Research Article

Received: September 20, 2019; Accepted: January 24, 2020

ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของใบบัวบก [*Centella asiatica* (L.) Urb.]

Effects of Drying Temperatures and Times on Antioxidant Contents and Their Activities of *Centella asiatica* (L.) Urb. Leaves

สุกัญญา จันทร์สุนะ, ลลิตา เจริญทรัพย์, เยาวพา จิระเกียรติกุล และพรชัย หาระโคตร*

สาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Sukanya Jansuna, Lalita Charoensup, Yaowapha Jirakiattikul and Bhornchai Harakotr*

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด รวมถึงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของใบบัวบก โดยวางแผนการทดลองแบบ 3x3 factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ (1) อุณหภูมิในการอบแห้ง ได้แก่ 60, 70 และ 80 ºC และ (2) ระยะเวลาในการอบแห้ง ได้แก่ 8, 10 และ 12 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิที่สูงและระยะเวลาการอบแห้งที่นานขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ลดลง ใบบัวบกที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 8 และ 10 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงสุด นอกจากนี้ใบบัวบกที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิดังกล่าวนาน 10 ชั่วโมง มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ สูงสุด ขณะที่การอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 ºC นาน 10 ชั่วโมง ใบบัวบกให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ สูงที่สุด ดังนั้นอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งใบบัวบก คือ 60 ºC นาน 10 ชั่วโมง

คำสำคัญ : อุณหภูมิอบแห้ง; ระยะเวลาอบแห้ง; สารต้านอนุมูลอิสระ; *Centella asiatica*

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** harakotr@tu.ac.th

Abstract

The objective of this study was to determine the effect of drying temperatures and times on total phenolic, flavonoid contents and their activities of *Centella asiatica* (L.) Urb leaves. The experiment was conducted as a 3 x 3 factorial in completely randomized design (CRD) with three replications. Two factors included three drying temperatures: 60, 70 and 80 ºC, and three drying times: 8, 10 and 12 hours. The results indicated that high drying temperature and time caused a decrease in the total phenolic content, total flavonoid content, and $DPPH^{\bullet}$ radical scavenging activity. The highest total phenolic content was observed when samples were dried at temperature 60 ºC for 8 and 10 hours. Moreover, dried leaves at this temperature for 10 hours also contained the highest total flavonoid content and $DPPH^{\bullet}$ free radical inhibition. Drying temperatures at 60 and 70 ºC for 10 hours resulted in the greatest $ABTS^{+\bullet}$ radical scavenging activity. Therefore, the optimum drying temperature and time for *C. asiatica* (L.) Urb. leaves were 60 ºC for 10 hours.

Keywords: drying temperature; drying time; antioxidant; *Centella asiatica*

1. บทนำ

ประเทศไทยมีจุดแข็งในด้านความหลากหลายของพืชสมุนไพร อย่างไรก็ตาม การนำสมุนไพรมาใช้ประโยชน์ยังค่อนข้างจำกัด กล่าวคือ ชุมชนรู้จักสรรพคุณและนำมาใช้ประโยชน์ประมาณ 1,800 ชนิด และมีเพียง 300 ชนิด เท่านั้นที่นำมาเป็นวัตถุดิบหมุนเวียนในประเทศและส่งออกไปยังต่างประเทศในรูปของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์แปรรูปขั้นต้น โดยตลาดสมุนไพรโลกมีแนวโน้มการขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ซึ่งกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือกได้กำหนด champion product ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีศักยภาพทางเศรษฐกิจสูง ได้แก่ กระชายดำ ไพล ขมิ้นชัน และบัวบก [1] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง บัวบก [*Centella asiatica* (L.) Urb.] ซึ่งเป็นผักและพืชสมุนไพรที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจระดับท้องถิ่นของไทย เป็นพืชที่ปลูกง่ายในทุกท้องถิ่น มีราคาถูก รวมถึงมีคุณค่าทางโภชนาการสูง สามารถรับประทานได้ทุกส่วน นิยมบริโภคในรูปของผักสดหรือเป็นผักเครื่องเคียงกับอาหารประเภทต่าง ๆ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในบัวบก คือ สารในกลุ่มไตรเทอร์ปีน (triterpene) ได้แก่ กรดเอเชียติก กรดมาเดคาสสิก เอเชียติโคไซด์ และมาเดคาสโซไซด์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและบรรเทาอาการแพ้ [2] รักษาบาดแผล [3] มีฤทธิ์ในการป้องกันและรักษาโรคความจำเสื่อม ช่วยให้การเรียนรู้และความจำดีขึ้น [4] นอกจากนี้บัวบกยังอุดมไปด้วยสารสเตอรอล ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิค เป็นต้น ซึ่งฟลาโวนอยด์ที่พบโดยทั่วไป ได้แก่ ฟลาโวนอล ฟลาโวน ไอโซฟลาโวน ฟลาโวนอล แคทีชิน และแอนโทไซยานิน [5] โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารประกอบฟีนอลิคในบัวบกที่มีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [6] สามารถป้องกันโรคต่าง ๆ ได้แก่ ป้องกันโรคมะเร็ง โรคระบบหัวใจและหลอดเลือด โรคเบาหวาน การเสื่อมของกระดูก โรคในระบบประสาท และยังมีผลต่อการเปลี่ยนไขมันในร่างกายเป็นกล้ามเนื้อ เป็นต้น ด้วยเหตุดังกล่าว บัวบกจึงเป็นทางเลือกในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงอุตสาหกรรม ได้แก่ สารสกัดสมุนไพร ยารักษาโรค และอาหารเสริม เป็นต้น ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวจะช่วย

สร้างมูลค่าเพิ่ม ส่งผลต่อความมั่นคงทางเศรษฐกิจของไทย

การอบแห้งเป็นกระบวนการหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการถนอมอาหาร และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร โดยผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการอบแห้งจะมีความชื้นลดลง [7] อย่างไรก็ตาม การอบแห้งเป็นกระบวนการที่ควบคุมได้ยาก เนื่องจากการอบแห้งภายใต้สภาวะที่ไม่เหมาะสม เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้เกิดการสูญเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ รสชาติ สี คุณค่าทางอาหาร และความสามารถในการดูดคืนน้ำของผลิตภัณฑ์ [8] สภาวะที่เหมาะสมต่อการอบแห้งบัวบกขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ หลายประการ ได้แก่ วิธีการอบแห้ง แหล่งของพลังงานความร้อน ชิ้นส่วนของพืช อุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้ง เป็นต้น [8-10] โดยอุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางกายภาพและเคมีในบัวบก รายงานวิจัยพบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งบัวบกส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารในกลุ่มไตรเทอร์ปีน [10] สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย [11] ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด [6,10] ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ (นารินจิน รูตินเคอร์ซิทิน แคทีชิน ลิวทีโอลิน แคมป์เฟอรอล และอะพิจินีน) [9] และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ [10] ผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการอบแห้งหรือการลดความชื้นภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญต่อการคงลักษณะทางกายภาพ คุณภาพ และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของผลิตภัณฑ์ไว้ ไม่ให้เสื่อมสภาพ เพื่อการพัฒนาเป็นโภชนเภสัชภัณฑ์ต่อไป [9,12] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้งด้วยลมร้อนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของใบบัวบก ข้อมูลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการปรับปรุงกระบวนการอบแห้งให้เหมาะสมต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

นำต้นพันธุ์บัวบกจากแปลงเกษตรกร อำเภอละแม จังหวัดชุมพร มาปลูกในกระบะปลูกที่มีดินผสมทางการค้า ภายใต้โรงเรือนพรางแสง 50 % ด้วยระยะปลูก 15 x 15 cm ให้น้ำตามความเหมาะสม เก็บเกี่ยวต้นเมื่ออายุ 60 วันหลังปลูก แล้วนำมาล้างทำความสะอาด ทิ้งให้สะเด็ดน้ำ ใช้เฉพาะส่วนก้านใบและใบนำมาทดลอง นำตัวอย่างบัวบกสดที่ได้ไปหาความชื้นมาตรฐานก่อนการอบแห้งตามวิธีการของ AOAC [13] หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ถาดอบแห้งขนาด 41.5 x 4.7 x 2 cm น้ำหนัก 100 g เกลี่ยกระจายให้ทั่วถาดในลักษณะการอบแห้งชั้นบาง [7] แล้วนำถาดเข้าตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ (60 70 และ 80 ºC) และระยะเวลา 3 ระดับ (8, 10 และ 12 ชั่วโมง) วางแผนการทดลองแบบ 3 x 3 factorial in completely randomized design (CRD) ซึ่งแต่ละทรีทเมนต์มี 3 ซ้ำ จากนั้นนำตัวอย่างไปที่ได้ไปหาความชื้นมาตรฐานหลังอบแห้งตามวิธีการของ AOAC [13] บันทึกน้ำหนักแห้งและสุ่มตัวอย่างใบบัวบกที่ผ่านการอบแห้งมาบดเป็นผงให้ละเอียด เพื่อการสกัดตัวอย่างและการวิเคราะห์ทางเคมีต่อไป

สกัดตัวอย่างด้วยการดัดแปลงจากวิธีการของ Jaiarree [14] โดยชั่งตัวอย่างแห้งที่บดแล้ว 2 g สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 % (1 : 3 w/v) สกัดซ้ำ 3 ครั้ง แต่ละครั้งสกัดนาน 3 วัน แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® #1 นำสกัดที่ได้มาระเหยในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 ºC เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง จนกว่าสารสกัดตัวอย่างจะมีน้ำหนักคงที่ ชั่งน้ำหนักและคำนวณปริมาณสารสกัดจากสูตร [10]

$$\text{ปริมาณสารสกัด (\%)} = \left[\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดแห้ง}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}}\right] \times 100$$

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Folin และ Ciocalteu [15] โดยนำตัวอย่างสารสกัดใบบัวบกมาละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL แล้วปิเปตสารละลายปริมาตร 20 µL ใส่ใน 96 well-microplate เติม 2 M Folin-Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 µL และเติมสารละลาย 7.5 % Na_2CO_3 ปริมาตร 80 µL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วย microplate reader (Tecan, infinite M200 PRO) โดยเปรียบเทียบกับกรดแกลลิคซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์รายงานในรูปมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg GAE/g dry extract)

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดดัดแปลงจากวิธีการของ Zhu และคณะ [16] นำตัวอย่างสารสกัดใบบัวบกมาละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 µL ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติม 5 % $NaNO_2$ ปริมาตร 75 µL ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 6 นาที และเติม 10 % $AlCl_3$ ปริมาตร 150 µL ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 1M NaOH ปริมาตร 500 µL สุดท้ายเติมน้ำกลั่นปริมาตร 275 µL เขย่านาน 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิเปตสารละลายลงใน 96 well-microplate ปริมาตร 200 µL นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้คาเตชินเป็นสารมาตรฐาน ผลการวิเคราะห์รายงานในรูปมิลลิกรัมสมมูลของคาเตชินต่อกรัมสารสกัดน้ำหนักแห้ง (mg CE/g dry extract)

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Yamasaki และคณะ [17] โดยละลายสารสกัดใบบัวบกด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 mg/mL จากนั้นนำไป sonicate เป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 100, 50, 10 และ 1 µg/mL ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 µL ลงใน 96 well-microplate และเติมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ปริมาตร 100 µL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 nm ด้วยเครื่อง microplate reader และใช้ BHT เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน (positive control) คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ จากสมการ

$$\text{\% inhibition} = \left[\frac{\text{OD control - OD sample}}{\text{OD control}}\right] \times 100$$

เมื่อ OD control = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม; OD sample = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

วิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-azino-bisfree radical scavenging activity (ABTS) ตามวิธีการของ Re และคณะ [18] เตรียมสารละลายอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ โดยผสม 14 mM ABTS ปริมาตร 5 mL และ 4.9 mM $K_2S_2O_8$ ปริมาตร 5 mL ผสมให้เข้ากัน เก็บไว้ในที่มืด 16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางสารละลาย ABTS ด้วยน้ำ DI ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.700±0.020 ที่ความยาวคลื่น 734 nm ละลายสารสกัด 10 mg ในเอทานอล ปริมาตร 1 mL นำไป sonicate เป็นเวลา 1 นาที ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 µL ลงใน 96 well-microplate เติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 180 µL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าการ

ดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader โดยใช้ BHT เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ เช่นเดียวกับวิธี DPPH

จากนั้นนำข้อมูลผลการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยวิธี analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการอบแห้งต่อความชื้น และผลผลิตของสารสกัดบัวบก

การอบแห้งส่งผลให้ใบบัวบกมีการเปลี่ยนแปลงสีจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล โดยอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งเพิ่มขึ้น ทำให้ใบที่ผ่านการอบแห้งมีความเข้มน้อยลง (รูปที่ 1) สอดคล้องกับอนุสรา และคณะ [19] ที่รายงานว่าอุณหภูมิอบแห้งใบเตยที่เพิ่มขึ้น ทำให้พารามิเตอร์ความสว่าง (L*) มีค่าเพิ่มขึ้น แต่มีผลต่อค่าความเป็นสีเขียว (a*) และสีเหลือง (b*) เพียงเล็กน้อย การอบแห้งส่งผลให้ใบบัวบกที่มีความชื้นเริ่มต้น 400-600 % มาตรฐานแห้ง มีความชื้นสุดท้ายเฉลี่ย 12.83±0.78 ถึง 15.83±1.52 % มาตรฐานแห้ง ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดโดยวัตถุดิบสมุนไพรตามมาตรฐาน Good Manufacturing Practice (GMP) กำหนดให้มีปริมาณน้ำหรือความชื้นไม่เกิน 10-15 % หากมีปริมาณมากกว่าที่กำหนดสมุนไพรอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพหรือเคมี ใบบัวบกมีความชื้นสุดท้ายลดลง เมื่ออุณหภูมิอบแห้งสูงขึ้น แต่ระยะเวลาอบแห้งต่างกัน ไม่มีผลต่อความชื้นสุดท้ายของใบบัวบกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับความชื้นของกล้วยแผ่นที่จารุวรรณ และคณะ [20] รายานว่าอุณหภูมิอบแห้งมีผลต่อการลดความชื้น การหดตัว สีสารประกอบที่

Table 1 Effects of drying temperatures and times on moisture content and extraction yield of *C. asiatica* (L.) Urb. leaves

Factors		Moisture content (%)	Extraction yield (%)
A: Temperature (°C)	60	15.83±1.52[a]	26.81±1.16[a]
	70	13.28±0.67[b]	22.94±1.98[b]
	80	12.83±0.78[b]	22.42±1.30[b]
B: Time (hour)	8	13.72±2.39	23.67±1.83
	10	13.67±2.20	23.80±3.04
	12	13.27±2.40	24.70±2.57
F-test	A	**	**
	B	ns	ns
	A×B	ns	**
	C.V. (%)	3.94	4.75

** indicate a significance at $p < 0.01$ level; [ns] indicate non-significance; [abcd] mean in the same columns with different letters are significant at $p < 0.05$ level.

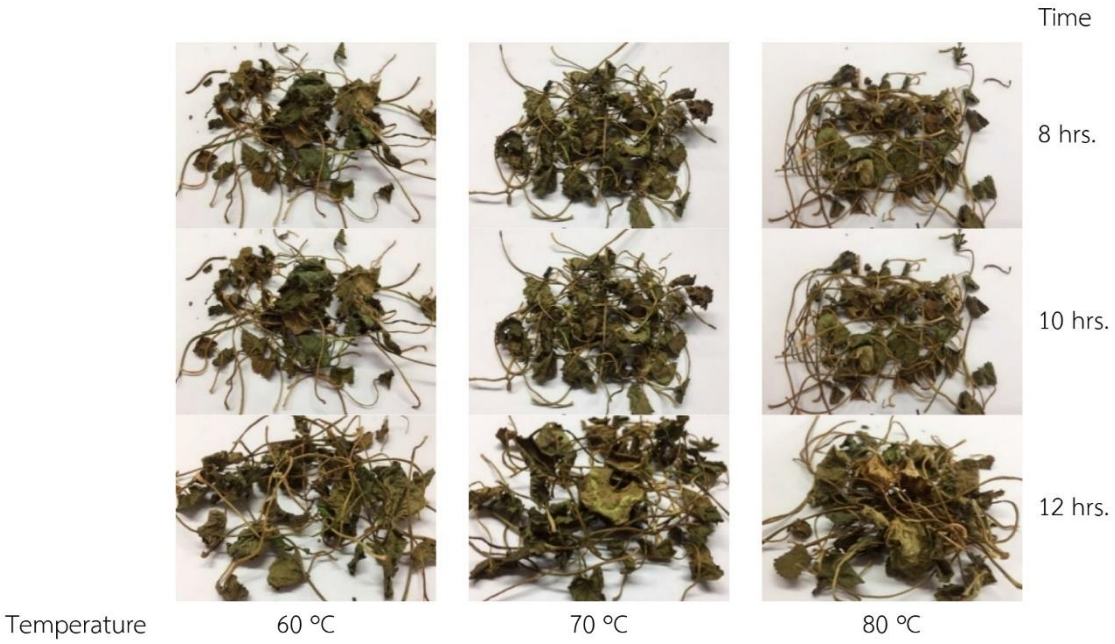

Figure 1 The characteristics of *C. asiatica* (L.) Urb. after its leaves were dried at different drying temperatures and times

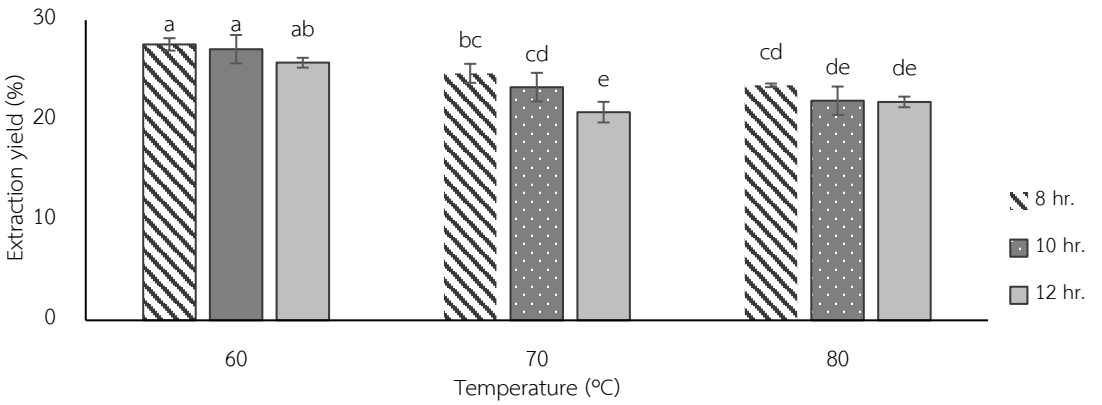

Figure 2 Interaction between drying temperatures and times on extraction yields of *C. asiatica* (L.) Urb. (^{abcd} mean in the same studied traits with different letters are significantly different at $p < 0.05$ level)

ระเหยง่าย โดยอุณหภูมิสูงสามารถลดความชื้นของกล้วยแผ่นเร็วกว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิต่ำ และใช้ระยะเวลาในการอบแห้งสั้นกว่า นอกจากนี้ อุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งบัวบกมีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณสารสกัดอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 1) โดยการอบแห้งใบบัวบกที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 8, 10 และ 12 ชั่วโมง มีปริมาณสารสกัดบัวบกสูงสุด (27.58±0.62, 27.10±1.42 และ 25.75±0.49 % ตามลำดับ)

ขณะที่การอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 ºC นาน 12 ชั่วโมง มีปริมาณสารสกัดบัวบกต่ำสุด (20.81±1.03 %) (รูปที่ 2) เนื่องจากสารสกัดบัวบกประกอบด้วยสารพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น กรดฟีนอลิค ไตรเทอร์ปีน กรดแอสคอร์บิก รวมถึงสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย [11] ซึ่งสารสำคัญดังกล่าวเสื่อมสลาย (degrade) เป็นสารประกอบอื่น ๆ ที่ไม่ละลายในสาร ละลายเอทานอล และการสูญเสียสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายเมื่อได้รับความร้อน ทำให้ผลผลิตสารสกัดมีปริมาณที่ลดลง ผลจากการศึกษานี้สอดคล้องกับ Niamnuy และคณะ [10] ที่รายงานว่าปริมาณสารสกัดบัวบกลดลงเมื่ออุณหภูมิการอบลมร้อนเพิ่มขึ้นจาก 50 เป็น 70 ºC (12.58±0.94 และ 11.41±0.75 % ตามลำดับ)

3.2 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระของบัวบก

ผลการทดลองพบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งบัวบกมีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของใบบัวบกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 10 และ 8 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงสุด (47.50±6.79 และ 44.44±2.27 mg GAE/g dry extract ตามลำดับ) รองลงมา คือ การอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 12 ชั่วโมง (39.62±0.50 mg GAE/g dry extract) ขณะที่การอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 ºC นาน 10 และ 12 ชั่วโมง ใบบัวบกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดต่ำสุด (17.54±1.60 และ 18.28±1.30 mg GAE/g dry extract ตามลำดับ) (รูปที่ 3A) ผลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ซึ่งทำให้ปริมาณสารดังกล่าว

Table 2 Effects of drying temperatures and times on total phenolic content (TPC), total flavonoid content (TFC), and their activities by DPPH and ABTS assays of *C. asiatica* (L.) Urb.

Factors		TPC (mg GAE/g dry extract)	TFC (mg CE/g dry extract)	Antioxidant activities (% inhibition)	
				DPPH	ABTS
A: Temperature (ºC)	60	43.86±4.97^{a}	36.71±5.79^{a}	44.55±12.10^{a}	8.57±0.94^{a}
	70	24.31±3.10^{b}	13.29±2.47^{b}	10.77±1.52^{b}	6.90±2.66^{b}
	80	19.78±1.67^{c}	10.88±1.48^{c}	11.36±1.18^{b}	5.59±1.67^{c}
B: Time (hour)	8	30.44±10.60	22.96±15.58^{a}	26.48±24.97^{a}	7.45±1.11
	10	29.56±22.34	19.22±12.39^{b}	21.04±12.83^{b}	6.79±0.92
	12	27.94±21.08	18.69±9.56^{b}	19.17±13.08^{b}	6.82±1.99
F-test	A	**	**	**	**
	B	ns	**	**	ns
	A×B	**	**	**	**
	C.V. (%)	9.25	9.78	13.61	10.21

** indicate a significance at $p < 0.01$ level; ^{ns} indicate non-significance; ^{abcd} mean in the same columns with different letters are significant at $p < 0.05$ level.

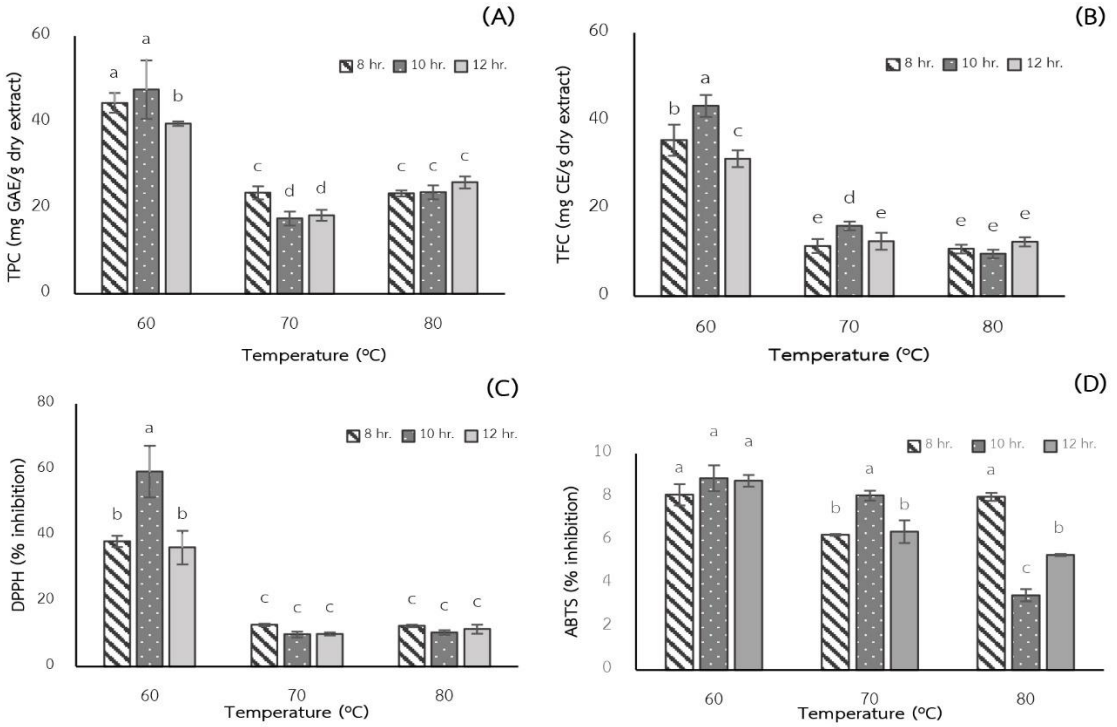

Figure 3 Interaction between drying temperatures and times on total phenolic content (A), total flavonoid content (B), and antioxidant activities by DPPH (C) and ABTS (D) assays of *C. asiatica* (L.) Urb. (^{abcd} mean in the same studied traits with different letters are significantly different at $p < 0.05$ level)

ลดลง สอดคล้องกับรายงานของ ชลิดา และคณะ [6] ที่พบว่าอุณหภูมิอบแห้งที่สูงขึ้นทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Niamnuy และคณะ [10] ที่พบว่าอุณหภูมิอบแห้งส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดในบัวบกต่างกัน โดยการอบแห้งบัวบกที่อุณหภูมิ 50 °C มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงกว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 °C (20.0 และ 53.0 % ตามลำดับ) การสูญหายของสารประกอบฟีนอลิคจะเกิดขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการสลายของพันธะที่กรดฟีนอลิคจับกับองค์ประกอบอื่น เช่น โปรตีน หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดฟีนอลิคส่งผลให้ไม่สามารถสกัดหรือวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิค [21] การตอบสนองต่ออุณหภูมิอบแห้งยังขึ้นอยู่กับรูปแบบของสารประกอบฟีนอลิคในตัวอย่าง โดยสารประกอบฟีนอลิคที่อยู่ในรูปที่ถูกตรึงกับองค์ประกอบอื่น (bound phenolic form) มีการเสื่อมสภาพสูงกว่าสารประกอบฟีนอลิคที่อยู่ในรูปอิสระ (free phenolic form) เมื่ออุณหภูมิอบแห้งเพิ่มขึ้น [12]

อุณหภูมิและระยะเวลาการอบแห้งมีปฏิสัมพันธ์ต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบบัวบกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C นาน 10 ชั่วโมง ใบบัวบกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด (43.32±2.46 mg CE/g dry extract) รองลงมา คือ การอบแห้งที่

อุณหภูมิ 60 ºC นาน 8 ชั่วโมง (35.52±3.52 mg CE/g dry extract) ขณะที่การอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 ºC นาน 8 และ 12 ชั่วโมง รวมถึงการอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 ºC ที่ทุกระยะเวลาอบแห้ง ใบบัวบกมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดต่ำสุด (รูปที่ 3B) ผลจากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าความร้อนส่งผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในใบบัวบก โดยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดของใบบัวบกที่กล่าวไปแล้วข้างต้น สอดคล้องกับรายงานของ Zainol และคณะ [9] ที่พบว่าการอบด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิ 45 ºC นาน 48 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในส่วนของก้านใบและรากบัวบกลดลง 76 และ 97 % เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด แต่บัวบกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -45 ºC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง 31-73 % เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด ด้วยเหตุที่กระบวนการให้ความร้อนส่งผลให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสลายตัวหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง จนก่อให้เกิดการสูญเสียความสมบูรณ์ของเซลล์หรือเกิดการสลายโดยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งมีออกซิเจนเอนไซม์ และแสงเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา [22] ซึ่งฟลาโวนอยด์แต่ละชนิดมีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนและการจัดเรียงตัวของหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ชนิดนั้น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งคาเตชิน เอพิคาเตชิน แกลโลคาเตชิน และเอพิแกลโลคาเตชิน เป็นฟลาโวนอยด์ที่ทนความร้อนได้ดี [23,24] ส่วนฟลาโวนอยด์ชนิดหลักที่พบในบัวบกได้แก่ นาริจิน เควอเตชิน คาเตชิน และรูติน เมื่อผ่านการอบด้วยลมร้อนจะมีปริมาณสารดังกล่าวลดลง 31-78 % เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสด แต่บัวบกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีปริมาณฟลาโวนอยด์ดังกล่าวลดลงเพียงเล็กน้อย [9] ดังนั้นวิธีการอบแห้งบัวบกจึงควรเลือกวิธีการและสภาวะต่าง ๆ ให้เหมาะสม เพื่อรักษาสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ไว้ในตัวอย่างให้มีปริมาณสูงสุด

3.3 ผลของอุณหภูมิและระยะเวลาในการอบแห้งต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของบัวบก

ผลจากการทดลองพบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งมีปฏิสัมพันธ์ต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของใบบัวบกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (ตารางที่ 2) โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 10 ชั่วโมง ใบบัวบกมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ สูงสุด (59.34±7.86 %) รองลงมา คือ การอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 8 และ 12 ชั่วโมง (38.09±1.74 และ 36.22+5.12 % ตามลำดับ) ส่วนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 70 และ 80 ºC ทุกระยะเวลา ใบบัวบกมีค่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ต่ำสุด (รูปที่ 3C) นอกจากนี้อุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งมีปฏิสัมพันธ์ต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ของใบบัวบกอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ โดยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 8, 10 และ 12 ชั่วโมง 70 ºC นาน 10 ชั่วโมง และ 80 ºC นาน 8 ชั่วโมง ใบบัวบกมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ สูงสุด (8.86±1.59, 8.74±1.27, 8.10±0.49, 8.07±0.23 และ 8.00±0.18 % ตามลำดับ) (รูปที่ 3D) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาก่อนหน้าที่กล่าวไว้ว่า เมื่ออุณหภูมิการอบแห้งตัวอย่างพืชเพิ่มขึ้น จะทำให้ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีค่าลดลง [10, 25,26] โดยการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ [12] โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารประกอบฟีนอลิคและฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลักในการยับยั้งอนุมูลอิสระในพืช [27-29] ถึงแม้ว่าสาร

ทุติยภูมิหลักของบัวบก คือ สารในกลุ่มไตรเทอร์ปีน ได้แก่ กรดเอเชียติก เอเชียติโคไซด์ กรดมาเดคาสสิก และมาเดคาสโซไซด์ แต่สารในกลุ่มดังกล่าวมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารประกอบฟีนอลิค [10] ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิคหรือฟลาโวนอยด์ภายหลังการอบแห้งสามารถนำมาใช้ในการพิจาณาอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งที่เหมาะสมได้

ผลการทดลองนี้ จึงกล่าวได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาอบแห้งที่สูงขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ ลดลง โดยใบบัวบกที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 8 และ 10 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมดสูงที่สุด นอกจากนี้ใบบัวบกที่ผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิดังกล่าว นาน 10 ชั่วโมง มีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\bullet}$ สูงที่สุด ส่วนการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 ºC นาน 10 ชั่วโมง ใบบัวบกมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ สูงสุด ดังนั้นอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการอบแห้งใบบัวบก คือ 60 ºC นาน 10 ชั่วโมง

4. สรุป

ผลการทดลองนี้สรุปได้ว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 ºC นาน 10 ชั่วโมง เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการอบแห้งใบบัวบก

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

6. References

[1] Sooksriwong, C., Product Champion of Thai's Medicinal Plant, Available Source: https://www.pharmacy.mahidol.ac.th%2Fknowledge%2Ffiles%2F0404.pdf&usg=AOvVaw0B6HSHgPloK5wOTs3NZzlh, May 16, 2019. (in Thai)

[2] Park, J.H., Choi, J.Y., Son, D.J., Park, E.K., Song, M.J., Hellström M. and Hong, J.T., 2017, Anti-inflammatory effect of titrated extract of *Centella asiatica* in phthalic anhydride- induced allergic dermatitis animal model, Int. J. Mol. Sci. 18: 1-14.

[3] Somboonwong, J., Kankaisre, M., Tantisira, B. and Tantisira, M.H., 2012, Wound healing activities of different extracts of *Centella asiatica* in incision and burn wound models: An experimental animal study, BMC Complement Altern. Med. 12: 103.

[4] Veerendra, K.M.H. and Gupta, Y.K., 2002, Effect of different extracts of *Centella asiatica* on cognition and markers of oxidative stress in rats, J. Ethnopharmacol. 79: 253-260.

[5] Tomas-Barberan, F.A. and Espin, J.C., 2001, Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables, J. Sci. Food Agric. 81: 853-876.

[6] Niamnuy, C., Siwawut, J. and Kadeedang, R., 2012, Kinetics of drying and phenolic compound changes of *Centella asiatica*

(Linn.) Urban during hot air drying, Agric. Sci. J. 43: 208-211. (in Thai)

[7] Tirawanichakul, S., Chanchiew, S. and Tirawanichakul, Y., 2013, Pennywort using infrared radiation: drying kinetics, energy consumption and quality aspect, KKU Res. J. 18: 311-324. (in Thai)

[8] Maskan, M., 2000, Microwave/ air and microwave finish drying of banana, J. Food Eng. 44: 71-78.

[9] Zainol, M.K.M., Abdul-Hamid, A., Bakar, F.A. and Dek, S.P., 2009, Effect of different drying methods on the degradation of selected flavonoids in *Centella asiatica*, Int. Food Res. J. 16: 531-537.

[10] Niamnuy, C., Charoenchaitrakool, M., Mayachiew, P. and Devahastin, S., 2013, Bioactive compounds and bioactivities of *Centella asiatica* (L.) Urban prepared by different drying methods and conditions, Dry Technol. 31: 2007-2015.

[11] Soumyanath, A., Zhong, Y.P. Gold, S.A., Yu, X., Koop, D.R., Bourdette, D. and Gold, B.G., 2005, *Centella asiatica* accelerates nerve regeneration upon oral administration and contains multiple active fractions increasing neurite elongation in-vitro, J. Pharm. Pharmacol. 57: 1221-1229.

[12] Rodríguez, K., Ah-Hen, K.S., Vega-Galvez, A., Valeria Vasquez A., Quispe-Fuentes, I., Rojas, P. and Lemus-Mondaca, R., 2016, Changes in bioactive components and antioxidant capacity of maqui, *Aristotelia chilensis* [Mol] Stuntz, berries during drying, LWT-Food Sci. Tech. 65: 537-542.

[13] AOAC, 2000, Official Methods of Analysis of AOAC International, 17th Ed., AOAC International, Washington, DC.

[14] Jaiarree, N., 2010. Biological Activities of *Dioscorea birmanica* Prain and Burkill Extract and Its Active Ingredients, Doctoral Dissertation, Thammasat University, Pathum Thani, 130 p.

[15] Folin, O. and Ciocalteu, V., 1927, On tyrosine and tryptophane determinations in proteins, J. Biol. Chem. 73: 627-650.

[16] Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y. and Tang, T., 2010, Analysis of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV-Vis spectro photometry with comparative study on different extraction technologies, Food Anal. Methods 3: 90-97.

[17] Yamasaki, K., Hashimoto, T. and Sato, T., 1994, Electrochemical method for estimating the antioxidative effect of methanol extracts of crude drugs, Chem. Pharma. Bull. 42: 1663-1665.

[18] Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C., 1999, Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, Free Rad. Biol. Med. 26: 1231-1237.

[19] Nadee, A., Tirawanichakul, Y. and Tirawani chakul, S., 2012, Drying kinetics of

pandanus leaf by infrared radiation combine hot air and hot air, Burapha Sci. J. 2: 130-138.

[20] Kunwisawa, J., 2007, Alternative: Effect of Drying Methods on Volatile Compounds and Physical Qualities on Banana Slice, Master Thesis, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 120 p.

[21] Martin-Cabrejas, M.A., Aguilera, Y., Pedrosa, M.M., Cuadrado, C., Hernandez, T., Diaz, S. and Esteban, R.M., 2009, The impact of dehydration process on antinutrients and protein digestibility of some legume flours, Food Chem. 114: 1063-1068.

[22] Davey, M.W., Van Montagu, M., Dirk, I., Sanmartin, M., Kanellis, A., Smirnoff, N., Benzie, I., Strain, J., Favell, D. and Fletcher, J., 2000, Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing, J. Sci. Food Agric. 80: 825-860.

[23] Hallamn, P.C.H., 2001, Evidence for health benefits of plant phenols: local or systemic effects?, J. Sci. Food Agric. 81: 842-852.

[24] Bravo, L., 1998, Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance, Nutr. Rev. 56: 317-33.

[25] Seewaeng, P. and Siriamornpun, S., 2019, Effect of drying temperature on phytochemicals and antioxidant activities of *Bambusa beecheyana*, Khon Kaen Agric. J. 47: 1385-1392. (in Thai)

[26] Harakotr, B., Suriharn, B., Tangwongchai, R., Scott, M.P. and Lertrat, K., 2014, Anthocyanins and antioxidant activity in coloured waxy corn at different matura tion stages, J. Funct. Foods. 9: 109-118.

[27] Barros, L., Ferreira, M.J., Queiros, B., Ferreira, I.C.F.R. and Baptista, P., 2007, Total phenols, ascorbic acid, β-carotene and lycopene in Portuguese wild edible mushrooms and their antioxidant activities, Food Chem. 103: 413-419.

[28] Kubola, J., Siriamornpun, S. and Meeso, N., 2011, Phytochemicals, vitamin C and sugar content of Thai wild fruits, J. Agric. Food Chem. 126: 972-981.