

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การวิเคราะห์เชิงปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีในใบสดและใบหมักของชาอัสสัม (<i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i>) และฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
ผู้เขียน	นางสาว ภาสินี ไชยชนะ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เคมี)
คณะกรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นุชนิภา นันทะวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุนันทา วังกานต์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีสารระเหย สารประกอบฟีนอลิก และ แคฟเฟอีนในใบสด ใบนึ่ง ใบหมัก น้ำนึ่งและ น้ำหมัก ของชาอัสสัม (*Camellia sinensis* var. *assamica*) รวมทั้งประเมินปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และ ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

องค์ประกอบของน้ำมันระเหยของใบสด ใบนึ่ง และ ใบหมักของชาอัสสัม ได้จากการแยกและวิเคราะห์โดยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี มีองค์ประกอบทั้งหมด 130 ชนิด ที่สามารถระบุเอกลักษณ์โครงสร้างทางเคมีได้ องค์ประกอบกลุ่มหลักที่พบคือ สารประกอบแอลกอฮอล์ (30 ชนิด) คีโตน (18 ชนิด) และเอสเทอร์ (18 ชนิด) โดยสารระเหยหลักได้แก่ methyl palmitoleate, phytol, *trans*-linalool oxide (pyranoid), linalool, phenylethyl alcohol, methyl linolenate, methyl linoleate, β -ionone และ hexahydrofarnesyl acetone

การหาสถานะที่เหมาะสมของเทคนิค HPLC ได้แก่ ชนิดของคอลัมน์ อัตราส่วนผสมของเฟสเคลื่อนที่ และความยาวคลื่นที่ใช้ตรวจวัด พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้ง 8 ชนิด และแคฟเฟอีนสามารถแยกออกจากกันได้ภายในเวลา 90 นาที โดยใช้คอลัมน์ Wakosil-II 5C18 HG และ เฟสเคลื่อนที่ในระบบเกรเดียนต์ซึ่งประกอบด้วย 1% เอทิลแอซิเตตในสารละลายเมทานอล และน้ำที่มี 0.1% กรดฟอสฟอริกเป็นเฟสเคลื่อนที่ ณ อัตราการไหล 0.45 มิลลิลิตรต่อนาที และตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 270 นาโนเมตร ค่าขีดจำกัดของการตรวจวัดของกรดแกลลิก แกลโลคาเทชิน แคฟเฟอีน อีพิกัลโลคาเทชิน คาเทชิน อีพิกาทะชิน อีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต แกลโลคาเทชินแกลเลต และอีพิกาทะชินแกลเลต มีค่า 0.40, 0.11, 0.15, 0.26 และ 1.76 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

วิธีการที่ได้สามารถนำมาประยุกต์ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแคฟเฟอีนในตัวอย่างใบชาอัสสัม พบปริมาณกรดแกลลิก แกลโลคาเทชิน แคฟเฟอีน อีพิกัลโลคาเทชิน คาเทชิน อีพิกาเทชิน อีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต แกลโลคาเทชินแกลเลต และอีพิกาเทชินแกลเลตอยู่ในช่วง 0.123-0.368, 0.145-0.305, 0.079-0.625, 0.018-0.343, 0.209-0.494, 0.204-1.400, 0.034-16.976, 0.040-4.814 และ 0.070-15.357 mg/g DW ตามลำดับ สำหรับน้ำนิ่ง และน้ำหมัก (15, 30, 45, 60, 90, 120 และ 150 วัน) พบปริมาณกรดแกลลิก แกลโลคาเทชิน แคฟเฟอีน อีพิกัลโลคาเทชิน คาเทชิน อีพิกาเทชิน อีพิกัลโลคาเทชินแกลเลต แกลโลคาเทชินแกลเลต และอีพิกาเทชินแกลเลตอยู่ในช่วง 0.434-3.559, 0.228-0.396, 0.076-0.267, 0.027-0.081, 0.383-3.679, 0.388-3.424, 0.104-0.861, 0.059- 0.240 และ 0.008-0.210 mg/g DW ตามลำดับ

จากการหาปริมาณฟีนอลิกรวมของน้ำมันระเหย สารสกัดจากใบสด ใบนิ่ง ใบหมัก น้ำนิ่ง และน้ำหมัก พบว่า น้ำหมัก 30 วัน มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 644.04 ± 0.01 mgGAE/g DW ตามด้วย น้ำหมัก 120 และ 60 วัน ด้วยค่า 622.54 ± 0.03 และ 594.50 ± 0.03 mgGAE/g DW ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า สารสกัดจากใบนิ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงในการใช้วิธีทดสอบด้วย DPPH ที่ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ 50% มีค่าเท่ากับ 12.78 ± 0.01 พีพีเอ็ม ตามด้วย สารสกัดใบหมัก 15 วัน และ น้ำหมัก 150 วัน ด้วยค่า 13.18 ± 0.01 และ 14.61 ± 0.01 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ขณะที่น้ำหมัก 30 วันให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงในการใช้วิธีทดสอบด้วย FRAP

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากตัวทำละลายต่างๆ สารสกัดจากใบชา และน้ำหมัก พบว่าสารประกอบฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์เชิงบวกสูงอย่างมีนัยสำคัญกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ($r^2 = 0.716, 0.782, 0.704$ และ 0.576) และ FRAP ($r^2 = 0.854, 0.667, 0.735$ และ 0.982) นอกจากนี้พบว่าวิธี DPPH กับวิธี FRAP มีความสัมพันธ์เชิงบวกสูงอย่างมีนัยสำคัญ ($r^2 = 0.646, 0.677, 0.735$ และ 0.982) อีกด้วย

Thesis Title	Quantitative Analysis of Chemical Constituents in Fresh and Fermented Leaves of <i>Camellia sinensis</i> var. <i>assamica</i> and Their Antioxidant Activities	
Author	Ms. Pasinee Chaichana	
Degree	Master of Science (Chemistry)	
Advisory Committee	Asst. Prof. Dr. Nuchnipa Nuntawong	Advisor
	Asst. Prof. Dr. Sunanta Wangkarn	Co-advisor

ABSTRACT

In this research, the volatile constituents, phenolic acid and caffeine were determined in fresh leaves, steamed leaves, fermented leaves, steamed water and fermented water of Assam tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*). The total phenolic content and antioxidant activity were also evaluated.

The volatile oil of fresh, steamed and fermented leaves of Assam tea analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) technique. The result revealed 130 volatile constituents. The major of class compounds were alcohol (30 compounds), ketone (18 compounds), and ester (18 compounds). The major volatile components were methyl palmitoleate, phytol, (*Z*)-linalool oxide (pyranoid), linalool, phenylethyl alcohol, methyl linolenate, methyl linoleate, β -ionone and hexahydrofarnesyl acetone.

The chromatographic condition were column type, mobile phase composition and detection wavelength. Eight phenolic compounds and caffeine were separated within 90 min, using Wakosil-II 5C18 HG column in gradient elution system of 1% ethyl acetate in methanol and 0.1% phosphoric acid solution as the mobile phase with a flow rate of 0.45 mL/min and detection wavelength at 270 nm. The detection limits of gallic acid, galocatechin, caffeine, epigallocatechin, catechin, epicatechin, epigallocatechin gallate, galocatechin gallate and epicatechin gallate were 0.10, 2.45, 0.05, 0.75, 0.35, 0.55, 0.48, 0.75 and 0.23 ppm, respectively.

