อ)

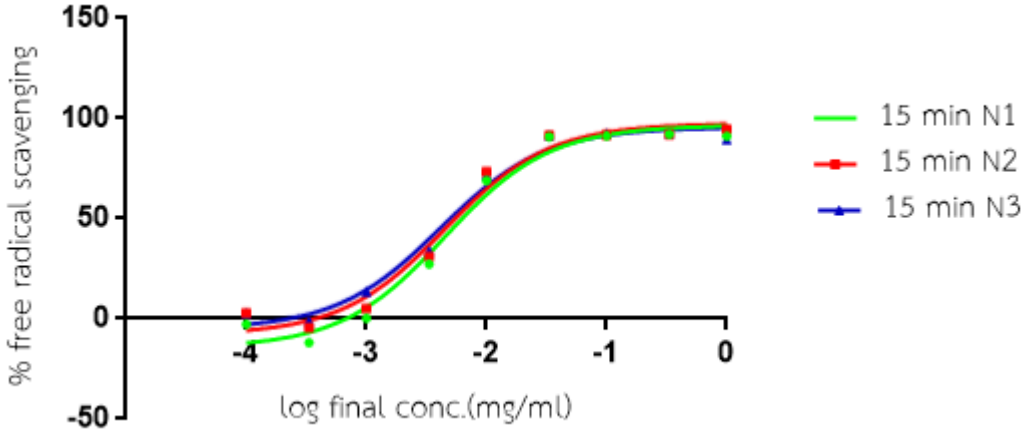
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
45 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.393	0.181	0.126	0.115	0.258	0.586	0.78	0.835	0.852	0.805
	0.396	0.183	0.128	0.113	0.257	0.583	0.755	0.836	0.863	0.844
	0.402	0.185	0.125	0.113	0.26	0.588	0.775	0.84	0.869	0.848
Blank	0.344	0.125	0.064	0.047	0.042	0.04	0.04	0.039	0.039	0.039
45 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.344	0.173	0.124	0.113	0.26	0.59	0.775	0.834	0.859	0.82
	0.365	0.17	0.125	0.112	0.262	0.592	0.777	0.848	0.853	0.851
	0.366	0.172	0.126	0.113	0.259	0.595	0.763	0.842	0.803	0.813
Blank	0.305	0.114	0.063	0.045	0.043	0.04	0.04	0.04	0.04	0.042
45 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.348	0.172	0.123	0.112	0.281	0.593	0.773	0.849	0.795	0.776
	0.358	0.171	0.122	0.111	0.275	0.594	0.778	0.844	0.807	0.768
	0.372	0.172	0.124	0.11	0.274	0.588	0.764	0.842	0.76	0.75
Blank	0.299	0.112	0.059	0.046	0.043	0.041	0.041	0.04	0.039	0.04

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด (ต่อ)

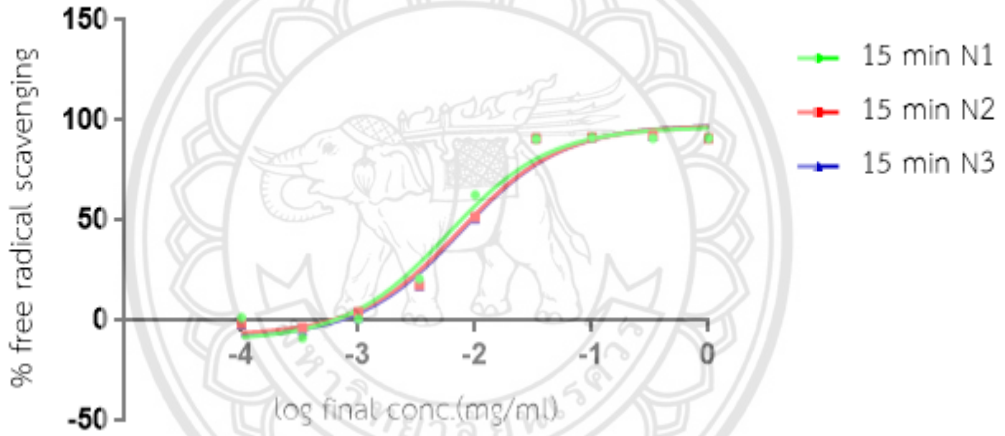
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
60 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 1	0.271	0.148	0.119	0.114	0.429	0.7	0.83	0.857	0.841	0.855
	0.27	0.147	0.118	0.113	0.417	0.704	0.823	0.875	0.859	0.88
	0.277	0.149	0.117	0.112	0.425	0.705	0.818	0.861	0.869	0.873
Blank	0.217	0.089	0.053	0.044	0.041	0.04	0.04	0.04	0.04	0.039
60 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 2	0.31	0.158	0.12	0.111	0.389	0.669	0.815	0.858	0.856	0.873
	0.314	0.159	0.12	0.112	0.384	0.67	0.816	0.858	0.873	0.886
	0.305	0.16	0.118	0.115	0.374	0.66	0.812	0.851	0.839	0.846
Blank	0.257	0.099	0.056	0.044	0.043	0.04	0.04	0.04	0.043	0.041
60 นาที สกัดครั้งที่ 1 ครั้งที่ 3	0.199	0.13	0.111	0.107	0.368	0.634	0.788	0.84	0.746	0.783
	0.203	0.133	0.111	0.107	0.364	0.636	0.785	0.845	0.758	0.791
	0.201	0.129	0.112	0.108	0.361	0.628	0.775	0.833	0.781	0.788
Blank	0.142	0.071	0.048	0.042	0.041	0.04	0.041	0.041	0.041	0.041

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงของเวลาในการสกัด (ต่อ)

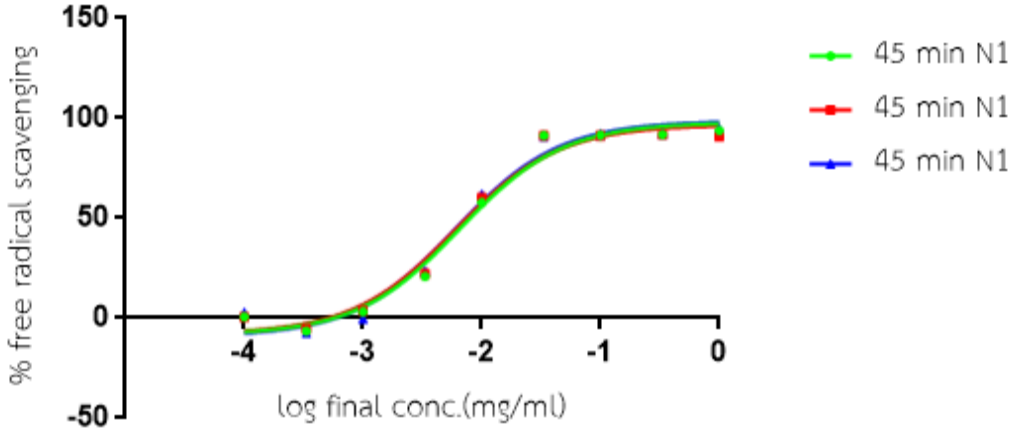
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
60 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 1	0.305	0.157	0.116	0.109	0.299	0.61	0.793	0.85	0.816	0.823
	0.303	0.156	0.117	0.109	0.295	0.615	0.789	0.864	0.859	0.858
	0.308	0.154	0.116	0.109	0.292	0.606	0.786	0.87	0.861	0.86
Blank	0.245	0.095	0.055	0.045	0.042	0.04	0.041	0.117	0.041	0.039
60 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 2	0.284	0.15	0.115	0.107	0.292	0.606	0.792	0.864	0.855	0.855
	0.282	0.15	0.115	0.108	0.289	0.599	0.784	0.86	0.872	0.871
	0.288	0.148	0.116	0.108	0.29	0.604	0.791	0.877	0.865	0.864
Blank	0.23	0.09	0.054	0.043	0.042	0.041	0.04	0.04	0.042	0.041
60 นาที สกัดครั้งที่ 2 ครั้งที่ 3	0.287	0.155	0.114	0.109	0.427	0.65	0.785	0.828	0.764	0.775
	0.272	0.159	0.113	0.112	0.425	0.651	0.778	0.822	0.765	0.8
	0.301	0.157	0.111	0.109	0.434	0.657	0.784	0.826	0.753	0.781
Blank	0.233	0.092	0.056	0.045	0.047	0.041	0.042	0.04	0.042	0.044



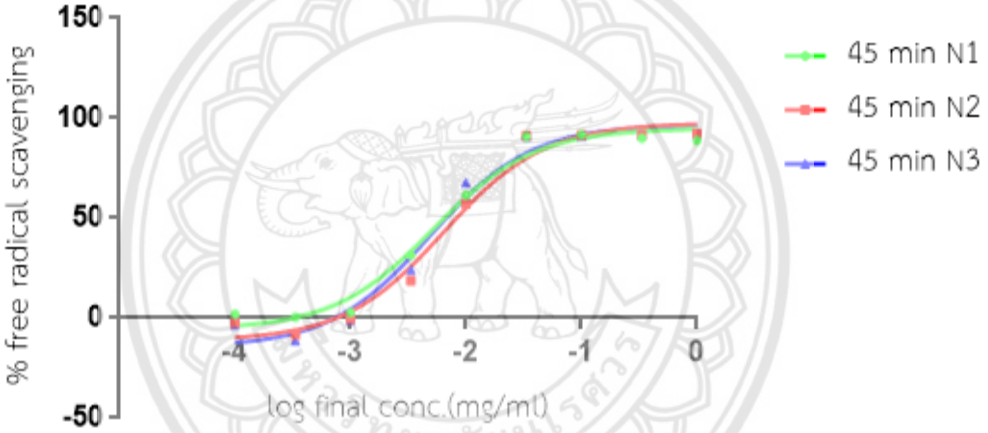
รูปที่ 35 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 15 นาทีทำการสกัดครั้งที่ 1



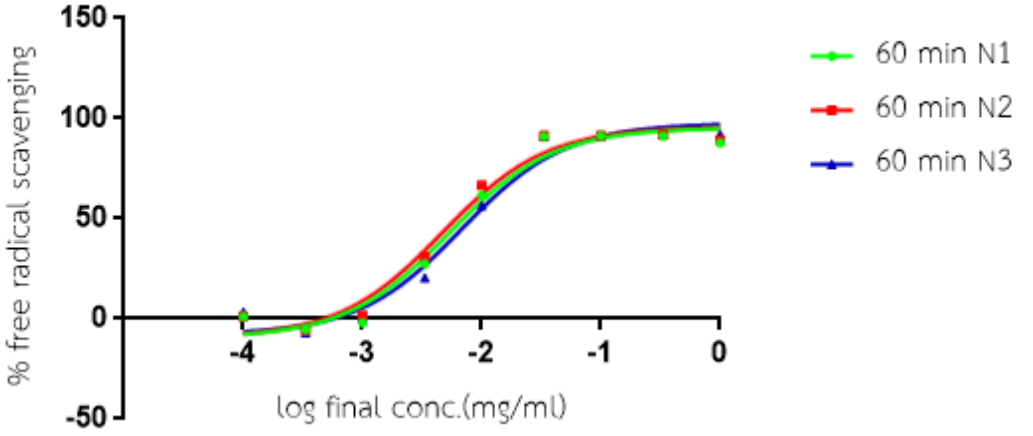
รูปที่ 36 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 15 นาทีทำการสกัดครั้งที่ 2



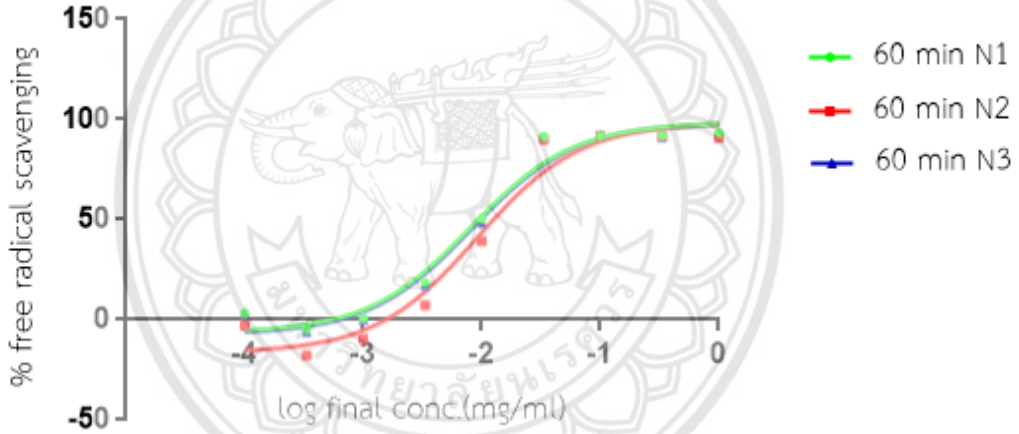
รูปที่ 37 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 45 นาที ทำการสกัดครั้งที่ 1



รูปที่ 38 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 45 นาที ทำการสกัดครั้งที่ 2



รูปที่ 39 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 60 นาที ทำการสกัดครั้งที่ 1



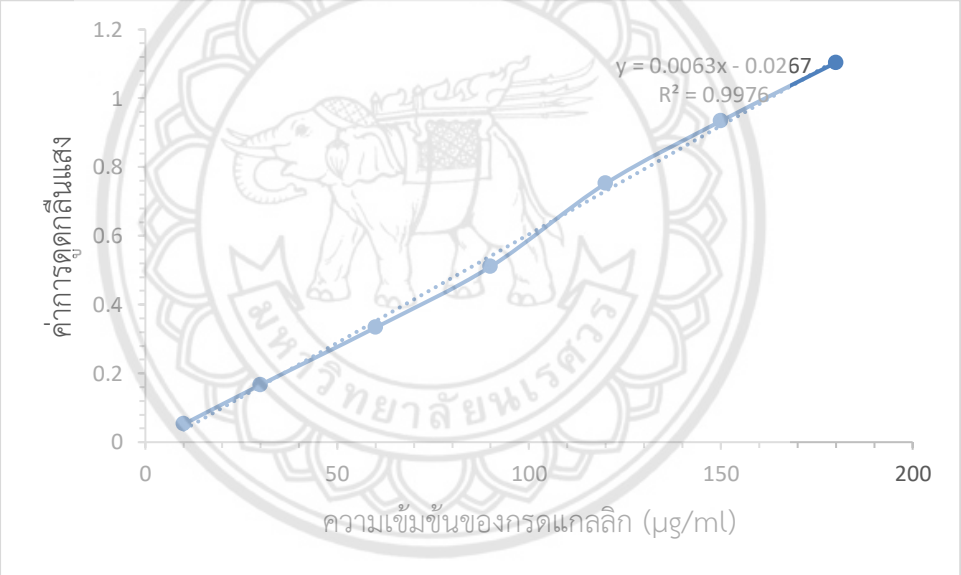
รูปที่ 40 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด คือ 60 นาที ทำการสกัดครั้งที่ 2

3.5 การสกัดชาเขียวด้วยเอทานอลและน้ำ

3.5.1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานที่ใช้คำนวณกราฟมาตรฐานของการสกัดชาเขียวด้วยเอทานอลและน้ำ

กรดแกลลิก (ug/mg)	180	150	120	90	60	30	10
ค่าการดูดกลืนแสง	1.158	1.013	0.778	0.545	0.379	0.212	0.097
	1.141	0.966	0.832	0.554	0.376	0.21	0.095
	1.147	0.954	0.776	0.565	0.374	0.21	0.097
Blank	0.045	0.044	0.043	0.044	0.043	0.044	0.044



รูปที่ 41 กราฟมาตราฐานของการสกัดชาเขียวด้วยเอทานอลและน้ำ

ตารางที่ 19 ค่าการดูดกลืนแสงของการสกัดสารชาเขียวด้วยเอทานอลและน้ำ

ตัวทำละลาย ที่ใช้ในการสกัด	เอทานอล ครั้งที่ 1	เอทานอล ครั้งที่ 2	เอทานอล ครั้งที่ 3	น้ำ ครั้งที่ 1	น้ำ ครั้งที่ 2	น้ำ ครั้งที่ 3
ค่าการดูดกลืนแสง	0.377	0.296	0.323	0.286	0.265	0.243
	0.391	0.302	0.299	0.289	0.26	0.241
	0.393	0.294	0.298	0.286	0.243	0.238
Blank	0.045	0.043	0.043	0.046	0.045	0.042

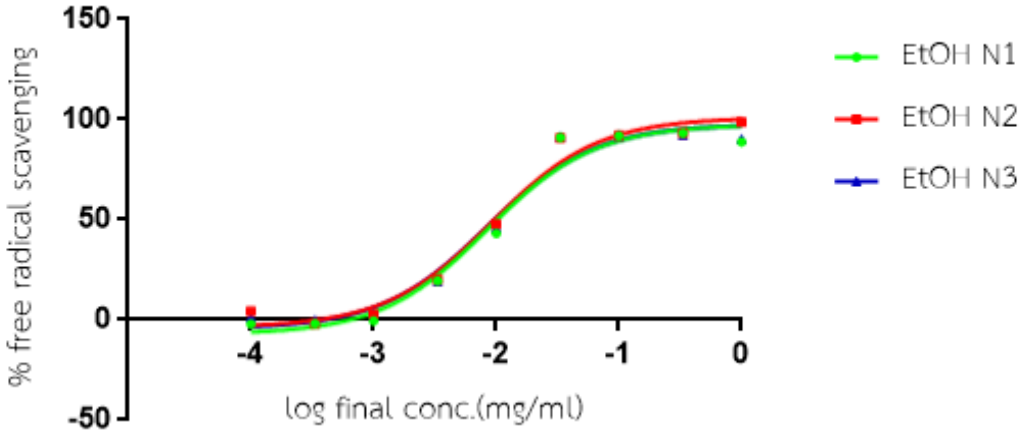
3.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงของการสกัดชาเขียวด้วยเอทานอล

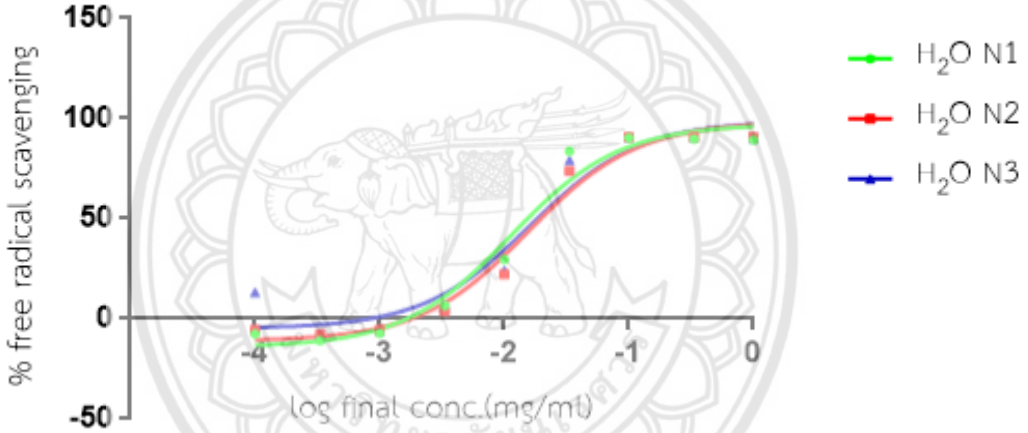
ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
เอทานอล ครั้งที่ 1	0.295	0.171	0.12	0.115	0.484	0.684	0.849	0.86	0.845	0.839
	0.282	0.17	0.119	0.113	0.493	0.67	0.837	0.841	0.863	0.844
	0.344	0.174	0.12	0.12	0.494	0.673	0.812	0.829	0.828	0.81
Blank	0.22	0.119	0.056	0.045	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04	0.041
เอทานอล ครั้งที่ 2	0.305	0.188	0.12	0.114	0.454	0.662	0.82	0.845	0.776	0.816
	0.335	0.176	0.121	0.115	0.443	0.663	0.787	0.832	0.806	0.836
	0.315	0.186	0.122	0.116	0.46	0.682	0.809	0.839	0.79	0.828
Blank	0.309	0.13	0.059	0.044	0.042	0.041	0.04	0.04	0.039	0.04
เอทานอล ครั้งที่ 3	0.289	0.178	0.12	0.115	0.474	0.68	0.814	0.836	0.828	0.843
	0.287	0.174	0.121	0.115	0.47	0.691	0.82	0.846	0.844	0.851
	0.273	0.171	0.118	0.113	0.479	0.689	0.815	0.845	0.817	0.834
Blank	0.205	0.112	0.056	0.045	0.042	0.041	0.04	0.04	0.04	0.041

ตารางที่ 21 ค่าการดูดกลืนแสงของการสกัดชาเขียวด้วยน้ำ

ความเข้มข้นสารสกัด (mg/ml)	3	1	0.3	0.1	0.03	0.01	0.003	0.001	0.0003	Control
น้ำ ครั้งที่ 1	0.196	0.14	0.117	0.163	0.569	0.722	0.823	0.853	0.81	0.777
	0.175	0.136	0.115	0.163	0.565	0.73	0.829	0.858	0.84	0.765
	0.179	0.136	0.115	0.159	0.553	0.72	0.818	0.847	0.833	0.777
Blank	0.106	0.064	0.046	0.042	0.047	0.041	0.039	0.041	0.04	0.04
น้ำ ครั้งที่ 2	0.164	0.132	0.113	0.236	0.623	0.761	0.835	0.847	0.839	0.791
	0.163	0.13	0.115	0.24	0.624	0.766	0.834	0.855	0.853	0.827
	0.16	0.132	0.116	0.245	0.642	0.781	0.853	0.871	0.837	0.778
Blank	0.092	0.061	0.045	0.042	0.041	0.041	0.041	0.04	0.043	0.04
น้ำ ครั้งที่ 3	0.169	0.136	0.117	0.205	0.631	0.758	0.856	0.879	0.587	0.807
	0.182	0.137	0.117	0.206	0.629	0.776	0.871	0.872	0.771	0.844
	0.171	0.134	0.119	0.201	0.629	0.771	0.854	0.871	0.78	0.799
Blank	0.1	0.064	0.046	0.042	0.04	0.041	0.04	0.04	0.039	0.04



รูปที่ 42 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดชาเขียวด้วยเอทานอล



รูปที่ 43 กราฟเส้นโค้งรูปตัวเอสของการสกัดชาเขียวด้วยน้ำ