

**ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาชงชาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโธไซยานิน
และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่ว**
**Effects of Temperature and Brewing Time on Phenolic Compounds,
Anthocyanin Content, and Antioxidant Activity in
Luem Phua Black Sticky Rice Tea**

พายุ พันธสารคาม¹, ณัฐศักดิ์ กองแก้ว², วิโรจน์ เกสรบัว², ปรียานุช ลาขุนทด^{2*}
Payu Pansarakham¹, Natthasak Kongkaew², Wirot Kesonbua², Preeyanuch Lakhunthod^{2*}

¹ศูนย์ศึกษาค้นคว้าวิจัยและห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

¹Research Center and Central Laboratory, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University

²ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี

²Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University

บทคัดย่อ

ข้าวเหนียวดำเป็นข้าวที่เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีดำหรือม่วงเข้มจากสารแอนโธไซยานิน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ปัจจุบันมีการแปรรูปข้าวเหนียวดำเป็นชาเพื่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามการชงชาแต่ละชนิดมีอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการชงชาข้าวเหนียวดำต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิของน้ำเริ่มต้น 50, 70 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5, 10 และ 20 นาที วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารแอนโธไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu, pH differential และ DPPH assay ตามลำดับ พบว่าการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิ 70 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (368 – 387 mg GAE/100 g DW) ปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมด (14.1 – 16.7 mg CGE/100 g DW) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ 80) สูงสุด ดังนั้นอุณหภูมิของน้ำเริ่มต้น 70 - 90 องศาเซลเซียส 20 นาที จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วเพื่อให้เป็นประโยชน์สูงสุดสำหรับผู้บริโภคชาข้าวเหนียวดำ

คำสำคัญ: ข้าวเหนียวดำลิ้มผั่ว แอนโธไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก ชาข้าว

Abstract

The aleurone layer of black sticky rice exhibits a black or deep purple color due to anthocyanin, which are antioxidants beneficial to consumer health. In recent years, black sticky rice is processed into rice tea for health purposes. However, each type of tea require specific optimal brewing temperatures and durations. This research aimed to investigate the effect of temperature and brewing duration on the contents of phenolic compounds, anthocyanins, and antioxidant activity in black sticky rice tea. Luem Phua black sticky rice was brewed at initial water temperatures of 50, 70, and 90°C for 5, 10, and 20 minutes. Total phenolic content, total anthocyanin content, and antioxidant activity were analyzed using the Folin-Ciocalteu, pH differential, and DPPH methods, respectively. The results indicated that brewing at 70 and 90°C for 20 minutes resulted in the highest total phenolic content (368 – 387 mg GAE/100 g DW), total anthocyanin content (14.1 – 16.7 mg CGE/100 g DW), and antioxidant activity (80%). Therefore, the optimal brewing conditions for Luem Phua black sticky rice tea to maximize its health benefits are an initial water temperature of 70–90°C with a brewing time of 20 minutes.

Keywords: Luem Phua black sticky rice, Anthocyanin, Phenolic compound, Rice tea

1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นธัญพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจในหลายประเทศทั่วโลก มีการปลูกข้าวมากกว่า 100 ประเทศซึ่งให้ผลผลิตประมาณ 500 ล้านตันข้าวเปลือก (Tagliapietra et al., 2024) โดยเฉพาะในเอเชีย ข้าวถือเป็นพืชอาหารหลักและแหล่งพลังงานสำคัญ ปัจจุบัน การบริโภคข้าวในรูปแบบอาหารหลักมีสองประเภทหลัก ได้แก่ ข้าวกล้องและข้าวขัดขาว ซึ่งผ่านกระบวนการขัดเอารำข้าวออกอย่างไรก็ตามรำข้าว นับเป็นส่วนที่มีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคมากกว่าข้าวขัดขาวซึ่งมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 90 และข้าวกล้องยังมีปริมาณไฟเบอร์ วิตามินบี และสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขัดขาว โดยองค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต ไฟเบอร์ โปรตีน ไขมัน และเถ้า ร้อยละ 73.2 – 74.1, 10.1 – 11.8, 8.1 – 10.5, 1.8 – 2.5 และ 1.1 – 1.2 ตามลำดับ และยังประกอบด้วยธาตุอาหารหลายชนิด ได้แก่ แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส แคลเซียม เหล็ก สังกะสี ทองแดง และแมงกานีส (Tagliapietra et al., 2024) นอกจากนี้ข้าวสีซึ่งเป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีดำ สีม่วง สีแดง หรือสีแดง-ดำ เนื่องจากมีแอนโทไซยานินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเป็นส่วนประกอบ (Misuna et al., 2022) และมีปริมาณสารพฤกษเคมีสูง (Kammappana, 2023) ดังนั้นการบริโภคข้าวกล้องจึงเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้นสำหรับคนรักสุขภาพ

สารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและลดสภาพเครียดออกซิเดชันเพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารชีวโมเลกุลภายในเซลล์ (Misuna et al., 2022) เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุการเกิดสภาพเครียดออกซิเดชัน โดยมีรายงานการเกิดสภาพเครียดออกซิเดชันสัมพันธ์กับการเกิดโรคใดที่เกี่ยวข้องกับภาวะเบาหวานจากการกินอาหารที่มีไขมันสูง (Laorodphun et al., 2021) สารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม ประกอบด้วย กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สตีลบิน และลิกนินและพอลิเมอร์ของลิกนิน (ลือชัย บุตคุป, 2555) โดยมีความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระด้านการอักเสบ ป้องกันการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดและหัวใจ (Misuna et al., 2022) ในพืชจะพบสารประกอบฟีนอลิกได้ในส่วนต่าง ๆ เช่น ใบ ดอก ผล เมล็ด เปลือกของต้นหรือเปลือกของผล เป็นต้น โดย พืชชัย ปีนาค และ สุภาพร พงศ์รพฤกษ์ (2566) สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกขององุ่นและพบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบ ข้าว ซึ่งเป็นอาหารหลักของคนไทย มีสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดในส่วนเยื่อหุ้มเมล็ด โดยเฉพาะในข้าวสี ซึ่งมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขาว ฟลาโวนอยด์สามารถลดความเสี่ยงการเกิดโรคเรื้อรังที่เกิดจากการอักเสบ และสภาพเครียดออกซิเดชัน และแอนโธไซยานินซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่งพบมากในข้าวสี และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สูง น่าจะสามารถป้องกันการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องหัวใจ ด้านการอักเสบ ด้านเบาหวาน และด้านสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (Chen et al., 2017)

ข้าวสีที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองซึ่งมีหลายสายพันธุ์ เช่น ข้าวเหนียวดำลิ้มผัว ข้าวกำแป ข้าวเหนียวดำหอมภูเขียว ข้าวกำพะเยา ข้าวกำดอยสะเก็ด ข้าวกำเกลี้ยง (พรพาชื่น ชูเชิด และคณะ, 2560) ข้าวหอมด้าสุโขทัย ข้าวหอมแดงสุโขทัย ข้าวหอมอิน ข้าวหอมนิลจักรพรรดิ เป็นต้น (Rattanachaisit & Kongkiattikajorn, 2015) โดยข้าวเหนียวดำลิ้มผัวเป็นข้าวที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH (Peanparkdee et al., 2019; อภิรดา พรปณณวิชญ์, 2565; พรพาชื่น ชูเชิด และคณะ, 2560) นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแอนโธไซยานินรวมสูง (Peanparkdee et al., 2019; จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์ และคณะ, 2564) ข้าวเหนียวดำลิ้มผัวยังเป็นข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง นอกจากจะมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงแล้วยังประกอบด้วย วิตามินบี 1 – 2 วิตามินอี แกมมา-โอไรซานอล กรดไขมันสังกะสี เหล็ก แมงกานีส และแคลเซียม (อภิรดา พรปณณวิชญ์, 2565) ข้าวสีจึงได้รับความนิยมนำไปพัฒนาและแปรรูปเป็นอาหารฟังก์ชัน (Yamuangmorn & Prom-u-Thai, 2021)

ชาข้าวกำเป็นอีกผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยม เช่น ชาใบข้าวกำ (วชิระ จิระรัตนรังสี และ ปิยะพร บุตรพรม, 2560) ชาข้าวเหนียวลิ้มผัว และชาข้าวเหนียวลิ้มผัวผสมไหมข้าวโพดม่วง (อภิรดา พรปณณวิชญ์, 2565) เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการชงชาเพื่อให้ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงจะมีปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องนอกจากชนิดของชา คือ อุณหภูมิและระยะเวลาในการชงชา (Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik, 2024; Uthai, 2021; จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2561) ข้อมูลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผัวเพื่อให้ได้รับสารต้านอนุมูลอิสระสูง โดยเฉพาะสารแอนโธไซยานินซึ่งพบมากในข้าวเหนียวดำยังมีน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผัวเพื่อจะเป็นประโยชน์สำหรับกลุ่มผู้บริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการงาข้าวเหนียวดำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารแอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

3. วิธีดำเนินการวิจัย

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยนี้ประกอบด้วย เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer, รุ่น GENESYS 10S, ยี่ห้อ Thermo, ประเทศสหรัฐอเมริกา), เครื่องพีเอชมิเตอร์ (pH Meter, ยี่ห้อ Index, ประเทศไทย), ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven, ยี่ห้อ Memmert, ประเทศเยอรมนี), เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่งทศนิยม (Analytical Balance, รุ่น BSA224S-CW, ยี่ห้อ Sartorius, ประเทศเยอรมนี) และไปเปตปรับปริมาตร (Micropipette, ยี่ห้อ Thermo, ประเทศสหรัฐอเมริกา)

สารเคมีที่ใช้ประกอบด้วย โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) (Merck, เยอรมนี), Folin-Ciocalteu reagent (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), โซเดียมอะซิเตต (CH_3COONa) (Merck, เยอรมนี), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา), เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) (Merck, เยอรมนี) และน้ำกลั่น (Distilled Water, DW) ที่ผลิตขึ้นในห้องปฏิบัติการ

การเตรียมตัวอย่าง

นำเมล็ดข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วซึ่งเป็นข้าวใหม่ปี 2567 จากศรีนวลฟาร์ม จังหวัดเชียงราย มาทำความสะอาดและอบที่อุณหภูมิ 55°C นาน 20 ชั่วโมง เตรียมน้ำชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วด้วยการแช่เมล็ดข้าวในน้ำที่อุณหภูมิและเวลาต่างกันดังตารางที่ 1 โดยใช้ข้าว 10 กรัม แช่น้ำที่มีอุณหภูมิเริ่มต้น 50, 70 และ 90°C ปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนครบเวลา

ตารางที่ 1 การเตรียมน้ำชาจากข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำลิ้มผั่ว

Treatments	Temperature ($^\circ\text{C}$)	Time (min)
50-5	50	5
50-10	50	10
50-20	50	20
70-5	70	5
70-10	70	10
70-20	70	20
90-5	90	5
90-10	90	10
90-20	90	20

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC)

วิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจาก ชัยญูรินทร์ สมพร และคณะ (2563) นำตัวอย่างน้ำชาข้าวเหนียวดำลิ้มฟัวปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 นาที แล้วเติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ และแสดงค่า TPC ในหน่วย มิลลิกรัมสมมูล gallic acid ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/100 g DW)

การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content, TAC)

วิเคราะห์ด้วยวิธี pH differential ดัดแปลงจาก Kammaphana (2023) นำตัวอย่างน้ำชาข้าวเหนียวดำ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางเป็น 10 เท่า ด้วยสารละลาย 25 mM KCl (pH 1.0) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร และเจือจางตัวอย่างน้ำชาเป็น 10 เท่า ด้วยสารละลาย 400 mM CH_3COONa (pH 4.5) แล้วนำสารละลายทั้งสองค่า pH ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 513 (A_{513}) และ 700 (A_{700}) นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ และคำนวณค่า TAC ตามสมการที่ 1 โดยแสดงค่าในหน่วย มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง (mg/100 g DW)

$$\text{TAC} = \frac{(A_{\text{pH } 1.0} - A_{\text{pH } 4.5}) \times \text{MW} \times \text{DF} \times 100}{\epsilon \times l} \quad (1)$$

โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ $A_{513} - A_{700}$
MW = มวลโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside เท่ากับ 449.2 g/mol
DF = dilution factor
 ϵ = ค่า molar extinction coefficient ของ cyanidin-3-glucoside เท่ากับ 26,900 L/mol cm
l = ระยะทางที่แสงเดินทางผ่านสารละลายตัวอย่าง เท่ากับ 1 cm

การวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging)

วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ดัดแปลงจาก Kammaphana (2023) นำตัวอย่างน้ำชาปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย 0.1 mM DPPH ในเมทานอล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ตั้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 40 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ และคำนวณร้อยละการต้านอนุมูลอิสระตามสมการที่ 2 (อภิตา พรปัญญา, 2565)

$$\text{Radical scavenging (\%)} = [1 - (A_s - A_c)] \times 100 \quad (2)$$

โดยที่ A_s = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (sample)
 A_c = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (control) ใช้เอทานอลแทนตัวอย่าง

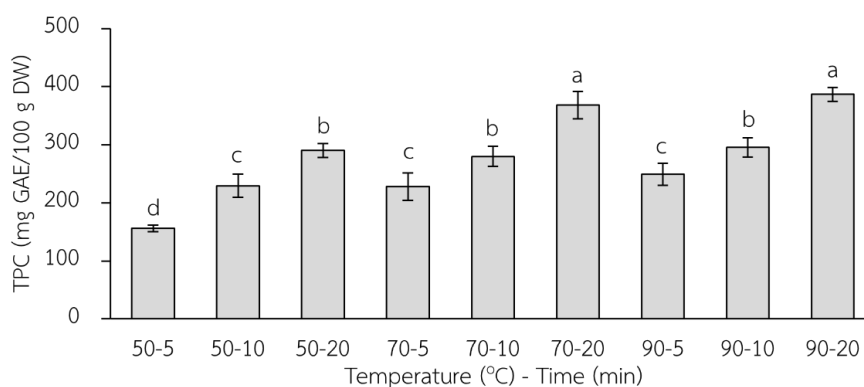
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างกันและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างวิธีการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วด้วย One-way ANOVA และ Duncan's multiple range test (DMRT) ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS version 28.0 และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามด้วย Pearson's correlation

4. ผลการวิจัย

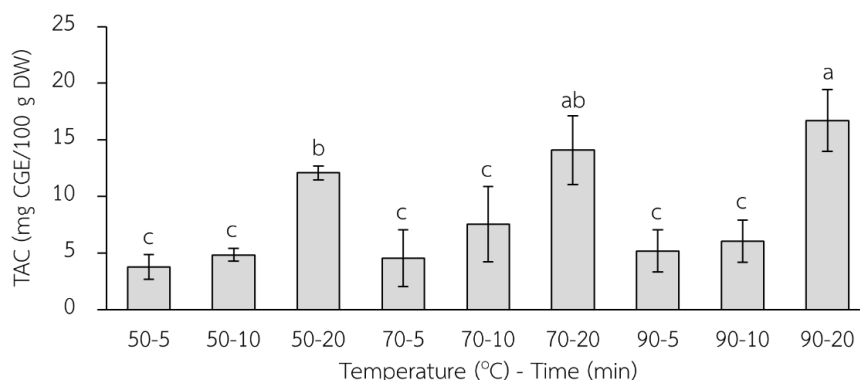
การชงชาเพื่อให้ได้รับประโยชน์จากสารต้านอนุมูลอิสระเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและระยะเวลาในการชง (Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik, 2024; Uthai, 2021) โดยทั่วไปการชงชามักใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่หลากหลาย เช่น 60 – 100 °C เป็นระยะเวลา 5 – 15 นาที (จตุพร ประทุมเทศ และคณะ, 2564) 70 – 100 °C เป็นระยะเวลา 5 – 15 นาที (Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik, 2024) และ 70 – 98 °C เป็นระยะเวลา 1 – 15 นาที (Uthai, 2021) และน้ำอุ่นที่นิยมใช้ชงชาจะมีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 50 – 60 °C ในงานวิจัยนี้จึงเปรียบเทียบอุณหภูมิเริ่มต้น 50, 70 และ 90 °C และเวลา 5, 10 และ 20 นาที ในการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่ว และวิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารแอนโธไซยานินทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ตามภาพที่ 1 พบว่าการชงชาที่ 90 °C เป็นระยะเวลา 20 นาที (90-20) และ 70 °C เป็นระยะเวลา 20 นาที (70-20) ให้ TPC เท่ากับ 387 ± 12 และ 368 ± 23 mg GAE/100 g DW ตามลำดับ ซึ่งสูงที่สุดในงานวิจัยนี้ตามด้วยการต้มชาที่สภาวะ 90-10, 50-20, 70-10, 90-5, 50-10 และ 70-5 และน้อยสุดที่ 50-5 (°C - min) ที่ระยะเวลาเดียวกันพบว่าอุณหภูมิ 70 – 90 °C ให้ TPC สูงกว่าการชงชาที่ 50 °C อย่างมีนัยสำคัญ และที่อุณหภูมิเดียวกัน การชงชาที่ระยะเวลา 20 นาที จะมี TPC สูงกว่า 10 นาที และ 5 นาที



ภาพที่ 1 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ของชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่ชงด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างกัน ตัวอักษร (a, b, c) ที่ต่างกันบนกราฟแต่ละแท่งแสดงความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

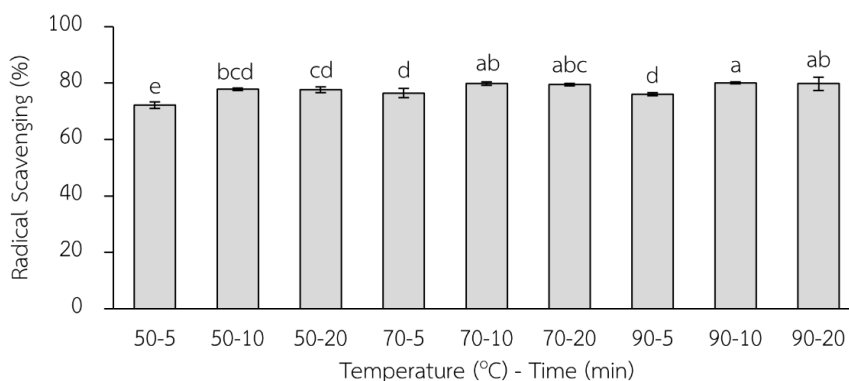
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโธไซยานินรวม (TAC) ตามภาพที่ 2 พบว่าการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่ว ที่ 70 และ 90 °C ที่ระยะเวลา 20 นาที ให้ TAC ไม่แตกต่างกัน เท่ากับ 14.1 ± 3.0 และ 16.7 ± 2.7 mg CGE/100 g DW ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าการชงชาที่สภาวะอื่น ๆ โดยระยะเวลาการชงชาเดียวกันพบว่าอุณหภูมิ 70 และ 90 °C ที่ระยะเวลา 20 นาที จะให้ TAC สูงไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ 50 °C ต่ำกว่า 90 °C อย่างมีนัยสำคัญ และที่อุณหภูมิเดียวกันพบว่า การชงชา 20 นาที จะให้ TAC สูงกว่า 10 และ 5 นาที อย่างมีนัยสำคัญ โดยการชงชาที่ระยะเวลา 5 หรือ 10 นาที ที่ 50, 70 และ 90 °C ให้ TAC ไม่ต่างกัน



ภาพที่ 2 ปริมาณสารแอนโธไซยานินทั้งหมด (TAC) ของชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่ชงด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างกัน ตัวอักษร (a, b, c) ที่ต่างกันบนกราฟแต่ละแท่งแสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของทุกสภาวะการชงชาอยู่ในระดับร้อยละ 72 – 80 ดังภาพที่ 3 การชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่ระยะเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 70 และ 90 °C มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้สูงสุด (ร้อยละ 80) ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสูงกว่าการชงชาที่ 50 °C (ร้อยละ 78) เมื่อชงชาที่ระยะเวลา 10 และ 5 นาที ให้ผลการทดลองเหมือนกับการชงที่ระยะเวลา 20 นาที โดยอุณหภูมิ 50 °C ที่ระยะเวลา 5 นาที มีการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับร้อยละ 72 ซึ่งต่ำที่สุดในการวิจัย

จากตารางความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามทีวิเคราะห์ได้ในตารางที่ 3 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging) มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า TPC (0.765) และ TAC (0.488) อย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 3 กราฟการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ของชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่ชงด้วยอุณหภูมิและเวลาต่างกัน ตัวอักษร (a, b, c) ที่ต่างกันบนกราฟแต่ละแท่งแสดงความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 2 ความสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation) ระหว่าง TPC, TAC และ radical scavenging

	TPC	TAC	Radical scavenging
TPC	1		
TAC	0.836**	1	
Radical scavenging	0.765**	0.488**	1

หมายเหตุ: สัญลักษณ์ ** แสดงถึงระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ระดับร้อยละ 99

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

เมื่อพิจารณาที่ระยะเวลาการเดียวกันในการชงจะพบว่าอุณหภูมิ 70 – 90 °C ให้ TPC สูงกว่าการชงชาที่อุณหภูมิ 50 °C อย่างมีนัยสำคัญ และที่อุณหภูมิเดียวกัน การชงชาเป็นระยะเวลา 20 นาที จะมี TPC สูงกว่า 10 นาที และน้อยสุดที่ 5 นาที แสดงว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการชงชาข้าวเหนียวดำเวลามีผลต่อปริมาณ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Uthai (2021) ที่พบ TPC ในชาใบข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ Damgatondam ที่ต้มชา 98 °C สูงกว่า 70 °C และชงชาเป็นระยะเวลา 15 นาที สูงกว่า 1 – 11 นาที นั่นคือระยะเวลาการสกัดและอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้ได้ TPC เพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามการชงชาที่อุณหภูมิสูงกว่า 90 °C อาจจะทำให้ได้ TPC ไม่ต่างกันหรืออาจจะต่ำกว่า ซึ่งในงานวิจัยนี้ ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นอุณหภูมิเริ่มต้น ถ้าใช้อุณหภูมิคงที่ตลอดเวลาการชงอาจจะทำให้ TPC ลดลง เนื่องจากการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิก โดยปริมาณ TPC จากตัวอย่างพืชจะลดลงเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิสูงกว่า 100 °C โดยทั่วไปการสกัดในช่วงอุณหภูมิ 60-80 °C จะให้ TPC ในระดับสูง (Antony and Farid, 2022) จตุพร ประทุมเทศ และคณะ (2564) ศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการชงชาดอกอัญชัน พบว่าที่อุณหภูมิ 80 °C ให้ปริมาณ TPC สูงกว่า 100 °C ดังนั้น

ในงานวิจัยนี้ การชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิ 70 - 90 °C เป็นเวลา 20 นาทีจะได้ TPC สูงสุด และชาจากเมล็ดข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วยังให้ปริมาณ TPC สูงกว่าชาใบข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ Damgatondam ที่ต้มชาที่อุณหภูมิ 98 °C เป็นเวลา 15 นาที (Uthai, 2021)

ในการวิจัยนี้เมื่อชงชาที่เวลาเท่ากันพบว่าอุณหภูมิ 70 และ 90 °C นาน 20 นาที จะให้ TAC สูงไม่แตกต่างกัน ในขณะที่อุณหภูมิ 50 °C ให้ค่า TAC ไม่ต่างจาก 70 °C แต่น้อยกว่า 90 °C อย่างมีนัยสำคัญ การชงชาที่อุณหภูมิเดียวกันแต่เวลาด่างกันพบว่าเวลาชงชา เป็นเวลา 20 นาที จะให้ TAC สูงกว่า 10 และ 5 นาที อย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่าการชงชาที่อุณหภูมิ 70 หรือ 90 °C เป็นเวลา 20 นาที จะมี TAC ละลายออกมาสูงสุดในงานวิจัยนี้ ซึ่งระยะเวลาการชงชาจะมีผลต่อ TAC ที่จะได้รับซึ่งคล้ายกับผลการศึกษาของ Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik (2024) ได้เปรียบเทียบระยะเวลา 5, 10 และ 15 นาที สำหรับชงชาหลายชนิด พบว่าเวลา 15 นาที ให้ค่า TAC สูงกว่า 10 และ 5 นาที นั่นคือระยะเวลาการชงชาที่มากขึ้นที่ระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมจะทำให้ได้ TAC สูง นอกจากนี้มีรายงานอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการสกัดแอนโธไซยานินจากผิวองุ่นแดงแห้งจะอยู่ในช่วง 80 – 100 °C ซึ่งให้ค่า TAC สูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 120 °C (Ju and Howard, 2003) ซึ่งในงานวิจัยนี้พบว่าเวลาชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิเริ่มต้น 90 °C จะให้ TAC สูงสุด

การชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิ 70 – 90 °C เป็นเวลา 10 – 20 นาที จะได้รับชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง คล้ายกับผลการศึกษาของ Winiarska-Mieczan & Baranowska-Wójcik (2024) เมื่อชงชาที่อุณหภูมิ 75 – 100 °C ตามชนิดของชา พบว่าระยะเวลาการชง 10 และ 15 นาที ค่าการต้านอนุมูลของ DPPH ไม่ต่างกัน นอกจากนี้ จตุพร ประทุมเทศ และคณะ (2561) รายงานการชงชาดอกอัญชันที่ระยะเวลา 10 และ 15 นาที ที่อุณหภูมิ 80 °C ให้ค่าการต้านอนุมูลของ DPPH สูงกว่าการชงที่อุณหภูมิเดียวกัน นาน 5 นาที นั่นคือการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วที่อุณหภูมิ 70 °C เป็นเวลา 10 นาทีก็เพียงพอที่จะให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH สูงสุดในงานวิจัยนี้

สำหรับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging) ที่พบในงานวิจัยนี้มีผลจากการมีค่า TPC และ TAC ที่สูง ซึ่งสามารถอธิบายได้จากความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามทีวิเคราะห์ที่ได้ตั้งตารางที่ 3 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า TPC (0.765) และ TAC (0.488) อย่างมีนัยสำคัญ โดย TPC มีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่า TAC เนื่องจากความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับ TPC มีค่าสูงกว่าความสัมพันธ์กับ TAC นอกจากนี้อุณหภูมิเริ่มต้นในการชงชาที่สูง (90 °C) อาจจะทำให้มีการสลายของแอนโธไซยานินบางชนิด ซึ่งแอนโธไซยานินจะมีความไวต่ออุณหภูมิสูงมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกอื่น (Antony and Farid, 2022) โดยเมล็ดข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วยังมีสารประกอบฟีนอลิกชนิดอื่น ๆ นอกจากแอนโธไซยานิน ที่น่าจะส่งผลต่อการมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูง เช่น gallic acid, vanillic acid, syringic acid, *p*-coumaric acid, ferulic acid, quercetin genistein (Misuna et al., 2024), protocatechuic acid, sinapic acid, rutin และ mycetin (Peanparkdee et al., 2019)

จากงานวิจัยนี้จะพบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาการชงชาข้าวเหนียวดำลิ้มผั่วมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารแอนโธไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยการชงชาที่อุณหภูมิเริ่มต้น 70 –90 °C

ระยะเวลา 20 นาที จะให้ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารแอนโทไซยานินสูงที่สุด และการชงชาที่ 70 – 90 °C นาน 10 – 20 นาที จะได้น้ำชาที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระดับที่สูง ดังนั้นเพื่อให้ได้น้ำชาข้าวเหนียวดำลิ้มพัวที่มีสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงควรชงชาที่อุณหภูมิเริ่มต้น 70 °C ขึ้นไป เป็นเวลา 20 นาที นอกจากนี้เพื่อให้ได้น้ำชาที่มีรสชาติของการทานชาร้อนหลังการชงนาน 20 นาที ควรชงชาที่อุณหภูมิเริ่มต้น 90 °C อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในชาข้าวเหนียวดำลิ้มพัวที่ผ่านการเก็บไว้ที่อุณหภูมิและระยะเวลาหรือสภาวะการเก็บที่แตกต่างกัน เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณและฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับการเก็บรักษาชาในสภาวะที่เหมาะสมให้คงคุณค่าทางอาหาร

6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนสารเคมี อุปกรณ์ และสถานที่ในการทำงานวิจัย

7. เอกสารอ้างอิง

- จตุพร ประทุมเทศ, จักรกฤษณ์ สุรสอน, ทิพยมนตร์ เปาป่า, และ จารุวรรณ ดรเถื่อน. (2561). ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการชงชาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในชาดอกอัญชัน. *วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก*, 16(3), 372-379. <https://thaidj.org/index.php/JHS/article/download/8332/7668>
- จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์, ขวัญจิตร อิสระสุข, ปิยนุช พรหมภมร, นิศานา อิ่มเสถียร, ณัฏฐรัตน์ ศรีบุรินทร์, นเรศ บางศิริ, และ กัลยาภรณ์ จันตรี. (2564). ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 26(2), 1345-1363. <https://journal.lib.buu.ac.th/index.php/science/article/view/7480>
- ชัยณรินทร์ สมพร, เจษฎา อุณาภาค, และ สิทธิพงษ์ สิทธิราช. (2563). ผลของอายุเก็บเกี่ยวและกรรมวิธีการปรุงสุกที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวโพดข้าวเหนียวข้าวกำหวาน เบอร์ 5. *การเกษตรราชภัฏ*, 19(2), 38-47. <https://search.tci-thailand.org/author.html?b3BlbkF1dGhvcjZpZD00NDI1NDgmYXU0aWNsZV9pZD02MDQ5NjY>
- พัทธชัย ปิ่นนาค และ สุภาพร พงศ์ธรพฤกษ์. (2566). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนเหนือของลองกอง (*Lansium domesticum* Corr.) ในจังหวัดอุดรดิตถ์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*, 15(22), 131-144. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/JSTNSRU/article/view/248158>
- พรพาศน์ ชูเชิด, ศิริพร เรียบร้อย คิม, และ อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ. (2560). การเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญในข้าวเหนียวดำ 6 สายพันธุ์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มทร. ธัญบุรี*, 7(2), 271-279. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/past/article/download/243092/164952>

- ลือชัย บุตุคุป. (2555). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม*, 31(4), 443-455. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/JSMU/10888192.pdf>
- วชิระ จิระรัตนรังสี และ ปิยะพร บุตรพรหม. (2560). ผลของกระบวนการแปรรูปที่แตกต่างกันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณแอนโธไซยานิน ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และการยอมรับจากผู้บริโภคของผลิตภัณฑ์ข้าวเจ้า. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, 9(17), 91-103. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/swujournal/article/view/93892>
- อภิรดา พรปัญญาวิชัย. (2565). เครื่องดื่มผงเพื่อสุขภาพจากข้าวเหนียวลิ้มผัวและไหมข้าวโพดสีม่วง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์*, 14(20), 1-14. <https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/JSTNSRU/article/view/244794>
- Antony, A., & Farid, M. (2022). Effect of temperatures on polyphenols during extraction. *Applied Sciences*, 12(4), 2107. <https://doi.org/10.3390/app12042107>
- Chen, M-H., McClung, A. M., & Bergman, C. J. (2017). Phenolic content, anthocyanins and antiradical capacity of diverse purple bran rice genotypes as compared to other bran colors. *Journal of Cereal Science*, 77, 110-119. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.07.010>
- Ju, Z. Y., & Howard, L. R. (2003). Effects of solvent and temperature on pressurized liquid extraction of anthocyanins and total phenolics from dried red grape skin. *Journal of Agriculture and Food chemistry*, 51(18), 5207-5213. <https://doi.org/10.1021/jf0302106>
- Kammapana, L. (2023). Physical characteristics, phytochemical contents and antioxidant activity of ten organic-pigmented rice varieties from Surin Province. *Trends in Sciences*, 20(4), 4566. <https://doi.org/10.48048/tis.2023.4566>
- Laorodphun, P., Arjinajarn, P., Thongnak, L., Promsan, S., Swe, M. T., Thitisut, P., Mahathreeranont, S., Jaturasitha, S., & Lungkaphin, A. (2021). Anthocyanin-rich fraction from black rice, *Oryza sativa* L. var. indica “Luem Pua”, bran extract attenuates kidney injury induced by high-fat diet involving oxidative stress and apoptosis in obese rats. *Phytoterapy Research*, 35(9), 5189-5202. <https://doi.org/10.1002/ptr.7188>
- Misuna, S., Dedchaisong, O., Ratchamee, P., Phooklung, S., & Srichana, N. (2022). Bioactive compounds, free radical scavenging activity and xanthine oxidase inhibitory activity from local pigmented rice extracts of Loei Province. *Naresuan University Journal: Science and Technology*, 30(2), 110-128. <https://doi.org/10.14456/nujst.2022.20>

- Peangparkdee, M., Patrawart, J., & Iwamoto, S. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity of bran extracts from Thai rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 86, 86-91. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.01.011>
- Rattanachaisit, P., & Kongkiattikajorn, J. (2015). Antioxidative activities of bran extracts from pigmented rice cultivars. *Isan J. Pharm. Sci*, 10, 33-42. <https://he01.tci-thaijo.org/index.php/UJPS/article/view/39714>
- Tagliapietra, B. L., Soares, C. F., & Clerici, M. T. P. S. (2024). Rice (*Oryza sativa* L.) and its products for human consumption: general characteristics, nutritional properties, and types of processing. *Food Science and Technology*, 44, 1-7. <https://doi.org/10.5327/fst.00292>
- Uthai, N. (2021). Effects of temperature, steeping time and particle size used in infusion brewing on total phenolic content and antioxidant activity of tea produced from young upland rice leaves. *African Journal of Food, Agriculture, Nutrition and Development*, 21(02), 17477-17491. <https://doi.org/10.18697/ajfand.97.20150>
- Winiarska-Mieczan, A. & Baranowska-Wójcik, E. (2024). The effect of brewing time on the antioxidant activity of tea infusions. *Applied Sciences*, 14(5), 2104. <https://doi.org/10.3390/app14052014>
- Yamuangmorn, S. and Prom-u-Thai, C. (2021). The potential of high-anthocyanin purple rice as a functional ingredient in human health. *Antioxidants*, 10(6), 833. <https://doi.org/10.3390/antiox10060833>