บทความวิจัย (Research Article)

ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนและชาผงใบหม่อนชนิดละลายน้ำ

Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Mulberry Leaf Tea and Water Soluble Mulberry Leaf Tea Powder

ณชกนก เมธาอัครเดชา และอนงค์ ศรีโสภา*

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ตำบลพลายชุมพล อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

Nachakanok Methaakkharadecha and Anong Srisopa*

Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University,

Plaichumpol, Muang, Phitsanulok 65000

Received: July 19, 2019; Accepted: August 22, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างใบหม่อนที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ ใบหม่อนสด ใบหม่อนอบแห้ง และใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง โดยการสกัดตัวอย่างใบหม่อนทั้ง 3 ชนิด ด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ น้ำ น้ำต่อเอทานอล (หนึ่งต่อหนึ่งโดยปริมาตร) และเอทานอล โดยวิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 90 นาที และศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยทำปฏิกิริยากับโฟลิน-ซีโอแคลทูรีเอเจนต์ ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยทำปฏิกิริยากับดีพีพีเอช และติดตามกรดคลอโรจีนิก ซึ่งเป็นกรดที่แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาใบหม่อนด้วยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง พบว่าใบหม่อนสดสกัดด้วยน้ำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (21.89 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่างแห้ง) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (45.80 เปอร์เซ็นต์) สูงที่สุด เมื่อนำใบหม่อนสดที่สกัดด้วยน้ำมาเตรียมเป็นชาผงชนิดละลายน้ำโดยผสมกับมอลโตเดกซ์ตรินและทำแห้งด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งเปรียบเทียบกับเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าชาใบหม่อนผงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งและแบบพ่นฝอยให้ปริมาณฟีนอลิกรวม 4.19 และ 4.44 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 75.95 และ 77.91 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้ยังพบว่าชาผงใบหม่อนยังประกอบด้วยกรดฟีนอลิกสำคัญ ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก เป็นองค์ประกอบหลัก

คำสำคัญ : ชาผงละลายน้ำ; ใบหม่อน; สารประกอบฟีนอลิก; การต้านอนุมูลอิสระ; กรดคลอโรจีนิก

Abstract

Phenolic contents and antioxidant activities from the different mulberry leaves, i.e. fresh mulberry leaves, dried mulberry leaves, and dried mulberry leaves after being immersed in boiling

*Corresponding author: anongsrisopa@psru.ac.th
DOI: 10.14456/tjst.2020.35

water were studied. Mulberry leaf samples were refluxed with three different solvents, i.e. water, water: ethanol (1:1 v/v), and ethanol for 90 minutes. Total phenolic contents of different mulberry leaf extracts were assessed based on the Folin-Ciocalteu method. Antioxidant activity was investigated by DPPH assay. Chlorogenic acid, the most significant antioxidant phenolic acid found in mulberry leaves was determined by high performance liquid chromatography. The results showed that fresh mulberry leaves extracted with water provided the highest phenolic content (21.89 mgGAE/g DW) and antioxidant activity (45.80 %). Fresh mulberry leaf extracts admixed with maltodextrin were prepared into water soluble tea powder. The effects of two different drying processes, i.e. freeze drying and spray drying on the phenolic contents and the antioxidant activities were investigated. The phenolic contents of mulberry tea powder obtained from freeze drying and spray drying were 4.19 and 4.44 mgGAE/g sample, respectively. The antioxidant activities of the freeze drying and spray drying tea powder were 75.95 and 77.91 %, respectively. They were not significantly different. Chlorogenic acid, the main phenolic acid was also found in mulberry leaf tea powder.

Keywords: water soluble tea powder; mulberry leaf; phenolic compound; antioxidant activity; chlorogenic acid

1. คำนำ

สมุนไพรชาใบหม่อนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทราบกันโดยทั่วไปว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีสรรพคุณมากมาย ได้แก่ ลดไขมัน ลดน้ำตาลในเลือด ลดความดันโลหิต ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015; Wen *et al.*, 2019) เนื่องจากในใบหม่อนมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ พอลีแซคคาไรด์ แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Wen *et al.*, 2019) สารดีออกซีนอจิริมายซิน (DNJ) ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอลคาลอยด์ มีสมบัติช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านโรคอ้วน (Wen *et al.*, 2019) เควอซีติน และเคมเฟอรอล เป็นฟลาโวนอยด์ที่พบมากในใบหม่อน (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015) กรดคลอโรจีนิก เป็นกรดฟีนอลิกที่พบมากในใบหม่อนและจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แสดงฤทธิ์ต้านเบาหวานและลดไขมันที่ดี (Tian *et al.*, 2016; Wen *et al.*, 2019) โดยกรดคลอโรจีนิกมีส่วนในการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถึง 36.2 % มากกว่าเควอซิตินและรูติน (Katsube *et al.*, 2009)

เนื่องจากใบหม่อนมีสรรพคุณมากมายดังที่กล่าวไปแล้ว จึงมีผู้ศึกษาผลิตภัณฑ์จากใบหม่อนต่อระดับไขมันในเลือด ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับความอิ่ม การต้านอนุมูลอิสระและการต้านอักเสบทั้งในห้องปฏิบัติการและในอาสาสมัคร

การศึกษาในห้องปฏิบัติการ (Park *et al.*, 2013) พบว่าสารสกัดใบหม่อนในเอทานอล 70 เปอร์เซนต์ มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในเซลล์ที่เลี้ยงในห้องปฏิบัติการ (murine macrophage cell) โดยลดการสร้าง NF-kB ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำของสารสื่อการอักเสบ (inflammatory cytokine) ที่จะทำให้เกิดการตายของเซลล์ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการต้านไกลเคชันซึ่งเป็นกระบวนการเร่งการชราในชาสมุนไพร รวมทั้งใบหม่อน โดย Deetae และคณะ (2012) ซึ่งพบว่าปริมาณกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีความสัมพันธ์โดยตรงกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการต้านไกลเคชัน

งานวิจัยในอาสาสมัคร เช่น งานวิจัยของ อุไร

ภรณ์ และคณะ (Booranasuksakul *et al*., 2019) ศึกษาผลของการดื่มชาใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ต่อระดับน้ำตาลในเลือดและความอิ่ม โดยแบ่งอาสาสมัครจากมหาวิทยาลัยบูรพาเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ทั้งสองกลุ่มได้ดื่มเครื่องดื่มวิจัย 2 ชนิด ประกอบด้วยชาใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 (กลุ่มทดลอง) และน้ำอุ่น (กลุ่มควบคุม) หลังจากดื่มสารละลายกลูโคสเป็นเวลา 15 นาที พบว่าระดับน้ำตาลในเลือดของอาสาสมัครกลุ่มทดลองต่ำกว่ากลุ่มควบคุมในนาทีที่ 30 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.039$) ส่วนระดับความอิ่ม ระดับความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ และอุณหภูมิกายของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มไม่ต่างกัน แสดงให้เห็นว่าการดื่มชาใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 หลังการดื่มสารละลายกลูโคสช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทพาราซิมพาเธติกในอาสาสมัครสุขภาพดีได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประสิทธิภาพของชาใบหม่อนต่อระดับไขมันในเลือด โดย ยุพยง และจรัสพล (Banchobphutsa, 2012) ศึกษาในอาสาสมัครจากโรงพยาบาลศีขรภูมิ จังหวัดสุรินทร์ 46 คน แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกให้ดื่มชาใบหม่อน จำนวน 2 กรัมต่อมื้อ 3 มื้อต่อวัน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ อีกกลุ่มเป็นกลุ่มควบคุม พบว่ากลุ่มที่ดื่มชาใบหม่อนระดับคอเลสเตอรอลลดลงจาก 230.22±19.98 เป็น 207.65±25.39 (คิดเป็น 9.8 เปอร์เซ็นต์) ไตรกลีเซอไรด์ลดลงจาก 120.78±52.67 เป็น 102.70±41.93 (คิดเป็น 14.9 เปอร์เซ็นต์) แอลดีแอลคอเลสเตอรอลลดลงจาก 131.57±18.12 เป็น 128.84±18.84 (คิดเป็น 2.02 เปอร์เซ็นต์) ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงจาก 97.65±10.09 เป็น 85.43±7.76 (คิดเป็น 12.5 เปอร์เซ็นต์) ระหว่างกลุ่มที่ดื่มชาใบหม่อนและไม่ได้ดื่มชาใบหม่อนมีเพียงระดับน้ำตาลในเลือดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนระดับคอเลสเตอรอล ไตรกลีเซอไรด์ แอลดีแอลคอเลสเตอรอล และเอชดีแอลคอเลสเตอรอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่ศึกษาด้านการพัฒนาผลิตภัณฑ์ เช่น การศึกษาของ เกรียงศักดิ์ (Sribuarod, 2009) จากกรมหม่อนไหม ได้พัฒนาสูตรน้ำชาใบหม่อนพร้อมดื่ม ผลการวิจัยพบว่าชาที่ทำจากใบหม่อนคุณไพให้สีน้ำตาลอ่อน ขณะที่น้ำชาใบหม่อนที่ทำจากใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 ให้สีเขียวอ่อน พันธุ์ของใบหม่อนและกรรมวิธีการทำแห้งมีผลต่อค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของน้ำชาใบหม่อน ใบหม่อนพันธุ์คุณไพมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 กรรมวิธีในการทำแห้งของชาใบหม่อนที่ได้จากใบหม่อนที่ผ่านการทำแห้งแบบครัวเรือนมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบหม่อนที่ผ่านการทำแห้งเชิงอุตสาหกรรม และปริมาณน้ำตาลไม่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าน้ำชาใบหม่อนพร้อมดื่มที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด คือ สูตรที่ผลิตจากชาใบหม่อนคุณไพที่ทำแห้งแบบครัวเรือน โดยใช้ปริมาณชาใบหม่อนต่อน้ำ 1:50 และไม่เติมน้ำตาล โดยน้ำชาใบหม่อนมีสีเหลืองใสออกเขียว มีค่าการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสูตรอื่น ๆ และมีอายุการเก็บรักษาไม่ต่ำกว่า 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส การศึกษาผลของบรรจุภัณฑ์และระยะเวลาการเก็บรักษาต่อสมบัติการต้านการเกิดออกซิเดชันและสมบัติการลดระดับน้ำตาลในเลือดของสมุนไพรชาใบหม่อนจัดว่ามีความสำคัญ และมีการศึกษาโดย บุษรา และคณะ (Jongroysub *et al*., 2016) พบว่าชาใบหม่อนที่ผ่านเครื่องคั่วมีปริมาณสาร DNJ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบหม่อนจากการคั่วใบชาด้วยมือ และชาใบหม่อนที่บรรจุในถุงลามิเนตอลูมินัมฟอยด์มีการเปลี่ยนแปลงค่าความชื้นเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของอุณหภูมิในการทำแห้งใบหม่อนด้วยลมร้อนต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและ

ความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิกในใบหม่อน (Katsube *et al.*, 2009) พบว่าที่อุณหภูมิมากกว่า 70 องศาเซลเซียส มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

เนื่องจากระบบการผลิตชาสมุนไพรใบหม่อนที่ต่างกันส่งผลต่อปริมาณสารพฤกษเคมีดังกล่าว ดังนั้นการตรวจสอบสารออกฤทธิ์ในใบหม่อนหรือผลิตภัณฑ์จากใบหม่อนจึงเป็นสิ่งจำเป็น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ในตัวอย่างใบหม่อนที่ต่างกัน ได้แก่ ใบหม่อนสด ใบหม่อนอบแห้ง และใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง แปรรูปใบหม่อนให้อยู่ในรูปชาผงใบหม่อนละลายน้ำและติดตามกรดฟีนอลิกสำคัญ ได้แก่ กรดคลอโรจีนิก ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อการต้านอนุมูลอิสระ การต้านเบาหวาน และลดไขมันในใบหม่อน (Hunyadi *et al.*, 2012)

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมตัวอย่างและการสกัดตัวอย่างใบหม่อน

เก็บตัวอย่างใบหม่อนพันธุ์คุณไพจากพื้นที่เพาะปลูก ตำบลกกสะทอน อำเภอด่านซ้าย จังหวัดเลย โดยคัดเลือกใบ 3-5 (คัดใบที่ไม่แข็งหยาบเกินไป) นำไปตัดก้านใบและล้างให้สะอาด ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดแนวขวางประมาณ 0.5 เซนติเมตร

2.1.1 ตัวอย่างใบหม่อนสด

โดยใช้ใบหม่อนสดที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดแนวขวางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ชั่ง 10 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ น้ำต่อเอทานอล (หนึ่งต่อหนึ่งโดยปริมาตร) และเอทานอล โดยเติมตัวทำละลายแต่ละชนิด 150 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ 3 ขวด แล้วรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที (Bae *et al.*, 2015) กรองและปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดให้เป็น 250 มิลลิลิตร

2.1.2 ตัวอย่างใบหม่อนอบแห้ง

โดยใช้ใบหม่อนสดที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดแนวขวางประมาณ 0.5 เซนติเมตร ใส่ถาดสแตนเลส เกลี่ยให้มีความหนาเท่า ๆ กัน อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 (ใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที) จากนั้นชั่งใบหม่อนแห้ง 4 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ น้ำต่อเอทานอล (หนึ่งต่อหนึ่งโดยปริมาตร) และเอทานอล โดยเติมตัวทำละลายแต่ละชนิด 150 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ 3 ขวด แล้วรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที กรองและปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดเป็น 250 มิลลิลิตร

2.1.3 ตัวอย่างใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง

โดยใช้ใบหม่อนสดที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดแนวขวาง 0.5 เซนติเมตร นำไปลวกในน้ำเดือด 30 วินาที และนำมาแช่ในน้ำเย็นจัด บีบน้ำออกจากใบหม่อนให้หมด ใส่ถาดสแตนเลสเกลี่ยให้มีความหนาเท่า ๆ กัน นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 (ใช้เวลา 2 ชั่วโมง) จากนั้นชั่งใบหม่อนแห้ง 4 กรัม ใส่ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ ศึกษาชนิดตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ น้ำต่อเอทานอล (หนึ่งต่อหนึ่งโดยปริมาตร) และเอทานอล โดยเติมตัวทำละลายแต่ละชนิด 150 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วสำหรับรีฟลักซ์ 3 ขวด แล้วรีฟลักซ์เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที กรองและปรับปริมาตรด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดเป็น 250 มิลลิลิตร

2.1.4 การเตรียมชาผงใบหม่อน

โดยใช้ใบหม่อนสดที่หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ

เรียบร้อยแล้ว หนัก 1.5 กิโลกรัม แล้วรีฟลักซ์ด้วยน้ำปริมาณ 3 ลิตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา แบ่งสารสกัดเป็น 2 ส่วน ได้แก่

(1) สารสกัดผงใบหม่อนผสมมอลโตเดกซ์ตรินทำแห้งแบบเยือกแข็ง นำสารละลายที่ได้จากการรีฟลักซ์ 1 ลิตร ผสมกับสารละลายมอลโตเดกซ์ตรินความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็ง ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส

(2) สารสกัดผงใบหม่อนผสมมอลโตเดกซ์ตรินทำแห้งแบบพ่นฝอย นำสารละลายที่ได้จากการรีฟลักซ์ 1 ลิตร ผสมกับสารละลายมอลโตเดกซ์ตรินความเข้มข้นร้อยละ 20 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 200 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันแล้วนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย อุณหภูมิลมขาเข้า 200 องศาเซลเซียส อุณหภูมิลมขาออก 85 องศาเซลเซียส

นำสารสกัดผงใบหม่อนทั้ง 2 ชนิด มาเตรียมเป็นสารละลายความเข้มข้น 0.025 กรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่น เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ในขั้นตอนต่อไป

2.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม ใช้วิธี Folin-Ciocalteu (Gong *et al.*, 2012) และอ่านค่าสัญญาณด้วยเครื่อง microplate reader โดยเตรียมสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 3.90, 7.81, 15.62, 31.25 62.50, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกลั่น และเตรียมสารตัวอย่างเจือจาง 1 : 3 โดยปริมาตร โดยปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการสกัด 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำ 1.5 มิลลิลิตร ในขวดใส่สารพลาสติกขนาด 2 มิลลิลิตร

นำสารละลายตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent (เจือจางด้วยน้ำ 1 : 5 โดยปริมาตร) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติม NaOH 0.35 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลุมไมโครเวลเพลท ทิ้งไว้นาน 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับแบลงค์ หาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลาย gallic acid ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารตัวอย่างแห้ง (mg GAE/g DW)

2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ปิเปตสารละลายตัวอย่างเจือจาง 1 : 3 โดยปริมาตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมเอทานอล 100 ไมโครลิตร และ DPPH ความเข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท เขย่าทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที (DPPH เตรียมจากชั่งสาร 6 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล และปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร) จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อหาสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดใบหม่อน โดยเปรียบเทียบค่าวัดได้กับสารละลาย ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 7.81, 15.62, 31.25, 62.50 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4 การหาปริมาณกรดฟีนอลิกด้วยเทคนิค HPLC

2.4.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำชาจากการชงชาใบหม่อนด้วยวิธี standard addition

ชั่งตัวอย่างใบหม่อนอบแห้งและตัวอย่างใบหม่อนลวกและอบแห้งน้ำหนัก 1 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เทน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร แช่เป็นเวลา 3 นาที เขย่าด้วยเครื่องเขย่า (125 รอบต่อนาที) แล้วกรองเอาชาใบหม่อนออก ปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร

หาปริมาณกรดฟีนอลิก โดยปิเปตน้ำชาจากการชงชาใบหม่อน 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดใส่

สารพลาสติกขนาด 2 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 4 ขวด เติมสารละลายมาตรฐานกรดฟีนอลิกที่ต้องการหาปริมาณความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0, 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในแต่ละขวด เพื่อให้ได้สารมาตรฐานความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ให้แต่ละขวดมีปริมาตรรวม 2 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรน 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

2.4.2 การเตรียมตัวอย่างชาผงใบหม่อนด้วยวิธี standard addition

หาปริมาณกรดฟีนอลิก โดยปิเปตสารละลายชาผงใบหม่อน (ในหัวข้อ 2.1.4) ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ลงในขวดใส่สารพลาสติกขนาด 2 มิลลิลิตร ตัวอย่างละ 4 ขวด เติมสารละลายมาตรฐานกรดฟีนอลิกที่ต้องการหาปริมาณความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0, 100, 200 และ 400 ไมโครลิตร ลงในแต่ละขวด เพื่อให้ได้สารมาตรฐานความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 200 มิลลิ กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ให้แต่ละขวดมีปริมาตรรวม 2 มิลลิลิตร กรองผ่านเมมเบรน 0.45 ไมโครเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

2.4.3 สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกด้วยเทคนิค HPLC

(1) เตรียมเฟสเคลื่อนที่ ได้แก่ acetonitrile และ formic acid ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และใช้การชะแบบแกรเดียนต์ (gradient elution) การเตรียม formic acid ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ โดยปิเปต formic acid ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มิลลิลิตร ที่มีน้ำบรรจุอยู่แล้วส่วนหนึ่ง ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดบอกปริมาตร เขย่าแล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 0.45 ไมโครเมตร

(2) เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid, protocatechuic acid, chlorogenic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid และ benzoic acid อย่างละ 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน 25 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐานผสมความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากสาร ละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ชนิดละ 2.5 มิลลิลิตร ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยเมทานอล 50 เปอร์เซ็นต์

(3) สภาวะในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ใช้คอลัมน์ชนิด C-18 ขนาด 150 x 4.6 มิลลิเมตร ยี่ห้อ ACE (ขนาดอนุภาค 3 ไมโครเมตร) อัตราการไหล 0.8 มิลลิตรต่อนาที ปริมาตรในการฉีดสาร 20 ไมโครลิตร อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ใช้ความยาวคลื่น 254-360 นาโนเมตร โดยใช้เฟสเคลื่อนที่ระบบแกรเดียนต์ดังตารางที่ 1

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

จำนวนของการทดสอบ n = 3 รายงานผลที่ได้เป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าการเบี่ยงเบนมาตรฐาน เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance, one-way ANOVA) ด้วยวิธีการทดสอบ Tukey's honestly significant difference (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ผลของลักษณะตัวอย่างต่อปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

งานวิจัยนี้เลือกเก็บตัวอย่างใบหม่อนพันธุ์คุณไพ ซึ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 (Sribuarod, 2009) จากพื้นที่เพาะปลูก ตำบลกกสะทอน อำเภอด่านซ้าย จังหวัด

Table 1 HPLC gradient elution program for the analysis of phenolic acids.

Step time (min)	% Acetonitrile	0.1 % Formic acid
0.5	10	90
2	10	90
3	17	83
5	24	76
10	35	65
5	50	50

Figure 1 The appearance of different mulberry dried leaf processing

เลย และเตรียมเป็นตัวอย่างที่ต่างกัน 3 ชนิด ได้แก่ ตัวอย่างใบหม่อนสด ตัวอย่างใบหม่อนอบแห้ง และตัวอย่างใบหม่อนลวกและอบแห้ง โดยการลวกใบหม่อนก่อนนั้นจะช่วยให้ผนังเซลล์แตกและได้ใบหม่อนอบแห้งที่มีสีเขียวเข้ม ลักษณะตัวอย่างทั้ง 3 ชนิด แสดงดังรูปที่ 1

อุณหภูมิในการอบแห้งมีส่วนสำคัญต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้ว่าอุณหภูมิการอบแห้งที่มากกว่า 70 องศาเซลเซียส มีผลต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกอย่างมีนัยสำคัญ (Katsube *et al.*, 2009) การวิจัยนี้จึงเลือกใช้ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ทำให้ตัวอย่างแห้งไวและไม่ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสลายตัว ตัวอย่างใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งนำไปหาค่าความชื้นด้วยเครื่อง moisture analyzer ได้ค่าความชื้นเฉลี่ยไม่เกินร้อยละ 10 ซึ่งเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ชาสมุนไพร (ฉบับที่ 280 พ.ศ. 2547) ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในตัวอย่าง

หาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบหม่อนสด ใบหม่อนอบแห้ง และใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง โดยเลือกใช้วิธีรีฟลักซ์ เป็นเวลา 90 นาที ซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่ Bae และคณะ (Bae *et al.*, 2015) ได้ศึกษาเปรียบเทียบกับเทคนิคการสกัดแบบอัลตราโซนิค การใช้ไมโครเวฟ และการเขย่ามาแล้ว โดยพบว่าวิธีรีฟลักซ์โดยใช้ความร้อนให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด จากนั้นให้สารสกัดใบหม่อนทำปฏิกิริยากับ Folin Ciocalteu reagent (FCR) ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อหมู่ฟีนอลทำปฏิกิริยากับ FCR จะได้สารละลายสีน้ำเงิน มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ค่าการ

ดูดกลืนแสงที่วัดได้นำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid ความเข้มข้น 3.90-125 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 2 กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรง มีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) 0.9980 และสมการเส้นตรง คือ y = 0.0184x ± 0.074

ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบหม่อนสด ใบหม่อนอบแห้ง และใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง โดยทำปฏิกิริยากับ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ซึ่งเป็นแรดิคัลในตัวทำละลายเมทานอลหรือเอทานอล สารละลายนี้มีสีม่วงซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร โดยเมื่อ DPPH* ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยสามารถเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานเช่นวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งพบว่ากรดแอสคอร์บิกที่นำมาทดสอบมีค่า IC_{50} 0.17 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างใบหม่อนทั้ง 3 ชนิด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 2) โดยพบว่าใบหม่อนสดมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (21.89±2.13 mgGAE/g DW) โดยปริมาณฟีนอลิกสอดคล้องกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Deetae *et al*., 2012) ซึ่งตรงกับผลการทดลอง (รูปที่ 4 และ 5) โดยใบหม่อนสดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (45.80 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเทียบได้กับวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิกปริมาณ 0.16 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของใบหม่อน พบว่าสารประกอบฟีนอลิกในใบหม่อนละลายได้ดีในน้ำร้อน และแปรผันตรงต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sánchez-Salcedo และคณะ (2015) และบทความวิชาการของ Tian และคณะ (2016) ที่รายงานว่าใบหม่อนสกัดด้วยน้ำร้อนแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพดีกว่าการสกัดในตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของเอทานอลหรือบิวทานอล

นอกจากนี้ยังได้ติดตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง เมื่อนำมาบดเพื่อทำเป็นชา ชงด้วยน้ำเดือด และแช่ไว้เป็นเวลา 3 นาที กรองเอาผงชาออก พบว่าน้ำชาที่ได้จากใบหม่อนแห้งทั้ง 2 แบบ มีสารประกอบฟีนอลิกละลายอยู่และแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 3 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sánchez-Salcedo และคณะ (2015) ซึ่งพบว่าเมื่อนำใบหม่อน

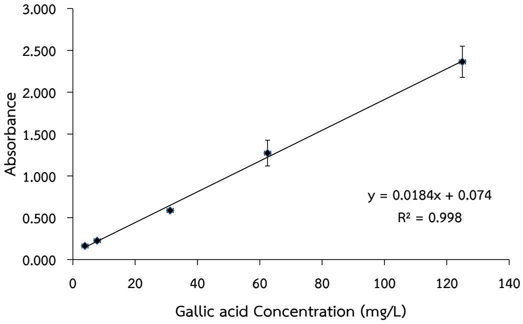

Figure 2 Calibration curve of standard gallic acid for determination of total phenolic content

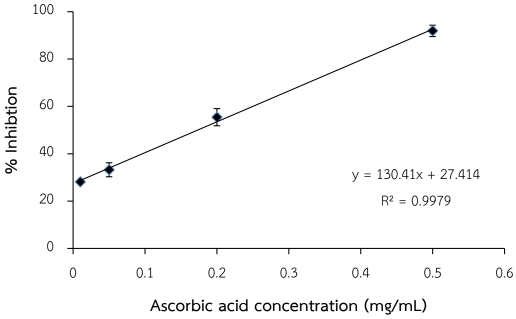

Figure 3 Antioxidant activity of 0.01-0.5 mg/mL ascorbic acid.

Figure 4 Phenolic contents of mulberry leaves obtained by different processing methods

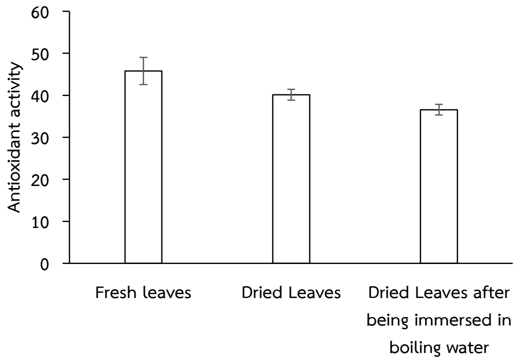

Figure 5 Antioxidant activities of mulberry leaves obtained by different processing methods

Table 2 Phenolic contents and antioxidant activities of mulberry leaves obtained by different processing methods

Mulberry leaf samples	H_2O		50 % Ethanol		Ethanol	
	Phenolic content (mg GAE/g DW)	Antioxidant activity (%)	Phenolic content (mg GAE/g DW)	Antioxidant activity (%)	Phenolic content (mg GAE/g DW)	Antioxidant activity (%)
Fresh mulberry leaves	21.89 ± 2.13^{a}	45.80 ± 3.23^{a}	18.58 ± 1.96^{a}	37.93 ± 1.62^{a}	15.31 ± 1.07^{a}	$23.47 \pm 1.09^{a,b}$
Dried mulberry leaves	16.23 ± 0.42^{b}	40.13 ± 1.29^{b}	16.55 ± 0.53^{a}	28.85 ± 1.83^{b}	13.32 ± 1.04^{a}	24.55 ± 0.76^{a}
Dried leaves after being immersed in boiling water	11.22 ± 0.08^{c}	36.57 ± 1.27^{c}	12.58 ± 0.47^{b}	31.36 ± 2.32^{b}	10.75 ± 0.24^{b}	22.45 ± 0.55^{b}

The data are expressed as mean ± standard deviation. Difference of $^{a,\ b}$ and ^{c} labeling represent significant different at 95 % confidence interval ($p < 0.05$).

มาชงเป็นชา 3-5 นาที ในน้ำร้อนพบการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดส ผลการวิจัยในตารางที่ 3 ยังแสดงให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของชาที่ชงจากใบหม่อนอบแห้งสูงกว่าชาที่ชงจากใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 นอกจากนี้ผลการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ยังแสดงให้เห็นว่ากรดฟีนอลิกที่มีปริมาณมากในสารสกัดใบหม่อนได้แก่ protocatechuic acid และ chlorogenic acid ซึ่งสามารถหาปริมาณได้โดยวิธีเติมสารมาตรฐาน (standard addition method) โดยพบว่าปริมาณ protocatechuic acid ในตัวอย่างน้ำชาที่ชงจากใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งเท่ากับ 1.05 และ 1.97 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้งตามลำดับ โดยปริมาณ protocatechuic acid ในใบ

Table 3 Phenolic contents and antioxidant activities of mulberry leaf tea infusions

Tea infusion	Phenolic content (mg GAE/g DW)	Antioxidant activity (%)	Protocatechuic acid (mg/g DW)	Chlorogenic acid (mg/g DW)
Dried mulberry leaves	11.71±0.83[a]	38.10±4.92[a]	1.05±0.63[a]	5.53±1.41[a]
Dried mulberry leaves after being immersed in boiling water	8.08±0.33[b]	17.23±1.44[b]	1.97±0.40[a]	4.41±0.86[a]

The data are expressed as mean ± standard deviation. Difference of [a, b] and [c] labeling represent significant different at 95 % confidence interval ($p < 0.05$).

Table 4 Phenolic contents and antioxidant activities of water soluble mulberry leaf tea powder

Tea infusion	Phenolic content (mg GAE/g sample)	Antioxidant activity (%)	Protocatechuic acid (mg/g sample)	Chlorogenic acid (mg/g sample)
Freeze drying mulberry leaf tea powder	4.19±0.71[a]	75.95±5.29[a]	1.20±0.21[a]	2.98±0.20[a]
Spray drying mulberry leaf tea powder	4.44±0.57[a]	77.91±3.11[a]	0.46±0.18[b]	4.36±0.31[a]

The data are expressed as mean ± standard deviation. Difference of [a, b] and [c] labeling represent significant different at 95 % confidence interval ($p < 0.05$).

หม่อนลวกก่อนอบแห้งมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องมาจาก protocatechuic acid เป็นผลิตภัณฑ์จากการสลาย ตัวของ quercetin ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในใบหม่อน (Buchner *et al.*, 2006) ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่ากรดคลอโรจีนิกเป็นกรดที่ละลายออกมามากที่สุดในน้ำชาที่ได้จากชาใบหม่อน ซึ่งกรดคลอโรจีนิกมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านเบาหวาน และลดไขมัน (Hunyadi *et al.*, 2012; Wen *et al.*, 2019) ซึ่งพบว่ามีปริมาณ 5.53 และ 4.41 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างแห้ง ในน้ำชาจากใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งตามลำดับ โดยกรดทั้ง 2 ชนิด ที่ได้จากการชงชาจากใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงให้เห็นว่ากรดฟีนอลิกทั้ง 2 ชนิด ที่ตรวจพบค่อนข้างคงตัวไม่สลายตัวง่ายด้วยความร้อน ทั้งนี้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในตัวอย่างใบหม่อนอบแห้งและใบหม่อนลวกก่อนอบแห้งในผลการวิจัยตอนต้นนั้นอาจเนื่องจากการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระบางตัว เช่น rutin (quercetin-3-*o*-rutinoside) อาจสลาย ตัวได้เป็น quercetin (Kalinova *et al.*, 2018) ซึ่งสลายตัวต่อเป็น protocatechuic acid (Buchner *et al.*, 2006) หรือผ่านกลไกการไฮโดรไลซีสของ เอสเทอร์หรือไกลโคไซด์ (Nayak *et al.*, 2015) ของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น ๆ

งานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาการแปรรูปชาใบหม่อนให้อยู่ในรูปชาผงใบหม่อนชนิดละลายน้ำ เพื่อความสะดวกในการบริโภค และด้วยใบหม่อนเป็นพืชที่เมื่อนำมาต้มหรือชงเป็นชาแล้วให้รสดี ไม่ขม จึงสามารถนำมาแปรรูปเป็นผงแม้กระทั่งใบสด โดยนำใบหม่อนสดมาสกัดด้วยน้ำและผสมสารสกัดกับ

มอลโตเดกซ์ตรินเพื่อเพิ่มปริมาณเนื้อสาร ทำให้เกิดความสะดวกในการทำแห้งและสะดวกในการนำไปบริโภค โดยได้ศึกษาเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งเปรียบเทียบกับเทคนิคการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีต่อสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แสดงผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4 การติดตามกรดฟีนอลิกหลัก ได้แก่ chlorogenic acid ด้วยเทคนิค HPLC ดังรูปที่ 6 และ 7 ซึ่งแสดงโครมาโทแกรมของกรดฟีนอลิกมาตรฐานและโครมาโทแกรมของชาผงใบหม่อน โดยพบว่าเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส และการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมขาเข้า 200 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิลมขาออก 85 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

4. สรุป

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดสำหรับสกัดใบหม่อนสดเพื่อให้ได้ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยใบหม่อนอบแห้งมีปริมาณฟีนอลิก

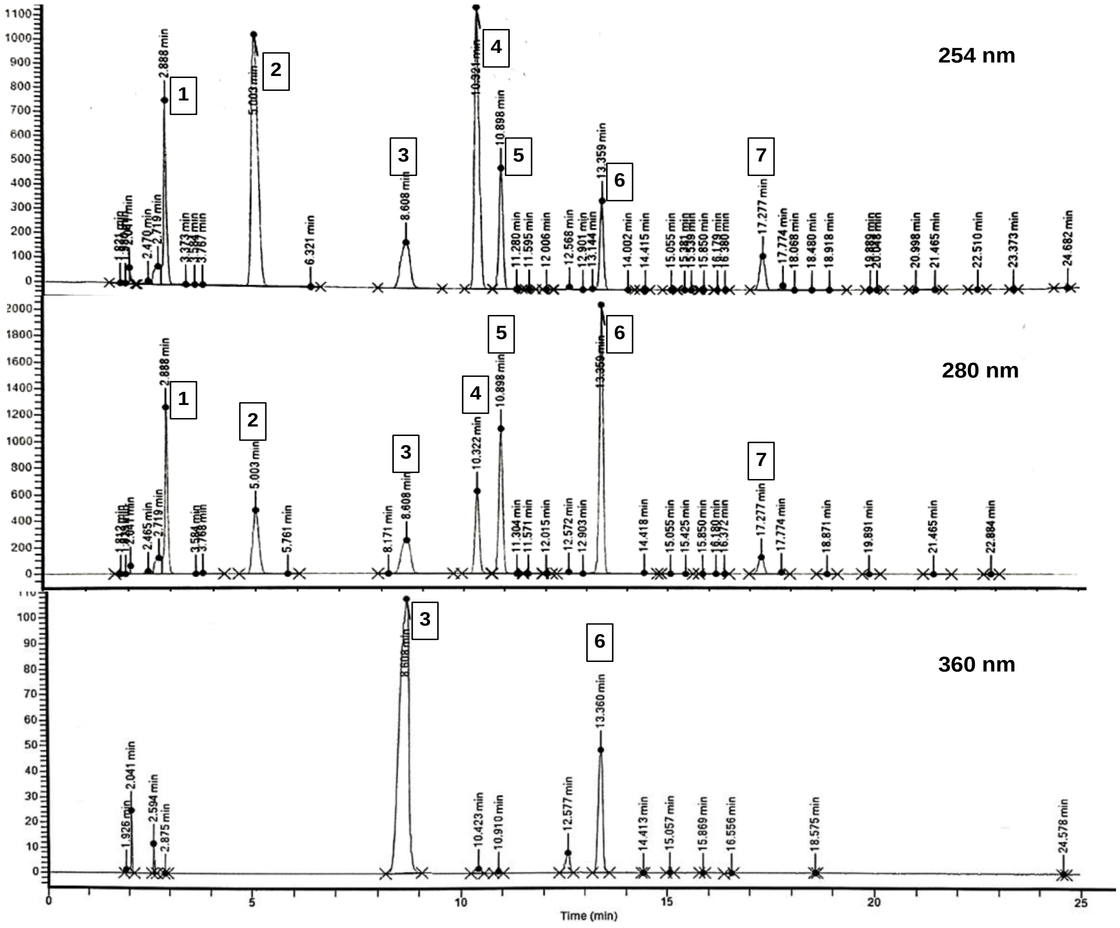

Figure 6 HPLC chromatogram of phenolic acid standards with detection at 254, 280 and 360 nm (1 = gallic acid, 2 = protocatechuic acid, 3 = chlorogenic acid, 4 = vanillic acid, 5 = syringic acid, 6 = *p*-coumaric acid, and 7 = benzoic acid)

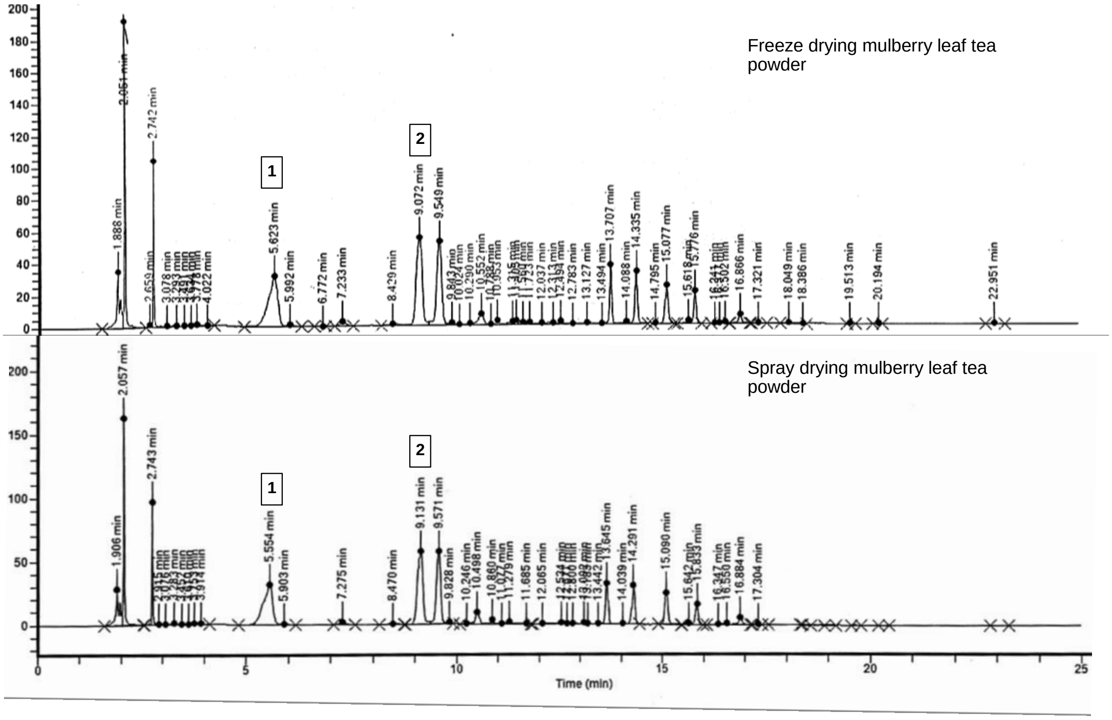

Figure 7 HPLC chromatogram of mulberry leaf tea powder with detection at 280 nm (1 = protocatechuic acid and 2 = chlorogenic acid)

ทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบหม่อนลวกก่อนอบแห้ง จึงมีผลทำให้น้ำชาที่ได้จากการชงชาใบหม่อนอบแห้งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำชาที่ได้จากการชงชาใบหม่อนที่ผ่านการลวกก่อนอบแห้ง

ใบหม่อนสดสามารถนำมาเตรียมเป็นชาผงใบหม่อนชนิดละลายน้ำโดยสกัดใบหม่อนสดและผสมกับมอลโตเดกซ์ตริน สามารถทำแห้งทั้งแบบเยือกแข็งและแบบพ่นฝอย ซึ่งให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่ามี chlorogenic acid ซึ่งเป็นกรดสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านเบาหวาน และลดไขมัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากกรดดังกล่าวมีสภาพคงตัวค่อนข้างสูง

5. รายการอ้างอิง

Bae, I.K., Ham, H.M., Jeong, M.H., Kim, D.H. and Kim, H.J., 2015, Simultaneous determination of 15 phenolic compounds and caffeine in teas and mate using RP-HPLC/UV detection: Method development and optimization of extraction process, Food Chem. 172: 469-475.

Banchobphutsa, Y., 2012, The efficacy of *Mous alba* leaf tea in patients with dyslipidemia, In Proceeding of the 6th Mae Fah Luang Annual Research Conference in Dermatology and Aesthetic Dermatology, Mae Fah Luang University, Chiang Rai.

Booranasuksakul, U., Rueangsri, N., Prasertsri, P. and Singhato, A., 2019, Effects of mulberry (*Morus alba*) leaf tea on blood glucose and satiety in healthy subjects, Srinagarind Med. J. 34: 237-242.

Buchner, N., Krumbein, A., Rohn, S. and Kroh, L.W., 2006, Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin, Rapid Commun. Mass Spectrom. 20: 3229-3235.

Deetae, P., Parichanon, P., Trakunleewatthana, P., Chanseetis, C. and Lertsiri, S., 2012, Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas, Food Chem. 133: 953-959.

Gong, Y., Liu, X., He, W.H., Xu, H.G., Yuan, F. and Gao, Y.X., 2012, Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue, Fitoterapia 83: 481-489.

Hunyadi, A., Martins, A., Hsieh, T.J., Seres, A. and Zupko, I., 2012, Chlorogenic acid and rutin play a major role in the *in vivo* anti-diabetic activity of *Morus alba* leaf extract on type II diabetic rats, PLoS ONE 7: 1-6.

Jongroysub, B., Harnnurak, A., Rakpong, N., Phuwang, M., Teerakul, S. and Riebroy, S., 2016, Effect of Packaging and Storage Times on Antioxidant Activity and Blood Sugar Level Reduction Properties of Mulberry Leave Tea Herb, The Queen Sirikit Department of Sericulture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok.

Kalinova, J.P., Vrchotova, N. and Triska, J., 2018, Contribution to the study of rutin stability in the achenes of Tartary buckwheat (*Fagopyrum tataricum*), Food Chem. 258: 314-320.

Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T. and Yamasaki, Y., 2009, Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves, Food Chem. 113: 964-969.

Nayak, B., Liu, R.H. and Tang, J.M., 2015, Effect of processing on phenolic antioxidants of fruits, vegetables, and grains: A review, Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 55: 887-918.

Park, E., Lee, S.M., Lee, J. and Kim, J.H., 2013, Anti-inflammatory activity of mulberry leaf extract through inhibition of NF-KB, J. Funct. Foods 5: 178-186.

Sánchez-Salcedo, E.M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F. and Martínez, J.J., 2015, (Poly)phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals, J. Funct. Foods 18: 1039-1046.

Sribuarod, K., 2009, Research and Development on Food and Beverage Production from Mulberry Project, The Queen Sirikit Department of Sericulture, Bangkok.

Tian, S., Tang, M. and Zhao, B., 2016, Current anti-diabetes mechanisms and clinical trials using *Morus alba* L., J. Tradit. Chin. Med. Sci. 3: 3-8.

Wen, P., Hu, T.G., Linhardt, R.J., Liao, S.T., Wu, H. and Zou, Y.X., 2019, Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology, Trends Food Sci. Technol. 83: 138-158.