



การศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ

STUDY OF ACTIVE SUBSTANCES AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF COFFEE EXTRACTS

ศวิตา จรวงษ์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ
STUDY OF ACTIVE SUBSTANCES AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF COFFEE EXTRACTS

ศวิตา จรวงษ์

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2567

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ
STUDY OF ACTIVE SUBSTANCES AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF COFFEE EXTRACTS

ศวิตา จรวงษ์

การค้นคว้าอิสระนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
2567

คณะกรรมการสอบการค้นคว้าอิสระ



ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.วินดี รุ่งสวัสดิประภา)



อาจารย์ที่ปรึกษา

(ดร.นภัตสร ดิษฐาภูมิกุล)



กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เชตศักดิ์ ใจแข็ง)

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

กิตติกรรมประกาศ

การค้นคว้าอิสระนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่ายที่ทำให้กำลังใจผู้เขียนโดยตลอดทั้งขณะกำลังศึกษา และขณะทำการค้นคว้าอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร.นภัตสร ดิษฐาภูมิกุล เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาในการค้นคว้าอิสระจนสำเร็จการศึกษาเป็นผู้ที่มีพระคุณ เป็นผู้ที่ทำให้กำลังใจ ให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษานี้ ตลอดจนช่วยตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้น จนทำให้การค้น คว้าอิสระนี้มีความถูกต้องและเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มยุรี กัลยาวัฒนกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เกศินี เนตรสมบูรณ์ ที่กรุณาสอบโครงร่าง และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี รังสิวิจิตรประภา และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เชิดศักดิ์ ใจแข็ง ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบป้องกัน ตลอดจนคณาจารย์สำนักวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอางที่ได้ให้ความรู้ เจ้าหน้าที่สำนักวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ประจำอาคารปัญญาภูมิ 2 โดยเฉพาะคุณธนิชา ประเสริฐ ที่คอยให้ความรู้ และคำแนะนำในการทดลอง รวมถึงอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์เครื่องมือในการทดลองเป็นอย่างดีจนการค้นคว้าอิสระครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า ผลการศึกษาค้นคว้าอิสระฉบับนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ที่สนใจ และมีส่วนช่วยให้การพัฒนาเครื่องสำอางไทยให้ก้าวไกลต่อไป หากมีสิ่งผิดพลาดหรือข้อบกพร่องประการใด ผู้เขียนขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

ศวิตา จรวงษ์

ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ
ชื่อผู้เขียน	ศวิตา จรวงษ์
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.นภัตสร ดิษฐาภูมิกุล

บทคัดย่อ

กากกาแฟเป็นส่วนที่เหลือทิ้งมากที่สุดในการอุตสาหกรรมการผลิตกาแฟกระป๋อง และธุรกิจร้านกาแฟที่เกิดขึ้นอย่างแพร่หลาย ซึ่งในปัจจุบันมีการนำกากกาแฟมาใช้ประโยชน์โดยพัฒนาทั้งรูปแบบและวิธีการใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่าของกาก กาแฟที่เหลือทิ้งเหล่านี้ให้ได้มากที่สุด มีการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ากากกาแฟมีสารสำคัญจำนวนมากหลายกลุ่มที่เป็นประโยชน์ในการดูแลผิวพรรณ และมีศักยภาพในการใช้ในทางเครื่องสำอาง โดยงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน ระหว่างสารสกัดกาแฟ และกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า โดยนำผงกาแฟที่ไม่ผ่านการชง และการผ่านชงด้วยเทคนิคการดริป มาอบแห้งแล้วสกัดด้วยการแช่หมักกับสารละลาย 95% เอทานอล ก่อนนำไประเหยตัวทำละลายออกจนได้สารสกัดหยาบ จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดคือ 1.20 ± 0.04 ไมโครกรัมของกรดแกลลิกสมมูลย์ (กส) ต่อสารสกัด 1 มิลลิตร ซึ่งไม่แตกต่างกันกับสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (1.05 ± 0.07 มคก. กส/มล.) และ สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า (1.00 ± 0.02 มคก. กส/มล.) เมื่อทดสอบด้วยวิธีการทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม พบว่าให้ผลไปในทิศทางเดียวกัน คือ สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (0.43 ± 0.00 ไมโครกรัมของเคอร์ซีตินสมมูลย์ (คส) ต่อสารสกัด 1 มิลลิตร) ซึ่งไม่แตกต่างกันกับสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (0.39 ± 0.00 มคก. คส/มล.) และ สารสกัด

กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า (0.38 ± 0.00 มก. คส/มล.) เมื่อนำสารสกัดจากกาแฟทั้ง 4 ชนิดไปทดสอบหาปริมาณคาเฟอีน พบว่าสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณคาเฟอีนสูงที่สุด (0.73 ± 0.01 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) ต่อมาเมื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช และเอบีทีไอเอส กลับพบว่าสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในทั้งสองอนุมูลอิสระ

จากผลการทดลองพบว่า กาแฟอาราบิก้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมไม่แตกต่างจากเมล็ดกาแฟที่ยังไม่ผ่าน การชง และสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีฤทธิ์ในการต่อต้านอนุมูลอิสระที่สูงที่สุด ซึ่งแสดงถึงศักยภาพในการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อต่อต้านอนุมูลอิสระและชะลอวัยต่อไป โดยควรมีการศึกษาในด้านการตั้งตำรับ ประเมินความคงตัวของตำรับ และทดสอบประสิทธิภาพในอาสาสมัครต่อไป

คำสำคัญ : กาแฟ, กาแฟกาแฟ, อาราบิก้า, โรบัสต้า, ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, คาเฟอีน

Independent Study Title	Study of Active Substances and Antioxidant Activities of Coffee Extracts
Author	Sawita Jorawong
Degree	Master of Science (Cosmetic Science)
Advisor	Naphatsorn Dithawutthikul, Ph. D.

ABSTRACT

In the widespread canned coffee and coffee shop industry, spent coffee grounds constitute the largest portion of waste. Presently, efforts are being made to innovate both the forms and methods of utilizing coffee grounds in order to maximize their value. Previous research indicated that both coffee and spent coffee grounds contain various bioactive compounds that are advantageous for skin care and have potential applications in the cosmetics industry. This research was aimed to analyze and compare the content of bioactive compounds and antioxidant activities presented in Arabica and Robusta coffee extracts and their spent coffee grounds. In this study, fresh coffee and spent coffee ground, which produced by coffee drip technique were dried and then extracted with 95% ethanol using the maceration technique. The solvent was removed to obtain crude extracts. Analysis of total phenolic compounds revealed that the Arabica coffee extract exhibited the highest concentration, with 1.20 ± 0.04 micrograms of gallic acid equivalent (GAE) per milliliter. This concentration was statistically indistinguishable from that of Arabica coffee grounds extract (1.05 ± 0.07 μg GAE/ml) and Robusta coffee extract (1.00 ± 0.02 μg GAE/ml). Similarly, the total flavonoid content analysis indicated that Arabica coffee extract contained the highest flavonoid concentration (0.43 ± 0.00 μg of quercetin equivalent (QE) per milliliter),

which was not significantly different from Arabica coffee grounds extract (0.39 ± 0.00 μg QE/ml) and Robusta coffee grounds extract (0.38 ± 0.00 μg QE/ml). Antioxidant activity tested using the DPPH method showed that Robusta coffee extract had the highest DPPH radical scavenging activity at 0.23 ± 0.00 μg ascorbic acid equivalent (AAE)/mL, followed by Arabica coffee extract at 0.26 ± 0.00 μg AAE/mL, Robusta coffee grounds extract at 0.35 ± 0.00 μg AAE/mL, and Arabica coffee grounds extract at 0.40 ± 0.00 μg AAE/mL. In the ABTS antioxidant activity test, Robusta coffee extract showed the highest activity at 0.05 ± 0.01 mg AAE/mL, followed by Arabica coffee extract at 0.10 ± 0.00 mg AAE/mL, Robusta coffee grounds extract at 0.12 ± 0.00 mg AAE/mL, and Arabica coffee grounds extract at 0.19 ± 0.00 mg AAE/mL.

A further analysis of the caffeine content in extracts from four coffee types revealed that Robusta coffee extract contained the highest level of caffeine, at 0.73 ± 0.01 %w/w. Subsequent assessments of antioxidant activities using DPPH and ABTS free radicals scavenging assays demonstrated that Robusta coffee extract exhibited the highest antioxidant activity against both types of free radicals. In conclusion, the results indicated that spent Arabica coffee grounds possessed similar total phenolic and flavonoid contents to those found in unbrewed coffee beans, while Robusta coffee extract exhibited superior antioxidant activity. These findings suggested the potential for developing Robusta coffee extract into cosmetic products aimed at combating free radicals and delaying the aging process. Further research should focus on formulating and assessing the stability of such products, as well as conducting efficacy trials with volunteers.

Keywords: Coffee, Coffee Grounds, Arabica, Robusta, Total Phenolic Content, Total Flavonoid Content, Antioxidant Activity, Caffeine Content

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(3)
บทคัดย่อภาษาไทย	(4)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	(6)
สารบัญตาราง	(11)
สารบัญภาพ	(13)
บทที่	
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	3
1.3 ขอบเขตของการศึกษา	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 ทบทวนวรรณกรรม	4
2.1 กาแฟ	4
2.2 กาขกาแฟ	11
2.3 การสกัดกาแฟ	14
2.4 การสกัดกาขกาแฟ	15
2.5 คาเฟอีน	16
2.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารสกัด	18
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	20
2.8 สารประกอบฟีนอลิก	24
2.9 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม	26

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
2.10 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์	26
2.11 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์	29
2.12 รูปแบบผลิตภัณฑ์จากสารสกัดกากกาแฟในปัจจุบัน	29
3 วิธีการดำเนินการวิจัย	31
3.1 วัตถุดิบ สารเคมีและเครื่องมือ	31
3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย	33
3.3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกาแฟ	34
3.4 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกากกาแฟ	34
3.5 การสกัดด้วยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย (Maceration)	34
3.6 การคำนวณร้อยละผลผลิต (%Yield)	35
3.7 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม	35
3.8 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	36
3.9 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH	38
3.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย วิธี ABTS	40
3.11 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารสกัด	43
3.12 การวิเคราะห์ข้อมูล	44
4 ผลการศึกษาและอภิปรายผล	45
4.1 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดกาแฟคั่ว	45
4.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกากกาแฟจากเมล็ดกาแฟคั่ว	48

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่	
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	50
4.4 การประเมินการต้านอนุมูลอิสระ	51
4.5 ผลการทดสอบปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์ อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	53
5 สรุปผลการศึกษาวิจัยและข้อเสนอแนะ	55
5.1 สรุปผลการศึกษาวิจัย	55
5.2 ข้อเสนอแนะ	56
รายการอ้างอิง	58
ภาคผนวก	67
ภาคผนวก ก อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการทดลอง	68
ภาคผนวก ข กราฟการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	70
ประวัติผู้เขียน	77

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 ความแตกต่างในรสสัมผัสและเอกลักษณ์ระหว่าง กาแฟอาราบิก้า และ กาแฟโรบัสต้า	11
3.1 สารเคมี	31
3.2 เครื่องมือ	32
3.3 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน	36
3.4 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟเพื่อวิเคราะห์หาสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัด	38
3.5 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH	39
3.6 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟด้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากกาแฟและกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า ด้วยวิธี DPPH	40
3.7 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี ABTS	41
3.8 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟด้านอนุมูลอิสระของสารสกัด จากกาแฟและกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า ด้วยวิธี ABTS	42
3.9 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานของคาเฟอีน	43
3.10 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟของสารสกัดจากกาแฟและ กากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า	44
4.1 ปริมาณสารสกัด และ %yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด ของสารสกัด กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	48
4.2 ปริมาณสารสกัด และ %yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด ของสารสกัด กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	49

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตาราง	หน้า
4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	50
4.4 ผลการวิเคราะห์การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	52
4.5 ผลการทดสอบปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์ อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารกากกาแฟสายพันธุ์ อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	54

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ผลกาแฟอาราบิก้า	6
2.2 ดอกกาแฟอาราบิก้า	6
2.3 เมล็ดกาแฟโรบัสต้า	7
2.4 ต้นกาแฟโรบัสต้า	8
2.5 ลักษณะต้นกาแฟอาราบิก้า และโรบัสต้า	9
2.6 ลักษณะรูปทรงของเมล็ดกาแฟอาราบิก้า และโรบัสต้า	9
2.7 กากกาแฟที่ได้หลังจากการสกัดน้ำกาแฟ	12
2.8 โครงสร้างทางเคมีของคาเฟอีน	17
2.9 โครงสร้างทางเคมีของ 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl	23
2.10 ปฏิกริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH กับสารที่ให้ไฮโดรเจน	23
2.11 โครงสร้างทางเคมีของ 2, 2 - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid)	24
2.12 ตัวอย่างของกลุ่มฟลาโวนอยด์	27
2.13 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	27
3.1 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย	33
4.1 (A) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า (B) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า	45
4.2 (A) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้าที่ผ่านการบดละเอียด (B) เมล็ด กาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้าที่ผ่านการบดละเอียด	46
4.3 (A) สารสกัดหยาบของผงกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (B) สารสกัดหยาบ ของผงกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	47
4.4 (A) สารสกัดหยาบของผงกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (B) สารสกัดหยาบ ของผงกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	49

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

กาแฟจัดว่าเป็นสินค้าโภคภัณฑ์ (คือ สินค้าที่มีมาตรฐานไม่แตกต่างกัน เช่น พลังงาน แร่สินค้าเกษตร) ซึ่งหากจัดอันดับในปี 2021 เมล็ดกาแฟเป็นสินค้าโภคภัณฑ์ที่มีการซื้อขายกันมากที่สุดเป็นอันดับ 2 ของโลก (Money buffalo, 2022) กาแฟเริ่มได้รับความนิยมตั้งแต่ประมาณคริสต์ศตวรรษที่ 16 (คเณศ กังวานสุรไกร, 2552) มีรายงานว่า กาแฟมีผลเสียต่อสุขภาพน้อยกว่าสูบบุหรี่ และน้ำผลไม้ เพราะในกาแฟมีสารแอนติออกซิแดนท์ ช่วยคลายเครียด นอกจากนี้ยังมีผลวิจัยอีกว่า คนที่ดื่มกาแฟเป็นประจำมีอายุยืนกว่าและมีความเสี่ยงที่จะเสียชีวิตด้วยโรคร้ายแรงน้อยกว่าคนที่ไม่ดื่มกาแฟ ส่วนผลงานวิจัยจากเกาหลีใต้ยังบอกด้วยว่า กาแฟช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเส้นเลือดอุดตัน (Voice Online, 2017) โดยสารสำคัญที่ทำให้กาแฟมีรสชาติและกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ คือ คาเฟอีน (Caffeine) ซึ่งเป็นสารกระตุ้นประสาททำให้เกิดความตื่นตัว ทำให้สมองปลอดโปร่ง ดังนั้น กาแฟจึงเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมในกลุ่มคนทำงานและบุคคลทั่วไปที่ชื่นชอบในรสชาติและกลิ่นของกาแฟ (รพีพรรณ กองตูม, 2560)

ปัจจุบันคนไทยนิยมการดื่มกาแฟกันอย่างแพร่หลาย และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงมากขึ้น โดยอัตราการเจริญเติบโตที่รวดเร็วอย่างต่อเนื่องในระยะเวลา 4-5 ปีที่ผ่านมา มีการลงทุนเปิดธุรกิจร้านกาแฟกันอย่างแพร่หลายโดยลูกค้ากลุ่มเป้าหมายหลักจะอยู่ในกลุ่มของคนวัยทำงาน และนักท่องเที่ยว เป็นต้น โดยส่วนใหญ่คนไทยนิยมที่จะบริโภคกาแฟ ในช่วงระหว่างวันของเวลาทำงาน เฉลี่ยวันละ 1-2 แก้ว (Money buffalo, 2022) มีการตั้งร้านกาแฟขึ้นอีกหลายร้าน มีการแข่งขันสูงในปัจจุบัน ธุรกิจร้านกาแฟเกิดขึ้นมากมายทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ และผลจากการขยายตัวของธุรกิจกาแฟทำให้มีเศษเหลือทิ้งจากการชงกาแฟเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่อุตสาหกรรมการผลิตกาแฟกระป๋องโรบัสต้าก็มีส่วนเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตในแต่ละขั้นตอนเช่นเดียวกัน โดยส่วนที่เหลือทิ้งมากที่สุดก็คือส่วนของกากกาแฟ (Spent coffee grounds) และถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างต่อเนื่อง

โดยมีการพัฒนาทั้งรูปแบบและวิธีการใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มมูลค่าของกากกาแฟที่เหลือทิ้งเหล่านี้ให้ได้มากที่สุด (รพีพรรณ กองตุม, 2560) มีการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่ามีสารสำคัญจำนวนมากที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพในกากกาแฟ (Borrelli et al., 2004; Ramalakshmi et al., 2009) และหนึ่งในสารสำคัญมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ (Borrelli et al., 2004; Napolitano, 2007) นอกจากนี้ในกากกาแฟที่ได้จากการผลิตกาแฟยังพบคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งอาจเกิดจากสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกและกลุ่มที่ไม่ใช่ฟีนอลิก (Pushpa, 2010; Ramalakshmi et al., 2009; Yen, 2005) มีการสกัดกากกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายน้ำพบว่าได้สารละลายลักษณะสีเหลืองซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งคาดว่าสารนั้นจะเป็นสารกลุ่มฟีนอลิก (Jimena et al., 2011) จากการวิเคราะห์สารสำคัญที่เป็นส่วนประกอบอยู่ในกากกาแฟ พบว่าประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม เช่น โพลีแซคคาไรด์ กรดไขมัน โปรตีน คาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (เยาวเรศ เพ็ชรเมณี, 2564) ซึ่งสารเหล่านี้ได้มาโดยใช้เทคนิคและวิธีการสกัดแตกต่างกันออกไปตามคุณสมบัติของสาร (ศุภาวิดา จรรยา, 2563) และถูกนำไปใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ มากมายทั้งด้านพลังงาน เช่น การนำน้ำมันจากกากกาแฟไปผลิตเป็นไบโอดีเซล (PPTV Online, 2564) รวมถึงสารคาเฟอีน สารสกัดฟีนอลิก และสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจจะถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพหรือยา (Khachananda et al., 2016) และในกลุ่มผลิตภัณฑ์สำหรับการรักษาโรค การป้องกันการสร้างเม็ดสีผิวและความแก่ชราที่เกิดจากภาวะความเครียดออกซิเดชัน (Chen et al., 2021) การเติมสารต้านอนุมูลอิสระช่วยรักษาความคงตัวของสูตรเครื่องสำอางโดยการขัดขวางปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในการดูแลผิวสารต้านอนุมูลอิสระช่วยปกป้องเซลล์ผิวและชะลอการชรา ทำหน้าที่เป็นตัวส่งเสริมความกระชับและลดริ้วรอยและรอยด่างที่เกิดจากการสัมผัสกับแสงแดดและริ้วรอยแห่งวัย ในเชิงเครื่องสำอางคาเฟอีนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งความสามารถในการยับยั้งการเกิด lipid peroxidation เช่นเดียวกับ piroctone olamine คาเฟอีนจะช่วยเพิ่มฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในบริเวณที่จะเป็นประโยชน์ต่อการคงสภาพเส้นผมโดยผลการวิจัยพบว่าคาเฟอีนช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการบำรุง และการคงสภาพเส้นผม (Loris et al., 2023)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ ปริมาณคาเฟอีน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ

ทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการนำไปใช้ต่อยอดด้านผลิตภัณฑ์
สำหรับเครื่องสำอางต่อไปและเพื่อให้กากกาแฟเหลือทิ้งมีมูลค่าเพิ่มและเกิดการใช้ประโยชน์สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟและกากกาแฟ

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟและ
กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

1.3.1 สกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและโรบัสต้า

1.3.2 ทดสอบสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟ

1.3.3 ประเมินปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ด้านออกซิเดชันของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์
อาราบิก้าและสายพันธุ์โรบัสต้า

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบข้อมูลว่ากาแฟบดสายพันธุ์อาราบิก้า กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า กาแฟบดสาย
พันธุ์โรบัสต้า หรือ กากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95
แบบใดที่ได้ปริมาณคาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

1.4.2 ได้ข้อมูลพื้นฐานของปริมาณคาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ต่อต้าน
ออกซิเดชันจากกาแฟ

1.4.3 นำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ได้อย่างกว้างขวางในการพัฒนาด้านอาหาร ยา และ
ผลิตภัณฑ์ส่งเสริมสุขภาพ ลดการเกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม

2.1 กาแฟ

2.1.1 ประวัติความเป็นมาของกาแฟ

ประวัติศาสตร์โดยแหล่งกำเนิดแล้วกาแฟเป็นพืชพื้นเมืองของอาบิซีเนีย (Abyssinia) และอาราเบีย (Arabia) ถูกค้นพบในศตวรรษที่ 6 ราวปี ค.ศ. 575 ในประเทศอาราเบีย (Arabia) กาแฟเป็นพืชพื้นเมืองที่พบในเมืองคัฟฟา (Kaffa) ซึ่งเป็นจังหวัดหนึ่งของประเทศเอธิโอเปีย (Ethiopia) กาแฟจึงได้ชื่อเรียกตามจังหวัดนี้ และมีการเรียกแตกต่างกันออกไปอีกมาก แหล่งกำเนิดเดิมของกาแฟมาจากประเทศอาบิซีเนีย หรือแถบประเทศอาราเบีย หรือประเทศอาหรับ ตะวันออกกลาง (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2558) และแพร่หลายเพิ่มขึ้น ถึงศตวรรษที่ 9 ชาวอาราเบียคนหนึ่งชื่อ คาลดี (Kaldi) นำแพะออกไปเลี้ยงตามปกติ แพะได้กินผลไม้สีแดงชนิดหนึ่งเข้าไปแล้วเกิดความรู้สึกกระวนกระวายผิดปกติ จึงได้นำเรื่องไปเล่าให้ชาวมุสลิมท่านหนึ่งฟัง จึงได้นำผลของต้นไม้นั้นมาเคาะเปลือกเอาเมล็ดไปคั่วแล้วต้มในน้ำร้อนดื่ม ชาวอาราเบียจึงได้เริ่มรู้จักต้นกาแฟมากขึ้น จึงทำให้กาแฟแพร่หลายเพิ่มขึ้นจากประเทศอาราเบีย เข้าสู่ประเทศอิตาลี เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน ฝรั่งเศส ต่อมาการเรียกชื่อกาแฟจึงเปลี่ยนแปลงไปตามแหล่งต่างๆของโลก เช่น คัฟฟี ในอังกฤษเรียกว่า “คอฟฟี่” (Coffee) อันเป็นชื่อที่รู้จักและใช้ในปัจจุบันนี้ เมื่อมาถึงประเทศไทยคนไทยเรียกว่า โกปี ข้าวแผ่ และกาแฟในที่สุด (The world atlas of coffee, 2016)

2.1.2 ประวัติของกาแฟในประเทศไทย

กาแฟในประเทศไทยมีต้นกำเนิดจากคนไทยผู้นับถือศาสนาอิสลาม ชื่อนายดิหมุน ที่ได้ไปแสวงบุญ ณ เมืองเมกกะ ประเทศซาอุดีอาระเบีย และนำเมล็ดพันธุ์กาแฟมาเพาะปลูกที่จังหวัดสงขลา ในปี พ.ศ. 2447 โดยกาแฟที่นำมาเป็นพันธุ์โรบัสต้า จากนั้นจึงได้มีการขยายพันธุ์และการส่งเสริม

การปลูกกาแฟพันธุ์โรบัสต้าออกไปอย่างกว้างขวางในภาคใต้ของประเทศไทย โดยเป็นพืชปลูกสลับในสวนยางเป็นรายได้เพิ่มเติม ปัจจุบันการปลูกกาแฟในภาคใต้ได้มีการพัฒนาการอย่างมากมาสามารถปลูกเป็นพืชหลักและทำรายได้ให้เกษตรกรเป็นอย่างดี พื้นที่ปลูกทั้งสิ้นประมาณ 147,647 ไร่

สำหรับกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ได้ถูกนำเข้ามาปลูกในประเทศไทย ประมาณปี พ.ศ. 2493 ตามบันทึกของพระสารศาสตรพลชั้นร์ ซึ่งเป็นชาวอิตาลี ต่อมาในปี พ.ศ. 2516 โครงการปลูกพืชทดแทนและพัฒนาเศรษฐกิจชาวไทยภูเขา ไทย/สหประชาชาติ ได้ส่งเสริมปลูกพืชทดแทนฝิ่น ซึ่งกาแฟพันธุ์อาราบิก้าเป็นพืชชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากสภาพความเหมาะสมของพื้นที่สูง และความต้องการในตลาด (สถาบันชาและกาแฟมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, 2565)

2.1.3 ข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ของกาแฟ

ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Coffea spp.* จัดเป็นไม้พุ่มขนาดกลาง สูงประมาณ 3 ถึง 5 เมตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์กาแฟของแต่ละพันธุ์ ปัจจุบันมีประเทศมากกว่า 50 ประเทศที่ปลูกกาแฟ โดยบริเวณที่เหมาะสมสำหรับการปลูกกาแฟคือบริเวณพื้นที่ระหว่างเส้นละติจูด บริเวณเส้นรุ้งที่ 23.5 องศาใต้เส้นศูนย์สูตร พื้นที่เพาะปลูกจะต้องมีแสงแดดที่เหมาะสม และมีร่มเงา มีฝนตกชุก อุณหภูมิที่เหมาะสม คือประมาณ 15 องศาเซลเซียส โดยกาแฟ แยกออกเป็นสายพันธุ์ใหญ่ ๆ 2 สายพันธุ์ คือ พันธุ์อาราบิก้า (Arabica) เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกในพื้นที่ที่มีความสูงตั้งแต่ 2,500 ฟุตขึ้นไป โดยภาพที่ 2.1 แสดงถึงผลกาแฟพันธุ์อาราบิก้า ส่วนพันธุ์โรบัสต้า (Robusta) เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับปลูกในพื้นที่ราบ หรือในพื้นที่ที่มีความสูงต่ำกว่า 1,500 ฟุต ในด้านกลิ่นของกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้ามีกลิ่นที่หอมกว่ากาแฟ พันธุ์โรบัสต้า

กาแฟมีสารต่าง ๆ ที่มีผลต่อร่างกายมากกว่า 300 ชนิด สารหลักที่สำคัญ เช่น คาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก กรดแทนนิก ไนโอซิน ซึ่งกรดแทนนิกในกาแฟเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้กาแฟมีรสขม นอกจากนั้นสารแทนนินยังเป็นตัวยับยั้งการดูดซึมของธาตุเหล็กจากอาหารในร่างกายให้น้อยลง ดังนั้น การดื่มกาแฟพร้อมอาหารจึงเป็นสิ่งที่ควรหลีกเลี่ยงโดยเฉพาะคนที่มีปัญหาของโรคโลหิตจาง

2.1.4 ชนิดของกาแฟ

2.1.4.1 กาแฟอาราบิก้า

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Coffea arabica* L.

ชื่อวงศ์ : Rubiaceae

ชื่อสามัญ : Arabian coffee, Brazillian coffee

ชื่อที่เรียก : กาแฟ



ที่มา ดอยหวาน (2564)

ภาพที่ 2.1 ผลกาแฟอาราบิก้า



ที่มา อินตัสทรี (2558)

ภาพที่ 2.2 ดอกกาแฟอาราบิก้า

ต้นกาแฟจัดเป็นไม้พุ่มขนาดเล็กที่มีความสูงของต้นประมาณ 2-4 เมตร ในปัจจุบันเพาะปลูกกันมากในเขตร้อนชื้นและกึ่งเย็น ใบเป็นใบเดี่ยวออกเรียงตรงข้าม ลักษณะของใบเป็นรูปขอบขนานหรือรูปไข่ปลายใบแหลม โคนแหลมเล็กน้อยส่วนขอบใบเรียบ ดอกเป็นช่อตามซอกใบใกล้กับดอกเป็นสีขาว ติดกันเป็นหลอด ดังภาพที่ 2.2 ดอกมีกลิ่นหอม ผลเป็นผลสดลักษณะของผลเป็นรูปไข่แกมรูปทรงกลม โดยผลอ่อนจะเป็นสีเขียวแต่เมื่อสุกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีแดง ดังภาพที่ 2.1

โดยผลเมื่อสุกจะมีกลิ่นหอม ทำให้เมื่อดื่มแล้วรู้สึกได้ถึงควมมีชีวิตชีวา โดยกาแฟชนิดนี้จะมีปริมาณของคาเฟอีนต่ำ (นันทน์ภัส ฤทธิบุญ และคณะ, 2558)

กาแฟพันธุ์อาราบิก้า (Arabica) ให้กลิ่นและรสชาติที่ดี ต้องปลูกที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลประมาณ 3,000 ฟุต ให้ผลผลิตสม่ำเสมอ ต้องปลูกบนที่สูงอากาศเย็นในบางช่วง จึงปลูกกันมากที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ตาก และแม่ฮ่องสอน ลักษณะอาราบิก้า มีทรงต้นเล็ก พุ่มเตี้ย สูงประมาณ 2-5 เมตร ใบมีขนาดเล็กเขียว ผิวบนเป็นมัน มีความสามารถต้านทานโรคศัตรูต่ำ ตั้งแต่เริ่มผลิดอกถึงระยะเก็บเกี่ยว ประมาณ 5-9 เดือน ในเมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้ามีปริมาณคาเฟอีนน้อยกว่าพันธุ์โรบัสต้า ประมาณ 1 เท่า ผลผลิตของกาแฟทั่วโลกเป็นกาแฟพันธุ์อาราบิก้า 75%

2.1.4.2 กาแฟโรบัสต้า

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Coffea robusta* Pierre ex Froehner L.

ชื่อวงศ์ : Rubiaceae

ชื่อสามัญ : Robusta coffee

ชื่อที่เรียก : กาแฟใบใหญ่



ที่มา คอฟฟี่ทูลส์ (2562)

ภาพที่ 2.3 เมล็ดกาแฟโรบัสต้า



ที่มา มติชน (2563)

ภาพที่ 2.4 ต้นกาแฟโรบัสต้า

กาแฟโรบัสต้ามีลักษณะเป็นไม้พุ่มหรือไม้ยืนต้นขนาดเล็ก ดังภาพที่ 2.4 อาจสูงถึง 10 เมตร มีรากแก้วสั้น ระบบรากตื้นและมีรากฝอยหาอาหารเป็นจำนวนมาก อยู่บริเวณดินชั้นบนลึก 6 นิ้ว ลำต้น แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดเจริญสูงขึ้นไปและชนิดเป็นพุ่ม ลักษณะการแตกกิ่ง เหมือนกาแฟอาราบิก้า แต่กิ่งข้างหรือกิ่งนอนข้อที่ออกผลแล้วจะไม่ออกอีกผลจะเกิดตามส่วนที่เจริญขึ้นมาใหม่ และ เมื่อออกผลจนสุดปลายกิ่งแล้ว กิ่งจะแห้งตายและร่วงหล่น ทำให้ต้นมีลักษณะทรงต้นแบบร่มใบ มีขนาดใหญ่กว่ากาแฟอาราบิก้า คือ กว้างประมาณ 5 - 15 เซนติเมตร ยาว 15 - 30 เซนติเมตร มีสีเขียวเป็นมัน ใบมักเป็นลอน เส้นกลางใบจะแบน ดอก เช่นเดียวกับกาแฟอาราบิก้า มีกลิ่นหอมมาก แต่มีการผสม เกสรแบบผสมข้าม ถ้าผสมตัวเองมักเป็นหมัน มีผลอ่อนมีสีเขียว แก่สุกแล้วมีสีแดงเข้ม มีขนาดยาวประมาณ 0.8 - 1.5 เซนติเมตร ดังภาพที่ 2.3 ภายหลังจะแห้งและกลายเป็นสีดำติดอยู่กับข้อจนกว่าจะเก็บเกี่ยว ไม่ร่วงหล่นก่อน ดังนั้น ทำให้สามารถเก็บเกี่ยวได้พร้อมกัน ใช้เวลาจากออกดอกจนถึงเก็บเกี่ยวได้ประมาณ 9 - 10 เดือน มีเปลือกและเนื้อบาง จำนวนผลที่มีข้อมีมากกว่ากาแฟอาราบิก้า อาจมี 20 - 70 ผลใน 1 ข้อ เมล็ด มีขนาดยาว 7 - 9 มิลลิเมตร แต่โดยเฉลี่ยประมาณ 8.5 มิลลิเมตร

กาแฟพันธุ์โรบัสต้า (Robusta) ปลูกในพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลไม่มาก ปลูกในประเทศแถบร้อนชื้น มีทรงต้นใหญ่กว่าอาราบิก้า มีความสูง 3-6 เมตร มีข้อปล้องยาว ใบมีขนาดใหญ่สีเขียว แต่ไม่เป็นมัน ชอบอากาศร้อนชื้น ฝนตกสม่ำเสมอ มีปลูกกันมากที่จังหวัดชุมพร สุราษฎร์ธานี กระบี่ นครศรีธรรมราช ระนอง และพังงา มีรสชาติเข้มข้น หอมฉุนกว่ากาแฟพันธุ์อาราบิก้า มีสัดส่วนของผลผลิตกาแฟทั่วโลก 25%

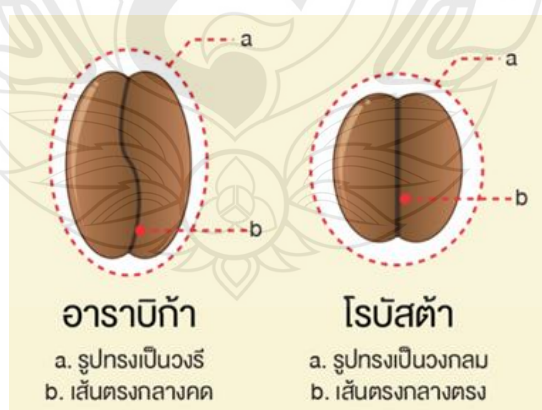
2.1.5 ความแตกต่างของลักษณะต้น และเมล็ดระหว่างกาแฟอาราบิก้า และกาแฟโรบัสต้า

เมล็ดกาแฟอาราบิก้ากับเมล็ดกาแฟโรบัสต่านั้นต่างกัน ตั้งแต่พื้นที่การเพาะปลูก ซึ่งอาราบิก้า นิยมปลูกในพื้นที่ภาคเหนือ มีรูปทรงรี และโรบัสตานิยมปลูกพื้นที่ภาคใต้จะมีรูปทรงกลม ดังภาพที่ 2.5 และ 2.6 เมื่อสภาพแวดล้อม อุณหภูมิต่างกันจึงส่งผลผลิตที่ได้มาน้อยไม่เท่ากัน อีกทั้งยังมีกลิ่นหอมรสชาติของความเข้มข้น ความหวาน ความเปรี้ยวที่ต่างกันอย่างชัดเจน จึงทำให้กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า ที่มีความละมุนมากกว่า เป็นที่นิยมในร้านอาหารสำหรับเตรียมเครื่องดื่ม แต่กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ที่มีความเข้มมากนั้นจะถูกนำไปแปรรูปเป็นกาแฟสำเร็จรูป เช่น กาแฟกระป๋อง



ที่มา ปิ่นแซร์ (2565)

ภาพที่ 2.5 ลักษณะต้นกาแฟอาราบิก้า และโรบัสต้า



ที่มา ปิ่นแซร์ (2565)

ภาพที่ 2.6 ลักษณะรูปทรงของเมล็ดกาแฟอาราบิก้า และโรบัสต้า

2.1.6 ความแตกต่างในรสสัมผัสและเอกลักษณ์ระหว่าง กาแฟอาราบิก้า และกาแฟโรบัสต้า

2.1.6.1 รสชาติ

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า : มีรสชาติที่ซับซ้อน คมชัด หลากมิติกว่า สามารถมีรสชาติที่นุ่มนวลหอมออกหวาน หรือ ขมออกเปรี้ยวได้ โดยส่วนใหญ่จะให้ความรู้สึกคล้ายผลไม้หรือเบอร์รี่

เมล็ดกาแฟโรบัสต้า : มีรสชาติไม่ซับซ้อน เรียบง่าย ให้ความคมโดด มีกลิ่นสัมผัสคล้ายช็อกโกแลตและ ถั่ว (Chocolate & Nutty) มีความเป็นกรดน้อย ให้ความคมเข้มที่มากกว่า

2.1.6.2 รูปทรง

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า : มีลักษณะเป็นวงกลมรี สีนํ้าตาลเข้ม

เมล็ดกาแฟโรบัสต้า : มีลักษณะเป็นทรงกลมมน สีนํ้าตาลอ่อน

2.1.6.3 การเพาะปลูก

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า : ลักษณะของต้นกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า จะค่อนข้างบอบบาง ต้องปลูกอยู่ในพื้นที่สูง ประมาณ 800 เมตรขึ้นไปจากระดับน้ำทะเล และต้องอยู่ในสภาพอากาศ กึ่งร้อนกึ่งเย็น มีความชื้นสูง

เมล็ดกาแฟโรบัสต้า : ลักษณะต้นกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า จะค่อนข้างทนทานต่อศัตรูพืช และโรค มีกำลังผลิตสูง สามารถปลูกในพื้นที่ประมาณ 200 – 800 เมตรจากระดับน้ำทะเล

2.1.6.4 ระดับคาเฟอีน

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า : โดยปกติแล้ว กาแฟอาราบิก้า จะมีระดับของคาเฟอีนที่ต่ำกว่า เมื่อเทียบกับโรบัสต้า หากวัดเป็นเปอร์เซ็นต์ อาราบิก้า 1 เมล็ดจะมีระดับคาเฟอีน ประมาณ 1.2 – 1.5%

เมล็ดกาแฟโรบัสต้า : โรบัสต้า จะได้ระดับคาเฟอีนที่สูงกว่า สัดส่วน 1 เมล็ดกาแฟโรบัสต้า จะมีระดับคาเฟอีนอยู่ที่ประมาณ 2.2 – 2.7% และเมื่อสกัดออกมาเป็นกาแฟ 1 ถ้วย กาแฟที่ได้จาก โรบัสต้าจะมีคาเฟอีนที่สูงกว่าอาราบิก้าอย่างชัดเจน

2.1.4.5 ราคา

เมล็ดกาแฟอาราบิก้า : เมล็ดกาแฟอาราบิก้า จะมีราคาซื้อขายที่สูงกว่า เนื่องด้วยต้องใช้ ต้นทุน ทรัพยากรในการเพาะปลูกที่มากกว่า

เมล็ดกาแฟโรบัสต้า : เมล็ดกาแฟโรบัสต้า จะมีราคาซื้อขายที่ต่ำกว่า เนื่องจากผลิตง่าย และกระบวนการเพาะปลูกนั้นทำได้ง่ายเมื่อเทียบกับอาราบิก้า

ตารางที่ 2.1 ความแตกต่างในรสสัมผัสและเอกลักษณ์ระหว่าง กาแฟอาราบิก้า และกาแฟโรบัสต้า

รสสัมผัสและเอกลักษณ์	เมล็ดกาแฟอาราบิก้า	เมล็ดกาแฟโรบัสต้า
รสชาติ	รสชาติซับซ้อน คมชัด หลากมิติ มีรสชาติที่นุ่มนวลหอมหวาน หรือ ขมออกเปรี้ยวได้	รสชาติไม่ซับซ้อน เรียบง่าย ให้ความขมโดด
รูปทรง	วงกลมรี สีนํ้าตาลเข้ม	ทรงกลมมน สีนํ้าตาลอ่อน
การเพาะปลูก	800 เมตรขึ้นไปจากระดับน้ำทะเล	ประมาณ 200 – 800 เมตรจากระดับน้ำทะเล
ระดับคาเฟอีน	ต่ำ	สูง
ราคา	สูง	ต่ำ

2.2 กาากาแฟ

กากกาแฟ คือ เศษที่ได้จากการคั่วบดกาแฟแล้วนำไปสกัดผ่านน้ำร้อนเพื่อขจัดสิ่งต่าง ๆ ที่ 2.7 โดยการชงกาแฟสดนั้นจะไม่นำกากกาแฟที่ใช้แล้วมาชงซ้ำเพราะจะทำให้ความหอมและรส มีคุณภาพที่ต่ำลง ความหอมและ คาเฟอีนที่ได้ก็จะต่ำลงเช่นกัน กากกาแฟจัดเป็นสารอินทรีย์ที่เหลือนทิ้งจากอุตสาหกรรมกาแฟและร้านกาแฟ ซึ่งกากกาแฟนี้ถือว่าเป็นกากของเสียที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและนำไปสู่ภาวะโลกร้อน เพราะมีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ และมีเทนเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก หากมีการทิ้งลงสู่แหล่งน้ำจะส่งผลให้ค่า Biological Oxygen Demand (BOD) หรือ ค่าปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายอินทรีย์สารที่มีอยู่ในน้ำในน้ำมีปริมาณสูงขึ้น และหากมีการจัดการกากกาแฟที่ไม่ดีอาจกลายเป็นแหล่งสะสมของเชื้อราและแบคทีเรียต่าง ๆ ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ได้ ปกติกากกาแฟจะถูกทิ้งในภายหลังจากการสกัดเพื่อให้ได้น้ำกาแฟออกมา มีการนำเอากากกาแฟมาใช้ในการดูแลผิว ด้วยการผสมกับ ส่วนผสมตามธรรมชาติ ใช้ขัดหรือพอกร่างกาย (รพีพรรณ กองตุม, 2560)



ทีมา เดอะโฮมบาร์ิสต้า (2558)

ภาพที่ 2.7 กากกาแฟที่ได้หลังจากการสกัดน้ำกาแฟ

2.2.1 สมบัติและลักษณะของกากกาแฟ

- 2.2.1.1 กากกาแฟมีคุณสมบัติที่สามารถช่วยดูดซับกลิ่นได้ดี
- 2.2.1.2 มีธาตุอาหาร และมีคุณสมบัติเป็นกรดอ่อน ๆ
- 2.2.1.3 มีสารคาเฟอีนและสารฟลักซ์เคมีที่เป็นประโยชน์
- 2.2.1.4 มีกลิ่นเฉพาะตัวของกาแฟ
- 2.2.1.5 มีสีน้ำตาล

2.2.2 การใช้ประโยชน์กากกาแฟ

กากกาแฟเหลือทิ้งจากร้านขายกาแฟในชุมชน ปัจจุบันถูกนำมาใช้แปรรูปเพื่อประโยชน์ในหลายรูปแบบโดยมีตัวอย่างการใช้งาน ดังนี้

2.2.2.1 ไล่สัตว์และแมลง

กาแฟมีกลิ่นเฉพาะที่ทำให้สัตว์หรือแมลงบางชนิดที่ไม่ชอบกลิ่นของกาแฟโดยเฉพาะมด หากนำกากกาแฟไปทาไว้ที่บริเวณขาโต๊ะ ฝ้าตู้หรือนำกากกาแฟโรยไว้ตามพื้นที่ที่มีมด จะสามารถไล่มดที่อยู่ตามบริเวณพื้นที่ต่าง ๆ ได้ สามารถนำมาใช้แทนยาฆ่าแมลงทำให้ลดความเสี่ยงต่อสารเคมีที่มาจากยาฆ่าแมลง นอกจากนี้ยังสามารถใช้ไล่แมวได้ โดยใช้กากกาแฟโรยไว้รอบ ๆ สวนหรือผสมบนดินเพื่อป้องกันไม่ให้แมวมาทำลายได้ และยังสามารถช่วยป้องกันไม่ให้แมวอุจจาระไม่เป็นที่เป็นทางได้

2.2.2.2 ใช้ดูดซับกลิ่นอับ

หากนำกากกาแฟใส่ในตู้เย็นสามารถดูดกลิ่นอาหารหรือผลไม้กลิ่นแรง ใส่ในตู้รองเท้า ตู้ เสื้อผ้าตู้เก็บของเพื่อดูดกลิ่นอับ วิธีการคือใส่ในถ้วยแล้ว นำไปตั้งไว้ หรือผูกใส่ถุงกระดาษลักษณะคล้ายถุงการบูร และนำไปห้อยไว้ในที่ต่าง ๆ ไม่สกปรกและ สามารถเปลี่ยนใช้ได้ง่าย

2.2.2.3 อาหารและสุขภาพ

กากกาแฟสามารถนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารแช่แข็งได้ เช่น ขนมปัง (Biscuit) โดยนำกากกาแฟผสมในขนมปัง ขนมปังที่ได้ยังคงลักษณะและรสชาติเป็นปกติ ในขณะเดียวกันยังสามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ โยอาหาร โปรตีน และกรดอะมิโนที่มีอยู่ในกากกาแฟ (เครื่องดื่มกาแฟในประเทศไทย, 2562) นอกจากนี้ในกากกาแฟยังมีองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์เป็นจำนวนมาก โดยเฉพาะ กาแล็กโทแมนแนน (Galactomannan) ซึ่งสามารถกระจายตัวในน้ำเย็น ทำให้สารละลายมีความข้นหนืด และเป็นสารที่ไม่อันตรายต่อร่างกาย ดังนั้นจึงมีการนำมาใช้ประโยชน์โดยใช้เป็นสารเพิ่มความข้นหนืด สารเพิ่มความคงตัว และสารยึดติดในผลิตภัณฑ์อาหาร ยา และสิ่งทอ (Campos-Vega et al., 2015)

2.2.2.4 ใช้บำรุงผิวหน้าและผิวกาย

กาแฟมีคาเฟอีนและสารต่าง ๆ ที่มีฤทธิ์กระตุ้นการทำงานของร่างกายให้ความรู้สึกตื่นตัว โดยสารสามารถซึมผ่านผิวหนังได้โดยนำกากกาแฟพอกบริเวณผิวหนังที่ต้องการ สารสำคัญในกาแฟสามารถกระตุ้นการทำงานของเส้นเลือดให้ขยายตัว สูดซับ และกากกาแฟมีเนื้อสัมผัสที่มีความหยาบสามารถนำมาใช้เป็นสครับแทนเกลือขัดเซลล์ผิว เป็นการผลัดเซลล์ผิว สามารถผสมขมิ้น น้ำผึ้ง น้ำนมโยเกิร์ต เพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการบำรุงผิว

2.2.2.5 ใช้บำรุงเส้นผมหรือเส้นขน

สามารถใช้ในการหมักผม ทำให้เส้นผมนุ่มหนาเงางาม สามารถทาเส้นขนสัตว์ทำให้เงางามได้ และสามารถยับยั้งการเกิด lipid peroxidation เช่นเดียวกับการใช้ piroctone olamine เพื่อยับยั้งแบคทีเรีย มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อราที่อาศัยอยู่บนผิวหนัง (Loris et al., 2023)

2.2.2.6 การเกษตร

สามารถนำใช้ทำปุ๋ยในการปลูกต้นไม้ เนื่องจากในกากกาแฟมีธาตุไนโตรเจนสูง ซึ่งเป็นธาตุที่พืชสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโต โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส โปรตีนและสารอื่น ๆ นอกจากนี้กากกาแฟยังมีฤทธิ์เป็นกรดอ่อน ๆ สามารถช่วยปรับสภาพดินเค็มให้ดินเป็นกลางได้

2.3 การสกัดกาแฟ

2.3.1 การดริปกาแฟ

การดริปกาแฟเริ่มเมื่อต้นศตวรรษที่ 20 ที่ประเทศเยอรมันนี ซึ่งเป็นที่นิยมอย่างรวดเร็ว กรรมวิธีการดริปจะใช้การชงด้วยการเทน้ำร้อนผ่านกาแฟบด โดยน้ำร้อนจะไหลผ่านการแพด และตัวกรอง อีกชั้น เพื่อสกัดกาแฟลงในถ้วยกาแฟที่ผ่านการดริปนั้นจะให้รสชาติที่มีความซับซ้อน

2.3.2 AeroPress

การชงกาแฟด้วย AeroPress ใช้อุปกรณ์น้อยและใช้งานง่าย โดยเครื่องชงมีลักษณะเป็นแบบลูกสูบ และใช้แรงดันกดกาแฟผ่านตัวกรองกระดาษ รสชาติที่ได้จากเครื่อง AeroPress จะเป็นเช่นเดียวกับเอสเปรสโซ หรือ อเมริกาโน (เอสเปรสโซและน้ำร้อน)

2.3.3 Moka Pot

เครื่องชงกาแฟแบบ Moka Pot มีต้นกำเนิดในประเทศอิตาลี การชงกาแฟด้วยวิธีนี้จะต้องต้มกาแฟและน้ำเดือด เพื่อให้แรงดันไอน้ำดันน้ำผ่านเมล็ดกาแฟคั่วบดขึ้นไปสู่ตัวภาชนะ วิธีการนี้จะได้รสชาติกาแฟที่เข้มข้นและซับซ้อนกว่าการชงแบบ French Press

2.3.4 Rok Espresso

เป็นเครื่องชงกาแฟแบบ Manual ผลิตออกมาในยุค Millenium เครื่องชง Rok เน้นการชงแบบเอสเปรสโซ ตัวเครื่องทำจากโลหะผสม และวิธีใช้โดยการกดแขนของเครื่องลงเพื่อสร้างแรงดัน หลังจากนั้นจะได้ Espresso เป็นช็อต

2.3.5 Espresso Machine

กาแฟ Espresso มีต้นกำเนิดในประเทศอิตาลี โดยเทคนิคของการใช้เครื่อง Espresso เป็นการทำงานที่ใช้แรงดันไอน้ำหรือว่าเป็นแบบลูกสูบขับเคลื่อนเพื่อสกัดกาแฟ โดยแต่ละเครื่องก็มีวิธีการใช้และเทคนิคที่ต่างกัน

2.3.6 Cold Brew

ศตวรรษที่ 16 ชาวเกียโตใช้เวลาในการชงกาแฟ Cold Brew เป็นเวลาหลายชั่วโมง โดยการชงแบบสกัดเย็นนี้จะช่วยดึงรสชาติที่ซับซ้อนของกาแฟออกมาได้ดี วิธีนี้เป็นการสกัดกาแฟด้วยน้ำเย็นหรือน้ำในระดับอุณหภูมิห้อง ทำให้ได้รสชาติกาแฟที่ไม่เปรี้ยว โดยสามารถเลือกชงได้ทั้งแบบแช่ (Immersion) เช่นการใช้เครื่องชงแบบ French Press และแบบดริปทั่วไป

2.3.7 Syphon Coffee Maker

การชงกาแฟโดยใช้เครื่องไซฟอน เป็นเครื่องชงแบบสุญญากาศ หลักการทำงานของเครื่องนี้จะอาศัยความร้อนจากการต้มน้ำในโหลแก้วทรงกลม เมื่อถึงจุดเดือดน้ำจะถูกดึงขึ้นไปไถ่ด้านบนที่ใส่กาแฟอยู่ แล้วเมื่อหยุดให้ความร้อน น้ำที่อยู่บนโหลจะไหลลงมาด้านล่างผ่านกระดาษกรองเป็นกาแฟดำที่สามารถดื่มได้ทันที

2.4 การสกัดกากกาแฟ

2.4.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent Extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นการแยกสารโดยคุณสมบัติหรือหลักการละลายระหว่างตัวทำละลายกับสารสำคัญในตัวอย่างสมุนไพรหรือพืชตัวอย่างที่ต้องการสกัด และอาศัยหลักการของการละลายความมีขั้ว (Polarity) ของตัวทำละลายและสารสำคัญในตัวอย่าง โดยสารสำคัญจะละลายในตัวทำละลายได้ก็ต่อเมื่อความเป็นขั้วของตัวสารสำคัญกับตัวทำละลายมีค่าใกล้เคียงกัน (Like dissolves like) หมายถึง ตัวถูกละลายที่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่มีขั้ว เนื่องจากแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลมีขั้วเป็นแรงไดโพล-ไดโพล (Dipole dipole) ในทางตรงข้ามตัวถูกละลายที่ไม่มีขั้วจะละลายในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเพราะแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลไม่มีขั้วเป็นแรงแวนเดอร์วาลส์ (Van der waals force) เหมือนกัน ซึ่งการสกัดด้วยตัวทำละลาย ต้อง คำนึงถึงตัวทำละลายที่เหมาะสมเพื่อให้ได้สารที่ต้องการในปริมาณมาก

2.4.1.1 ประเภทของการสกัดด้วยตัวทำละลาย (รัตนา อินทรานุปกรณ, 2547)

1. วิธีการหมัก (Maceration)
2. การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave extraction)
3. วิธีการรีฟลักซ์ (Reflux extraction)
4. วิธีการหมักแบบต่อเนื่อง (Percolation)
5. การสกัดแบบใช้คลื่นเสียง (Ultrasonic extraction)

2.4.2 ตัวทำละลาย

สารที่อยู่ในสถานะของเหลวทำหน้าที่ละลายตัวถูกละลาย โดยส่วนใหญ่ปริมาณของตัวทำละลายจะมากกว่าหรือเท่ากับปริมาณของตัวถูกละลาย สิ่งที่สำคัญคือ ตัวทำละลายจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลายเนื่องจากถ้าตัวทำละลายทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลาย จะทำให้ตัวถูกละลายเปลี่ยนเป็นสารประกอบชนิดอื่น การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นการสกัดที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง

ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันอย่างมากในการสกัดมีหลายชนิดทั้งที่มีความเป็นพิษสูง พิษต่ำ หรือไม่เป็นพิษ ได้แก่ น้ำ แอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล เมทานอล บิวทานอล เป็นต้น อะซีโตน เอทิลอะซีเตท อีเทอร์ เฮกเซน โทลูอิน เป็นต้น

นอกจากนี้ตัวทำละลายที่เลือกใช้ในการสกัดควรจะสามารถแยกตัวทำละลายออกจากตัวถูกละลายหรือสารสกัดได้ง่าย ตัวอย่างเช่น ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารจากพืชควรเลือกใช้ตัวทำละลายที่เป็นพิษต่ำหรือไม่เป็นพิษ มีจุดเดือดต่ำ ไม่ละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับสารที่นำมาสกัด แต่ควรละลายสารที่นำมาสกัดได้ดี ดังที่กล่าวว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีหลายชนิด (จุลินต์ดา ครอินทร์, 2565)

2.4.2.1 ตัวทำละลายที่นิยมใช้

1. คลอโรฟอร์ม (Chloroform) เป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มี Selectivity น้อย และเกิด Emulsion ง่าย ถ้าใช้สารสกัดที่เป็นต่างแก่อาจจะสลายตัวให้กรดเกลือ

2. อีเธอร์ (Ether) มีความสามารถในการทำละลายได้น้อยกว่า คลอโรฟอร์ม (Chloroform) แต่มี selectivity ดีกว่าคลอโรฟอร์ม (Chloroform) แต่จะมีข้อเสีย คือ จะระเหยง่าย ระเบิดง่าย เกิด oxide ได้ง่ายและดูดน้ำได้ดีมาก

3. เฮกเซน (Hexane) เหมาะสำหรับสารประเภทที่ไม่มีขั้วมักใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับขจัดไขมันพืชหรือสมุนไพร

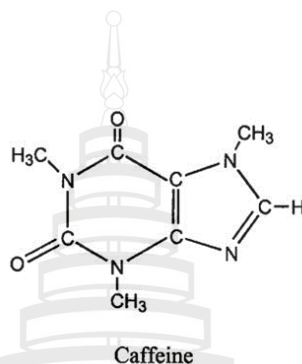
4. แอลกอฮอล์ (Alcohol) ที่ใช้มากคือ เมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) เป็น all purpose solvent เนื่องจากมีคุณสมบัติในการละลายได้กว้างทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว และสามารถใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชได้ (นันทวัน บุญยะประสงค์, 2536)

การสกัดด้วยตัวทำละลาย ถูกนำไปใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในวงการอุตสาหกรรม ได้แก่ การสกัดน้ำมันพืชออกจากเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ เช่น ปาล์ม ถั่วลิสง ถั่วเหลือง เมล็ดทานตะวัน เมล็ดบัว ข้าวโพด งา และรำข้าว โดยในการสกัดน้ำมันพืชจะนิยมใช้เฮกเซน (Hexane) เป็นตัวทำละลาย การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากพืช และการสกัดด้วยยาออกจากสมุนไพร โดยงานวิจัยนี้เลือกใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ และแอลกอฮอล์ (Alcohol) คือ เอทานอล (Ethanol) ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่เป็นพิษต่ำ หรือไม่เป็นพิษ ซึ่งจะนำมาใช้เตรียมสารสกัดจากกากกาแฟ

2.5 คาเฟอีน

คาเฟอีน (Caffeine) เป็นสารเมทิลแซนทีน (Methylxanthine) ซึ่งเป็นแซนทีนแอลคาลอยด์ เป็นสารที่มีรสขม (Bitter) ไม่มีกลิ่น พบได้ในพืชหลายชนิด ได้แก่ เมล็ดกาแฟ, ชา, โกโก้ และคาเฟอีน

ยังใช้เป็นส่วนผสม ของเครื่องดื่ม คาเฟอีนที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับแอดีนโนซีน (Adenosine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่ง ในสมอง มีฤทธิ์กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง มีผลทางบวก คือ ทำให้ร่างกายเกิดความตื่นตัวและลดความง่วงได้ (สร้อยสุดา มาลา, 2560) สูตรโครงสร้างทางเคมีของ สารคาเฟอีน มีลักษณะที่เป็นวงแหวน (Cyclic) แสดงดังภาพที่ 2.8



ที่มา พืฒเนตเวิร์คโซลูชั่น (2558)

ภาพที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของคาเฟอีน

คาเฟอีนเป็นอัลคาลอยด์ที่พบตามธรรมชาติ ในผลไม้เมล็ด หรือใบของพืช โดยเฉพาะกาแฟและ เมล็ดโกโก้ เมื่อคาเฟอีนถูกนำเข้าไปในร่างกายระดับพลังงานของร่างกาย จะเพิ่มขึ้นในเวลาอันสั้นทำให้ ร่างกายตื่นตัวและทำให้รู้สึกมีความสุข นอกจากนี้คาเฟอีนยังเพิ่มความดันโลหิต เร่งการสูบฉีดของเลือด คาเฟอีนเป็นสารเสพติดในระยะยาวหากทานอย่างต่อเนื่องและสม่ำเสมอ นอกจากนี้ยังมีคาเฟอีน ในระดับสูงทำให้ร่างกายกระสับกระส่ายหัวใจเต้นเร็ว และไม่สบาย

2.5.1 ประโยชน์ของคาเฟอีน

คาเฟอีนมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในการกระตุ้นสมองส่วนนอก การดื่มกาแฟ 1-2 ถ้วย เท่ากับ ได้รับการกระตุ้นของคาเฟอีนในขนาด 150 – 250 มิลลิกรัม สามารถทำให้หายใจง่วงซึม บรรเทาความ อ่อนเพลีย ช่วยเพิ่มการตื่นตัว และการทำงานของสมอง โดยคาเฟอีนไปทำให้กล้ามเนื้อลายเพิ่มการใช้ ออกซิเจนและขับกรดแลกติก (Lactic acid) ออก ทำให้กล้ามเนื้อมีแรงกระตุกมากขึ้น ซึ่งเป็นเหตุผล ที่ผู้คนนิยมบริโภคคาเฟอีนกันมาก พบว่าหากมีระดับคาเฟอีนในร่างกายที่ไม่สูงเกินไป จะช่วยให้การ ทำงานของสมองนั้นดีขึ้น ซึ่งทำให้เครื่องดื่มหรืออาหารที่มีส่วนประกอบของคาเฟอีนเป็นส่วนผสมนั้น ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในปัจจุบัน (สุตารัตน์ ชัยอาจ และพวงพะยอม ปัญญา, 2548)

จากการศึกษาพบว่า ผลของคาเฟอีนช่วยให้เกิดการตื่นตัวในการปฏิบัติงานและตอบสนองต่อสิ่งเร้าฉับไว อย่างไรก็ตามไม่มีรายงานถึงผลของคาเฟอีนต่อการเพิ่มสมรรถนะในการเรียนรู้ ในทางตรงข้ามการบริโภคคาเฟอีนเป็นเวลานานอาจส่งผลต่อประสิทธิภาพ การทำงานแย่งลง ทำให้มีอาการหงุดหงิดง่าย และปวดศีรษะ หากหยุดการบริโภคอย่างทันที เรียกว่าอาการถอนคาเฟอีน ผลข้างเคียงที่รุนแรงอื่น ๆ ได้แก่ การทำให้มีความวิตกกังวลที่และนอนไม่หลับ ซึ่งเห็นได้ชัดในผู้ที่บริโภคคาเฟอีนในปริมาณสูง (มากกว่า 300 mg) โดยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของคาเฟอีน เป็น adenosine receptor antagonist ดังนั้นจึงปรากฏผลของคาเฟอีนส่วนใหญ่ว่าเกิดจากการจับกับ adenosine receptor โดยหลัก ๆ จับกับ A1 และ A2A receptor ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับการทำงานของสมองที่เกี่ยวกับการนอนหลับ อารมณ์และความรู้ความเข้าใจ คาเฟอีนถูกดูดซึมได้ดีและรวดเร็วโดยกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กโดยจะมีระดับสูงสุดใน 30 นาทีแรก คาเฟอีนมีครึ่งชีวิตที่ผันแปรได้สูงตั้งแต่ 2 ถึง 10 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับปัจจัยภายนอกและภายใน ตัวอย่างเช่นการใช้โคโคตินสามารถเพิ่มความเร็วในการเผาผลาญของคาเฟอีนได้มากถึง 50% (สิริชัย กิตติชาญธรีระ, 2561) คาเฟอีนจะช่วยเพิ่มฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระในบริเวณที่จะเป็นประโยชน์ต่อการคงสภาพเส้นผมโดยผลการวิจัยพบว่าร้อยละของคาเฟอีนที่ใช้ในการฟ้นฟูผมขน 8-9% ของคาเฟอีนที่ถูกดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังและเมื่อใช้แชมพูที่มีคาเฟอีนเป็นหลัก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าคาเฟอีนจะช่วยเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์อย่างมีประสิทธิภาพเพื่อการบำรุง และการคงสภาพเส้นผม (Loris et al., 2023) และคุณประโยชน์ทางเภสัชวิทยาในการจัดการภาวะผมร่วงจากฮอร์โมนเพศชาย ดังนั้นคาเฟอีนจึงเป็นประโยชน์กับผู้ที่มมีปัญหาผมร่วงซึ่งเกิดจากการหยุดการเจริญเติบโตของเส้นผมก่อนวัยอันควร (Michael, 2020)

2.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน

การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนสามารถดำเนินการได้ด้วยวิธีการหลากหลาย เช่น Modified Bailey-Andrew Method (Robert, 1995) ซึ่งเป็นวิธีที่เคยใช้วิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในชา วิธีการนี้มีขั้นตอนการวิเคราะห์ที่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลานาน อีกวิธีหนึ่งคือการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ผ่านคอลัมน์โครมาโทกราฟีสองคอลัมน์ โดยใช้สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่นระหว่าง 246 ถึง 276 นาโนเมตร (Kirk et al., 1991) วิธีที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ได้แก่ การตกตะกอนคาเฟอีนด้วยกรดฟอสโฟโมลิบดิก (Kirk et al., 1991) ซึ่งตะกอนดังกล่าวจะถูกละลายด้วยตัวทำละลายอะซิโตน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร

นอกจากนี้ ยังมีวิธีการที่ใช้ Gas-Liquid Chromatography (GLC) และ High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นที่นิยมในปัจจุบัน เนื่องจากให้ผลที่แม่นยำและรวดเร็ว อย่างไรก็ตาม เครื่องมือที่ใช้มีราคาสูงและมีค่าใช้จ่ายมากกว่าวิธีการอื่นได้มีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับค่าความยาวคลื่นแสงอัลตราไวโอเลตที่เหมาะสม โดยพบว่าสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนในคลอโรฟอร์มมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเฉพาะ ค่าความยาวคลื่นนี้ถูกนำมาใช้ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อสร้างกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน และยังได้ทดลองกำหนดช่วงการวิเคราะห์จากกราฟมาตรฐานที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง เพื่อนำไปใช้ในการเตรียมสารละลายตัวอย่างกาแฟสองตัวอย่าง ซึ่งมีปริมาณคาเฟอีนต่างกัน โดยให้ความเข้มข้นของคาเฟอีนอยู่ในช่วงที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้

สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Christian et al., 1986) เป็นเครื่องมือที่ใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตและแสงที่มองเห็นได้ โดยมีช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 190 - 800 นาโนเมตร สารเคมี เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน หรือสารอนินทรีย์ ทั้งที่มีสีและไม่มีสี โดยจะมีสมบัติเฉพาะในการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่แตกต่างกัน สมบัตินี้ถูกนำมาใช้ในงานวิเคราะห์ทั้งในเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ เนื่องจากให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำและมีความไว (sensitivity) สูง เมื่อแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตหรือแสงที่มองเห็นได้ผ่านเข้าไปในโมเลกุลของสาร สารดังกล่าวจะดูดกลืนแสงบางส่วน ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงระดับพลังงานของอิเล็กตรอน ซึ่งมักต้องใช้พลังงานในช่วง 30 - 150 กิโลแคลอรีต่อโมล เมื่อแสงที่ผ่านตัวอย่างสารถูกส่งผ่านไปยังเครื่องกระจายแสง เช่น Grating จะพบว่าสเปกตรัมบางส่วนหายไป ส่วนที่หายไปนี้เรียกว่า Absorption Spectrum

หลักการวิเคราะห์ปริมาณสารด้วยการวัดการดูดกลืนแสง การวัดปริมาณแสงที่ถูกดูดกลืนโดยสารตัวอย่าง ดำเนินการโดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในสารตัวอย่าง และวัดปริมาณแสงที่ทะลุผ่านออกมา จากนั้นเปรียบเทียบกับแสงที่ผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง (เรียกว่า Blank) การวิเคราะห์นี้อาศัย กฎของแลมเบิร์ตและเบียร์ (Lambert-Beer's Law) หรือ กฎของเบียร์ (Beer's Law) ซึ่งระบุว่า ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายเป็น

สัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของสารในสารละลายนั้น โดยแสงที่ใช้ต้องเป็นแสงโมโนโครเมติก (Monochromatic Light) หรือแสงที่มีความยาวคลื่นแคบ เงื่อนไขสำคัญของกฎนี้คือ สารละลายต้องอยู่ในสถานะเจือจางและมีเนื้อเดียวกัน กราฟที่สร้างขึ้นจากการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานจะต้องเป็นเส้นตรง ซึ่งสามารถนำไปใช้คำนวณหาความเข้มข้นของตัวอย่างได้อย่างแม่นยำ

การดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเลตมีความยาวคลื่นระหว่าง 200 - 380 นาโนเมตร ส่วนการดูดกลืนแสงในช่วงแสงที่มองเห็นได้มีความยาวคลื่นระหว่าง 380 - 780 นาโนเมตร

2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์ และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลายในน้ำ และสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น (ปวีณา พันทอง, 2559)

สารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารที่สามารถยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระโดยการเข้าไปหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ไม่ให้ดำเนินต่อไป ร่างกายสามารถรับสารต้านอนุมูลอิสระจาก 2 วิธี คือ ร่างกายสามารถสร้างขึ้นเองได้ หรือรับจากอาหารที่รับประทานเข้าไป สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ และสารสังเคราะห์ขึ้น

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในธรรมชาติโดยมากจะมาจากพืช ผัก ผลไม้ และสมุนไพรต่าง ๆ ส่วนที่พบในคนและสัตว์มีน้อย โดยสามารถแยกออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเอนไซม์ ได้แก่ superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) และสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ วิตามินซี (L - ascorbic acid), วิตามินอี (Tocopherol), แคโรทีนอยด์ (Carotenoid) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)

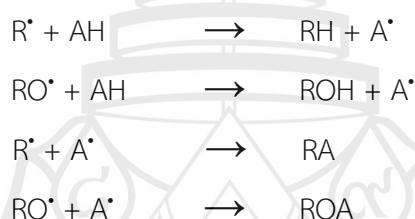
2. สารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้น ได้แก่ butylated hydroxyanisole (BHA) และ butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นจากอนุมูลอิสระได้ แต่สามารถชะลอความเสียหายทำให้เกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเกิดจากผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำลายและเสียหายมาเป็นเวลานาน (ชนิษฐา คงยอด, 2553)

2.7.1 กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)

จากรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระพบว่า มีหลายกลไก ดังนี้

2.7.1.1 ตักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) สารต้านอนุมูลอิสระสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้โดยการทำให้โมเลกุลของอนุมูลอิสระมีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาเกิดโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ดังสมการ



2.7.1.2 ยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลท็อกซิเจน (Singlet oxygen quenching, 1O_2) สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoids) สามารถยับยั้งการทำงานของซิงเกิ้ลท็อกซิเจนโดยการเปลี่ยน (1O_2) ให้อยู่ในรูปทริปเปรีท (Triplet oxygen ; 3O_2) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปความร้อน โดยที่แคโรทีนอยด์ (Car) จำนวน 1 โมเลกุล สามารถทำปฏิกิริยากับซิงเกิ้ลท็อกซิเจนได้ถึง 1,000 โมเลกุล



2.7.1.3 จับกับโลหะที่สามารถเร่งสารกลุ่มนี้ ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Metal chelation) โลหะที่มีผลต่อการเกิดอนุมูลอิสระ คือ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ฟอสฟอริกแอซิด (Phosphoric acid) และ ซิตริกแอซิด (Citric acid) เป็นต้น

2.7.1.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chainbreaking) วิตามินอี (α -tocopherol; Toc -OH) สามารถป้องกันเยื่อหุ้มเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Lipid autooxidation) โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับอิเล็กตรอน (Electron - acceptor antioxidants) จากอนุมูล peroxy ($ROO^\bullet$)

2.7.1.5 เสริมฤทธิ์ (Synergism) สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระทำงานได้ดีขึ้น เช่น การทำงานร่วมกันระหว่างวิตามินอี (α - tocopherol) กับวิตามินซี (ascorbic acid) โดยที่วิตามินซีไม่สามารถทำงานในสภาวะไม่มีขั้ว (Hydrophobic condition) ได้เหมือนกับวิตามินอี แต่จะให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลแอลฟา - โทโคฟีรอลเปอร์ออกไซด์ (α - tocopherol peroxy) ที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างแอลฟา - โทโคฟีรอลกับอนุมูลเปอร์ออกไซด์ ($ROO^{\cdot}$) เพื่อเปลี่ยนรูปกลับไปเป็นแอลฟา - โทโคฟีรอลที่สามารถทำงานได้

2.7.1.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ (Enzyme inhibition) สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก (Phenolic acid) และแกลเลต (gallates) สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ลิพอกซีจีเนส (Lipoxygenase) โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟกเตอร์ (Cofactor) ส่งผลให้เอนไซม์ดังกล่าวไม่สามารถทำงานได้

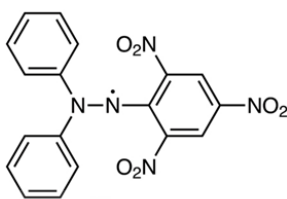
2.7.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การที่ร่างกายและเซลล์มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นได้หลายชนิด ทำให้เกิดความเสียหายภายในเซลล์ร่างกายจนทำให้เกิดโรคต่าง ๆ ดังนั้นจึงได้มีการคิดค้นหาวิธีการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีวิธีการทดสอบหลายวิธี ได้แก่

2.7.2.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน (Lipid peroxidation inhibition assay) วิธีนี้อาศัยหลักการวัดปริมาณของเปอร์ออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นหลังจากการเกิดปฏิกิริยา หากสารทดสอบมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจะทำให้เปอร์ออกซิไดซ์ของไขมันที่เกิดจากปฏิกิริยาลดลง

2.7.2.2 การทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์ (Cell viability assay) วิธีนี้จะทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิด reactive oxygen species (ROS) ขึ้นในเซลล์ สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอาจลดการตายของเซลล์เนื่องจากสภาวะเครียดจากออกซิเดชันโดยนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว หรือ ทดสอบการทำงานของไมโทคอนเดรีย และคำนวณเซลล์ที่มีชีวิตเป็นร้อยละของความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์

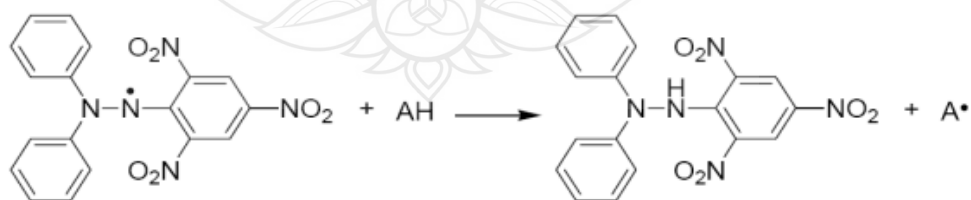
2.7.2.3 การทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging assay) โดยวิธีนี้เป็น การทดสอบการกำจัดอนุมูลอิสระของสารทดสอบโดยอนุมูลอิสระต้นแบบที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ 1,1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2 - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) (ABTS) ดังภาพที่ 2.9 โดยทำการวัดปริมาณอนุมูลอิสระเริ่มต้นจากการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer หากสารทดสอบมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระก็จะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงของอนุมูลอิสระนั้น ๆ ลดลง ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีการที่ทำได้ง่าย



ที่มา ทีซีไอเคมิคอล (2555)

ภาพที่ 2.9 โครงสร้างทางเคมีของ 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl

2.7.2.4 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่มีขั้นตอนไม่ซับซ้อน อาศัยหลักการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสาร ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยารีดักชันของ DPPH ที่เป็นสารอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสารสีม่วง ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 515 – 517 นาโนเมตร เมื่อสารต้านออกซิเดชันทำปฏิกิริยากับ DPPH จะให้ไฮโดรเจนกับ DPPH ทำให้เกิดการจับคู่ระหว่างอิเล็กตรอนเดี่ยวที่อยู่ใน DPPH และถูกรีดิวซ์ไปเป็น DPPH-H ซึ่งจะทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลง เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ DPPH ที่เป็นอนุมูลอิสระไปเป็น DPPH-H และยังทำให้สีของสารละลายจากสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อน ซึ่งขึ้นอยู่กับจำนวนของอิเล็กตรอนที่ถูกจับคู่ เมื่อสารละลาย DPPH มีสีที่จางลงมากเท่าไร แสดงว่าสารต้านออกซิเดชันตัวนั้นมีความสามารถในการรีดิวซ์ DPPH ได้สูง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นสารมาตรฐานคือ Ascorbic acid



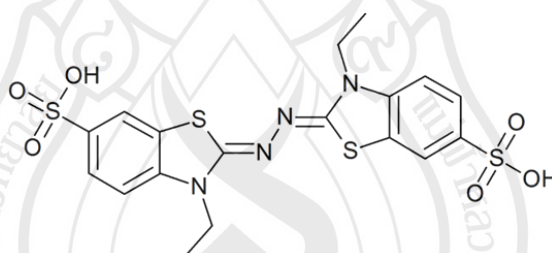
ที่มา Acsova et al. (2019)

ภาพที่ 2.10 ปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระ DPPH กับสารที่ให้ไฮโดรเจน

2.7.2.5 ABTS radical cation decolorization assay การทดสอบทำได้โดยนำ ABTS มาทำเป็นอนุมูลอิสระโดยการถูกรีดิวซ์ด้วย potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) ให้กลายเป็น $ABTS^{+•}$ ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีสีฟ้าอมเขียว และมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ 660, 734 และ 840 นาโนเมตร ตามลำดับ แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยต้องทำให้ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้นของ $ABTS^{+•}$ เป็น 0.700 ± 0.020 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้ $ABTS^{+•}$ ลดลง ซึ่งทำให้มีสีจางลง สามารถนำไปคำนวณเป็น scavenging effect (%) ได้ตามสมการดังนี้

$$\text{scavenging effect (\%)} = [(A_{734} \text{ control} - A_{734} \text{ test sample}) / A_{734} \text{ control}] \times 100$$

ข้อดีของวิธีนี้ คือ ทำได้ง่าย อนุมูล $ABTS^{+•}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระ ประมาณ 5 นาที และการวิเคราะห์ยังทำได้ในช่วง pH ที่กว้าง นอกจากนี้อนุมูล $ABTS^{+•}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารอินทรีย์ ทำให้สามารถวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่าง ๆ ได้ ไม่ว่าจะเป็นสารที่ละลายน้ำหรือสารที่ละลายในไขมัน



ที่มา วิกีพีเดีย (2555)

ภาพที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของ 2, 2' - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid) ;ABTS

2.8 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและ เป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและ ไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ โดยใช้ตัวเอง

เป็นตัวรับอนุมูลอิสระทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุแต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ไปจนถึงโครงสร้าง โพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม ถึง 1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด รวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือดเหล่านี้เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็น (-OH) อย่างน้อย 1 หมู่ ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญได้แก่ฟลาโวนอยด์ ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก

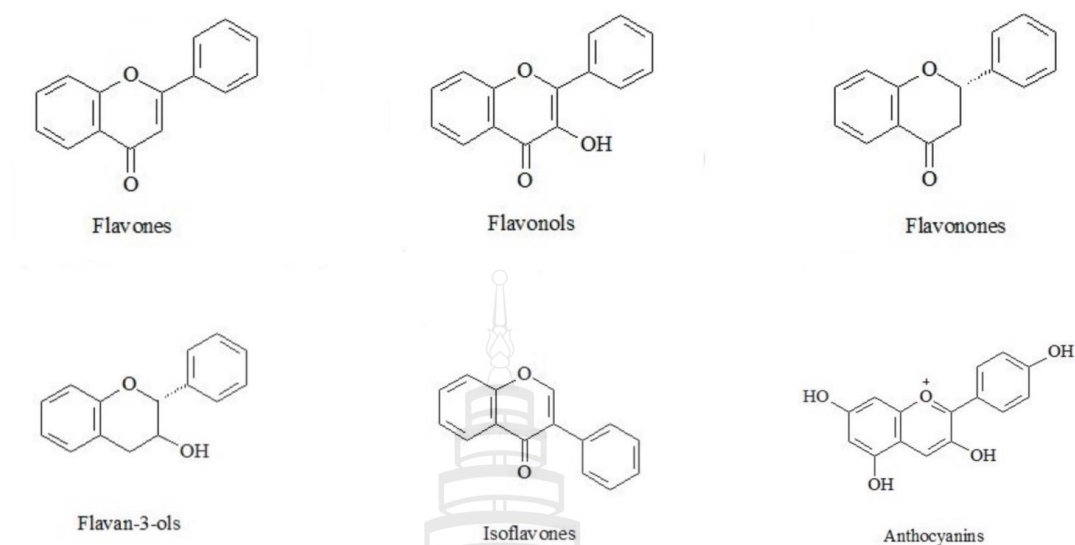
สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือ เป็นสารต้านออกซิเดชัน (Antioxidant) ที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Anti-mutagens) ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระ (Free Radical) โดยสารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระและไอออนของโลหะ ที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น ๆ ด้วยการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็ว และยังสามารถป้องกันภาวะของโรคต่าง ๆ ได้ เช่น มะเร็ง (Robards et al., 1999) และในทางเครื่องสำอางสารประกอบฟีนอลิกสามารถใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางได้ เพื่อช่วยยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในผิวหนัง ซึ่งจะช่วยให้เซลล์ผิวหนัง เนื้อเยื่อและเส้นใยคอลลาเจน อิลาสตินในผิวให้ถูกทำลายน้อยลง จึงมีผลทำให้ช่วยชะลอการแก่ของผิวหนังได้ เช่นการใช้สาร curcumin จากขมิ้น และ catechin ในชา (Aditya et al., 2015) สารประกอบฟีนอลิก (ฟลาโวนอยด์และไม่ใช่ฟลาโวนอยด์) มีคุณสมบัติเครื่องสำอาง เช่น การปกป้องด้วยแสง การต่อต้านวัย การให้ความชุ่มชื้น สารต้านอนุมูลอิสระ ยาสมานแผล ต้านการระคายเคือง และฤทธิ์ต้านจุลชีพ ซึ่งได้รับการยืนยันแล้วว่าสารสกัดจากพืชสามารถป้องกันผิวแก่ก่อนวัย อันเนื่องมาจากความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Cizmarova et al., 2023)

2.9 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content, TPC) สามารถทำได้หลายวิธี โดยวิธีที่นิยมใช้คือการวิเคราะห์ด้วยการดูดกลืนแสง (spectrophotometry) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับสารเคมีที่ทำให้ฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลงทางสี ตัวอย่างของวิธีการที่นิยมใช้ ได้แก่ วิธี Folin-Ciocalteu ที่ใช้สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มฟีนอลิกในตัวอย่าง โดยสารเคมีนี้จะเกิดปฏิกิริยากับกลุ่มไฮดรอกซิล (-OH) ของฟีนอลิกและสร้างสารที่มีสี ซึ่งสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร โดยการเตรียมตัวอย่างสารละลายผสมกับสารเคมี Folin-Ciocalteu และโซเดียมคาร์บอเนต ก่อนจะวัดค่าการดูดกลืนแสงและคำนวณปริมาณฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐาน อีกวิธีหนึ่งที่ยังนิยมใช้คือ HPLC (High-Performance Liquid Chromatography) ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้การแยกสารฟีนอลิกจากสารอื่น ๆ ในตัวอย่างด้วยการใช้โครมาโทกราฟีและทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกโดยการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสม โดยใช้ UV-Vis detector และคำนวณปริมาณฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานที่ได้จากการแยกสารเหล่านั้น

2.10 สารกลุ่มฟลาโวนอยด์

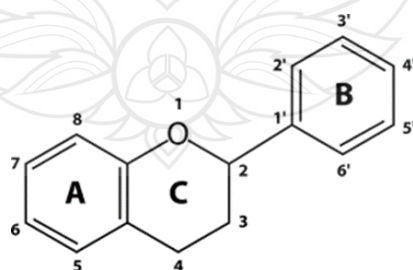
สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นสารประกอบโพลีฟีนอลที่สามารถแยกได้มากที่สุด มีการศึกษาและความหลากหลายมากที่สุดในกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีศักยภาพในการต้านไวรัส ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ และต่อต้านการแพ้ นอกจากนี้ยังมีความสำคัญต่อเภสัชกรรม โภชนเภสัช ยา เครื่องสำอาง และการใช้งานอื่น ๆ อีกมากมาย (Cizmarova et al., 2023) ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้าง โดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (Flavanes), ฟลาวาโน (Flavanols), ฟลาวานอล (Flavanols), ฟลาโวนอล (Flavonols), ฟลาโวน (Flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) เป็นต้น (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551) โครงสร้างของบางชนิดในกลุ่มฟลาโวนอยด์แสดงดังภาพที่ 2.12



ที่มา ปริยานุช อินทร์รอด (2551)

ภาพที่ 2.12 ตัวอย่างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์

สารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นสารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติประเภทหนึ่งที่พบได้ทั่วไปในอาหารที่เป็นพืช เช่น ผัก และผลไม้ โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์เป็นฟีนอลเบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 - C3 - C6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียกเป็น ring A, B, และ C โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน ring C เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 2.13



ที่มา วิภาพ สุทธนะ (2556)

ภาพที่ 2.13 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

2.10.1 ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐาน ได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่

2.10.1.1 ฟลาโวนอล (Flavonols) เช่น เควอซีติน (Quercetin), เคมพ์เฟอรอล (Kaempferol), ไมริเซทิน (Myricetin)

2.10.1.2 ฟลาโวน (Flavones) เช่น ลูทีโอลิน (Luteolin), อะพิจินิน (Apigenin), ไครซิน (Chrysin)

2.10.1.3 ฟลาวาโนน (Flavanones) เช่น เฮสเพอเร็ทิน (Hesperetin), นารินเจนิน (Naringenin), อิริโอดิคทีออล (Eriodictyol)

2.10.1.4 ฟลาวานอล (Flavanols) เช่น แคเทชิน (Catechin), แกลโลแคเทชิน (Gallocatechin), อีพิกะเทชิน (Epicatechin), อีพิกัลโลแคเทชิน (Epigallocatechin), อีพิกะเทชิน-3-แกลเลต (Epicatechin-3-gallate), อีพิกัลโลแคเทชิน-3-แกลเลต (Epigallocatechin-3-gallate)

2.10.1.5 ฟลาวาโนนอล (Flavanonols) เช่น แทกซิโฟลีน (Taxifolin)

2.10.1.6 ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) เช่น เดดซีน (Daidzein), เจนิสทิน (Genistein), ไกลซิทีน (Glycitein), ฟอร์โมนอนีทิน (Formononetin)

2.10.1.7 แอนโธไซยานิดิน (Anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (Cyanidin), เดลฟินิดิน (Delphinidin), มัลวิดิดิน (Malvidin), เปลาโกนิดิน (Pelargonidin), พีโอนิดิน (Peonidin), เพทูนิดิน (Petunidin)

2.10.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟลาโวนอยด์

สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เป็นสารพฤกษเคมีที่พบได้ในพืช และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการยับยั้ง หรือเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) จึงช่วยลดปฏิกิริยาถูกโจมตีของอนุมูลอิสระได้ ฤทธิ์ด้านการอักเสบของฟลาโวนอยด์สามารถใช้ในการต้านความงาม ซึ่งฟลาโวนอยด์ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีประสิทธิภาพในการเป็นสารกำจัดอนุมูลอิสระ ฟลาโวนอยด์ยับยั้งการปล่อยกรดอะราคิโดนิค (Arachidonic acid) ที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ ยับยั้งกระบวนการสร้างเซลล์ไขมัน โดยการลดการสะสมไขมันใน pre-adipocyte ทำให้ไม่สามารถพัฒนาไปเป็นเซลล์ไขมันได้

2.11 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์

2.11.1 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะกลุ่ม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์โดยเฉพาะกลุ่ม หรือโดยเฉพาะชนิดนั้น สามารถทำได้โดยมักใช้เทคนิค HPLC (High-Performance Liquid Chromatography), UV-Visible สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible Spectrophotometer) และการตรวจวัดด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ต PDH(Photo-diode array) หรือ MS (Mass spectrometer) เนื่องจากสารประกอบฟลาโวนอยด์จากพืชมักอยู่ในรูปออร์โทไกลโคซิดิก (Oglycosidic) โดยจับกับน้ำตาล เช่น กลูโคส (Glucose) กาแลคโตส (Galactose) แรมโนส (Rhamnose) อะราบินอส (Arabinose) และรูทีโนส (Rutinose) แต่ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์จะทำการวิเคราะห์เฉพาะส่วนอะไกลโคน ดังนั้น ต้องใช้กรดไฮโดรคลอริกนำตาลออกไปจากโมเลกุลซึ่งโดยมากนิยมใช้กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) ก่อนที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิคและเครื่องมือที่กล่าวไว้ในข้างต้น

2.11.2 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตริกเป็นวิธีการทดสอบโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมที่นิยมใช้มากที่สุดในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด องค์ประกอบของสารประกอบเหล่านี้ถือเป็นตัวแปรสำคัญสำหรับการประเมินคุณค่าอาหาร หรือ ตัวอย่างพืชสมุนไพร โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมฟลาโวนอยด์ (Aluminium - flavonoid complex) หลักการของ Al - flavonoid complexation reaction คือ การทำปฏิกิริยากันระหว่างอะลูมิเนียมไอออนและกลุ่ม o - dihydroxyl (3', 4' - OH) ในวงแหวน B และ o - dihydroxy ในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ซึ่งสามารถประสานกันช่วยเสริมให้จับกับอะลูมิเนียมไอออนได้ดียิ่งขึ้นเกิดผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของอะลูมิเนียมกับฟลาโวนอยด์

2.12 รูปแบบผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากกาแฟในปัจจุบัน

2.12.1 ผลิตภัณฑ์เวชสำอางเกี่ยวกับบำรุงผม พัฒนาโดย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2.12.2 ผลิตภัณฑ์เวชสำอางเกี่ยวกับครีมกันแดด พัฒนาโดย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2.12.3 สารสกัดเข้มข้นจากกาแฟ ช่วยต้านอนุมูลอิสระ ให้ความชุ่มชื้น ลดความแห้งกร้านของผิว พัฒนาโดย บริษัท พีโคโนเนีย (ประเทศไทย) จำกัด

2.12.4 ผลิตภัณฑ์สบู่คาเฟอีนที่ได้จากกากกาแฟเหลือทิ้งทำความสะอาดร่างกายและผิว กระจ่างใส พัฒนาโดย วิทยาลัยเทคโนโลยีอรรถวิทย์พัฒนวิชาการ

2.12.5 สกรับกากกาแฟ กำจัดสิ่งสกปรก และผลิตภัณฑ์ผิวที่ตายแล้ว บำรุงผิวเรียบเนียน พัฒนาโดย บริษัท สยามโยโกะ จำกัด

2.12.6 เซรั่มกากกาแฟ ชะลอริ้วรอย ลดการระคายเคือง และต้านอนุมูลอิสระ พัฒนาโดย มหาวิทยาลัยแม่โจ้



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมีและเครื่องมือ

3.1.1 วัตถุดิบพืช

3.1.1.1 เมล็ดกาแฟเทพเสด็จ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ สายพันธุ์อาราบิก้า จัดซื้อช่วงวันที่ 2 พฤษภาคม 2566

3.1.1.2 เมล็ดกาแฟชุมพร บ้านถ้ำสิงห์ อ.เมือง จ.ชุมพร สายพันธุ์โรบัสต้า จัดซื้อช่วงวันที่ 2 พฤษภาคม 2566

3.1.2 สารเคมี

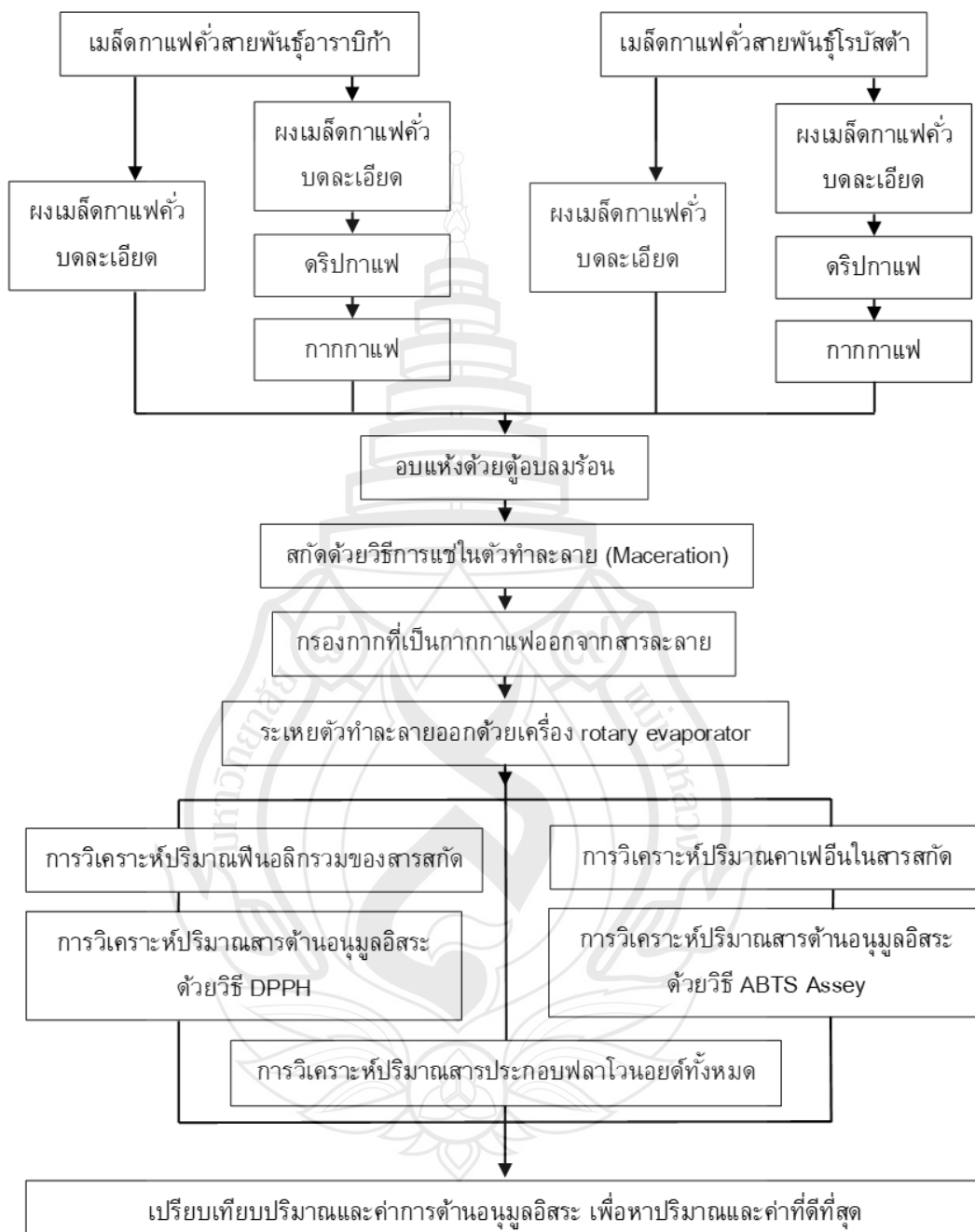
ตารางที่ 3.1 สารเคมี

สารเคมี	บริษัท	ประเทศ
สารมาตรฐานคาเฟอีน	Fluka	Germany
เอทานอล 95%	บริษัทวันรัต (หน้าเขียน) จำกัด	Thailand
DI Water	TKA	Germany
Gallic Acid	Fluka	Switzerland
Folin-Ciocalteu reagent	Merck	Germany
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Fluka	Switzerland
(ABTS)	Sigma-Aldrich	Germany
Potassium persulfate	Qrec	Newzealand
Ascorbic acid	Fluka	Switzerland
Quercetin	Fluka	Germany

ตารางที่ 3.2 เครื่องมือ

เครื่องมือ	รุ่น	บริษัท/ประเทศ
เครื่องชั่งดิจิตอลสำหรับตริปากาแฟ	Basic Plus	Timemore Black Mirror
กาไฟฟ้าตริปากาแฟปากแคบ 600 ml.		Timemore
เครื่องบดมือ	S1 Hand Grinder	Ricco
Coffee Server 700 ml.		Hario V60
Ceramic Dripper	เบอร์ 02	Hario V60
กระดาดชงกาแฟ	เบอร์ 02	Hario V60
เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	Sartorius BP 2015	Mettler Toledo
UV-Vis Spectrophotometer	Thermo scientific	U.S.A
เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer)	Orbit1000	Labnet
Microplate reader	Metertech	Taiwan
กรวยกรอง Buchner funnel- Porcelain	JIPO	Czech Republic
กระดาดชง	No.1	what man
เครื่อง Evaporator	Greatwall	China
อุปกรณ์เครื่องแก้ว	Pyrex	England
ตู้อบลมร้อน	Memmert Ecocell 222C	German
ตู้เย็น	Smart i-250S	Accuplus
96 well microtiter plate	Nunc	Denmark
ปิเปต	Rainin	Switzerland
แท่งแก้วคนสาร	Pyrex	England
ขวดสีชา		Thailand

3.2 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย

3.3 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกาแฟ

นำเมล็ดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า มาบดด้วยเครื่องบดมือ Ricco S1 Hand Grinder และ นำผงกาแฟที่ได้จากเมล็ดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า เข้า ตู้อบลมร้อนเพื่อให้ผงกาแฟแห้งสนิท หลังจากนั้นนำผงกาแฟมาชั่งที่เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง เมื่อตัวเลข น้ำหนักของผงกาแฟที่นำมาชั่งหลังการอบมีตัวเลขที่คงที่ จึงจะสามารถนำมาใช้ต่อไปได้

3.4 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกากกาแฟ

โดยกากกาแฟที่นำไปใช้นั้นได้จากการนำเมล็ดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์ โรบัสต้า ชั่งด้วย Timemore Black Mirror รุ่น Basic Plus ตาชั่งดิจิตอล โดยใช้ปริมาณ 10 กรัม หลังจากนั้นบดด้วยเครื่องบดมือ Ricco S1 Hand Grinder ด้วยความละเอียดเบอร์ 8 วางบนกระดาษ กรองกาแฟ Hario V60 เบอร์ 02 ที่เตรียมไว้บน Hario V60 Ceramic Dripper เบอร์ 02 และรอง ด้วยแก้ว หลังจากนั้นค่อย ๆ เทน้ำที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส ลงไปช้า ๆ เป็นเวลา 3 นาที โดยใช้ น้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำกากกาแฟที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อกากกาแฟเย็นตัว ลง นำเข้าตู้อบลมร้อน จนกากกาแฟแห้งสนิท

3.5 การสกัดด้วยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย (Maceration)

ซึ่งสารสกัดกาแฟและสารสกัดกากกาแฟอบแห้งจากข้อ 3.3 และ 3.4 โดยมีสัดส่วนของผง กาแฟต่อปริมาณตัวทำละลายคือ 1 : 10 โดยน้ำหนัก ใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำ ละลาย ethanol 95% ลงไป 100 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดลูกชมพู่ด้วยจุกคอร์ก แล้วพัน parafilm ให้ แน่น จากนั้นนำไปแช่ด้วยเครื่องเขย่าสารละลายที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีที่ อุณหภูมิ 60 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด ทำการกรองกากที่เป็นกากกาแฟออกจาก สารละลาย ด้วยกรวยกรอง buchner funnel porcelain กระดาษกรอง Waterman®, No.1 หลังจากนั้นนำส่วนที่เป็นสารละลายไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจนได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) (ดัดแปลงมาจากวิธี ของ Safdar et al., 2017)

3.6 การคำนวณร้อยละผลผลิต (%Yield)

การคำนวณหาร้อยละผลผลิต (%yield) ของสารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยวิธี maceration คำนวณได้ตามสมการด้านล่าง ดังนี้

$$\% \text{ Yield} = (W_1/W_2) \times 100$$

โดย W_1 คือ น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของผง หรือ กากกาแฟ ที่อบแห้งแล้ว (กรัม)

3.7 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

3.7.1 การสร้างกราฟมาตรฐาน Gallic Acid

เตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15, 0.20 และ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมาตรฐาน galic acid ที่แต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 (7 % น้ำหนักต่อปริมาตร) 2 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ สร้างกราฟมาตรฐานเพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด

3.7.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด

เตรียมสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟที่สกัดได้ ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ลงไป 2 มิลลิลิตร และเติมเอทานอลลงไป 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 (7 % น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid ในหัวข้อ 3.7.1 (ดัดแปลงมาจากวิธีของ สุขาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558)

3.8 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

3.8.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์เซติน

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content : TFC) โดยวิธี Aluminum chlorimetric assay (ดัดแปลงจากวิธีของ Quettier-Deleu et al., 2000) เตรียมสาร Quercetin 10 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วย 95% เอทานอล ให้ได้ 10 มิลลิลิตร เตรียมโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ความเข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) โดยชั่ง NaNO_2 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เตรียมอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ความเข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) โดยชั่ง AlCl_3 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และสุดท้ายเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 8 (w/v) โดยชั่ง NaOH 4 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นผสมกันตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.3 เมื่อเรียบร้อยแล้ว นำใส่หลุม 96 well microtiter plate หลุมละ 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ที่เครื่อง Microplate reader นำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และพลอตกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน (ความเข้มข้นสุดท้ายของเคอร์เซตินเท่ากับ 3.75 - 60 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ตารางที่ 3.3 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน

	Blank	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	หลอดที่ 4	หลอดที่ 5	หลอดที่ 6	หลอดที่ 7	หลอดที่ 8
Quercetin (μl)	-	50	100	200	300	400	500	600	700
95% Ethanol (μl)	1000	950	900	800	700	600	500	400	300
15% NaNO_2 (μl)	50	50	50	50	50	50	50	50	50

บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3.3 (ต่อ)

	Blank	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	หลอดที่ 4	หลอดที่ 5	หลอดที่ 6	หลอดที่ 7	หลอดที่ 8
15% AlCl_3 (μl)	150	150	150	150	150	150	150	150	150
บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง									
8% NaOH (μl)	700	700	700	700	700	700	700	700	700
บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง									
Total Volume (μl)	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900	1900

3.8.2 การวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากสารสกัด

เตรียมสารสกัด 5 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรด้วย 95% เอทานอล ให้ได้ 1 มิลลิลิตร เตรียมโซเดียมไนไตรท์ (NaNO_2) ความเข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) โดยชั่ง NaNO_2 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เตรียมอะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) ความเข้มข้นร้อยละ 15 (w/v) โดยชั่ง AlCl_3 7.5 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และสุดท้ายเตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 8 (w/v) โดยชั่ง NaOH 4 กรัม ปรับปริมาตรด้วย DI water ให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำมาผสมตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.4 และนำใส่หลุม 96 well microtiter plate หลุมละ 200 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ต่อจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ที่เครื่อง Microplate reader นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์เซติน และรายงานผลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของเคอร์เซตินต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง 1 กรัม (mgQE/gDW)

ตารางที่ 3.4 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟเพื่อวิเคราะห์หาสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
จากสารสกัด

	Blank	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2
Extract (μ l)	-	50	100
95% Ethanol (μ l)	1000	950	900
15% NaNO ₂ (μ l)	50	50	50
	บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง		
15% AlCl ₃ (μ l)	150	150	150
	บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง		
8% NaOH (μ l)	700	700	700
	บ่มในที่มืดเป็นระยะเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง		
Total Volume (μ l)	1900	1900	1900

3.9 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

3.9.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของ Ascorbic Acid

เตรียมสารละลายมาตรฐานของ ascorbic acid 1 มิลลิกรัม ใน DI Water 10 มิลลิลิตร (0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ชั่ง DPPH 8 มิลลิกรัมใน 95% เอทานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร จากนั้นปีเปตสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร สร้างกราฟมาตรฐานโดยการผสมสารตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.5 ลงไปในหลุม 96 well microtiter plate เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ที่เครื่อง microplate reader จากนั้นทำการคำนวณหาค่า %scavenging ที่ได้จากสมการด้านล่าง และทำการพลอตกราฟระหว่าง %Scavenging กับความเข้มข้นของ ascorbic acid จากนั้นคำนวณหาค่า SC₅₀ จากกราฟ (ดัดแปลงมาจากวิธีของ สุชาติ มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, 2558)

$$\%DPPH \text{ Radical Scavenging} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

โดย A_{Control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่วัดได้

A_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH

ตารางที่ 3.5 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี DPPH

	Blank	Control	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่	หลอดที่
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ascorbic acid (μ l)	-	-	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
95% Ethanol (μ l)	200	100	98	96	94	92	90	88	86	84	82	80
DPPH (μ l)	-	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
Total Volume (μ l)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200

3.9.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

เตรียมสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟที่สกัดได้ ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาผสมสารให้เข้ากันดังตารางที่ 3.6 ลงไปในหลุม 96 well microtiter plate เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ที่เครื่อง microplate reader โดยการทดสอบนี้จะทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง จากนั้นทำการคำนวณหา %scavenging ได้จากสมการในหัวข้อ 3.9.1 และทำการพลอตกราฟระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง ดังสมการด้านบน จากนั้นคำนวณหาค่า SC_{50} จากกราฟ

ตารางที่ 3.6 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า ด้วยวิธี DPPH

	Blank	Control	หลอด ที่ 1	หลอด ที่ 2	หลอด ที่ 3	หลอด ที่ 4	หลอด ที่ 5	หลอด ที่ 6
Extract (μ l)	-	-	10	30	50	70	90	100
95% Ethanol (μ l)	200	100	90	70	50	30	10	-
DPPH (μ l)	-	100	100	100	100	100	100	100
Total Volume (μ l)	200	200	200	200	200	200	200	200

3.10 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย วิธี ABTS

3.10.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ของ Ascorbic Acid

เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย potassium persulfate ความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ผสมสารละลาย ABTS กับสารละลาย potassium persulfate ในอัตราส่วน 2:1 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12-16 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ทดสอบ หลังจากนั้นเจือจางสารละลาย ABTS ด้วยเอทานอลให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.7 ± 0.02 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เพื่อให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการกำหนดหาฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร สร้างกราฟมาตรฐานโดยการผสมสารตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.7 ลงไปในหลอดทดลอง

หลังจากนั้นดูดสารละลายแต่ละหลอดลงหลุม 96 well microtiter plate ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader จากนั้นทำการคำนวณหาค่า %scavenging ที่ได้จากสมการด้านล่าง และทำการพลอตกราฟระหว่าง %scavenging กับความเข้มข้นของ ascorbic acid จากนั้นคำนวณหาค่า SC_{50} จากกราฟ

ตารางที่ 3.7 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ด้วยวิธี ABTS

	Blank	Control	หลอดที่ 1	หลอดที่ 2	หลอดที่ 3	หลอดที่ 4	หลอดที่ 5	หลอดที่ 6	หลอดที่ 7	หลอดที่ 8
Ascorbic acid (μ l)	-	-	4	6	8	10	20	30	40	50
95% Ethanol (μ l)	1600	800	796	794	792	790	780	770	760	750
ABTS (μ l)	-	800	800	800	800	800	800	800	800	800
Total Volume (μ l)	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600	1600

3.10.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

เตรียมสารสกัดหยาบกาแฟและกากกาแฟที่สกัดได้ ในเอทานอลที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และนำสารละลาย ABTS ที่เจือจางแล้วจากข้อ 3.10.1 นำมาผสมสารให้เข้ากันกับดังตารางที่ 3.8 ลงไปในหลุม 96 well microtiter plate ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ABTS โดยเปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์หาร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS (%scavenging) โดยคำนวณจากสูตรด้านล่างจากนั้นคำนวณหาค่า SC_{50} จากกราฟ

$$\%ABTS \text{ Radical Scavenging} = [(A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / A_{\text{Control}}] \times 100$$

โดย A_{Control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่วัดได้

A_{Sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างผสมกับ ABTS

ตารางที่ 3.8 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า ด้วยวิธี ABTS

	Blank	Control	หลอด ที่ 1	หลอด ที่ 2	หลอด ที่ 3	หลอด ที่ 4	หลอด ที่ 5	หลอด ที่ 6
Extract (μl)	-	-	10	30	50	70	90	100
95% Ethanol (μl)	200	100	90	70	50	30	10	-
ABTS (μl)	-	100	100	100	100	100	100	100
Total Volume (μl)	200	200	200	200	200	200	200	200

3.11 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารสกัด (ดัดแปลงจาก Chotika Buakrun, 2013)

3.11.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานคาเฟอีน

ทำกราฟมาตรฐาน (Calibration curve) ของสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol เตรียมสารละลายมาตรฐาน Caffeine ใน 1-propanol ใส่ขวดวัดปริมาตรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้ 4 ความเข้มข้น ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

ค่าการดูดกลืนแสงของคาเฟอีนอยู่ที่ความยาวคลื่น 200 ถึง 400 นาโนเมตร โดยวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ UV-Vis (Biochrome Libra 522, คอสตา) ในปฏิภานนี้จะวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ 290 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานของคาเฟอีน โดยคาเฟอีนที่ใช้มีความเข้มข้น 0.1, 0.25, 0.5, 1, 2.5, 5 มก./มล. โดยชั่งคาเฟอีน 1 มิลลิกรัม เติมน้ำ 95% เอทานอล ให้เต็ม 10 มิลลิลิตร จากนั้นผสมคาเฟอีนที่ได้ กับ 95% เอทานอลใส่ในหลอดทดลองดังตารางที่ 3.9 จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectroscopy (UV-Vis) โดยเส้นโค้งนี้จะใช้เป็นเส้นโค้งมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดกาแฟ หลังจากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของคาเฟอีนจากสารสกัดโดยการวัดการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และสมการเชิงเส้น

ตารางที่ 3.9 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟมาตรฐานของคาเฟอีน

	Blank	หลอด ที่ 1	หลอด ที่ 2	หลอด ที่ 3	หลอด ที่ 4	หลอด ที่ 5	หลอด ที่ 6	หลอด ที่ 7
Caffeine (μ l)	-	10	20	30	40	50	100	200
95% Ethanol (μ l)	1000	990	980	970	960	950	900	800
Total Volume (μ l)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

3.11.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนจากสารสกัด

นำสารละลายที่สกัดได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารสกัด 1 มิลลิกรัม เติมน้ำ 95% เอทานอล ให้เต็ม 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ใส่ในหลอดทดลอง ผสมกับเติมน้ำ 95% เอทานอล ตามสัดส่วนดังตารางที่ 3.10 จากนั้นนำไปวัดด้วยเครื่อง UV-Visible Spectroscopy และนำไปวัดค่าการดูดกลืนที่ 273 นาโนเมตร และนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากการทดลองข้อที่ 3.11.1

ตารางที่ 3.10 อัตราส่วนสารสำหรับการสร้างกราฟของสารสกัดจากกาแฟและกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า

	Blank	หลอด ที่ 1	หลอด ที่ 2	หลอด ที่ 3	หลอด ที่ 4	หลอด ที่ 5	หลอด ที่ 6	หลอด ที่ 7
Extract (μ l)	-	10	20	30	40	50	100	200
95% Ethanol (μ l)	1000	990	980	970	960	950	900	800
Total Volume (μ l)	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000

3.12 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการใช้โปรแกรมไมโครซอฟต์เอ็กเซล (Microsoft excel) เวอร์ชัน 2010 สำหรับการคำนวณค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (mean $\pm$ SE) เพื่อนำค่าของข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับระหว่างสารสกัดกาแฟ และกากกาแฟ สายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้าว่าผลที่ได้ สารสกัดใดที่ให้ค่าที่ดีกว่ากันเพื่อเป็นตัวเลือกในการตัดสินใจพัฒนาต่อยอดทางด้านเครื่องสำอาง

บทที่ 4

ผลการศึกษาและอภิปรายผล

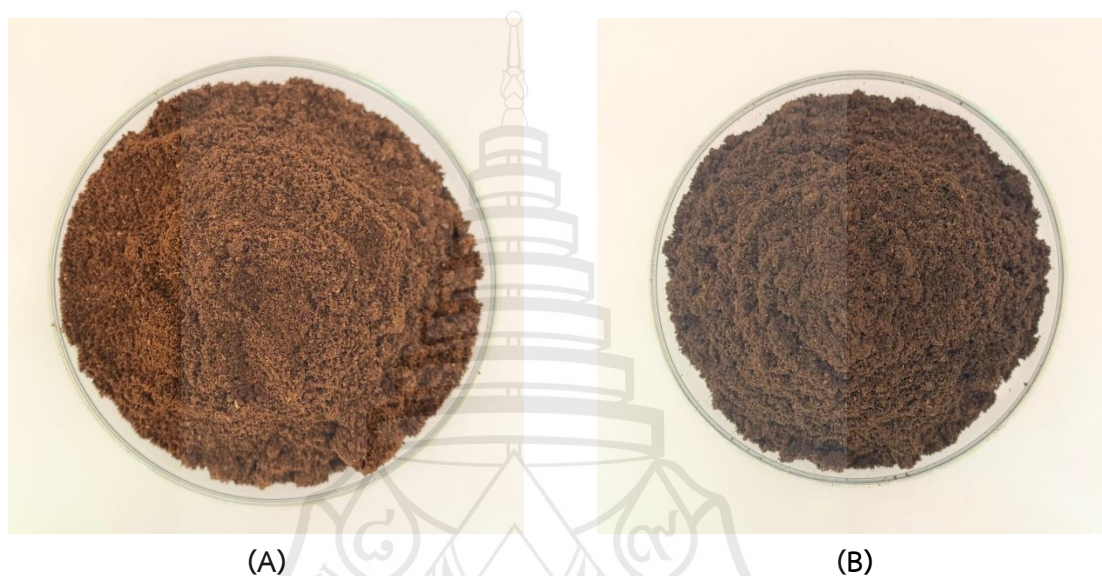
4.1 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากเมล็ดกาแฟคั่ว

ในการศึกษาค้นคว้าอิสระในครั้งนี้ได้นำเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า จากเมล็ดกาแฟเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ และสายพันธุ์โรบัสต้า จากเมล็ดกาแฟชุมพร บ้านถ้ำสิงห์ อำเภอเมือง จังหวัดชุมพร ดังแสดงในภาพที่ 4.1



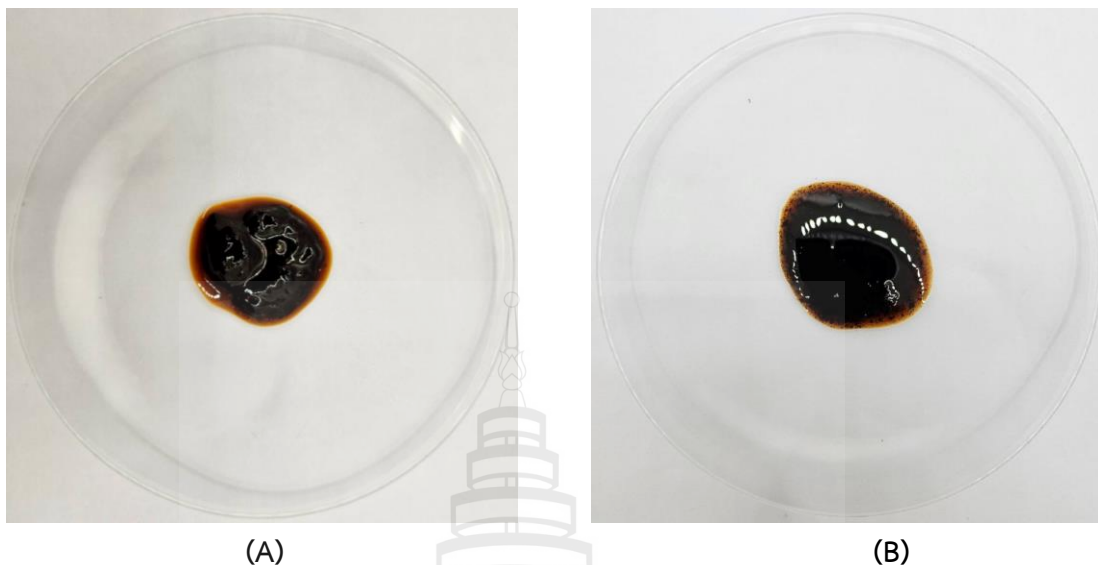
ภาพที่ 4.1 (A) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า (B) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า

นำเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า มาบดด้วยเครื่องบดมือ Ricco S1 Hand Grinder โดยพบว่าลักษณะของเมล็ดกาแฟคั่วหลังจากบดแล้วนั้น สายพันธุ์อาราบิก้ามีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อน และสายพันธุ์โรบัสต้า มีลักษณะเป็นผงละเอียดสีน้ำตาลเข้ม ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 (A) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้าที่ผ่านการบดละเอียด (B) เมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้าที่ผ่านการบดละเอียด

จากนั้นนำผงกาแฟที่ได้จากเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า เข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยอบด้วยความร้อนจนน้ำหนักของผลกาแฟคงที่ เพื่อไล่ความชื้นจนผงกาแฟแห้งสนิท จากนั้นนำผงกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้าที่บดละเอียด แบ่งลงขวดรูปชมพู่โดยแบ่งเป็นอย่างละ 3 ขวด ขวดละ 10 กรัมเท่า ๆ กัน จากนั้นเติมสารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้สารละลายท่วมผงกาแฟบดละเอียดที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นนำขวดชมพู่ที่มีสารในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Water bath shaker) โดยความเร็ว 150 รอบต่อวินาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำสารละลายในขวดรูปชมพู่มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® No.1 แล้วนำส่วนที่เป็นสารละลายมาระเหยิดตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ ที่มีลักษณะข้มหนืด มีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นกาแฟดังแสดงในภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 (A) สารสกัดหยาบของผงกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (B) สารสกัดหยาบของผงกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

จากนั้นนำมาคำนวณน้ำหนักของสารสกัดหยาบของแต่ละขวดที่ได้ เมื่อได้น้ำหนักของสารสกัดหยาบของแต่ละขวดแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย % yield เมื่อคำนวณร้อยละผลผลิตเรียบร้อยแล้ว นำสารสกัดหยาบของทั้ง 6 ขวดมาใส่ลงในขวดแก้วสีชา และนำขวดที่มีสารสกัดแช่เย็นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากการคำนวณร้อยละผลผลิตพบว่า สารสกัดผงกาแฟที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 โดยค่าเฉลี่ย % yield ของสารสกัดจากผงกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้ามีค่าเท่ากับ $12.07 \pm 0.05\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง และสายพันธุ์โรบัสต้ามีค่าเท่ากับ $16.64 \pm 0.29\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารสกัด และ %yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด ของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

สารสกัด	%yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด
กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	12.07 ± 0.05%
กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	16.64 ± 0.29%

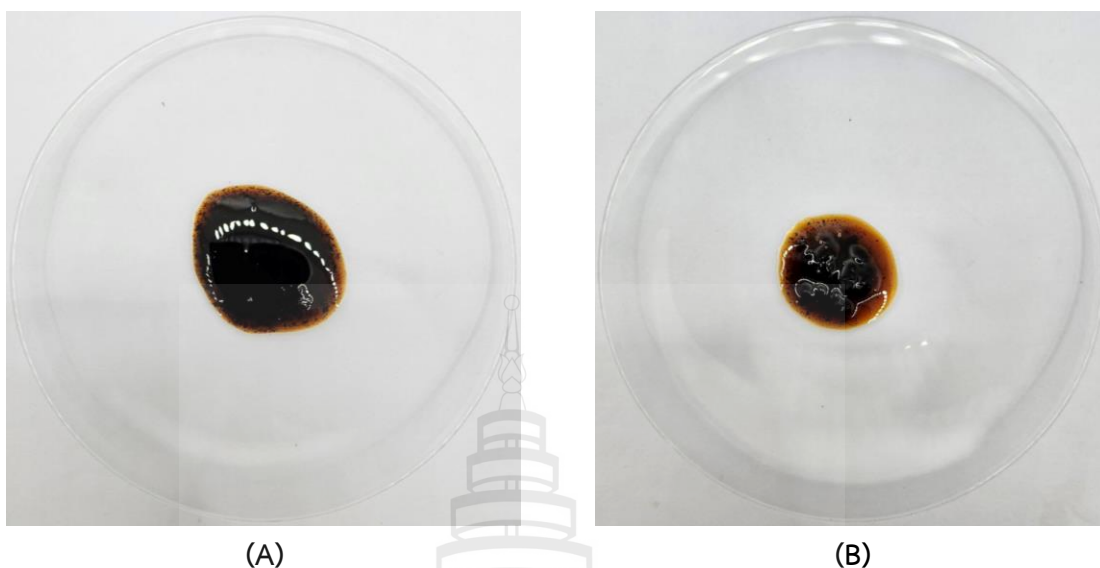
หมายเหตุ ข้อมูลของกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและสายพันธุ์โรบัสต้าที่ได้มาจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

4.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดกาแฟจากเมล็ดกาแฟคั่ว

นำเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า ชั่งด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล Timemore Black Mirror รุ่น Basic Plus โดยใช้ปริมาณ 10 กรัม หลังจากนั้นบดด้วยเครื่องบดมือ Ricco S1 Hand Grinder ด้วยความละเอียดเบอร์ 8 นำผงกาแฟที่ได้ใส่บนกระดาดกรองกาแฟ Hario V60 เบอร์ 02 ที่เตรียมไว้บน Hario V60 Ceramic Dripper เบอร์ 02 และรองด้วยแก้ว

หลังจากนั้นค่อยๆเทน้ำที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส ลงไปช้า ๆ เป็นเวลา 3 นาที โดยใช้น้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำกากกาแฟที่ได้จากผงกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อกากกาแฟเย็นตัวลง นำเข้าตู้อบลมร้อน จนกากกาแฟแห้งสนิท

จากนั้นนำผงกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้าที่อบเรียบร้อยแล้ว นำมาแบ่งลงขวดรูปชมพู่โดยแบ่งเป็นอย่างละ 3 ขวด ขวดละ 10 กรัมเท่า ๆ กัน จากนั้นเติมสารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยให้สารละลายท่วมผงกากกาแฟที่อยู่ในขวดรูปชมพู่ ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ จากนั้นนำขวดชมพู่ที่มีสารในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Water bath shaker) โดยความเร็ว 150 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด นำสารละลายในขวดรูปชมพู่มากรองด้วยกระดาษกรอง Whatman® No.1 แล้วนำส่วนที่เป็นสารละลายมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบ ที่มีลักษณะเข้มข้น มีน้ำตาลเข้มข้น และมีกลิ่นกาแฟดังแสดงในภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 (A) สารสกัดหยาบของผงกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (B) สารสกัดหยาบของผงกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

จากนั้นนำมาคำนวณน้ำหนักของสารสกัดหยาบของแต่ละขวดที่ได้ เมื่อได้น้ำหนักของสารสกัดหยาบของแต่ละขวดแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย % yield เมื่อคำนวณร้อยละผลผลิตเรียบร้อยแล้ว นำสารสกัดหยาบของทั้ง 6 ขวดมาใส่ลงในขวดแก้วสีชา นำขวดที่มีสารสกัดแช่เย็นเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากการคำนวณร้อยละผลผลิตพบว่า สารสกัดผงกาแฟที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล ร้อยละ 95 โดยค่าเฉลี่ย % yield ของสารสกัดจากกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้ามีค่าเท่ากับ $11.35 \pm 0.39\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง และสายพันธุ์โรบัสต้ามีค่าเท่ากับ $9.83 \pm 0.07\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารสกัด และ %yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด ของสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

สารสกัด	%yield ต่อน้ำหนักของสารสกัด
กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	$11.35 \pm 0.39\%$
กากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	$9.83 \pm 0.07\%$

หมายเหตุ ข้อมูลของกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและสายพันธุ์โรบัสต้าที่ได้มาจากการทดสอบ 3 ซ้ำ

4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

4.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content: TPC)

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม แสดงในตารางที่ 4.3 จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด คือ $1.20 \pm 0.04 \mu\text{g GAE/ml extract}$ รองลงมาคือ สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด ซึ่งการวิเคราะห์พบสารประกอบฟีนอลิกรวมในการศึกษานี้ สอดคล้องกับการศึกษาของ Jimena et al. (2011) ที่พบว่าสารสกัดกาแฟมีสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกหลากหลาย และนอกจากนี้ยังพบว่าในสารสำคัญยังประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม เช่น โพลีแซคคาไรด์ กรดไขมัน โปรตีน คาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิก และสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (เยาวเรศ เพ็ชรเมณี, 2564)

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

สารสกัด	ปริมาณฟีนอลิก ($\mu\text{g GAE/ml extract}$)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ ($\mu\text{g CE/ml extract}$)
กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	1.20 ± 0.04^a	0.43 ± 0.00^a
กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	1.00 ± 0.02^b	0.38 ± 0.00^b
กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	1.05 ± 0.07^b	0.39 ± 0.00^c
กากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	0.64 ± 0.03^c	0.35 ± 0.00^d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p < 0.05$), $n = 3$

4.3.2 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content: TFC)

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ให้ผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ดังตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ $0.43 \pm 0.00 \mu\text{g CE/ml extract}$ รองลงมา คือ สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด ตามลำดับ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดกาแฟพบว่า ความเข้มข้นของสารฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ในกาแฟจะแตกต่างกันตามระดับการคั่วกาแฟ ซึ่งการทดลองในแต่ละครั้งให้ผลที่คล้ายกัน และในกรณีของเคอซีตินและอนุพันธ์ของเคอซีติน การคั่วนานขึ้นจะเปลี่ยนอัตราส่วนของรูปแบบไกลโคซิดิกไปเป็นรูปแบบอะไกลโคโคน อาจเป็นเพราะการคั่วนานขึ้นจะสลายพันธะไกลโคไซด์ ในเมล็ดกาแฟคั่วอ่อน มีเคอซีตินในรูปแบบไกลโคซิดิกมากกว่า แต่ในเมล็ดกาแฟคั่วเข้ม มีเพียงรูปแบบเคอซีติน อะไกลโคโคนเท่านั้นที่มีอยู่ (Król K et al., 2022) ในการตรวจวัดระดับฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลของกาแฟโรบัสต้าและอาราบิก้ามีการใช้เคอซีตินเป็นมาตรฐาน การเลือกของเคอซีตินเป็นมาตรฐานเพราะเคอซีตินเป็นประเภทของสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันอนุมูลอิสระ (Aisyah et al., 2022) จากการศึกษาหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95 จะได้ปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่า สายพันธุ์โรบัสต้ามีค่าเท่ากับ 11.5 และ 14.2 mg GAE/g ตามลำดับ (Khoirul et al., 2023)

4.4 การประเมินการต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดจากกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้าในประเทศไทย

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดจากกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า ในการทดลองนี้ใช้การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี คือ DPPH และ ABTS

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน เมื่อเปรียบเทียบกับค่า SC_{50} ของสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สายพันธุ์โรบัสต้า และกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า พบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ DPPH สูงสุดคือสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ $0.23 \pm 0.00 \text{ mg/mL}$ สารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสาย

พันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.40 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4 ในขณะที่ค่า SC_{50} ของสารมาตรฐาน ascorbic acid เท่ากับ 1.18 ± 0.00 mg/mL

ตารางที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัด	Antioxidant activity	Antioxidant activity
	DPPH	ABTS
	(SC_{50} ; mg/mL)	(SC_{50} ; mg/mL)
กากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	0.40 ± 0.00^a	0.19 ± 0.01^a
กากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	0.35 ± 0.00^b	0.12 ± 0.00^b
กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	0.26 ± 0.00^c	0.10 ± 0.00^c
กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	0.23 ± 0.00^d	0.05 ± 0.00^d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$), $n = 3$

เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดเมล็ดกาแฟจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สูงกว่าเมล็ดกาแฟอาราบิก้าประมาณ 30% (Danijela et al., 2022) ซึ่งเป็นค่าใกล้เคียงกับผลที่พบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ DPPH สูงสุดคือสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า ตามลำดับ ซึ่งสามารถสรุปได้ไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS Radical Scavenging Assay

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน เมื่อเปรียบเทียบกับค่า SC_{50} ของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สายพันธุ์โรบัสต้า และกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า พบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ABTS สูงสุดคือสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ 0.05 ± 0.01 mg/mL สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.19 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับ ดังแสดงตามตารางที่ 4.4

ในขณะที่ค่า SC_{50} ของสารมาตรฐาน Ascorbic acid ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 0.14 ± 0.01 mg/mL

เมื่อเปรียบเทียบผลของสารสกัดเมล็ดกาแฟจากงานวิจัยก่อนหน้านี้พบว่าเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเมล็ดกาแฟอาราบิก้าประมาณ 30% (Danijela et al., 2022) ซึ่งเป็นค่าใกล้เคียงกับผลที่พบว่า สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ABTS สูงสุด คือ สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุด คือ สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า ตามลำดับ ซึ่งสามารถสรุปได้ไปในทิศทางเดียวกันกับงานวิจัยก่อนหน้านี้เกี่ยวกับเมล็ดกาแฟโรบัสต้าที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และ ศักยภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพพบได้สูงกว่าเมล็ดกาแฟอาราบิก้า (Danijela et al., 2022)

4.5 ผลการทดสอบปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

ในการทดสอบหาปริมาณคาเฟอีนในสารสกัด โดยสารมาตรฐานคาเฟอีน เมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สายพันธุ์โรบัสต้า และกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้า พบว่าสารสกัดที่มีปริมาณคาเฟอีนสูงสุดคือสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ 0.45 ± 0.01 mg/mL สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.23 ± 0.02 mg/mL ตามลำดับ ดังแสดงตามตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบปริมาณคาเฟอีนในสารสกัดของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

สารสกัด	Amount of caffeine in the extract (mg/mL)
กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	0.73 ± 0.01^a
กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	0.45 ± 0.01^b
กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า	0.30 ± 0.01^c
กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า	0.23 ± 0.02^d

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$), $n = 3$

จากการวิจัยก่อนหน้านี้ พบว่ากระบวนการคั่วไม่มีผลต่อการสลายตัวของคาเฟอีน เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารที่ทนความร้อนได้ดี อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของกระบวนการให้ความร้อนอาจส่งผลกระทบต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยการศึกษาของ (Bobkova et al., 2020) ซึ่งให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการศึกษากระบวนการผลิตกาแฟสดที่มีผลต่อความคงตัวของปริมาณคาเฟอีนในตัวอย่างเมล็ดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและโรบัสต้าในจังหวัดเลย กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าและโรบัสต้ามีปริมาณคาเฟอีนเท่ากับ 658.66 mg/kg และ 1,803.68 mg/kg ตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่าความรุนแรงของการคั่วมีผลกระทบมากกว่าชนิดของกาแฟ (รัตนารักษ์ วงศ์ประโคน และคณะ, 2562) ซึ่งสอดคล้องกับผลวิจัยของการศึกษาในครั้งนี้ว่า สารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าให้ปริมาณคาเฟอีนที่มากกว่าสายพันธุ์อาราบิก้า

บทที่ 5

สรุปผลการศึกษาวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการศึกษาวิจัย

5.1.1 การเตรียมสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า โรบัสต้า และ กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า โรบัสต้า โดยการนำผงกาแฟที่อบแห้งมาสกัดด้วยการแช่หมัก (Maceration) ด้วยสารละลาย 95% เอทานอล โดยแช่สารทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Water bath shaker) โดยความเร็ว 150 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำสารที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรอง แล้วนำส่วนที่เป็นสารละลายมาระเหยงตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบสุญญากาศ (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเข้มข้น มีน้ำตาลเข้ม และมีกลิ่นกาแฟ โดยคำนวณร้อยละของผลที่ได้ (% yield) ของสารสกัดจากผงกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีค่าเท่ากับ $12.08 \pm 0.05\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง และสายพันธุ์โรบัสต้ามีค่าเท่ากับ $16.65 \pm 0.29\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง และสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีค่าเท่ากับ $11.35 \pm 0.39\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง และสายพันธุ์โรบัสต้ามีค่าเท่ากับ $9.83 \pm 0.07\%$ ต่อน้ำหนักของผงกาแฟแห้ง

5.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ จากการวิจัยนี้พบว่าสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด คือ $1.20 \pm 0.04 \mu\text{g GAE/ml extract}$ รองลงมา คือ สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด และพบว่า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด คือ $0.43 \pm 0.00 \mu\text{g CE/ml extract}$ รองลงมาคือ สารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด ตามลำดับ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

5.1.3 ผลการประเมินการต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ DPPH สูงสุดคือสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ 0.23 ± 0.00 mg/mL สารสกัดกาแฟคั่ว สายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.40 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับ และ สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ABTS สูงสุดคือสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ 0.05 ± 0.01 mg/mL สารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.19 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับซึ่งให้ผลสอดคล้องกัน

5.1.4 ผลการทดสอบปริมาณคาเฟอีนพบว่าสารสกัดที่มีปริมาณคาเฟอีนสูงสุดคือสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า เท่ากับ 0.45 ± 0.01 mg/mL สารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า และน้อยที่สุดคือสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า เท่ากับ 0.23 ± 0.02 mg/mL ตามลำดับ

5.1.5 จากข้อสรุปดังกล่าวบอกได้ว่า สารสกัดจากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารสำคัญ สารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ มากกว่าสายพันธุ์โรบัสต้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีปริมาณสารสำคัญสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ มากกว่าสายพันธุ์โรบัสต้า เช่นกัน และสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ DPPH สูงสุดคือสารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้าที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่าสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ก็มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่าสายพันธุ์อาราบิก้า รวมถึงปริมาณคาเฟอีนที่สารสกัดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณคาเฟอีนสูงกว่าสายพันธุ์อาราบิก้าและสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ก็มีปริมาณคาเฟอีน ที่มากกว่าสายพันธุ์อาราบิก้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรทดลองพัฒนาตำรับเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

5.2.2 ควรศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สารสกัดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าในสภาวะต่าง ๆ

5.2.3 ควรศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อต่าง ๆ เมื่อนำสารสกัดกากกาแฟมาใช้ในตำรับ

5.2.4 ควรมีการศึกษาความปลอดภัยและประสิทธิภาพของตำรับที่ใช้สารสกัดกาแฟ และกาแฟในอาสาสมัคร





รายการอ้างอิง

รายการอ้างอิง

- ชนิษฐา คงยอด. (2553). ผลการต้านแบคทีเรียและอนุมูลอิสระของสารสกัดสำหรับกล้วยทอง (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- คอฟฟี่ทูลส์. (2562). ทำไม กาแฟอาราบิก้า ถึงแพงกว่า โรบัสต้า. <https://www.koffeetools.com/content/6527/>
- เครื่องดื่มกาแฟในประเทศไทย. (2562). ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. <https://fic.nfi.or.th/market-intelligence-detail.php?smid=260>
- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 1(1), 59–70
- จุลินต์ตา ดรอินทร์. (2565). การเตรียมสารสกัดจากลูกเดือยและกากกาแฟและการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการ, มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เจริญพร ถาวรประเสริฐ, ธนัชชา สุวรรณวิภากร, พิชัย เอี้ยวเล็ก และกฤษฎ สมนึก. (2558). การศึกษากระบวนการสกัดน้ำมันจากกากกาแฟด้วยตัวทำละลาย และระยะเวลาสกัด. ใน รายงานการประชุมวิชาการสมาคมวิศวกรรมเกษตรแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16 (หน้า 390-392). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 23, 120-139.
- ดอยหวาน. (2564). ผลกาแฟอาราบิก้า. <https://www.doiwhan-cnx.com/en>
- เดอะโฮมบาร์ิสต้า. (2558). เครื่องชงกาแฟ ปัจจัยหลักแห่งความอร่อย. <https://thehomebarista.wordpress.com>
- ทีซีไอเคมีคอล. (2555). โครงสร้างทางเคมีของ 1, 1 - diphenyl - 2 - picrylhydrazyl. <https://www.tcichemicals.com>

- นันทน์ภัส ฤทธิ์บุญ, วีรยา พันสาวนัต และสุรัชย์ วุฒิมาก. (2558). *การศึกษามลของตัวทำละลาย / วิธีการในการสกัดที่มีต่อปริมาณคาเฟอีนในผงกาแฟบด และกากกาแฟ และการนำไปใช้ต่อยอด* (วิทยานิพนธ์ปริญญาครุศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา.
- นันทวัน บุญยะประภัสร์. (2536). การตรวจสอบทางเคมีเบื้องต้นของสารสกัดจากพืช. ใน วันดี ฤกษ์ณพันธ์ (บ.ก.), *ยาและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ* (เล่มที่ 1, หน้า 116-129). ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.
- ปิ่นเชอร์. (2565). *จากสวนสู่ Balance Cup กับกระบวนการ กาแฟแบบ Semi-Carbonic Maceration และ LTLH*. <https://beanshere.com>
- ปริยานุช อินทร์รอด. (2551). *ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของส่วนสกัดจากต้นเร่วหอมและว่านสาวหลง*. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- ปรีชญา กรณสูตร, หทัยรัตน์ ริมศิริ, สุพนิดา วินิจฉัย และสุคันธรส ธาดากิตติสาร. (2558). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มทำความสะอาดเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของนิโอโซม จากน้ำมันรำข้าวไรซ์เบอร์รี่. ใน *รายงานการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53* (หน้า 978-986). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- ปวีณา พันทอง. (2559). การพัฒนาวิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี CUPRAC โดยใช้อุปกรณ์ตรวจวัดแบบกระดาษ (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยบูรพา.
- พิชัย เอี้ยวเล็ก และกฤษ สมนึก. (2558). *การใช้ประโยชน์จากกากกาแฟเพื่อผลิตเป็นเชื้อเพลิงเหลวและเชื้อเพลิงแข็ง*. ใน *รายงานการประชุมสัมมนาเชิงวิชาการรูปแบบพลังงานทดแทนสู่ชุมชนแห่งประเทศไทยครั้งที่ 8* (หน้า 338-341). มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, ปทุมธานี.
- พัลลภ นิลสุวรรณโฆสิต, ธงชัย สุวรรณสิขณ, หทัยรัตน์ ริมศิริ และสุพนิดา วินิจฉัย. (2557). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวหน้าที่มีส่วนผสมของนิโอโซมไฟโบรอินไฮโดรไลเสทจากรังไหมอีรี่. ใน *รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52* (หน้า 348-355). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- ฟู้ดเน็ตเวิร์คโซลูชั่น. (2558). *โครงสร้างทางเคมีของคาเฟอีน*. <https://www.foodnetworksolution.com>

มติชน. (2563). โคนสวนยางปลูกกาแฟ พลิกชีวิต-ผู้ตรายได้เกษตรกรตุล ปลูกตำนาน ‘กาแฟ’ โบราณ 200 ปี.

https://www.matichon.co.th/region/news_2345262https://www.matichon.co.th/region/news_2345262

แม่น อมรสิทธิ์ และ อมร เพชรสม. (2535). *หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ* (พิมพ์ครั้งที่ 1). ชวนพิมพ์.

เยาวเรศ เพ็ชรหมณี. (2564). *น่ายาล้างจานจากกากกาแฟ*. วิทยาลัยการอาชีพบางสะพาน.

รัตนา อินทรานุปกรณ. (2547). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัตนกรณ วงศ์ประโคน, สุวดี สารพันธ์ และสุพัฒน์ พระเมืองคง. (2562). *ศึกษากระบวนการผลิตกาแฟสดต่อความคงตัวของปริมาณคาเฟอีนและฟีนอลิกรวม*. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติด้านวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และนวัตกรรม ครั้งที่ 1 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สร้างสรรค์นวัตกรรมเพื่อชุมชน” วันที่ 20 เมษายน 2562. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.

รพีพรรณ กองตุม. (2560). กาแฟ: มูลค่าเพิ่มและการใช้ประโยชน์. ใน *รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5* (หน้า 342-350). ราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง.

วิภาพ สุทนต์. (2556).ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. *ครีนิครินทร์เวชสาร*, 28(4), 567-582.

วิกิพีเดีย. (2555). *โครงสร้างทางเคมีของ 2, 2 - azino - bis (3 - ethylbenzothiazoline - 6 - sulfonic acid)*. <https://th.wikipedia.org/wiki/ABTS>

วราพงษ์ บุญมา, ธีระเดช พรหมวงศ์, นริศ ยิ้มแย้ม, ประเสริฐ คำอ่อน และนิธิ ไทยสันทัด. (2565). *การปลูกและผลิตกาแฟอาราบิก้าบนที่สูง (Highland Arabica Coffee Production)*. ศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ศุภาวิดา จรรยา. (2563). *การแยกสารเนื้อเดียว (สกัดด้วยตัวทำละลาย/ตกผลึก/กลั่น/โครมาโทกราฟี)*. <https://www.scimath.org/lesson-chemistry/item/9423-2018-11-14-08-38-39>

- ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. (2557). ตลาดกาแฟพร้อมดื่มในประเทศไทย, รายงานตลาดอาหารในประเทศไทย. <http://fic.nfi.or.th/broadcast/TFMR-March-2014-0IE.palf>
- สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). (2558). ประวัติกาแฟ, <http://www.arda.or.th/kasetinfo/south/coffee/history/index.php>.
- สุชาติ มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ, (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABIS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. *Advanced Science*, 15(1), 106-117.
- สุภารัตน์ ชัยอาจ และพวงพะยอม ปัญญา. (2548). การนอนไม่หลับและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง. *วารสารสภาการพยาบาล*, 20(2), 1-12.
- สถาบันชาและกาแฟมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง. (2565). ประวัติของกาแฟ. <https://teacoffee.mfu.ac.th/tc-tea-coffeeknowledge/tc-coffee/tcoffeehistory.html>
- สิริชัย กิตติชาญธวัช. (2561). โรคนอนไม่หลับ (insomnia). <https://www.nonthavej.co.th/Insomnia-2.php>
- สร้อยสุดา มาลา. (2560). การศึกษาปริมาณคาเฟอีนในกาแฟอเมซอน จังหวัดเพชรบูรณ์ (ปริญญาณิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต). มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์.
- อินตัสหรี. (2558). ดอกกาแฟอาราบิก้า. https://industry.in.th/dip/knowledge_detail.php?id=3341&uid=40523
- Ácsová, A., Martiniaková, S., & Hojerová, J. (2019). Selected in vitro methods to determine antioxidant activity of hydrophilic/lipophilic substances, Slovak University of Technology in Bratislava, Faculty of Chemical and Food Technology. Institute of Food Science and Nutrition. Department of Food Technology. *Acta Chimica Slovaca*, 12(2), 200-211.
- Aditya, N. P., Aditya, S., Yang, H., Kim, H. W., & Ko, S. (2015). Co-delivery of hydrophobic curcumin and hydrophilic catechin by a water-in-oil-in-water double emulsion. *Food Chemistry*, 173, 7-13.

- Aisyah, S. D., & Ngibad, K. (2022). Determination of flavonoid content of ethanol and ethyl acetate extract from purple passion fruit peel. *Jurnal Pijar Mipa*, 17(5), 696–700.
- Belguidoum, K., Amira-Guebailia H., Boulmouk Y., & Houache O. (2014). HPLC coupled to UV–vis detection for quantitative determination of phenolic compounds and caffeine in different brands of coffee in the Algerian market. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 45(4), 1314–1320.
- Bobková A., Hudáček M., Jakabová S., Belej L., Capcarová M., Čurlej J., . . . Demianová, A., (2020). The effect of roasting on the total polyphenols and antioxidant activity of coffee. *J. Environ. Sci. Health*, 5(55), 495–500.
- Borrelli, R. C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Characterization of a new potential functional ingredient: Coffee silverskin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1338-1343.
- Buakrun, C., & Kumar, N. (2013). *Development and evaluation of anti-cellulite product containing coffea arabica L. extract loaded noisome* (Master's thesis). Mae Fah Luang University.
- Busch, L., Klein, A. L., Schwartz, J. R., Pearson, K., Richter, H., Schanzer, S., . . . Meinke, M. C. (2023). Follicular Delivery of Caffeine from a Shampoo for Hair Retention. *Cosmetics*, 10(4), 104.
- Campos-Vega, R., Loarca-Piña, G., Haydé, A., Vergara-Castañeda, B., & Oomah, D. (2015). Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects Author links open overlay panelRocio. *Trends in Food Science & Technology*, 45(1), 24-36.
- Chen, J., Liu, Y., Zhao, Z., & Qiu, J. (2021). Oxidative stress in the skin: Impact and related protection. *International Journal of Cosmetic Science*, 43(5), 495–509.
- Cizmarova, B., Hubkora, B., Tomeckova, V., & Birkova, A. (2023). Flavonoids as promising natural compounds in the prevention and treatment of selected skin diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(7), 6324.

- Działo, M., Meerziak, J., Korzun, U., Preisuer, M., Szopa, J., & Kulma, A. (2016). The potential of plant phenolics in prevention and therapy of skin disorders. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(2), 160.
- Christian, G.D, & Reilly, J.O.E. (1986). *Instrumental Analysis 2 Edition*. Allyn and Bacon, Inc.
- Gong, Y., Liu, X., He, W. H., Xu, H. G., Yuan, F, & Gao, Y. X. (2012). Investigation into the antioxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue. *Fitoterapia*, 83, 481-489.
- Hoffmann, J. (2016). *The world atlas of coffee*. Blu Sky Books.
- Jimena, B., Monental, C., Juaniz, I., & Depena, M. (2011). Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. *Food Research International*, 10, 1-7.
- Khacha-ananda, S., Tragoolpua, K., Chantawannakul, P., & Tragoolpua, Y. (2016). Propolis extracts from the northern region of Thailand suppress cancer cell growth through induction of apoptosis pathways. *Investigational New Drugs*, 34(6), 707-722.
- Kirk, R. S, & Sawyer, R. (1991). *Pearson's composition and analysis of foods* (9ed.). Longman Scientific & Technical.
- Król, K., Gantner, M., Tatarak A., & Hallmann, E. (2019). The effect of roasting, storage, origin on the bioactive compounds in organic and conventional coffee (*Coffea arabica*) *Eur. Food Res. Technol*, 4(246), 33–39.
- Makinde, E. A., Ovatlarnporn, C., Adekoya, A. E., Nwabor, O. F., & Olatunji, O. J. (2019). Antidiabetic, antioxidant and antimicrobial activity of the aerial part of *Tiliacora triandra*. *South African Journal of Botan*, 125, 337-343.
- Michael, V. (2020). Caffeine and Its pharmacological benefits in the management of Androgenetic alopecia: A review. *Skin Pharmacol Physiol*, 33(3), 153–169.

Money Buffalo. (2565). ทำไม “กาแฟ” ถึงกลายเป็นเครื่องดื่มยอดนิยมของโลกได้.

<https://www.moneybuffalo.in.th/history/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B9%81%E0%B8%9F%E0%B9%80%E0%B8%84%E0%B8%A3%E0%B8%B7%E0%B9%88%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%94%E0%B8%B7%E0%B9%88%E0%B8%A1%E0%B8%A2%E0%B8%AD%E0%B8%94%E0%B8%99%E0%B8%B4%E0%B8%A2%E0%B8%A1>

Ngibad, K., Yusmiati, S. N. H., Merlina, D. M., Rini, Y. P., Valenata, V., & Jannah, E. F. (2023).

Comparison of total flavonoid, phenolic levels, and antioxidant activity between robusta and arabica coffee, *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 9(3), 241-249

Napolitano, A., Fogliano, V., Tafuri, A., & Ritieni, A. (2007). Natural

occurrence of ochratoxin A and antioxidant activities of green and roasted coffees and corresponding byproducts. *Pubmed*, 55(25), 10499-504.

Pérez-Martínez, M., Caemmerer, B., de Peña, M. P., Cid, C., & Kroh, L. (2010). Influence of Brewing Method and Acidity Regulators on the Antioxidant Capacity of Coffee Brews. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(5), 2958-2965.

PPTV Online. (2564). รู้หรือไม่? เราสามารถเปลี่ยนขยะจากกากกาแฟให้เป็นไบโอดีเซลเติมรถยนต์ได้.

<https://www.pptvhd36.com/news/%E0%B9%84%E0%B8%A5%E0%B8%9F%E0%B9%8C%E0%B8%AA%E0%B9%84%E0%B8%95%E0%B8%A5%E0%B9%8C/154202>

Quettier-Deleu C., Gressier B., Vasseur J., Dine T., Brunet C., Luyckx M. C., . . . Trotin F. (2000).

Phenolic compounds and antioxidant activities of buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) hulls and flour. *J. Ethnopharmacol.* 72(1-2), 35– 42.

Ramalakshmi, K., Jagan Mohan Rao, L., Takano-Ishikawa, Y., Goto, M. (2009).

Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. *Food Chemistry*, 115(1), 79-85.

Thompson, R. D. (1995). *Official methods of analysis of AOAC international*. (29th ed., Vol. 2). AOAC International.

- Robards, K., Prenzler, P., Tucker, G., Swatsitang, P., & Glover, W. (1999). Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, 66(4), 401-436.
- Dick, R. H. (1995). *Official methods of analysis of AOAC International* (16th ed., Vol. 2, pp. 12–30). AOAC International.
- Safdar, M. N., Kausar, T., Jabbar, S., Mumtaz, A., & Saddozai, A. A. (2017). Extraction and quantification of polyphenols from kinnow (*Citrus reticulata* L.) peel using ultrasound and maceration techniques. *Journal of Food and Drug Analysis*, 25(3), 488-500.
- Šeremet, D., Fabčić, P., Vojvodić Cebin, A., Mandura Jarić, A., Pudić, R., & Komes, D. (2022). Antioxidant and Sensory Assessment of Innovative Coffee Blends of Reduced Caffeine Content. *Molecules*, 27(2), 448.
- Somnuk, K., Eawlex, P., & Prateepchaikul, G. (2017). Optimization of coffee oil extraction from spent coffee grounds using four solvents and prototype-scale extraction using circulation process. *Agriculture and Natural Resources*. 51(3), 181-189.
- Vignoli J. A., Viegas M. C., Bassoli D. G., & Benassi M. T. (2014). Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food. Research International*, 61, 279–285.
- Voice TV. (2015). ดื่มกาแฟเป็นประจำช่วยลดเส้นเลือดอุดตัน. <https://www.voicetv.co.th/read/174402>



ภาคผนวก ก

อุปกรณ์ที่ใช้สำหรับการทดลอง



ภาพที่ ก1 เครื่องบดมือ Ricco S1 Hand Grinder



ภาพที่ ก2 กระจด مخروطกาแฟ Hario V60 เบอร์ 02 ที่เตรียมไว้บน Hario V60 Ceramic Dripper
เบอร์ 02 และรองด้วยแก้ว

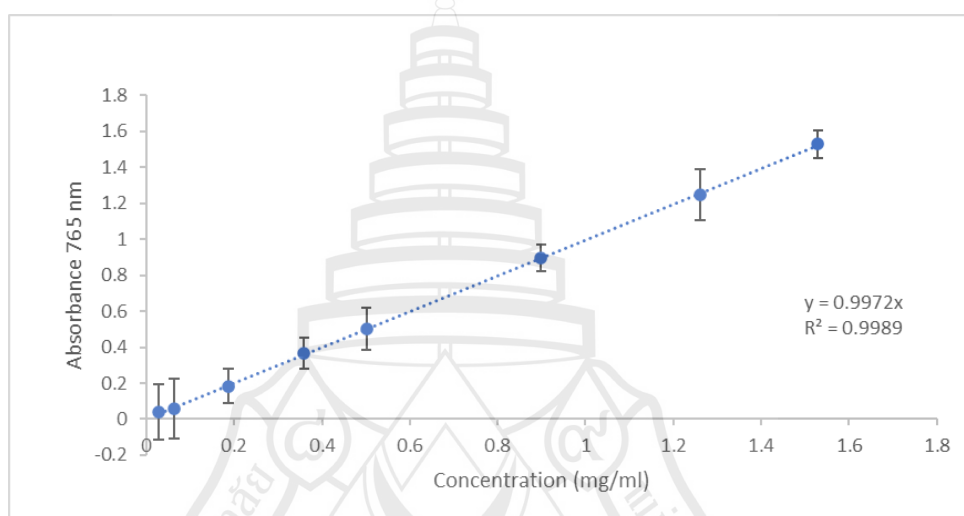


ภาพที่ ก3 ผงกาแฟที่สกัดด้วยน้ำปริมาณ 100 มิลลิลิตร น้ำที่อุณหภูมิ 97 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 นาที

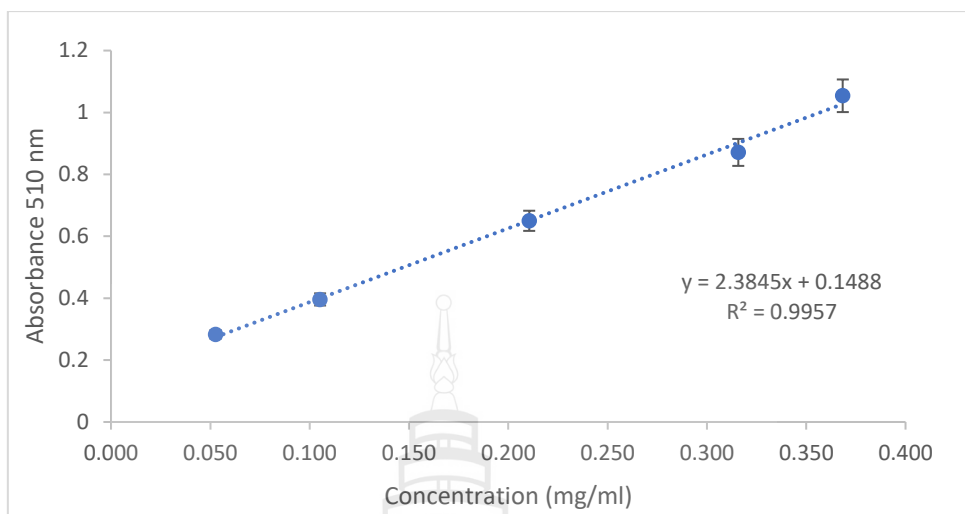


ภาคผนวก ข

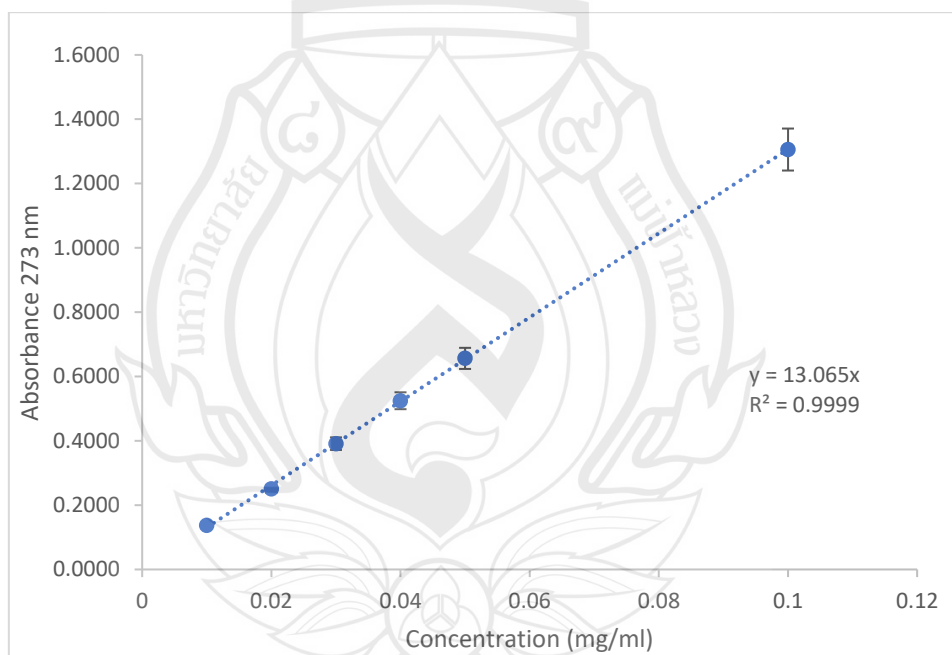
กราฟการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



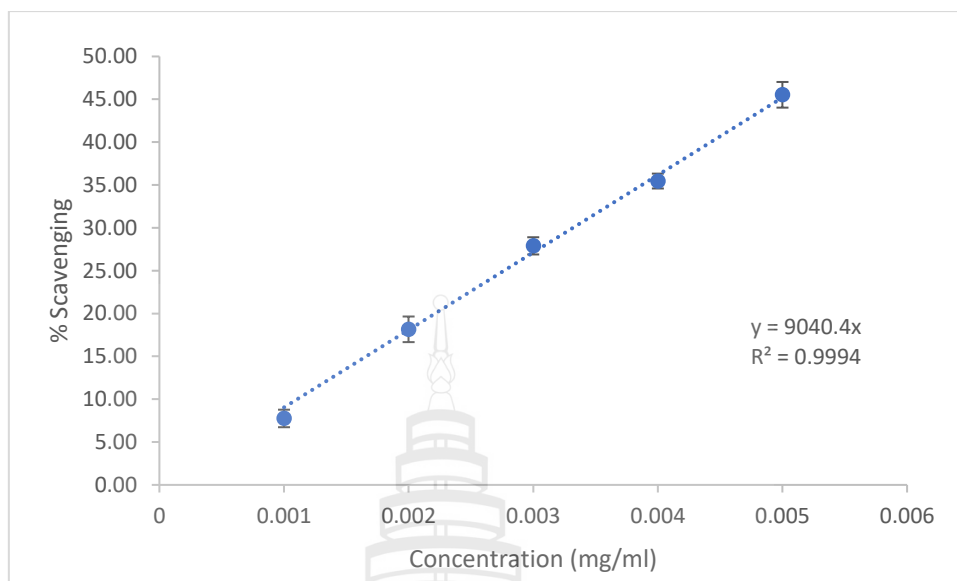
ภาพที่ ข1 มาตรฐานของ Gallic Acid



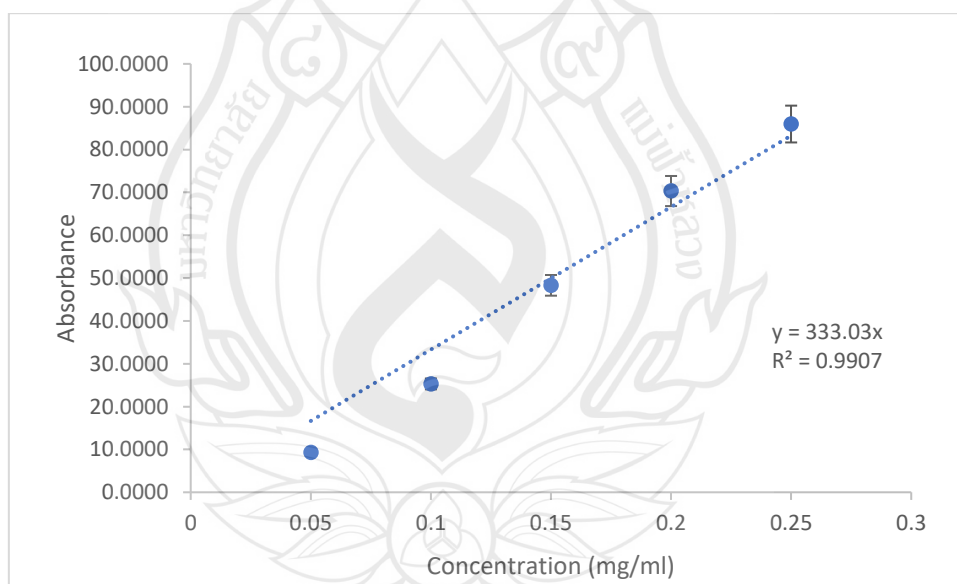
ภาพที่ ข2 มาตรฐานของ Quercetin



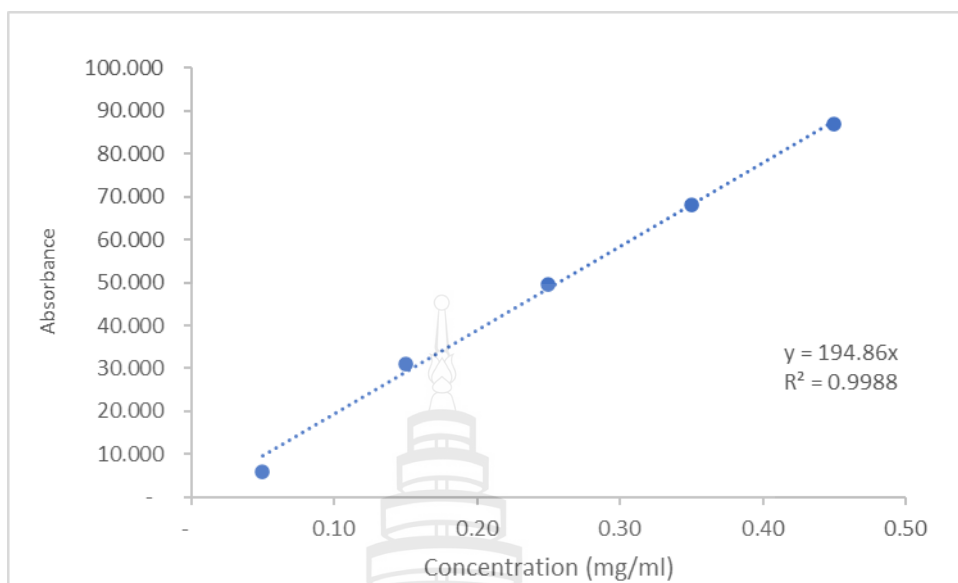
ภาพที่ ข3 มาตรฐานของคาเฟอีน



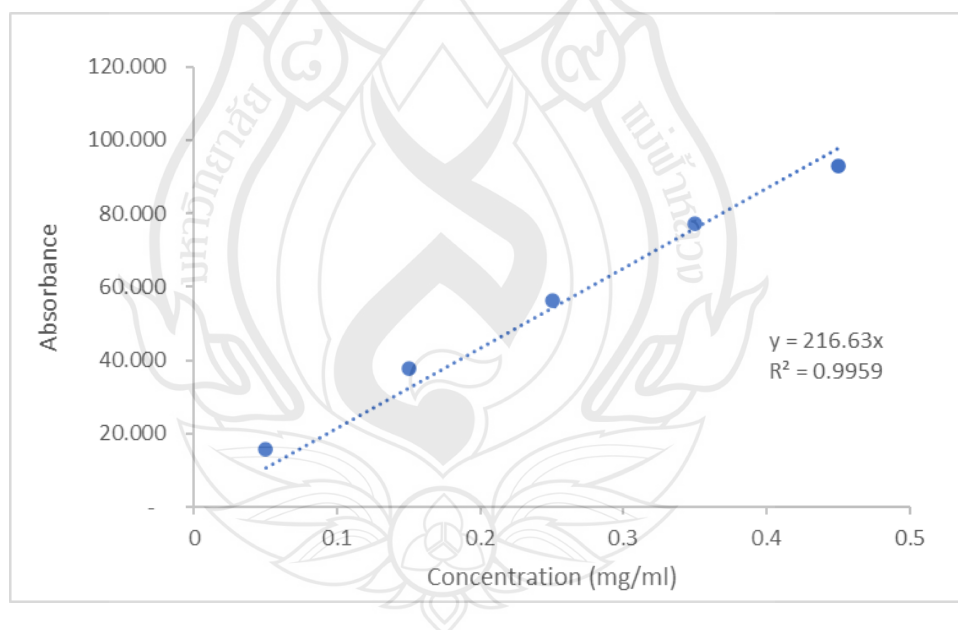
ภาพที่ ข4 ค่า SC_{50} ของสารมาตรฐาน Ascorbic acid โดยวิธี DPPH radical scavenging assay



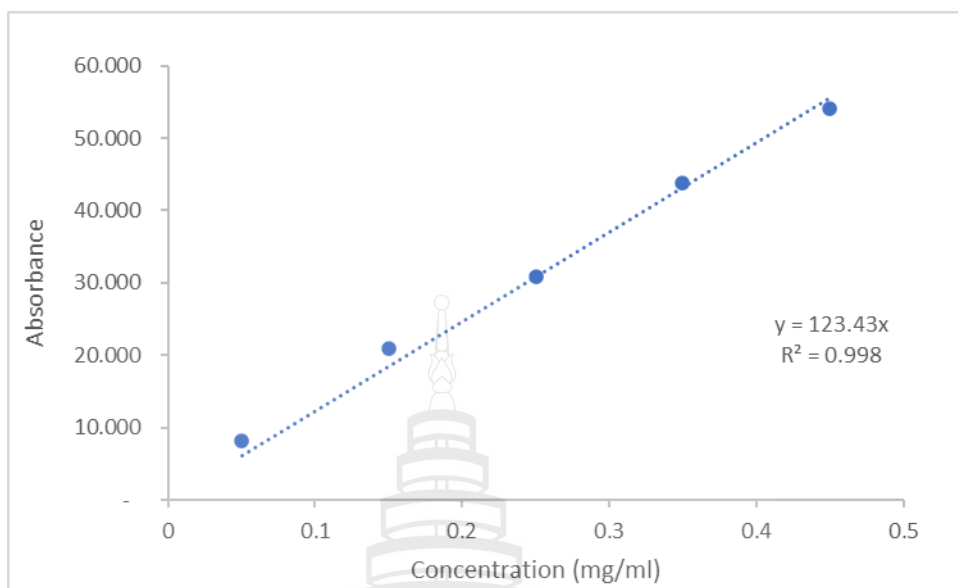
ภาพที่ ข5 ค่า SC_{50} ของสารมาตรฐาน Ascorbic acid โดยวิธี ABTS radical scavenging assay



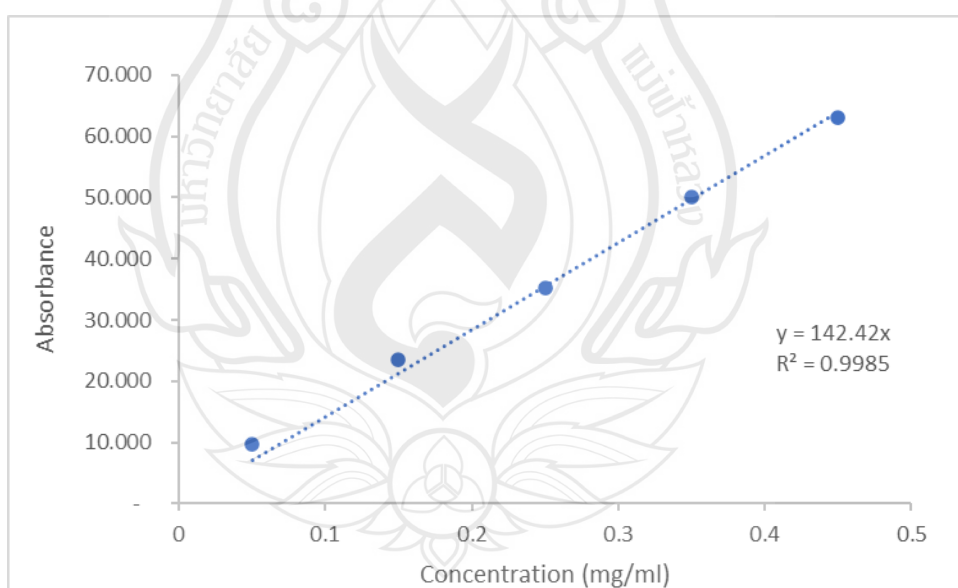
ภาพที่ ข6 กราฟของสารสกัดเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์อาราบิก้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล



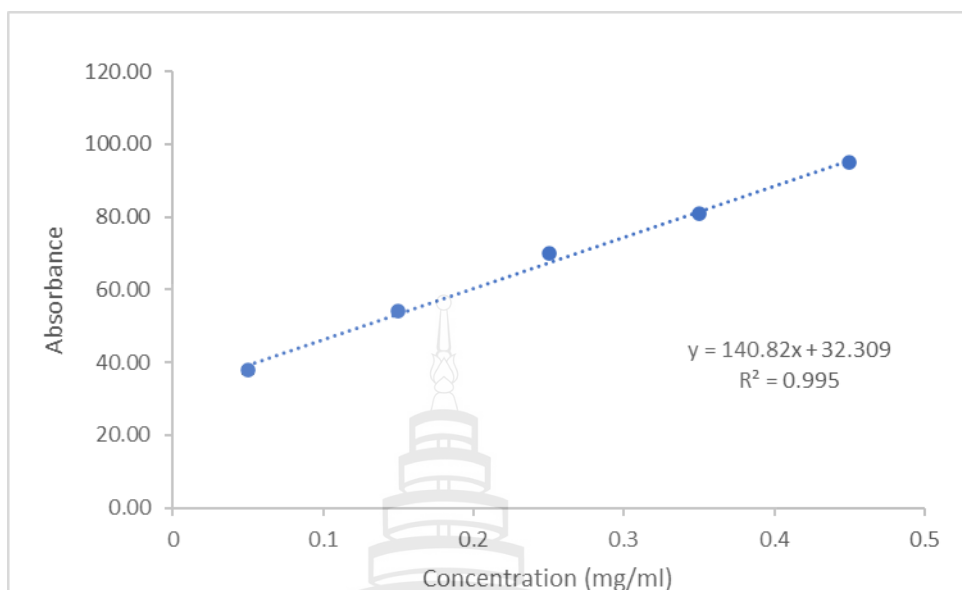
ภาพที่ ข7 กราฟของสารสกัดเมล็ดกาแฟคั่วสายพันธุ์โรบัสต้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล
อิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay



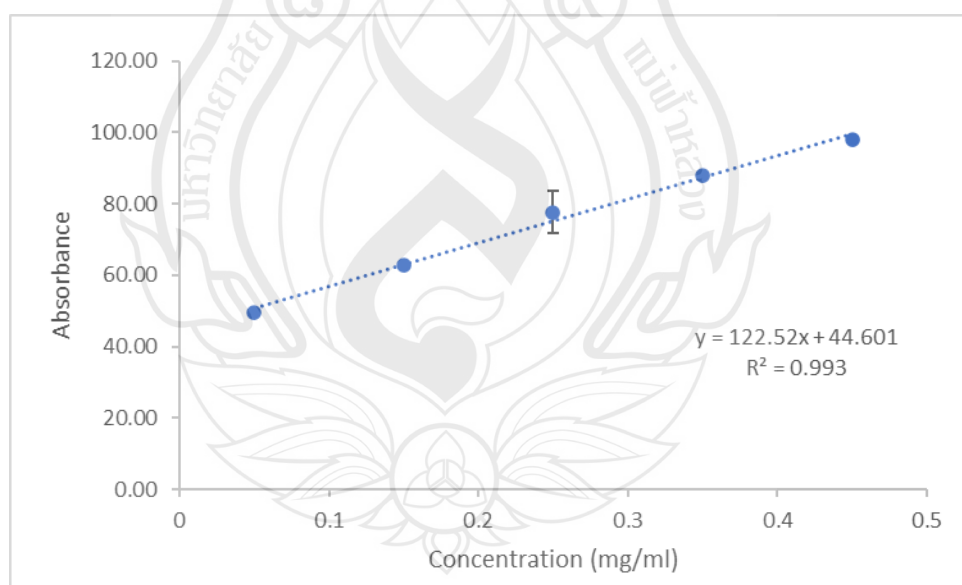
ภาพที่ ข8 กราฟของสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay



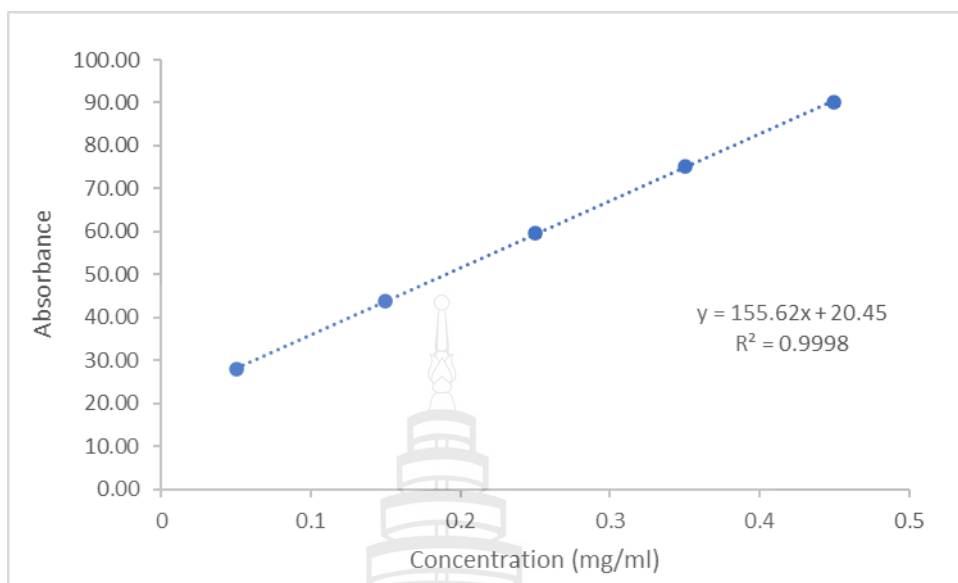
ภาพที่ ข9 กราฟของสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH Scavenging Assay



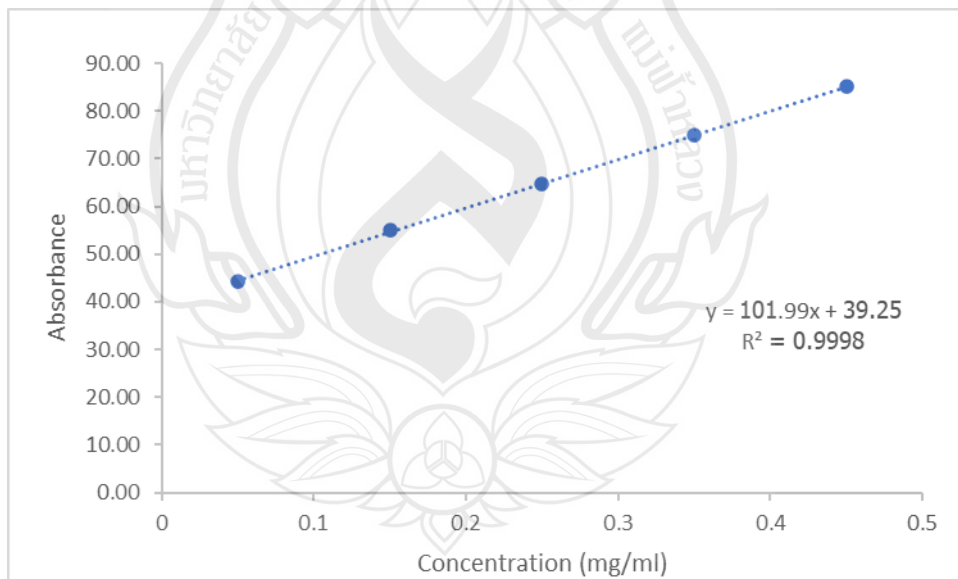
ภาพที่ ข10 กราฟของสารสกัดเมล็ดกาแฟควาสายพันธุ์อาราบิก้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Scavenging Assay



ภาพที่ ข11 กราฟของสารสกัดเมล็ดกาแฟควาสายพันธุ์โรบัสต้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS Scavenging Assay



ภาพที่ ข12 กราฟของสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS Scavenging Assay



ภาพที่ ข13 กราฟของสารสกัดกากกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS Scavenging Assay



ประวัติผู้เขียน

ชื่อ

ศวิตา จรวงษ์

ประวัติการศึกษา

2561

ปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต

เทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ประวัติการทำงาน

2565 – ปัจจุบัน

ผู้จัดการฝ่ายขาย

บริษัท เอ็มแวร์จ จำกัด

2563 - 2565

เจ้าหน้าที่บริหารงานลูกค้า

บริษัท เอสอาร์เอส อินทีเกรชั่น จำกัด

2561 – 2563

ผู้ช่วยแพทย์ดูแลลูกค้าหลังศัลยกรรม

โรงพยาบาลเลอลักษณ์