

การหาปริมาณสารพฤกษเคมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
และแร่ธาตุจากใบถั่วดาวอินคา

THE DETERMINATION OF PHYTOCHEMICAL CONTENT,
ANTIOXIDANT ACTIVITY, AND MINERAL FROM
THE *PLUKENETIA VOLUBILIS* L. LEAVES

เสาวภา ชูมณี* และ รุจิรา คุ่มทรัพย์

Saowapa Chumanee* and Ruchira Khoomsab

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

Chemistry Program, Faculty of Science and Technology, Phetchabun Rajabhat University

*corresponding author e-mail: saowapa@pcru.ac.th

(Received: 28 April 2020; Revised: 28 May 2020; Accepted: 29 May 2020)

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสารพฤกษเคมีบางชนิด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุจากใบถั่วดาวอินคาที่ระยะต่างๆ กัน (ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่) โดยสกัดปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ ด้วย 80% อะซิโตน นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 510 645 และ 663 nm ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH free radical scavenging และแร่ธาตุด้วยเทคนิคเพลมอะตอมมิกแอบซอร์พชันสเปคโตรโฟโตเมทรี จากการศึกษาพบว่า มีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ มากที่สุดในใบแก่ที่เก็บในช่วงเวลาเย็น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2.43 0.91 3.34 และ 1.04 mg/g ของใบสด ตามลำดับ โดยในใบสด (ใบแก่) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 221.46 mgGA/g ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2.17 $\mu\text{mol Trolox/g}$ มีปริมาณแร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี มีค่าเท่ากับ 616.4 97.59 และ 1.25 mg/100g ของใบสด ตามลำดับ ผลิตกัณฑ์ใบชาถั่วดาวอินคา ใบกลางผสมกับใบแก่ พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีค่าเท่ากับ 1,071.3 mgGA/g ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ มีค่าเท่ากับ 3.1 $\mu\text{mol Trolox/g}$ และพบว่า มีแร่ธาตุสูง โดยเฉพาะธาตุแคลเซียม มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 2,035.1 mg/100g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทั้งใบสดและใบแห้งของถั่วดาวอินคา มีคุณค่าทางโภชนาการเป็นอาหารเสริมสุขภาพได้

คำสำคัญ: ใบถั่วดาวอินคา สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แร่ธาตุ

Abstract

The objective of this research was determined the amount of phytochemical, antioxidant activity and minerals in Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) leaves at different stages (young, immature and mature leaves). Chlorophyll and carotenoids contents were extracted with 80% acetone and then were measured at 480 510 645 และ 663 nm of absorbance by spectrophotometer. The total phenolic content was analyzed by Folin-Ciocateu method, antioxidant activity was analyzed by DPPH free radical scavenging and minerals were analyzed by Flame Atomic Absorption Spectrophotometer. The results found that fresh-mature leaves in the evening had the highest value of chlorophyll a, chlorophyll b, total of chlorophyll and carotene content were 2.43, 0.91, 3.34 and 1.04 mg/g of fresh leaves, respectively. Fresh-mature leaves had the total phenolic content of 221.46 mgGA/g, antioxidant activity of 2.17 μ mol Trolox/g, Ca, Mg and Zn were 616.4, 97.59 and 1.25 mg/100g of fresh leaves, respectively. Mixed immature and mature Sacha inchi tea leaves had the total phenolic content of 1,071.3 mgGA/g, the antioxidant activity of 3.1 μ mol Trolox/g and the especially minerals of Ca was highest at 2,035 mg/100g. All of the results showed that both the fresh leaves and the dried leaves of the sacha inchi leaves were nutritious as a health food supplement.

Keywords: Sacha inchi leaves , Phytochemical, Antioxidant activity, Minerals

บทนำ

ถั่วดาวอินคา (*Sacha inchi*) หรือเรียกว่า ถั่วลิสงป่า ถั่วลิสงภูเขา มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Plukenetia volubilis* L. อยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae เป็นพืชเถาไม้เลื้อย ใบคล้ายรูปหัวใจ มีผลรูปร่างคล้ายดาว ภายในมีเมล็ดคล้ายถั่ว มีถิ่นกำเนิดจากป่าอเมซอน ประเทศเปรู ทวีปอเมริกาใต้ ชาวเปรูได้ปลูกและนำมาใช้ประโยชน์มานานหลายศตวรรษ (Chirinos et al., 2013; Gutiérrez et al., 2011; Hamaker et al., 1992; Wang et al., 2018) ถั่วดาวอินคาเป็นพืชเศรษฐกิจ พืชมหัศจรรย์ สดุดียอดโภชนาการ ใช้ประโยชน์ได้ทั้งเมล็ดและใบ (อุดมวิทย์ และคณะ, 2557) และปัจจุบันได้มีการนำมาปลูกในประเทศไทย เมล็ดถั่วดาวอินคา มีปริมาณน้ำมันสูงถึง 35–60% (ประกอบด้วยกรดไขมัน โอเมก้า 3 โอเมก้า 6 และโอเมก้า 9) มีโปรตีนสูงถึง 25–30% (รวมถึงกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น ซีสเทอีน ไทโรซีน ทรีโอนีน และไทโรเฟน) มีคาร์โบไฮเดรตประมาณ 30% นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบอื่น เช่น วิตามินอี วิตามินเอ สารประกอบฟีนอลิก สารต้านอนุมูล

อิสระ แร่ธาตุต่างๆ เป็นต้น (Chirinos et al., 2013; Gutiérrez et al., 2011; Fanali et al., 2011) ซึ่งล้วนเป็นสารสำคัญและคุณค่าทางโภชนาการมีประโยชน์ในการลดระดับไขมัน และคอเลสเตอรอล ในเลือดของผู้ป่วยที่มีภาวะไขมันผิดปกติ (Garmendia et al., 2011) สำหรับงานวิจัยเกี่ยวกับ ใบถั่วดาวอินคาไม่มาก โดยพบว่า Nascimento et al. (2013) ได้มีการทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและชีวภาพของสารสกัดจากใบถั่วดาวอินคา ซึ่งพบว่ามีสารเทอพินอยด์ ซาโปนิน สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารสกัดสามารถลดการมีชีวิตของเซลล์มะเร็ง และ รักชนก (2559) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิจากใบอ่อน ใบกลาง (ใบเพสลาด) และใบแก่ของถั่วดาวอินคาเพื่อรองรับการผลิตใบชาเพื่อชุมชนของจังหวัดนราธิวาส พบสารทุติยภูมิ 5 ชนิด คือ 2-Propanone,1-hydroxy 2-Pentanone,4-hydroxy-4-methyl 2,3-Dihydroxy-benzofuran 4-Vinyl-syringol และ 2-Hexadecen-1-ol,3,7,11,15-tetramethyl ซึ่งสาร 2,3-Dihydroxy-benzofuran มีคุณสมบัติที่สำคัญในการรักษาโรคเบาหวานและโรคไขข้อ และ 4-Vinyl-syringol มีคุณสมบัติเป็นต้านอนุมูลอิสระ จากข้อมูลดังกล่าวนี้แสดงให้เห็นว่าใบถั่วดาวอินคาจัดเป็นพืชสมุนไพร พืชสมุนไพรส่วนใหญ่จะอุดมไปด้วยสารพฤษเคมีที่มีประโยชน์ช่วยในการเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายได้ เช่น แอนทราควิโนนไกลโคไซด์ สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ แคปไซซิน คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ เป็นต้น (คงเดช และคณะ, 2563; ศรีนรัตน์ และคณะ, 2556; อรเนตร และคณะ, 2562) นอกจากนี้ปริมาณแร่ธาตุ ถือว่าเป็นโภชนาการพื้นฐานที่สำคัญของการมีสุขภาพดีด้วยเช่นกัน อาทิ แคลเซียมเป็นธาตุที่รักษาความแข็งแรงและรูปร่างของกระดูก แมกนีเซียมเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ที่มีบทบาทในการยืดหดของกล้ามเนื้อ การสังเคราะห์โปรตีน สังกะสีมีความสำคัญต่อการทำงานของร่างกายที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต ภูมิคุ้มกันโรค เหล็กจะเกี่ยวข้องกับโครงสร้างของฮีโมโกลบินที่นำออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย และทองแดงมีความเกี่ยวข้องกับการทำงานของเม็ดเลือดขาวและขบวนการเมตาบอลิซึม เป็นต้น (คณะกรรมการและคณะทำงานปรับปรุงข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย, 2563)

จากงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่าการศึกษาคคุณค่าและการนำไปใช้ประโยชน์จากใบถั่วดาวอินคามีน้อยกว่าเมล็ด อีกทั้งเกษตรกร บ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้ปลูกต้น ถั่วดาวอินคา ใช้ในการบริโภคใบสดประกอบอาหาร และทำผลิตภัณฑ์ใบชา ดาวอินคาจำหน่าย มีความประสงค์อยากทราบระยะการเก็บเกี่ยวใบ และข้อมูลพื้นฐานคุณค่าทางโภชนาการอาหารสุขภาพ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นถึงความสำคัญของใบถั่วดาวอินคา และมีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะศึกษาหาปริมาณสารพฤษเคมีบางชนิด (คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุ (แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี

เหล็ก และทองแดง) จากใบถั่วดาวอินคาระยะต่างๆ ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่) เพื่อตอบโจทย์ให้กับเกษตรกรให้มีความมั่นใจในการบริโภค และการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ชาใบดาวอินคา

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือและสารเคมี

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ โดยใช้เครื่อง UV-visible Spectrophotometer ของบริษัท AnalytikJena รุ่น SPECORD PLUS สำหรับการวิเคราะห์แร่ธาตุต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม (Ca) แมกนีเซียม (Mg) สังกะสี (Zn) เหล็ก (Fe) และทองแดง (Cu) และทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flame atomic absorption spectrophotometry (AAS) ของบริษัท PerkinElmer รุ่น PinAA900F และใช้น้ำปราศจากไอออน (DI) ที่ผลิตด้วยระบบการผลิตน้ำบริสุทธิ์ปราศจากไอออนจากเครื่อง Sartorius รุ่น arium®pro (18.2 MΩcm)

สารเคมีต่างๆ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ล้วนเป็นเกรดเคมีวิเคราะห์ ได้แก่ Gallic Acid Trolox จากบริษัทผู้ผลิต Acros Organics ประเทศเบลเยียม Folin-Ciocalteu's reagent และ Sodium carbonate (Na_2CO_3) จากบริษัทผู้ผลิต Loba Chemie ประเทศอินเดีย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ Lanthanum oxide (La_2O_3) (สำหรับ AAS) จากบริษัทผู้ผลิต Sigma-Aldrich ประเทศสหรัฐอเมริกา Ethanol Nitric acid (HNO_3) perchloric acid (HClO_4) Hydrochloric acid (HCl) จากบริษัทผู้ผลิต RCI Labscan ประเทศไทย และสารละลายมาตรฐาน Ca Mg Zn Fe และ Cu ความเข้มข้น 1000 mg/L จากบริษัทผู้ผลิต PerkinElmer ประเทศสหรัฐอเมริกา

2. การปลูก การเก็บตัวอย่างใบถั่วดาวอินคา และผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคา

ผู้วิจัยได้ทำแปลงปลูกต้นถั่วดาวอินคา จำนวน 18 ต้น (ต้นกล้านำมาจากเกษตรกร บ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์) ใช้เสาปูน 20 เสา แต่ละเสาห่างกัน 1 เมตร แล้วขึงลวดระหว่างเสาทุกเสา แล้วปลูกต้นถั่วดาวอินคากึ่งกลางของเสา มีลวดยึด เพื่อให้ต้นดาวอินคาเลื้อยขึ้นไปได้ ปลูกไว้ที่คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ (พิกัด $16^{\circ}27'15''$ N $101^{\circ}9'4''$ E และระดับความสูง 138 เมตร) ดังภาพที่ 1(a) ปลูกไว้ตั้งแต่เดือนตุลาคม 61 – พฤษภาคม 62 (8 เดือน) แล้วเก็บตัวอย่างใบสดถั่วอินคาเพื่อไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ โดยกำหนดรหัสตัวอย่าง ดังนี้

S1 = ใบอ่อนตอนเช้า	S2 = ใบอ่อนตอนเที่ยง	S3 = ใบอ่อนตอนเย็น
S4 = ใบกลางตอนเช้า	S5 = ใบกลางตอนเที่ยง	S6 = ใบกลางตอนเย็น
S7 = ใบแก่ตอนเช้า	S8 = ใบแก่ตอนเที่ยง	S9 = ใบแก่ตอนเย็น

ใบอ่อนในที่นี้คือใบที่ 1–5 ใบกลางคือใบที่ 6–10 ใบแก่จะมีสีเข้มคือตั้งแต่ใบที่ 10 เป็นต้นไป ช่วงเก็บตัวอย่าง ได้แก่ 1) ตอนเช้า หมายถึง เก็บช่วงเวลา 06:00 น. 2) ตอนเที่ยง หมายถึง เก็บช่วงเวลา 12:00 น. และ 3) ตอนเย็น หมายถึง เก็บช่วงเวลา 17:00 น.



ภาพที่ 1 ถั่วดาวอินคา a) ต้นถั่วดาวอินคา b) ใบอ่อน c) ใบกลาง d) ใบแก่ และ e) ชาดาวอินคา

สำหรับการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณแร่ธาตุ (Ca Mg Zn Fe และ Cu) ในงานวิจัยนี้ใช้ใบถั่วดาวอินคาทั้งใบสดและใบแห้ง ประกอบด้วย ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่ ซึ่งมีลักษณะดังภาพที่ 1(b) 1(c) และ 1(d) ตามลำดับ โดยเก็บใบในช่วงเช้ามืดก่อนเที่ยง สำหรับใบแห้งก่อนนำมาทดลองได้นำใบสด ไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อนสำหรับอบสมุนไพรที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ได้น้ำหนักใบแห้งร้อยละ 23.30 ± 0.024 ($n=6$) แล้วบดตัวอย่างด้วยเครื่องบดสมุนไพร โดยกำหนดรหัสตัวอย่างดังนี้ คือ T1= ใบอ่อน T2= ใบกลาง และ T3= ใบแก่

การทำผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคา ได้จากต้นถั่วดาวอินคาซึ่งปลูกอยู่ที่บ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ (พิกัด $16^{\circ}20'1''\text{N}$ $101^{\circ}11'10''\text{E}$ และระดับความสูง 114 เมตร) เกษตรกรจะเก็บใบถั่วดาวอินคาในช่วงเช้าตั้งแต่เวลา 05.00–09.00 น. ล้างให้สะอาดเพื่อกำจัดสิ่งสกปรก แล้วนำมาตากแดดจนแห้งก่อนนำไปอบ แล้วนำไปอบด้วยเครื่องอบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำใบที่อบแห้งแล้วไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบด จากนั้นนำไปคั่วในกระทะจะได้ผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคาที่มีกลิ่นหอมดังภาพที่ 1(e) จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณแร่ธาตุ (Ca Mg Zn Fe และ Cu) ตามลำดับ

3. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

เก็บตัวอย่างใบสดถั่วดาวอินคาทั้งหมด 9 ตัวอย่าง (S1–S9) แต่ละตัวอย่างใช้กรรไกรตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ขวดพลาสติกแล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นชั่งใบน้ำหนักที่แน่นอน 0.2 g ใส่ในโถงบด และชั่ง Magnesium carbonate (MgCO_3) จำนวน 0.1 g บดให้ละเอียดจนเปื่อยยุ่ย แล้ว

เติมตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% จำนวน 25 mL เทใส่หลอดเซนติฟิวส์ขนาด 50 mL ตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น 4 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงปั่นด้วยเครื่อง Centrifuge ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 5 นาที นำส่วนใสที่สกัดได้ใส่ลงในขวดวัดปริมาตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 50 mL ด้วยตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) นำสารละลายไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 510 645 และ 663 nm โดยใช้ตัวทำละลายที่มีอะซิโตน 80% เป็น blank (Gogoi & Basumatary, 2018; Kamble et al., 2015) นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ ไปคำนวณหาปริมาณ คลอโรฟิลล์เอ (Chlorophyll-a) คลอโรฟิลล์บี (Chlorophyll-b) คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (Total Chlorophyll) และแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ในหน่วย mg/L สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (1–4) และรายงานผลการวิเคราะห์ในหน่วย mg/g ของน้ำหนักใบสดคำนวณได้จากสมการที่ (5)

การคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์อ้างอิงตาม Arnon (1949)

$$\text{Chlorophyll-a (mg/L)} = 12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645}) \quad (1)$$

$$\text{Chlorophyll-b (mg/L)} = 22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663}) \quad (2)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/L)} = 20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663}) \quad (3)$$

การคำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์อ้างอิงตาม Momin & Kadam (2011)

$$\text{Carotenoid (mg/L)} = 7.6(A_{480}) - 1.49(A_{510}) \quad (4)$$

สมการแสดงการรายงานผลในหน่วย mg/g ของน้ำหนักใบสด

$$\text{Chlorophyll - a (mg/g)} = \text{Chl. a} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) \times \frac{V(\text{mL})}{1000} \times \frac{1}{W(\text{g})} \quad (5)$$

เมื่อ A หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเฉพาะ

V หมายถึง ปริมาตรสุดท้ายในการปรับปริมาตร (mL)

W หมายถึง น้ำหนักตัวอย่างใบสด (g)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่างใบถั่วดาวอินคา

ชั่งตัวอย่างใบสดถั่วดาวอินคาน้ำหนักที่แน่นอน 2 g (เตรียมใบสดใช้กรรไกรตัดเป็นชิ้นเล็กๆ) ส่วนใบแห้งที่บดละเอียดและผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคาชั่งน้ำหนักที่แน่นอน 1 g เติมตัวทำละลาย น้ำ : เอทานอล (v/v) อัตราส่วน 60 : 40 ปริมาตร 100 mL จากนั้นนำไปต้มใน Water bath เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 90 °C กรองสารสกัดที่ได้ด้วยผ้าขาวบางและนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ นำสารละลายที่สกัดได้ใส่ขวดวัดปริมาตรและปรับปริมาตร

สุดท้ายให้ครบ 50 mL ด้วยตัวทำละลาย น้ำ : เอทานอล (v/v) อัตราส่วน 60 : 40 เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในขวดสีชาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบถั่วดาวอินคาด้วยวิธี Folin–ciocalteu (ดัดแปลงจาก จตุพร และคณะ, 2019; อรชร และกาญจนา, 2015; Singleton & Lamuela–Raventos, 1999) โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic acid: GA) เป็นสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้น 60 80 100 160 200 300 400 และ 500 mg/L ในเอทานอล และวิเคราะห์ตัวอย่างโดยปิเปตสารสกัด 100 μ L ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Folin–ciocalteu’s reagent ความเข้มข้น 0.2 N ปริมาตร 500 μ L และน้ำ DI ปริมาตร 7.9 mL เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer ทิ้งไว้ 2 นาที เติมสารละลาย Na_2CO_3 ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 1.5 mL (ปริมาตรรวมทั้งหมด 10 mL ทำซ้ำ 3 ครั้ง) เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในความมืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐาน GA ในหน่วย mgGA/g ของน้ำหนักตัวอย่าง

4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบถั่วดาวอินคาด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงจาก เอนก และบุญยกฤต, 2017; Brand–Williams et al., 1995; Fernandes et al., 2016) ใช้สาร Trolox เป็นสารละลายมาตรฐานในการเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเตรียมที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 5 10 15 20 30 40 และ 60 μ M ในเอทานอล และวิเคราะห์ตัวอย่างโดยปิเปตสารสกัด 2 mL ลงในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 1.75×10^{-4} M ปริมาตร 2 mL (ปริมาตรรวมทั้งหมด 4 mL ทำซ้ำ 3 ครั้ง) เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ในความมืดที่อุณหภูมิห้องเวลา 60 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ (A) มาคำนวณค่าร้อยละความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ (% DPPH radical scavenging activity) ดังสมการที่ (6) และนำค่าที่ได้เทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานเพื่อคำนวณ หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหน่วย μ mol Trolox/g ของน้ำหนักตัวอย่าง

$$\% \text{ DPPH radical scavenging activity} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (6)$$

โดยที่ A_{control} หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของตัวแปรควบคุม

A_{sample} หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมตัวอย่าง

5. การวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ

ทำการวิเคราะห์แร่ธาตุชนิดต่างๆ ที่มีในตัวอย่าง ได้แก่ Ca Mg Zn Fe และ Cu ตามลำดับ โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานโลหะดังกล่าวที่มีช่วงความเข้มข้น ดังตารางที่ 3 ทำการเตรียมสารละลาย blank ในทำนองเดียวกับการเตรียมสารตัวอย่าง ซึ่งเป็นการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามวิธีของ AOAC (2016) 975.06, sec. 3.2.05 ย่อยตัวอย่างแบบเปียกด้วยการชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างแต่ละชนิด จำนวน 1 g ใส่ในปิกรเกอร์ขนาด 100 mL แล้วเติมกรด HNO_3 เข้มข้น จำนวน 10 mL โดยให้เปียกท่วมตัวอย่าง เติม 3 mL ของ 60% HClO_4 จากนั้นให้ความร้อนบน Hot pate ค่อยให้ความร้อนย่อยจนสารละลายกรด HNO_3 เกือบระเหยหมด ถ้าการย่อยยังได้สารละลายขุ่น ให้เติมกรด HNO_3 เพิ่มอีก 10 mL ย่อยต่อ ทิ้งสารละลายให้เย็นแล้วเติมสารละลายกรด HCl เข้มข้นต่อน้ำปราศจากไอออน (1 : 1) จำนวน 10 mL ถ่ายไอออนสารละลายทั้งหมดใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 50 mL และปรับปริมาตรให้ครบด้วยน้ำปราศจากไอออน สำหรับสารละลายที่เตรียมได้นี้ นำไปวิเคราะห์หาปริมาณ Zn Fe และ Cu เลยไม่ต้องมีการเจือจางสารละลายด้วยเครื่อง AAS ส่วนโลหะ Ca และ Mg มีการเจือจางสารละลายตัวอย่างด้วยอัตราส่วนการเจือจาง (Dilution factor) สำหรับตัวอย่างใบสดมีอัตราส่วนการเจือจางเท่ากับ 25 ตัวอย่าง ใบแห้งและผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคามีอัตราส่วนการเจือจางเท่ากับ 200 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์โลหะ Ca และ Mg ต้องเติมสารละลายแลนทานัม (La) ลงในสารละลายให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1% ตาม AOAC (2016) 965.09, sec. 2.6.01 เพื่อป้องกันการรบกวนจากธาตุฟอสฟอรัสที่อาจมีอยู่ในสารละลาย แล้วจึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณด้วยเครื่อง AAS และคำนวณปริมาณโลหะในหน่วย mg/100g ของตัวอย่าง

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\text{mean} \pm \text{SD}$) ประเมินความแตกต่างของข้อมูลแต่ละชนิดด้วยสถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และทำการทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยวิธี Duncan's new multiple range test: DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์

การเก็บตัวอย่างใบสดถั่วดาวอินคา (ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่) เก็บในวันเดียวกัน ช่วงระยะเวลาต่างกัน (ตอนเช้า ตอนเที่ยง และตอนเย็น) เพื่อศึกษาปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นั่นคือ ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ จะพบ

ปริมาณมากที่สุดใบแก่ที่เก็บในช่วงเวลาเย็น มีค่าเท่ากับ 2.43 0.91 3.34 และ 1.04 mg/g ของใบสด ตามลำดับ ส่วนใหญ่การนำมาบริโภคมักจะใช้ใบอ่อนแทนกับน้ำพริกได้ง่ายกว่าและมีรสชาติหวานกว่า สำหรับใบอ่อนปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี คลอโรฟิลล์ทั้งหมด และแคโรทีนอยด์ ผลการทดลอง พบว่ามีค่ามากในช่วงเวลาตอนเที่ยง มีค่าเท่ากับ 2.18 0.78 2.97 และ 0.89 mg/g ของใบสด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบสดของต้นถั่วดาวอินคา

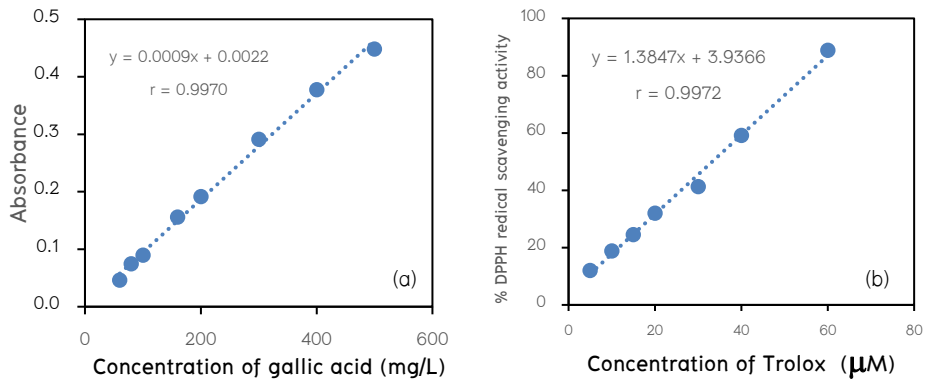
รหัสตัวอย่าง	คลอโรฟิลล์เอ (mg/g)	คลอโรฟิลล์บี (mg/g)	คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g)	แคโรทีนอยด์ (mg/g)
S1	1.85±0.04 ^d	0.62±0.02 ^d	2.47±0.05 ^d	0.63±0.11 ^d
S2	2.18±0.10 ^c	0.78±0.05 ^c	2.97±0.15 ^c	0.89±0.03 ^{bc}
S3	1.91±0.07 ^d	0.67±0.04 ^d	2.57±0.10 ^d	0.71±0.04 ^d
S4	2.27±0.04 ^{bc}	0.77±0.03 ^c	3.04±0.06 ^{bc}	0.84±0.04 ^c
S5	2.25±0.01 ^{bc}	0.83±0.02 ^{bc}	3.08±0.01 ^{bc}	0.91±0.01 ^{bc}
S6	2.34±0.10 ^{ab}	0.82±0.06 ^{bc}	3.16±0.15 ^b	0.93±0.06 ^{bc}
S7	2.23±0.06 ^{bc}	0.78±0.05 ^c	3.00±0.10 ^{bc}	0.87±0.07 ^c
S8	2.28±0.08 ^{bc}	0.87±0.03 ^{ab}	3.15±0.11 ^b	0.97±0.04 ^{ab}
S9	2.43±0.04 ^a	0.91±0.03 ^a	3.34±0.06 ^a	1.04±0.02 ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่งใบถั่วดาวอินคา (T1-T3) ได้คำนวณจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ($y = 0.0009x + 0.0022$ $r = 0.9970$) ดังภาพที่ 2(a) และการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้จากกราฟของสารละลายมาตรฐาน Trolox ($y = 1.3847x + 3.9366$ $r = 0.9972$) ดังภาพที่ 2(b) จากผลการทดลอง พบว่าใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่ ทั้งในใบสดและใบแห้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังตารางที่ 2 สำหรับการเตรียมสารสกัดใบถั่วดาวอินคาทั้งใบแห้งและใบสด สกัดด้วยวิธีการต้มด้วยตัวทำละลาย น้ำ : เอทานอล (v/v) อัตราส่วน 60 : 40 ซึ่งสารสกัดโดยใช้ระบบตัวทำละลายเอทานอล 40% หรือน้ำ 60% ในพืชพบว่ามีการประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ตามที่ได้กล่าวไว้แล้วในงานวิจัยของ อรชร และกาญจนา (2558) และ ชมพูนุช และคณะ (2560)



ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลาย a) GA และ b) Trolox

ใบสดของต้นถั่วดาวอินคาจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 175.04–221.46 mgGA/g พบในใบแก่มากที่สุด ส่วนใบอ่อนและใบกลางมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในใบแห้งพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 600.23–773.26 mgGA/g พบว่าใบอ่อนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุด สำหรับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าในใบแก่ทั้งใบสดและใบแห้งของต้นถั่วดาวอินคา มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด คือ 2.17 และ 3.22 µmol Trolox/g ของตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนในผลัดภันท์ชาดาวอินคา พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,071.34 mgGA/g และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 3.13 µmol Trolox/g ของตัวอย่างชาดาวอินคา

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในใบต้นถั่วดาวอินคา

ตัวอย่าง	ใบสด		ใบแห้ง	
	ฟีนอลิกทั้งหมด (mgGA/g)	การต้านอนุมูลอิสระ (µmolTrolox/g)	ฟีนอลิกทั้งหมด (mgGA/g)	การต้านอนุมูลอิสระ (µmolTrolox/g)
T1	175.04±5.03 ^b	1.80±0.08 ^c	600.23±25.06 ^d	2.43±0.13 ^c
T2	186.94±17.56 ^b	1.99±0.02 ^b	678.66±38.41 ^c	2.82±0.12 ^b
T3	221.46±16.20 ^a	2.17±0.02 ^a	773.26±29.66 ^b	3.22±0.02 ^a
ชาดาวอินคา	–	–	1071.34±49.98 ^a	3.13±0.10 ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่าค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

3. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแร่ธาตุ

ผลของการศึกษาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity) และการหาขีดจำกัดในการตรวจพบ (Limit of detection: LOD) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ (Limit of quantitation: LOQ) ของสารละลายมาตรฐาน Ca Mg Zn Fe และ Cu พบว่ามีความเป็นเส้นตรงมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) มากกว่า 0.99 ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ช่วงความเป็นเส้นตรง (Linear ranges) สมการถดถอย (Regression equations) ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficients) ขีดจำกัดในการตรวจพบ (LODs) และขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณของวิธีวิเคราะห์ (LOQs)

สารละลายมาตรฐาน	Linear ranges (mg/L)	regression equations	Correlation Coefficients (r)	LODs (mg/L)	LOQs (mg/L)
Ca (WL at 422.67 nm)	2.0–10.0	$y = 0.0459x + 0.0105$	0.9993	0.41	1.36
Mg (WL at 285.21 nm)	0.2–1.0	$y = 0.6276x + 0.1089$	0.9970	0.08	0.28
Zn (WL at 213.86 nm)	0.2–3.0	$y = 0.3103x + 0.0819$	0.9968	0.46	1.55
Fe (WL at 248.33 nm)	2.0–8.0	$y = 0.0458x + 0.0456$	0.9987	0.49	1.6
Cu (WL at 324.76 nm)	1.0–5.0	$y = 0.1012x + 0.0243$	0.9996	0.15	0.51

หมายเหตุ WL คือ ความยาวคลื่น (Wavelength)

ตารางที่ 4 ปริมาณธาตุ แคลเซียม แมกนีเซียม และสังกะสี ในใบสดของต้นถั่วดาวอินคา

ตัวอย่าง	ปริมาณแร่ธาตุ (mg/100g ของตัวอย่าง)		
	แคลเซียม	แมกนีเซียม	สังกะสี
T1	209.2±9.4 ^c	95.32±0.83 ^b	1.29±0.03 ^a
T2	509.6±24.1 ^b	95.57±0.31 ^b	1.18±0.03 ^b
T3	616.4±29.0 ^a	97.59±1.36 ^a	1.25±0.08 ^{ab}

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่าค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

การวิเคราะห์หาปริมาณ Ca Mg Zn Fe และ Cu ในตัวอย่างได้จากการวัดค่าดูดกลืนแล้วนำไปคำนวณหาปริมาณจากสมการเส้นตรง ในตัวอย่างใบสดของต้นถั่วดาวอินคา (ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่) จากการทดลองพบว่าปริมาณธาตุ Ca Mg และ Zn มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่สามารถตรวจพบปริมาณ Cu และ Fe เนื่องจากผลการวิเคราะห์ที่วัดได้

มีค่าต่ำกว่าขีดจำกัดในการตรวจพบ มีปริมาณ Ca สูงที่สุดในใบแก่เท่ากับ 616.4 mg/100g มีปริมาณ Mg ในใบอ่อนและใบกลาง และมีปริมาณ Zn ในใบอ่อนและใบแก่ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติผลการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 5 ปริมาณธาตุ แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี เหล็ก และทองแดง ในใบแห้งของต้น ถั่วดาวอินคา

ตัวอย่าง	ปริมาณแร่ธาตุ (mg/100g ของตัวอย่าง)				
	แคลเซียม	แมกนีเซียม	สังกะสี	เหล็ก	ทองแดง
T1	1061.7±116.7 ^c	426.94±13.34 ^b	3.33±0.23 ^a	5.59±0.15 ^b	1.02±0.01 ^a
T2	2026.1±156.9 ^b	425.82±14.20 ^b	3.36±0.08 ^a	5.57±0.15 ^c	1.01±0.03 ^a
T3	2369.4±181.0 ^a	417.52±6.50 ^b	3.35±0.03 ^a	6.37±0.24 ^a	0.99±0.03 ^a
ชาดาวอินคา	2035.1±15.0 ^b	513.60±8.54 ^a	3.16±0.08 ^a	6.45±0.06 ^a	1.01±0.14 ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่าค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

การวิเคราะห์หาปริมาณ Ca Mg Zn Fe และ Cu ในแห้ง (ใบอ่อน ใบกลาง และใบแก่) และผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคา จากการทดลองพบว่า ปริมาณธาตุ Ca ใบแห้ง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคาใบกับใบกลางแห้ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ปริมาณธาตุ Mg ในผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคามีค่ามากที่สุดเท่ากับ 513.60 mg/100g ปริมาณธาตุ Fe ในใบแก่แห้งและผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณธาตุ Zn และ Cu ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ ดังตารางที่ 5

อภิปรายผล

จากการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในใบถั่วดาวอินคา (ทั้งใบสดและใบแก่) พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีผลต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมเพื่อหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ (บุหริน, 2556) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nascimento et al. (2013) ได้ทดสอบสารสกัดจากใบถั่วดาวอินคา พบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและมีความสามารถในการต้านเซลล์มะเร็งได้

นอกจากนี้ได้ยังเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบถั่วดาวอินคา กับสมุนไพรแห้งชนิดอื่น เช่น หญ้าดอกขาว หม่อน โปรงฟ้า ชาดำ ชาเขียว ย่านาง เป็นต้น จากงานวิจัยของ ซาหนท์ และอนรุักษ์ (2559) จะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในใบแห้งของต้นถั่วดาวอินคาจะมีค่ามากกว่า โดยเฉพาะใบแก่จะมีค่าเท่ากับ 773.26 mgGA/g แสดงให้เห็นว่าใบถั่วดาวอินคา มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมาก ปริมาณแร่ธาตุโดยเฉพาะแคลเซียมพบว่า ใบแก่ทั้งใบสดและใบแห้งของถั่วดาวอินคาจะมีค่าสูงเท่ากับ 616.4 และ 2,369.4 mg/100g ซึ่งแสดงให้เห็นว่าใบถั่วดาวอินคา มีคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gutiérrez (2011) ได้วิเคราะห์ปริมาณธาตุแคลเซียมที่พบในเมล็ดถั่วดาวอินคาสูงถึง 321.0 mg/100g นอกจากนี้งานวิจัยยังได้วิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ในใบสดถั่วดาวอินคาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการบริโภคผักสด จากการทดลอง พบว่า ใบแก่เก็บในช่วงเวลาเย็นจะพบปริมาณคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์มากที่สุด แต่อย่างไรก็ตามใบอ่อนรับประทานได้ง่ายกว่าใบแก่ และมีรสชาติหวานแบบธรรมชาติ สำหรับใบแก่สามารถใช้ทำน้ำคลอโรฟิลล์สดได้ จากผลงานวิจัยดังกล่าวผู้วิจัยได้ถ่ายทอดองค์ความรู้พื้นฐานแนะนำให้กับคุณธีรวิรา ภักดีวัน ผู้ผลิตชาดาวอินคาถึงการเก็บเกี่ยวใบต้นถั่วดาวอินคาซึ่งควรใช้ใบกลางและใบแก่ผสมกัน เพื่อให้ได้สารสำคัญ เช่น สารฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และแร่ธาตุมากที่สุด ผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคาที่ผลิตจากผู้ผลิตจากบ้านน้ำร้อนซึ่งเป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่นำมาวิเคราะห์สารสำคัญโดยมีกระบวนการผลิตจากการนำใบมาตากให้แห้งก่อนนำไปอบและจึงคั่วโดยใช้ความร้อนเพื่อให้ชาที่มีกลิ่นหอมพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1,071.3 mgGA/g ซึ่งมีปริมาณมากกว่าใบแก่ที่อบแห้งแบบธรรมดา แต่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 3.1 $\mu\text{mol Trolox/g}$ ซึ่งค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และแร่ธาตุ Ca Mg Zn Fe และ Cu เท่ากับ 2,035.1 513.6 3.16 6.45 และ 1.01 mg/100g ตามลำดับ

สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าใบถั่วดาวอินคา มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีปริมาณแคลเซียมสูง และพบว่าใบแก่จะมีปริมาณมากที่สุด นอกจากนี้ใบสดของถั่วดาวอินคาการเก็บใบแก่ในช่วงเวลาเย็นจะพบปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดและปริมาณแคโรทีนอยด์มากที่สุด ผลที่ได้จากการวิจัยนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อส่งเสริมให้ชุมชนชาวบ้านตำบลบ้านน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้เห็นถึงคุณค่าทางโภชนาการเป็นอาหารสุขภาพและนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตผลิตภัณฑ์ชาดาวอินคาสำหรับการจำหน่ายได้

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยงบประมาณแผ่นดิน สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ โดยผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2562 โครงการวิจัยและนวัตกรรมเพื่อสร้างองค์ความรู้พื้นฐานของประเทศ สัญญารับทุนเลขที่ PCRU_2562_KN025 และขอขอบคุณงานศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่สนับสนุนเครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัย สุดท้ายนี้ขอขอบคุณ คุณธีรวัชร ภัคดีวัน เกษตรกรผู้ปลูกถั่วดาวอินคา ตำบลบ้านน้ำร้อน และนักศึกษาทุกท่านที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- คงเดช สวาสดีพันธ์, ตามรัตน์ สุรางกูร, อนุชิต ภาณุมาสวิวัฒน์, และภรภัทร ลำอาจค์. (2563). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซีติลโคไลน์เอสเตอเรสของสารสกัดและส่วนสกัดย่อยจากใบตองแตก. *PSRU Journal of Science and Technology*, 5(1), 107–122.
- คณะกรรมการและคณะทำงานปรับปรุงข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย. (2563). **ปริมาณสารอาหารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย พ.ศ. 2563**. กรุงเทพฯ: กรมอนามัย สำนักโภชนาการ: กระทรวงสาธารณสุข.
- จตุพร ประทุมเทศ, กัลยารัตน์ ทศน์จันดา, จันทร์สวยา เทวสรวเสริญ, รณชัย ภูวนา, และจารุวรรณ ดรเถื่อน. (2562). การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของชาดอกไม้นชนิดผงปรุงสำเร็จจากกระเจียวแดง อัญชัน และจ๊วป่า. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, 47(3), 490–497.
- ชานนท์ นัยจิตร, และอนุรักษ์ เชื้อมั่ง. (2559). การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอล และนิโคตินของสมุนไพรไทย 15 ชนิด. *Thai Science and Technology Journal*, 24(2), 351–361.
- ชมพูนุช อุทัยรัตน์, เอกรัฐ ศรีสุข, และกล่าวขวัญ ศรีสุข. (2560). ผลของสภาวะต่างๆ ของการอบแห้งและการสกัดต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลปอกะบิด. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 22(1), 151–165.
- บุหริน พันธุ์สุวรรณ. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 21(3), 275–286.
- รักชนก ภูพัฒน์. (2559). การศึกษาการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตสารทุติยภูมิจาก ใบอ่อนใบพลูด่าง และใบแก่ของถั่วดาวอินคาเพื่อรองรับการผลิตใบชาเพื่อชุมชนของจังหวัดนราธิวาส. *Princess of Naradhiwas University Journal*, 8(2), 125–133.
- ศรินทร์ตา นัตรธีระนันท์, วรางคณา สบายใจ, และสิริมาศ นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, 41(3), 723–730.
- อุดมวิทย์ ไวยการ, ภัณฎรัตน์ จำปาทอง, และเกณีสักดิ์ วีระวุฒิ. (2557). ดาวอินคาพืชมหัศจรรย์สุดยอดโภชนาการ. *จดหมายข่าว ผลิใบ ก้าวใหม่การวิจัยและพัฒนาการเกษตร*, 17(10), 5–7.

- เอนก หาลี, และบุญยกฤต รัตนพันธุ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจร.**, 40(2), 283–293.
- อรชร ไอลันเทียะ, และกาญจนา วงศ์กระจ่าง. (2558). การศึกษาระบบตัวทำละลายของการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดจากดอกดาวเรืองสด. **วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์**, 7(7), 29–40.
- อรเนตร กานต์บุญญา, จ्ञานอง โสมกุล, พิมพ์ชนก สดภูมินทร์, และพรไพรินทร์ รุ่งเจริญทอง. (2019). ศึกษาการพัฒนาผลต่อสารพฤกษเคมีบางชนิดในผลพริกมัน 'TVRC365'. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า**, 37(4), 662–668.
- AOAC, (2016). **Official methods of analysis, Association of official analytical chemist: Method 965.09 sec. 2.06.01.** (20th ed.). USA: Washington, D.C..
- AOAC, (2016). **Official methods of analysis, Association of official analytical chemist: Method 975.03 sec. 3.02.05.** (20th ed.). USA: Washington, D.C..
- Arnon, DI. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. **Plant physiol**, 24(1), 1–15.
- Brand–Williams, W., Cuvelier, ME. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT–Food science and Technology**, 28(1), 25–30.
- Chirinos, R., Zuloeta, G., Pedreschi, R., Mignolet, E., Larondelle, Y., & Campos, D. (2013). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. **Food chemistry**, 141(3), 1732–1739.
- Fanali, C., Dugo, L., Cacciola, F., Beccaria, M., Grasso, S., Dacha, M., & Mondello, L. (2011). Chemical characterization of sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil. **Journal of agricultural and food chemistry**, 59(24), 13043–13049.
- Fernandes, R.D.P.P., Trindade, M.A., Tonin, F.G., Lima, C.G.D., Pugine, S.M.P., MuneKata, P.E.S., & De Melo, M.P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. **Journal of food science and technology**, 53(1), 451–460.
- Garmendia, F., Pando, R., & Ronceros, G. (2011). Effect of sachá inchi oil (*Plukenetia volubilis* L.) on the lipid profile of patients with hyperlipoproteinemia. **Revista peruana de medicina experimental y salud publica**, 28(4), 628–632.
- Gogoi, M., & Basumatary, M. (2018). Estimation of the chlorophyll concentration in seven citrus species of Kokrajhar district, BTAD, Assam, India. **Trop Plant Res**, 5, 83–87.
- Gutiérrez, L.F., Rosada, L.M., & Jiménez, Á. (2011). Chemical composition of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds and characteristics of their lipid fraction. **Grasas y aceites**, 62(1), 76–83.

- Kamble, P.N., Giri, S.P., Mane, R.S., & Tiwana, A. (2015). Estimation of chlorophyll content in young and adult leaves of some selected plants. **Universal journal of environmental research and technology**, 6, 306–310.
- Hamaker, B.R., Valles, C., Gilman, R., Hardmeier, R.M., Clark, D., Garcia, H.H., & Rodriguez, T. (1992). Amino acid and fatty acid profiles of the inca peanut (*Plukenetia volubilis*). **Cereal chem**, 69(4), 461–463.
- Momin, R.K., & Kadam, V.B. (2011). Biochemical analysis of leaves of some medicinal plants of genus *Sesbania*. **Journal of Ecobiotechnology**, 3(2), 14–16.
- Nascimento, A.K.L., Melo-Silveira, R.F., Dantas-Santos, N., Fernandes, J.M., Zucolotto, S.M., Rocha, H.A.O., & Scortecci, K.C. (2013). Antioxidant and antiproliferative activities of leaf extracts from *Plukenetia volubilis* Linneo (Euphorbiaceae). **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 2013, 1–10.
- Rajput, R.D., & Patil, R.P. (2017). The comparative study on spectrophotometric analysis of chlorophyll and carotenoids pigments from non-leguminous fodder crops. **International Journal of Innovative Science Engineering and Technology**, 7, 140–148.
- Singleton, V.L., Orthofer, R., & Lamuela-Raventós, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. **Methods in enzymology**, 299, 152–178.
- Wang S, Zhu F, & Kakuda Y. (2018). Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.): Nutritional composition, biological activity, and uses. **Food chem**, 265, 316–328.