สมการคณิตศาสตร์การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เสาวลักษณ์ คงสมโอษฐ์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

สมการคณิตศาสตร์การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เสาวลักษณ์ คงสมโอษฐ์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kinetics study of solid-liquid extraction of antioxidant from coffee silverskin

SAOWALUK KONGSOM-AOT

A REPORT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT

FOR THE DEGREE OF BACHELOR IN CHEMICAL ENGINEERING

FACULTY OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2018

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	สมการคณิตศาสตร์การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
โดย	นางสาวเสาวลักษณ์ คงสมโอษฐ์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์
	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

.....กรรมการ
(ผศ.ดร.ญาณีพร พัชรวรโชติ)

.....กรรมการ
(ผศ.ศิริพันธ์ มุรธาธัญลักษณ์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	สมการคณิตศาสตร์การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
นักศึกษา	นางสาวเสาวลักษณ์ คงสมโอษฐ์
รหัสนักศึกษา	58011381
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์

บทคัดย่อ

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นของเสียที่ได้จากกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ จากการศึกษาพบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีสารต้านอนุมูลอิสระ งานวิจัยนี้จึงศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ซึ่งตัวแปรที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ขนาดของวัตถุดิบ ชนิดของตัวทำละลาย และสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย โดยนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu รวมทั้งศึกษาความสัมพันธ์ของรูปแบบสมการคณิตศาสตร์ ได้แก่ สมการพีเล็ต (Peleg's model) สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model) โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 40 60 และ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 5 10 15 30 60 และ 90 นาที จากผลการศึกษาพบว่าภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลคือ ขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 250-425 ไมโครเมตร ชนิดของตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร ได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 0.0327 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 7.682 mg GAE/gCS และรูปแบบสมการที่สามารถทำนายแนวโน้มได้อย่างแม่นยำที่สุดคือสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model) มีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (R^2) อยู่ในช่วง 0.991-0.999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Report Title	Kinetics study of solid-liquid extraction of antioxidant from coffee silverskin
By	Miss SAOWALUK KONGSOM-AOT
Student ID	58011381
Degree	Bachelor of Engineering
Programme	Chemical Engineering
Year	2018
Report Advisor	Asst.Prof.Dr.Tanawan Pinnarat

Abstract

Coffee silverskin is a waste from coffee roasting process. It is a good source of antioxidant materials. Therefore, this research aimed to determine the optimum condition of phenolic compound extraction from coffee silverskin. The effect of important parameters, which are particle size, solvent type, and solid to solvent ratio, were studied. The samples were analyzed using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay and Folin-Ciocalteu method. Moreover, mathematical models (Peleg's model, second-order rate law, two – site kinetic model) were studied. The optimum condition to obtained high antioxidant activity and high phenolic compound was by using coffee silverskin size of 250-425 micrometer, ethanol to water volume ratio of 75 to 25 and solvent to solid ratio of 50 mL/g. At this condition, the extract have IC_{50} of 0.0327 and phenolic content of 7.682 mg GAE/gCS the two – site kinetic model showed a good agreement with the experimental result.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และช่วยแก้ไขปัญหาตลอดการดำเนินงานซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้

ขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจปริญญานิพนธ์ ผศ.ดร.ญาณีพร พัชรวรโชติ และ ผศ.ศิริพันธ์ มุรธาธัญลักษณ์ ที่ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ในการดำเนินงาน

ขอขอบคุณ รศ.ดร.จำรูญ เล้าสินวัฒนา อาจารย์ประจำคณะเทคโนโลยีการเกษตร สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้ห้องปฏิบัติการในการวิเคราะห์ผล

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.ธงชัย พุฒทองศิริ รองคณบดี และ น.ส.กัลยลักษณ์ ภู่รื่น นักศึกษาปริญญาโท คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้สารเคมีมาตรฐานสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลและให้คำแนะนำสำหรับขั้นตอนวิธีการวิเคราะห์

ขอขอบคุณ น.ส.ภัทริน วิจิตรตระการ นักศึกษาปริญญาเอก คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้คำแนะนำสำหรับขั้นตอนวิธีการทดลองการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอล

ขอขอบคุณ Nguyen Huy Thinh นักศึกษาปริญญาโท คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ดูแลช่วยเหลือ ให้คำแนะนำการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

ขอขอบคุณบริษัท เขาช่องอุตสาหกรรม 1997 จำกัด ที่มอบเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าสำหรับใช้ในการทดลองในปริญญานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณ คุณพิมใจ ภูชนะกิจ เจ้าหน้าที่บริหารงานทั่วไปของภาควิชาวิศวกรรมเคมี ที่อำนวยความสะดวกด้านเอกสารเพื่อขอความอนุเคราะห์เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจากบริษัทเขาช่องอุตสาหกรรม และการใช้เครื่องมือในการดำเนินงานปริญญานิพนธ์

ขอขอบคุณ คุณพิสันต์ ผลโพธิ์ เจ้าหน้าที่วิจัยของภาควิศวกรรมเคมี ที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำวิธีการใช้อุปกรณ์อีกทั้งยังแก้ไขปัญหาอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมเคมี

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมอาจารย์ที่ปรึกษาและเพื่อนภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกคนที่ให้กำลังใจและช่วยเหลือทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณครอบครัว ญาติพี่น้องทุกคนที่คอยอบรมสั่งสอน สนับสนุนการศึกษาให้กำลังใจ รวมถึงผู้เกี่ยวข้องที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ในที่นี้ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เสาวลักษณ์ คงสมโอษฐ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ I

Abstract II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VII

สารบัญรูปภาพ IX

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์ 2

1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 3

2.2 การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย 3

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 5

2.3.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย 5

2.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณวัตถุดิบ 5

2.3.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ 6

2.3.4 อิทธิพลของชนิดวัตถุดิบ 6

2.4 อนุมูลอิสระ (free radical) 7

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant) 7

2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ 8

2.6.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay 8

2.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วย วิธี Folin-Ciocalteu method 8

2.7 สมการทางจลนพลศาสตร์ของการสกัด 8

2.7.1 สมการพีเล็ต (Peleg's model) 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

2.7.2 รูปแบบปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) 9

2.7.3 รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model) 11

บทที่ 3 การดำเนินงาน 12

3.1 การเตรียมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 12

3.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีการสกัดแบบตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน 12

3.3 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 14

3.3.1 การตรวจปริมาณสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 14

3.3.2 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอล 15

บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน และวิเคราะห์ผล 17

4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 17

4.1.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 17

4.1.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย 18

4.1.3 อิทธิพลของสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 20

4.2 ความสัมพันธ์กับรูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์ 21

4.2.1 สมการพีเล็ต (Peleg's model) 21

4.2.2 สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) 23

4.2.3 สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model) 24

บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ 26

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน 26

5.2 ข้อเสนอแนะ 26

เอกสารอ้างอิง 27

ภาคผนวก ก การคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัด 30

ก.1 การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 30

ก.2 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอล 33

ภาคผนวก ข ข้อมูลผลการทดลอง 35

ข.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

ข.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย 37
ข.3 อิทธิพลของสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 สรุปข้อดีข้อเสียของวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย..... 4

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ..... 14

ตารางที่ 4.1 ค่าคงที่ของพีเล็ต (K1 และ K2) ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (correlation coefficient,R^2) และรากที่สองของค่าเฉลี่ยยกกำลังสอง (root mean squared deviation,RMSD) ของการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย..... 22

ตารางที่ 4.2 ตัวแปรสำหรับสมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law)..... 23

ตารางที่ 4.3 ค่าตัวแปรในสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model)..... 25

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างและสารควบคุมที่ได้จากการขั้นตอนการ ทดลองหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ..... 31

ตารางที่ ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ทำการเจือจางความเข้มข้นจาก 2% เป็น 1% และสารควบคุมที่ได้จากการขั้นตอนการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอล..... 34

ตารางที่ ข.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 และ600-850 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที.. 35

ตารางที่ ข.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60นาที..... 37

ตารางที่ ข.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบ การปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที..... 42

ตารางที่ ข.4 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที.....43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางที่ ข.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลาย เอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 โครงสร้างลักษณะเมล็ดกาแฟ..... 3

รูปที่ 4.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวน ชนิดแม่เหล็ก 600 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 17

รูปที่ 4.2 อิทธิพลของตัวทำละลายต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวนแม่เหล็ก 600 รอบต่อวินาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ก) ค่า Antioxidant Activity แสดงโดยค่า IC_{50} ข) ค่าสารประกอบฟีนอลรวม..... 19

รูปที่ 4.3 อิทธิพลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก 600 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ก) ค่า Antioxidant Activity แสดงโดยค่า IC_{50} ข) ค่าสารประกอบฟีนอรวม..... 20

รูปที่ 4.4 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ 80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ต (Peleg's model) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร(g/mL)..... 21

รูปที่ 4.5 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตรสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมมิลลิลิตร (g/mL)..... 23

รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่าความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ และ $\frac{1}{T}$ 24

รูปที่ 4.7 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) 24

รูปที่ ก.1 กราฟสำหรับหาค่า IC_{50}..... 32

รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานวัดปริมาณสารประกอบฟีนอล..... 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์

ปัจจุบันกาแฟมีมูลค่าการซื้อขายสูงเป็นอันดับ 2 ของโลกรองจากปิโตรเลียม [1] โดยผู้ผลิตและส่งออกกาแฟสูงสุด 5 อันดับแรกของโลกได้แก่ ประเทศบราซิล ประเทศเวียดนาม ประเทศโคลัมเบีย ประเทศอินโดนีเซีย และประเทศเอธิโอเปีย [2] ซึ่งประเทศไทยมีอัตราการส่งออกกาแฟในปี พ.ศ. 2561 เพิ่มขึ้นร้อยละ 21.7 คิดเป็นมูลค่า 118 ล้านบาท [3] และมีผู้บริโภคกาแฟโดยเฉลี่ยมากเป็นอันดับที่ 41 ของโลกจากการจัดอันดับของสมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย ซึ่งในปัจจุบันรัฐบาลไทยได้สนับสนุนธุรกิจกาแฟให้ประเทศไทยเป็นศูนย์กลางการค้ากาแฟในอาเซียนในโครงการยุทธศาสตร์กาแฟปี 2560-2564 ทำให้ในอนาคตมีแนวโน้มการบริโภคกาแฟเพิ่มขึ้นและของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตกาแฟซึ่งก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมจึงเพิ่มขึ้นด้วย [4]

ในกระบวนการผลิตกาแฟนั้นจะเกิดของเสียคือ กากกาแฟที่ได้หลังจากกระบวนการผลิตและเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ได้ในขั้นตอนการคั่วเมล็ดกาแฟ ในแต่ละปีของเสียเหล่านี้จะเกิดขึ้นประมาณปีละ 1 ล้านตัน [1] ซึ่งโดยทั่วไปจะนำไปทำอาหารสัตว์ ปุ๋ย เชื้อเพลิงการเผาไหม้แต่หากเผาไหม้ไม่สมบูรณ์ก็จะก่อให้เกิดมลพิษทางอากาศ [5] ซึ่งถ้าสามารถนำของเสียจากกระบวนการเหล่านี้มาทำให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่นอกจากจะเป็นการกำจัดของเสียแล้วยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของเสียอีกด้วย จากการศึกษาพบว่าในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีสารต้านอนุมูลอิสระคือ สารประกอบฟีนอล ซึ่งมีกรดคลอโรจินิคเป็นองค์ประกอบหลัก [5] และสารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่เป็นปัจจัยก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดแดงแข็งตัว โรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัว โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคซึมเศร้า เป็นต้น [6] ดังนั้นหากสามารถสกัดสารเหล่านี้ได้จะเป็นประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิต เช่น การทำเครื่องดื่มควบคุมน้ำหนัก ยารักษาโรค เครื่องสำอาง เป็นต้น

การสกัดสารมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่สกัด คุณสมบัติของสารในการทนความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ วิธีที่ใช้ในการสกัดสาร เช่น การสกัดด้วยตัวทำละลายแบบช็อกเล็ต การสกัดด้วยการใช้เครื่องเขย่า การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค เป็นต้น

ในปริญญานิพนธ์นี้ศึกษาการสกัดสารด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวก ประหยัดค่าใช้จ่ายไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลจากวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยมีปัจจัย ได้แก่ ขนาดของสารตั้งต้น ชนิดตัวทำละลาย สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย อุณหภูมิ เวลา และนำข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์กับรูปแบบสมการคณิตศาสตร์เพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัดเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาและสามารถนำไปใช้ในการออกแบบกระบวนการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์

1. เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์รูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ทำนายค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด

1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์

1. ศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดสารมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
   1.1. ขนาดของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (250-425, 600-850 ไมโครเมตร)
   1.2. ชนิดของตัวทำละลาย (น้ำ เอทานอล และ เอทานอลผสมน้ำ 25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร)
   1.3. สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร)
   1.4. อุณหภูมิในการสกัด (40 60 และ 80 องศาเซลเซียส)
   1.5. ระยะเวลาในการสกัด (5 10 15 30 60 และ 90 นาที)
2. ศึกษาสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ทำนายค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด
   2.1. สมการพีเล็ต (Peleg's model)
   2.2. สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law)
   2.3. สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซต์ (two –site kinetic model)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee silverskin, CS) มีลักษณะเป็นแผ่นบาง มีสีน้ำตาลอ่อนถึงเข้ม ขึ้นอยู่กับระดับอุณหภูมิที่ใช้คั่วเมล็ดกาแฟซึ่งในการคั่วเมล็ดกาแฟจะใช้อุณหภูมิประมาณ 200-300 องศาเซลเซียส [5] จากงานวิจัยของ J.Agric [5] พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีองค์ประกอบของเส้นใยอาหารร้อยละ 60 ซึ่งแบ่งเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ร้อยละ 14 ของเส้นใยอาหารทั้งหมด หรือคิดเป็นร้อยละ 8.8 ของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟและเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำไม่ได้ร้อยละ 76 ของเส้นใยอาหารทั้งหมดหรือคิดเป็นร้อยละ 53.7 ของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอล โพลีฟีนอล เมลานอยดิน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและจากงานวิจัยอื่นก็พบสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดตามตารางที่ 2.1จากงานวิจัยของ Y.Narita และคณะ [7] รายงานโครงสร้างลักษณะเมล็ดกาแฟโดยเรียงจากชั้นนอกสุดคือ ผนังชั้นนอก (Epicarp) เนื้อผลกาแฟ (Pulp) ผนังชั้นใน (Endocarp) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Silverskin) และเมล็ดกาแฟ (Green coffee bean) เป็นชั้นในสุดแสดงดังรูปที่ 2.1

รูปที่ 2.1 โครงสร้างลักษณะเมล็ดกาแฟ [7]

2.2 การสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารด้วยตัวทำละลายมีหลายวิธี ได้แก่ การสกัดด้วยเครื่องเขย่าหรือการสกัดในภาชนะปั่นกวน การสกัดด้วยซ็อกเล็ต การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค เป็นต้น ซึ่งข้อดีและข้อเสียของแต่ละวิธีสรุปได้ดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 สรุปข้อดีข้อเสียของวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

วิธีการสกัด	ข้อดี	ข้อเสีย	อ้างอิง
การสกัดด้วยเครื่องเขย่าหรือการสกัดในภาชนะปั่นกวน	- ใช้งานง่าย	- ตัวถูกละลายที่นำมาต้องมีเนื้อเยื่อหรือลักษณะโครงสร้างที่ไม่แข็งแรงมาก - สารสกัดที่ได้มีสารตั้งต้นปนอยู่จึงต้องทำการแยกออก	[8]
การสกัดด้วยซ็อกเล็ต	- ใช้งานง่าย - หลังสกัดเสร็จตัวทำละลายและตัวถูกละลายไม่ผสมกันไม่ต้องทำการกรอง	- ใช้เวลาในการสกัดนานเพราะตัวถูกละลาย ละลายในตัวทำละลายได้น้อยจึงต้องสกัดอย่างต่อเนื่อง - ไม่เหมาะสำหรับใช้ตัวทำละลายผสม - สารที่นำมาสกัดต้องทนความร้อน - ติดตั้งอุปกรณ์ซับซ้อน	[9]
การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด	- สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์สูงเนื่องจากสามารถแยกตัวทำละลายด้วยการระเหยจากการการเพิ่มความดัน - สกัดสารออกมาได้ดีเนื่องจากของไหลวิกฤตมีสัมประสิทธิ์การแพร่สูงสามารถแพร่เข้าไปในตัวถูกละลายได้ดี	- ต้องทำภายใต้ความดันสูงดังนั้นในการดำเนินการต้องระมัดระวังอย่างมาก - ค่าใช้จ่ายในด้านอุปกรณ์มีราคาแพงและการติดตั้งซับซ้อน	[10]
การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค	- ใช้เวลาในการสกัดน้อย - ใช้ตัวทำละลายในการสกัดน้อย - ลดการใช้พลังงานเนื่องจากสามารถทำที่อุณหภูมิห้องได้	- สารสกัดที่ได้มีตัวทำละลายและตัวถูกละลายผสมอยู่ดังนั้นจึงต้องทำการแยกโดยการกรอง	[11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย

A.Costa และคณะ [8] ศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ส่งผลต่อปริมาณสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยตัวทำละลายที่ศึกษา ได้แก่ น้ำบริสุทธิ์ เอทานอลบริสุทธิ์ เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25) โดยปริมาตร ที่ภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 90 นาที จำนวนรอบแม่เหล็กกวนสารคือ 600 รอบต่อนาที ซึ่งวิธีที่ใช้ในการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลและปริมาณสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระคือวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

จากผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอล 50:50 โดยปริมาตรส่งผลให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ 310 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร (mg GAE/L) หรือเท่ากับ 15.5 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg GAE/gCS) ในขณะเดียวกันการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลเป็นลำดับรองลงมาและตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลน้อยที่สุด ซึ่งเกี่ยวข้องกับความมีขั้วในองค์ประกอบของสารที่ทำการสกัด

ส่วนตัวทำละลายที่ทำให้ได้ปริมาณสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) มากที่สุดคือ น้ำผสมเอทานอล 25:75 โดยปริมาตรมีค่า 416 มิลลิกรัมโทรล็อคต่อลิตร (mg TE/L) หรือเท่ากับ 20.8 มิลลิกรัมโทรล็อคต่อกรัมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg TE/gCS) จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มที่ไม่ตรงกัน เนื่องจากในสารตั้งต้นเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟอาจมีสารประกอบอื่นนอกจากสารประกอบฟีนอลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรวมอยู่ด้วย

L.Ballesteros และคณะ [12] ศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ซึ่งตัวทำละลายที่ศึกษา ได้แก่ น้ำ อะซิโตน เอทานอล และเมทานอล โดยสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย คือ 1 กรัมต่อ 20 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการสกัด 30 นาที จากผลการทดลองพบว่าตัวทำละลายดังกล่าวให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 9.21 9.83 10.01 และ9.92 ไมโครโมลโทรล็อคต่อกรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (µmol TE/g CS) ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมาก เนื่องจากเป็นตัวทำลายที่มีขั้วและมีความหนืดที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งในการเลือกตัวทำละลายควรเลือกเอทานอลเนื่องจากมีความเป็นพิษน้อยกว่าเมทานอล

2.3.2 อิทธิพลของอัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณวัตถุดิบ

H.Rajha และคณะ [13] ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลจากอัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณกากองุ่นตั้งแต่ 2.31-8.69 มิลลิลิตรต่อกรัม (mL/g) ที่ภาวะอุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการสกัด 24 ชั่วโมง ตัวทำละลายเอทานอล:น้ำ 70:30 จากผลการทดลองพบว่าที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนปริมาณตัวทำละลายต่อปริมาณวัตถุดิบ 3 มิลลิลิตรต่อกรัม (mL/g) จะทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ 0.966 กรัมกรดแกลลิคต่อ 100 กรัม (g GAE/100g) หรือเท่ากับ 0.0096 กรัมกรดแกลลิคต่อกรัม (g GAE/g) เนื่องจากขนาดอนุภาคเล็กมีพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวถูกละลายและตัวทำละลายมากทำให้การถ่ายโอนมวลสารระหว่างของแข็งและของเหลวเกิดขึ้นได้ดี

2.3.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ

A.Costa และคณะ [8] ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิจากการสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยทำการทดลองที่อุณหภูมิ 25 30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส โดยปริมาณสารสกัดที่ได้เพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิแต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิมากเกินไปสารสกัดที่ได้จะลดลง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระบางตัวไม่ทนความร้อน ใช้ตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอล 50:50 โดยปริมาตร จากผลการทดลองพบว่าที่ภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 90 นาที ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ 302.5 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร (mg GAE/L) หรือเท่ากับ 15.13 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg GAE/gCS) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับที่ภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

P.Tangguh และ S.Kusumocahyo [14] ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ โดยใช้วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องปั่นกวน 350 รอบต่อวินาที ระยะเวลาในการสกัดสาร ได้แก่ 5 10 20 30 40 และ 60 นาที ซึ่งวิธีที่ใช้ในการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระคือ Folin-Ciocalteu method และวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ตามลำดับจากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นแต่หากอุณหภูมิในการสกัดสูงมากอาจทำให้สารประกอบฟีนอลสลายตัว ซึ่งภาวะที่ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัดสาร 40 นาที มีค่าเท่ากับ 643 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร (mg GAE/L)

2.3.4 อิทธิพลของชนิดวัตถุดิบ

S.Tan และคณะ [15] ศึกษาอิทธิพลของสายพันธุ์เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลและร้อยละการต้านอนุมูลอิสระที่ภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ใช้ตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอลอัตราส่วน 1:1 โดยทำการเปรียบเทียบระหว่างเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธุ์อะราบิก้าและสายพันธุ์โรบัสต้าจากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์โรบัสต้าและสายพันธุ์อะราบิก้าให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 816.76 473.51 มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร (mg GAE/L) หรือเท่ากับ 40.84 23.68 มิลลิกรัมกรัมกรดแกลลิคต่อกรัม (mg GAE/g) ตามลำดับ

ส่วนค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสายพันธุ์โรบัสต้าและอะราบิก้ามีค่าเท่ากับ 54.8 26.3 ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลและร้อยละการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสายพันธุ์อะราบิก้าประมาณ 2 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 อนุมูลอิสระ (free radical)

อนุมูลอิสระ หมายถึงสารที่ไม่เสถียรเกิดจากการมีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุล ซึ่งไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลที่อยู่รอบข้างเพื่อทำให้กลับมาเสถียรส่งผลให้โมเลกุลที่อยู่รอบข้างสูญเสียอิเล็กตรอนกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่และอนุมูลอิสระตัวใหม่นี้ก็จะทำปฏิกิริยากับโมเลกุลตัวถัดไปเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ แหล่งของการเกิดอนุมูลอิสระพบทั้งภายในร่างกายได้แก่ กระบวนการเผาผลาญพลังงานที่ใช้ออกซิเจน กระบวนการฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) กระบวนการสร้างพลังงาน การหายใจระดับเซลล์ [16] ส่วนภายนอกร่างกายหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ ควันบุหรี่ ควันรถ รังสียูวีจากแสงแดด รังสีเอกซ์เรย์ โอโซน สารเคมีในโรงงานอุตสาหกรรม [17] เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระจึงมีความสำคัญเนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุของการทำให้ส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ถูกทำลายทำให้เกิดโรคหลายอย่าง เช่น ต้อกระจก โรคระบบประสาท ความผิดปกติของสมอง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือด และโรคมะเร็ง [17]

2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ(Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความเสถียรสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและยุติปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค แหล่งที่พบสารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่ร่างกายสร้างได้และที่สร้างไม่ได้โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างได้ ได้แก่ กลูต้าไธโอน ยูบิควินอล กรดยูริค เป็นต้น [17] ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างไม่ได้แต่สามารถทดแทนได้จากการรับประทานมักพบในผัก ผลไม้ ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน

อุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และยามักใช้สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารที่มีไขมันเพื่อป้องกันการเหม็นหืน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่นิยมใช้คือ บิวทิเลตไฮดรอกซีโทลูอีน butylated hydroxytoluene (BHT) และบิวลิเลตไฮดรอกซีแอนิโซ butylated hydroxyanisole (BHA) ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอล แต่เนื่องจากปัจจุบันมีการคำนึงถึงความปลอดภัยของสารที่นำมาบริโภคและเพื่อลดต้นทุนการผลิต ดังนั้นจึงมีการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

2.6.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay

การเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเทียบกับสารละลายมาตรฐาน ได้แก่ โทรล็อค กรดแกลลิค วิตามินซี เป็นต้น สารละลายดีพีพีเอชเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรมีสีม่วง ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระโดยรับอะตอมของไฮโดรเจนจากสารต้านอนุมูลอิสระทำให้สีของสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง [18] และดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร สามารถทำการคำนวณค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (% Antioxidant Activity) และคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ปริมาณ DPPH ลดลงร้อยละ50 (IC_{50}) จากการสร้างกราฟระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารที่สกัด

2.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วย วิธี Folin-Ciocalteu method

ในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลจากสารสกัดโดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายสีเหลืองมี phosphotungstic acid และ phosphomolybdic acid เป็นองค์ประกอบ ซึ่งเมื่อสารต้านอนุมูลอิสระทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนจะทำให้เกิดสารเชิงซ้อน Phosphotungstic-Phosphomolybdic ทำให้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร [19] รายงานค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อกรัมสารตั้งต้น (mg GAE/g dry sample)

2.7 สมการทางจลนพลศาสตร์ของการสกัด

การศึกษาความแตกต่างของรูปแบบสมการคณิตศาสตร์เพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด ซึ่งรูปแบบที่ทำการศึกษาได้แก่ สมการพีเล็ต (Peleg's model) สมการอัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two-site kinetic model) ซึ่งเป็นสมการที่เกี่ยวข้องกับการแพร่กระจายของสารที่ความเข้มข้นต่างกันตามกฎ Fick's law โดยอะตอมของสารมีการสั่นสะเทือนและเกิดการแพร่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นของสารมากไปน้อย

2.7.1 สมการพีเล็ต (Peleg's model)

งานวิจัยของ B.Kojic และคณะ [20] ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลจากเมล็ดองุ่นโดยใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ตในการทำนายแนวโน้มหาปริมาณสารประกอบฟีนอลที่เวลาต่างๆ ซึ่งแนวโน้มของการดูดซับและการสกัดมีลักษณะที่เหมือนกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาสมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ตดังสมการที่ (2.1) เพื่อใช้ทำนายแนวโน้มของการสกัสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C(t) = C_0 + \frac{t}{K_1 + K_2 \times t} \quad (2.1)$$

โดย

$C(t)$ คือ ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล ณ เวลา t (มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารตัวอย่างแห้ง,mg GAE/g_{db})

t คือ เวลาที่ใช้ในการสกัด (นาที)

C_0 คือ ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล ณ เวลา t =0 (มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อกรัมสารตัวอย่างแห้ง,mg GAE/g_{db})

K_1 คือ ค่าคงที่อัตราของพีเล็ต (min g_{db}/mg GAE)

K_2 คือ ค่าคงที่ความจุจำเพาะของพีเล็ต (g_{db}/mg GAE)

เมื่อ C_0 มีค่าเท่ากับ 0 จะเขียนสมการ (2.1) ได้ดัง (2.2)

$$C(t) = \frac{t}{K_1 + K_2 \times t} \quad (2.2)$$

ค่าคงที่อัตราของพีเล็ต K_1 มีความสัมพันธ์กับอัตราการสกัด B_0 ณ เวลา $t = t_0$ ตามสมการความสัมพันธ์สมการที่ (2.3)

$$B_0 = \frac{1}{K_1} (\text{mg GAE}/g_{dbg}\text{min}) \quad (2.3)$$

ค่าคงที่ความจุจำเพาะของพีเล็ต K_2 มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นที่จุดสมดุล C_e เมื่อเวลา $t \to \infty$ ตามสมการความสัมพันธ์ดังสมการที่ (2.4)

$$C|_{t\to\infty} = C_e = \frac{1}{K_2} (\text{mg GAE}/g_{db}) \quad (2.4)$$

2.7.2 รูปแบบปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law)

L.Lazar และคณะ [20] ศึกษาจลนพลศาสตร์การสกัดสารประกอบฟีนอลจากเปลือกต้นสน โดยใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบปฏิกิริยาอันดับสอง ซึ่งพบว่าเป็นรูปแบบที่เหมาะสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอล มีรูปแบบดังสมการที่ (2.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\frac{dc_t}{dt} = k(C_s - C_t)^2 \qquad (2.5)$$

โดย

k	คือ	ค่าคงที่อันดับ 2 ของอัตราการสกัด (ลิตรต่อกรัมต่อนาที)
C_s	คือ	ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล ณ จุดสมดุล (มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร)
C_t	คือ	ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอล ณ เวลา t (มิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อลิตร)

เมื่ออินทิเกรตภายใต้ขอบเขต $C_t = 0$ ถึง C_t และ $t = 0$ ถึง t และจัดสมการให้ได้ดังสมการที่ (2.6) หรือจัดรูปเป็นสมการเส้นตรงได้ดังสมการที่ (2.7)

$$C_t = \frac{C_s^2 k t}{1 + C_s k t} \qquad (2.6)$$

$$\frac{t}{C_t} = \frac{1}{kC_s^2} + \frac{t}{C_s} = \frac{1}{h} + \frac{t}{C_s} \qquad (2.7)$$

โดย

h คือ อัตราการสกัดช่วงต้น (กรัมต่อลิตรต่อนาที)

เมื่อ $t \to 0$, $C_t \Rightarrow 0$; $h = kC_s^2$

ค่า h C_s และ k หาจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\frac{t}{C_t}$ และ t

ค่าคงที่ของอัตราการสกัดมีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิตามสมการของอาร์เรเนียส ดังสมการที่ (2.8)

$$k = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \qquad (2.8)$$

โดย

k	คือ	ค่าคงที่อัตราการสกัด (ลิตรต่อกรัมต่อนาที)
k_0	คือ	ค่าคงทีไม่ขึ้นกับอุณหภูมิ (ลิตรต่อกรัมต่อนาที)
E_a	คือ	ค่าพลังงานกระตุ้นสำหรับการสกัด (จูลต่อโมล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

R คือ ค่าคงที่ของแก๊ส (8.314 จูลต่อโมล.เคลวิน)

T คือ อุณหภูมิในการสกัด (เคลวิน)

ค่า E_a และ k_0 หาจากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ และ $\frac{1}{T}$

2.7.3 รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model)

Y.Tao และคณะ [21] ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลจากองุ่นโดยใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบทูไซด์ที่มีการสกัด 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกมีอัตราการการดูดซับเร็วกว่าขั้นตอนที่สอง ซึ่งสมการคณิตศาสตร์รูปแบบทูไซด์นี้เป็นสมการที่ดัดแปลงมาจาก Fick's second law ซึ่งใช้อธิบายการถ่ายโอนมวลสารของตัวถูกละลาย ดังสมการที่ (2.9)

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - Fe^{-k_1 t} - (1-F)e^{-k_2 t} \qquad (2.9)$$

โดย

M_1 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดสารประกอบฟีนอล ณ เวลา t (มิลลิกรัมต่อกรัม)

M_2 คือ ความเข้มข้นของสารสกัดสารประกอบฟีนอล ณ เวลา $t \to \infty$ (มิลลิกรัมต่อกรัม)

F คือ อัตราการละลายของตัวถูกละลายที่เพิ่มขึ้นอย่ารวดเร็ว

1-F คือ อัตราการละลายของตัวถูกละลายที่เพิ่มขึ้นอย่างช้า

k_1 คือ ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่งช่วงอัตราการละลายเกิดรวดเร็ว (ต่อนาที)

k_2 คือ ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่งช่วงอัตราการละลายเกิดอย่างช้า (ต่อนาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงาน

3.1 การเตรียมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ใช้ศึกษาได้จากบริษัท เขาช่องอุตสาหกรรม 1979 จำกัด ซึ่งเป็นสายพันธุ์โรบัสต้า เนื่องจากการศึกษาพบว่าสายพันธุ์โรบัสต้าให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสายพันธุ์อะราบิก้า 2 เท่า [15] และเนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ได้มามีลักษณะเป็นแผ่นบางขนาดใหญ่จึงทำการลดขนาดโดยใช้เครื่องปั่นอาหารแบบแห้งเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสของตัวทำละลายและตัวถูกละลาย ทำการคัดขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟให้มีขนาด 600-850 ไมโครเมตร และ 250-425 ไมโครเมตรโดยใช้ชุดตะแกรงร่อน เพื่อทำการเปรียบเทียบอิทธิพลของขนาดที่มีผลต่อปริมาณสารสกัด

อุปกรณ์

1. เครื่องปั่นอาหารแบบแห้ง
2. ชุดตะแกรงร่อน

วัสดุ

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

ขั้นตอน

1. นำเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมาลดขนาดโดยใช้เครื่องปั่นอาหารแบบแห้ง
2. คัดแยกขนาดโดยใช้ชุดตะแกรงร่อน เส้นผ่านศูนย์กลาง 250-425 ไมโครเมตร และ 600-850 ไมโครเมตร
3. เก็บเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในที่แห้ง ณ อุณหภูมิห้อง

3.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธีการสกัดแบบตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน

การศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวนซึ่งตัวแปรและภาวะที่ทำการศึกษาแสดงดังตารางที่ 3.1 และทำการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu method

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์

1. เครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็กพร้อมให้ความร้อน (Magnetic Stirrer and Hotplate) รุ่น HP550-s
2. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
3. แท่งแม่เหล็กกวนสารละลาย (Magnetic bar)
4. ขวดรูปชมพู่แบบมีฝาปิดขนาด 250 มิลลิลิตร
5. กระดาษกรอง เกรด F1001 (10-13 ไมโครเมตร)
6. ขวดเก็บตัวอย่างสีชาขนาด 50 มิลลิลิตร

วัสดุและสารเคมี

1. เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250-425 ไมโครเมตร และ 600-850 ไมโครเมตร
2. เอทานอลบริสุทธิ์ 99.9% โดยปริมาตร
3. น้ำกลั่น

ขั้นตอน

1. ชั่งเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟและตัวทำละลายด้วยอัตราส่วนที่ต้องการศึกษาตามตารางที่ 3.1 ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่แท่งแม่เหล็กกวนสารละลายและปิดฝาให้สนิท
2. นำขวดรูปชมพู่ที่เตรียมในขั้นตอนที่ 1 ตั้งบนเครื่องกวนสารชนิดแม่เหล็ก ตั้งความเร็วรอบการหมุน 600 รอบต่อนาที (rpm) และตั้งอุณหภูมิตามที่ต้องการศึกษา
3. สกัดสารประกอบฟีนอลตามระยะเวลาที่ศึกษา
4. นำสารสกัดที่ได้กรองด้วยกระดาษกรองขนาด 10-13 ไมโครเมตร เพื่อแยกเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจากสารสกัด
5. นำสารตัวอย่างเก็บในขวดสีชาและเก็บที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะที่ใช้ในการสกัด
ขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (ไมโครเมตร)	250-425 ,600-850
ชนิดของตัวทำละลาย สัดส่วนเอทานอลต่อน้ำโดยปริมาตร	0:100 25:75 50:50 75:25 100:0
สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (กรัมต่อมิลลิลิตร)	1:30 1:50 1:70 และ 1:100
อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	40 60 และ 80
ระยะเวลาในการสกัด (นาที)	5 10 15 30 60 และ 90

3.3 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลและสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.3.1 การตรวจปริมาณสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. ไมโครปิเปตขนาด ขนาด 1-5 มิลลิลิตร
4. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)
5. เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)

สารเคมี

1. สารตัวอย่าง – สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
2. สารมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT)
3. สาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 4.82 ไมโครโมลาร์
4. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.9% โดยปริมาตร น้ำกลั่น และสารละลายผสมเอทานอลน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน

1. นำสารตัวอย่างเจือจางด้วยตัวทำละลายเพื่อให้ได้ความเข้มข้น 0.1% 0.08% 0.06% 0.04% 0.02% ของสารละลายเริ่มต้น
2. ปิเปตสารตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนที่ 1 2 มิลลิลิตรและสาร DPPH 2 มิลลิลิตร
3. ปิเปตตัวทำละลาย 2 มิลลิลิตรและสาร DPPH 2 มิลลิลิตร สำหรับเป็นสารควบคุม
4. เขย่าหลอดทดลองที่เครื่องผสมสารละลายเพื่อให้สารละลายผสมกัน
5. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
6. นำสารตัวอย่างที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตร้าไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร
7. คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Antioxidant Activity (%) ตามสมการที่ 3.1
8. คำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ปริมาณ DPPH ลดลงร้อยละ50 (IC_{50}) จากสมการที่ได้จากการสร้างกราฟระหว่างร้อยละการต้านอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารที่สกัด

$$\text{Antioxidant Activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad (3.1)$$

โดย

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม

A_{simple} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่นำมาทดสอบ

8. สร้างกราฟโดยแกน x แทนค่า log ของความเข้มข้นแกน y แทนค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นสร้างสมการเส้นตรง แทนค่า y เท่ากับ 50 รายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า IC_{50}

3.3.2 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอล

อุปกรณ์

1. หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
2. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. ไมโครปิเปตขนาด 100 - 1000 ไมโครลิตร และขนาด 1-5 มิลลิลิตร
4. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer)
5. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
6. เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer)

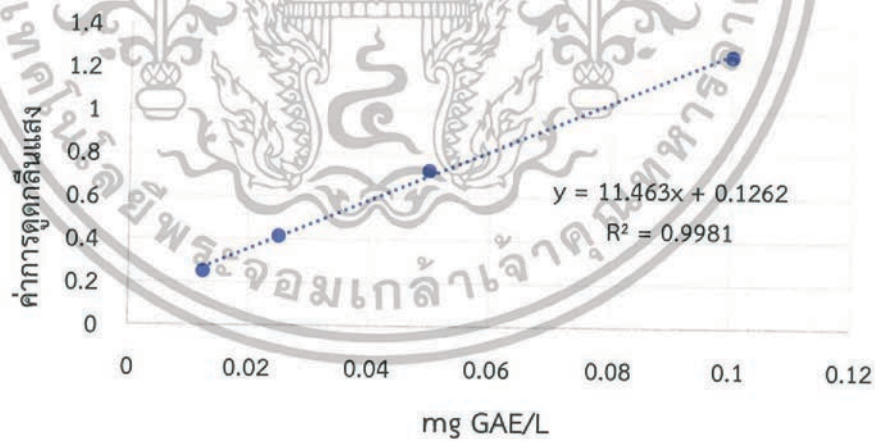
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. สารตัวอย่าง – สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
2. สารมาตรฐานกรดแกลลิค (Gallic acid)
3. สาร 2N Folin–Ciocalteu reagent
4. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)
5. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.9% โดยปริมาตร น้ำกลั่น)

ขั้นตอน

1. ปิเปตสารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตรผสมกับชนิดตัวทำละลายตามตารางที่ 3.1 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง
2. ปิเปตน้ำกลั่น 4.5 มิลลิลิตร สาร 2N Folin-Ciocalteu reagent 0.5 มิลลิลิตรและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) 4 มิลลิลิตร
3. เขย่าหลอดทดลองที่เครื่องผสมสารละลาย (Vortex Mixer) เพื่อให้สารละลายผสมกัน
4. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง 1 ชั่วโมง
5. นำหลอดทดลองใส่ในเครื่องหมุนเหวี่ยง 5 นาที
6. นำสารตัวอย่างที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตร้าไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทร-โฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร
7. เทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟสารมาตรฐานที่สร้างจากกรดแกลลิค
8. คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลจากสมการที่ 3.2



รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานวัดปริมาณสารประกอบฟีนอล

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)} = \frac{\text{mg GAE}}{\text{tube}} \times \frac{1\ \text{tube}}{50\ \text{mL}} \times \frac{50\ \text{mL}}{0.5\ \text{gCS}} \qquad (3.2)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

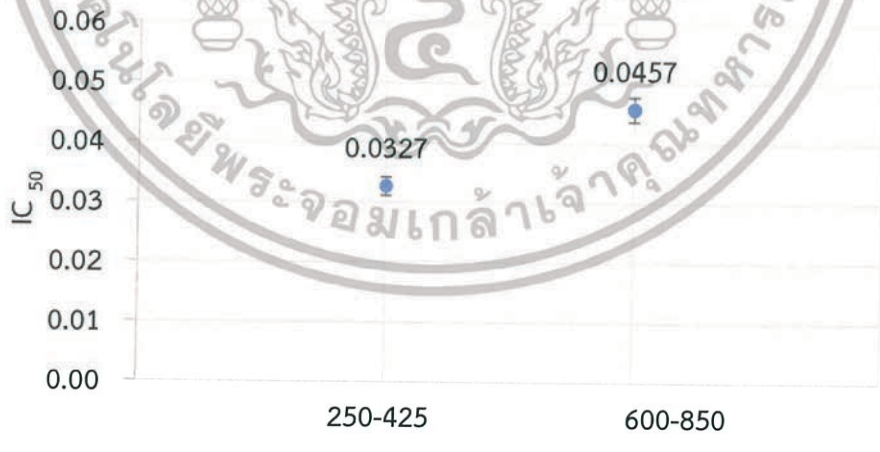
บทที่ 4
ผลการดำเนินงาน และวิเคราะห์ผล

การศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ โดยใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน ทำให้ได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด ซึ่งตัวแปรที่ใช้ศึกษาคือ ขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ชนิดตัวทำละลาย สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายและศึกษาเปรียบเทียบหาความสัมพันธ์กับรูปแบบสมการคณิตศาสตร์เพื่อหาค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด ซึ่งสมการที่ใช้ในการศึกษาคือ สมการพีเล็ต (Peleg's model) สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model)

4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

4.1.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟใช้วิธีสกัดสารด้วยตัวทำละลาย สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบของเครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก 600 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ซึ่งขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ทำการศึกษา ได้แก่ ขนาด 250-425 และ 600-850 ไมโครเมตร หากเลือกใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีขนาดเล็กมากอาจทำให้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟลอยไม่สามารถทำการสกัดสารได้



รูปที่ 4.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก 600 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

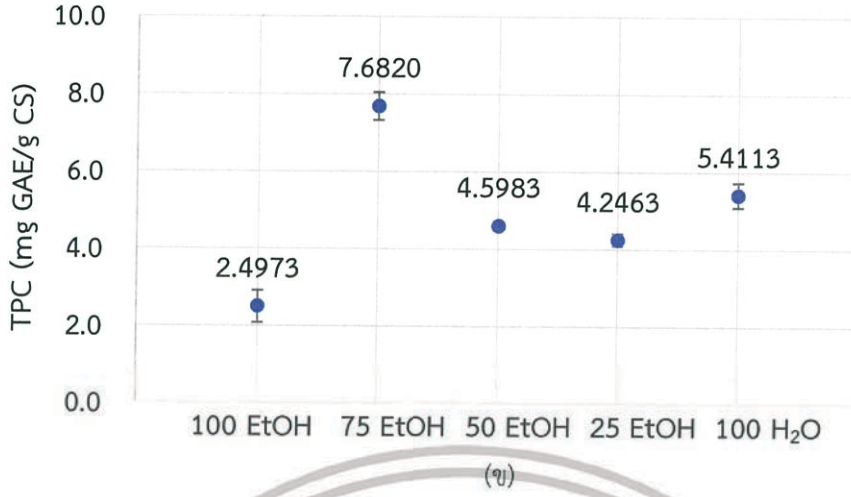
จากผลการทดลองรูปที่ 4.1 แสดงผลโดยใช้ค่า IC_{50} หรือปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 ดังนั้นที่ค่า IC_{50} น้อยหมายถึงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมาก จากข้อมูลพบว่าการสกัดสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตรมีค่า IC_{50} น้อยกว่า ดังนั้นจึงมีสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 600-850 ไมโครเมตร เนื่องจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาดเล็กจะมีพื้นที่ผิวในการสัมผัสตัวทำละลายมากทำให้การถ่ายโอนมวลสารระหว่างของแข็งและของเหลวดีกว่า ดังนั้นการทดลองปัจจัยอื่นจะใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีขนาด 250-425 ไมโครเมตร ในการศึกษา

4.1.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย

ตัวทำละลายเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสกัด การเลือกชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมจะทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่มาก เอทานอลและน้ำเป็นตัวทำละลายที่ถูกนำมาใช้มากในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัสดุธรรมชาติ เนื่องจากความสามารถในการละลายสารต้านอนุมูลอิสระและเป็นตัวทำละลายที่มีความปลอดภัย จึงศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายทั้งสองและของผสมของตัวทำละลายทั้งสอง ตามสัดส่วนดังนี้ 25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร

(ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ข)

รูปที่ 4.2 อิทธิพลของตัวทำละลายต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 กรัมต่อ 50 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวนแม่เหล็ก 600 รอบต่อวินาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ก) ค่า Antioxidant Activity แสดงโดยค่า IC_{50} ข) ค่าสารประกอบฟีนอลรวม

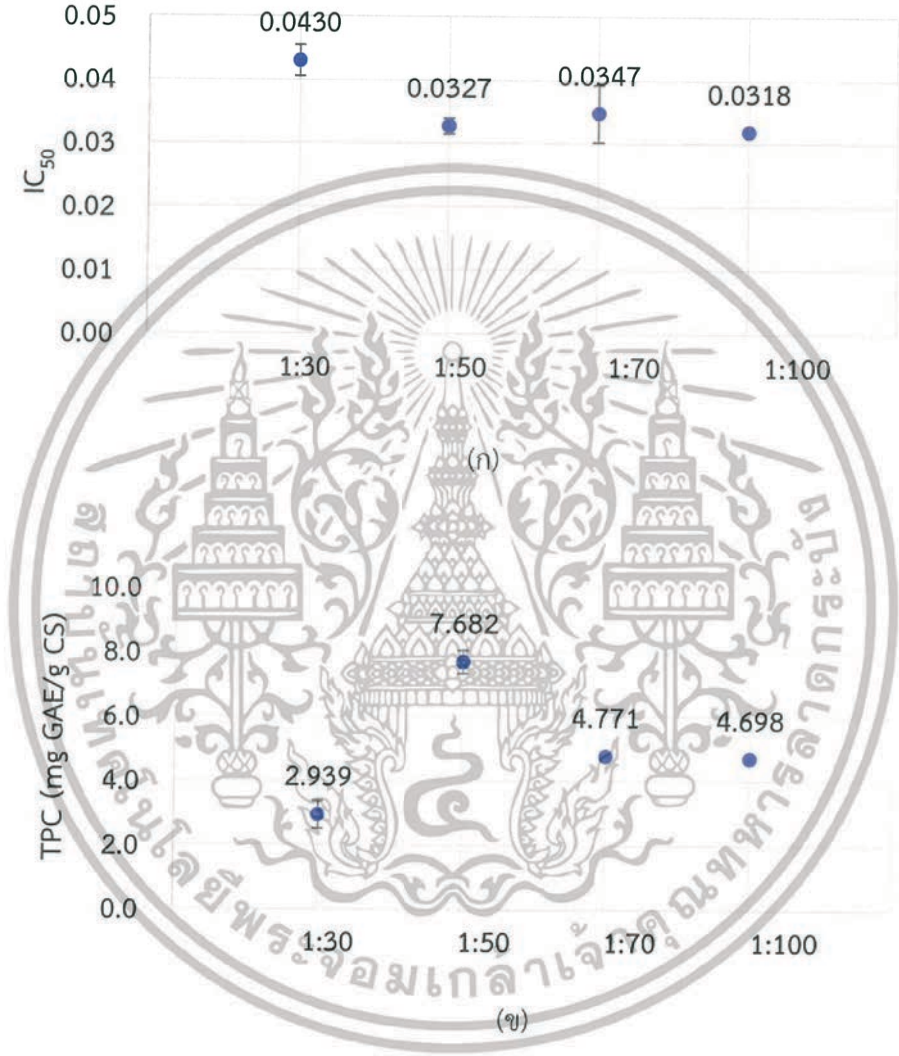
ผลการทดลองรูปที่ 4.2 (ก) พบว่าในการสกัดสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟตัวทำละลายที่ทำให้ได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ เอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร รองลงมาคือ เอทานอลบริสุทธิ์ เอทานอลผสมน้ำ 25:75 โดยปริมาตร แต่ทั้งสามมีค่าที่ใกล้เคียงกัน คืออยู่ในช่วง 0.03-0.05 แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด คือตัวทำละลายที่ผสมระหว่างเอทานอลและน้ำ

และจากรูปที่ 4.2 (ข) พบว่าในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ตัวทำละลายที่ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ เอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร และเอทานอลบริสุทธิ์ให้สารสกัดน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีสารที่มีขั้วและไม่มีขั้วเนื่องจากค่าคงที่ไดอิเล็กทริค (dielectric constant) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้วัดความมีขั้วของสาร โดยตัวทำละลายเอทานอลมีค่าน้อยกว่าน้ำ ซึ่งน้ำและเอทานอลมีค่าคงที่ไดอิเล็กทริค (dieletric constant) เท่ากับ 80 24 ตามลำดับ [21] จากผลการทดลองไม่สอดคล้องกับ A.Costa และคณะ [8] ซึ่งได้ผลการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลได้มากที่สุดและน้อยที่สุดคือ เอทานอลผสมน้ำ (50:50 โดยปริมาตร) และเอทานอลบริสุทธิ์ตามลำดับ และปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้มีค่าน้อยกว่าประมาณ 2 เท่า (15.5 mg GAE/gCS) ซึ่งอาจเกิดจากระยะเวลา อุณหภูมิ และสายพันธุ์ของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ใช้แตกต่างกัน โดย A.Costa และคณะ [8] ใช้เวลาในการสกัด 90 นาที ณ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธ์อะราบิก้า 40 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์โรบัสต้า 60 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้เวลาในการสกัดสาร 60 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสและใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 อิทธิพลของสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย

การศึกษาสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่ศึกษาได้แก่ 1:30 1:50 1:70 และ1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) การเพิ่มปริมาณตัวทำละลายคาดว่าช่วยทำให้การสกัดสามารถเข้าถึงวัตถุดิบได้ดีขึ้นแต่การใช้ปริมาณตัวทำละลายที่มากส่งผลต่อค่าใช้จ่ายและการแยกสารหลังจบกระบวนการสกัด จึงศึกษาปริมาณเหมาะสมที่ต้องใช้



รูปที่ 4.3 อิทธิพลของอัตราส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบเครื่องกวนชนิดแม่เหล็ก 600 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที ก) ค่า Antioxidant Activity แสดงโดยค่า IC_{50} ข) ค่าสารประกอบฟีนอรวม

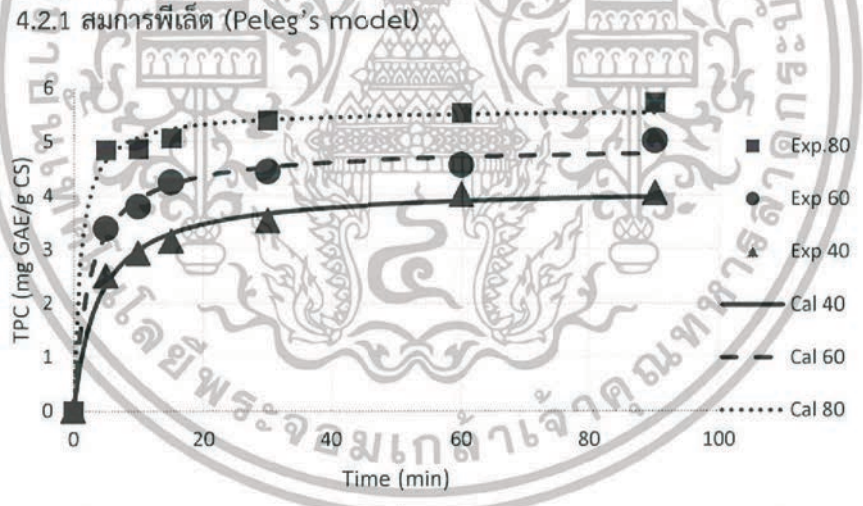
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองรูปที่ 4.3 (ก) (ข) พบว่าการสกัดสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลายที่ 1:50 ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด แสดงให้เห็นว่าเมื่อเพิ่มปริมาตรตัวทำละลาย การสกัดสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นแต่เมื่อเพิ่มปริมาตรตัวทำละลายถึงจุดหนึ่งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเนื่องจากสารละลายเกิดการอิ่มตัว

4.2 ความสัมพันธ์กับรูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์

ความสัมพันธ์รูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์ใช้ทำนายค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด ซึ่งเป็นเครื่องมือทางวิศวกรรมในการจำลอง ออกแบบและควบคุมกระบวนการเพื่อประหยัดพลังงาน เวลา วัตถุดิบและตัวทำละลาย ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาสมการคณิตศาสตร์ได้แก่ สมการพีเล็ต (Peleg's model) สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second - order rate law) สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซต์ (two – site kinetic model) โดยมีอิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ อุณหภูมิที่ทำการศึกษา ได้แก่ 40 60 และ 80 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด ได้แก่ 5 10 15 30 60 และ 90 นาที เมื่ออุณหภูมิและเวลาการสกัดเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ได้สารประกอบฟีนอลมากขึ้นตามรูปที่ 4.4 4.5 และ 4.7

4.2.1 สมการพีเล็ต (Peleg's model)



รูปที่ 4.4 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ 80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ต (Peleg's model) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อใช้สมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ต (Peleg's model) ในการทำนายค่าจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลใกล้เคียงกับค่าจากการทดลองและเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลในช่วงการหาภาวะที่ดีที่สุดพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลมีค่าที่ลดลง เนื่องจากในการศึกษาสมการคณิตศาสตร์รูปแบบพีเล็ต ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่า ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟทำปฏิกิริยากับอากาศ ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าลดลง

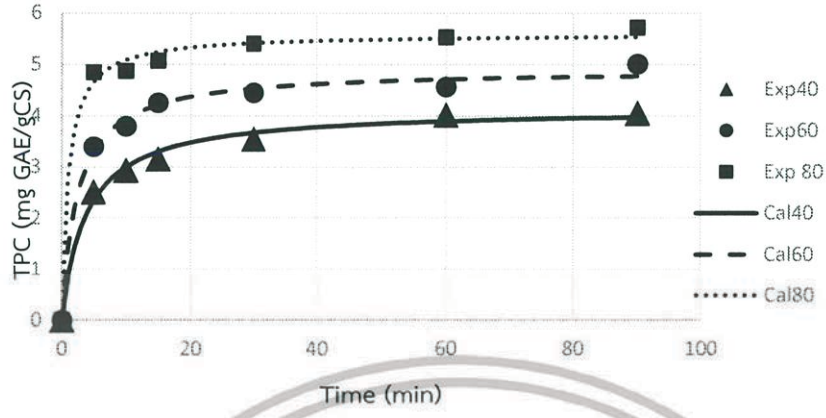
ตารางที่ 4.1 ค่าคงที่ของพีเล็ต (K1 และ K2) ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (correlation coefficient, R^2) และรากที่สองของค่าเฉลี่ยยกกำลังสอง (root mean squared deviation, RMSD) ของการสกัดสารด้วยตัวทำละลาย

อุณหภูมิ (°C)	K_1	K_2	R^2	RMSD
40	0.924	0.242	0.992	0.122
60	0.501	0.204	0.993	0.140
80	0.179	0.179	0.994	0.154

จากตารางที่ 4.1 แสดงค่าตัวแปรในสมการพีเล็ต (Peleg's model) ซึ่งจากข้อมูลในตารางค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าอยู่ในช่วง (0.992-0.994) และรากที่สองของค่าเฉลี่ยยกกำลังสอง (RMSD) มีค่าอยู่ในช่วง (0.122-0.154) แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง ดังนั้นสมการพีเล็ต (Peleg's model) จึงเหมาะที่จะใช้หาแนวโน้มการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law)



รูปที่ 4.5 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL)

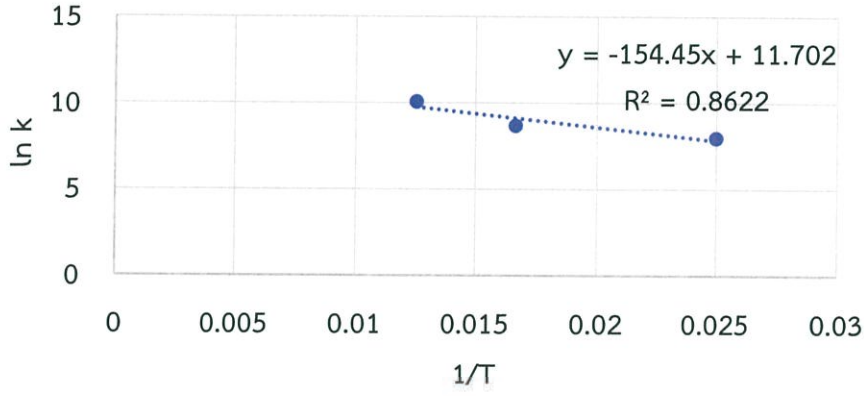
จากรูปที่ 4.5 พบว่าเมื่อใช้สมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) ในการทำนายค่า จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลใกล้เคียงกับค่าจากการทดลองและเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลในช่วงการหาภาวะที่ดีที่สุดพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลมีค่าลดลง เนื่องจากในการศึกษาสมการปฏิกิริยาอันดับสอง ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่าทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟทำปฏิกิริยากับอากาศส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.2 ตัวแปรสำหรับสมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law)

อุณหภูมิ (°C)	$B=1/C_s$	$A=1/h$	$C_s=1/B$ (mg g^{-1})	$h=1/A$	$k = h/C_s^2$ (g mg^{-1} min^{-1})	R^2	RMSD
40	0.242	0.924	4.133	1.082	0.063	0.992	0.122
60	0.204	0.501	4.896	1.996	0.083	0.993	0.140
80	0.179	0.179	5.589	5.577	0.179	0.996	0.154

จากตารางที่ 4.2 แสดงค่าตัวแปรที่ใช้สำหรับสมการปฏิกิริยาอันดับสอง ซึ่งได้จากการหาความสัมพันธ์ของสมการปฏิกิริยาอันดับสองและข้อมูลที่ได้จากการทดลอง พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อค่าจลนพลศาสตร์ ค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าอยู่ในช่วง (0.992-0.996)) และรากที่สองของค่าเฉลี่ยยกกำลังสอง (RMSD) มีค่าอยู่ในช่วง (0.122-0.154) แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง ดังนั้นสมการปฏิกิริยาอันดับสอง (second-order rate law) จึงเหมาะกับการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

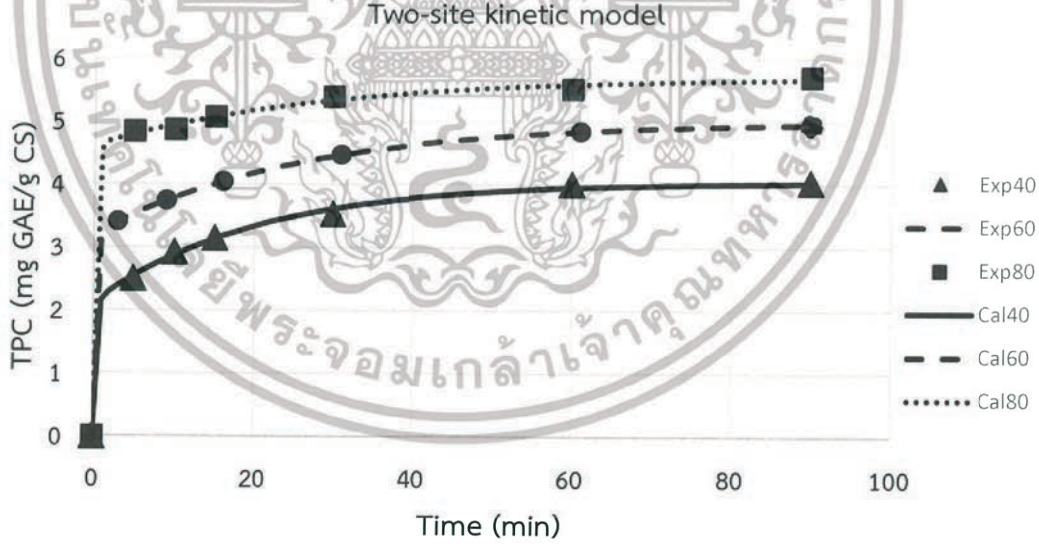
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและค่าความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln k$ และ $\frac{1}{T}$

จากรูปที่ 4.6 พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อค่าคงที่อัตราการสกัด k โดยเมื่ออุณหภูมิของการสกัดเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่าคงที่การสกัดเพิ่มขึ้นและส่งผลให้สามารถสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลได้มากขึ้น และจากกราฟความสัมพันธ์นี้จะทำให้คำนวณหาค่า E_a และ k_0 จากความชันและจุดตัดของกราฟตามลำดับ

4.2.3 สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model)



รูปที่ 4.7 แนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิ 40 60 และ80 องศาเซลเซียส ณ เวลาใดๆ โดยใช้สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model) ในการทำนายค่า ซึ่งใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ 75:25 โดยปริมาตร สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1:50 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.7 พบว่าเมื่อใช้สมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model) ในการทำนายค่า จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลใกล้เคียงกับค่าจากการทดลองและเมื่อเปรียบเทียบข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลในช่วงการหาภาวะที่ดีที่สุดพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลมีค่าลดลง เนื่องจากในการศึกษาสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่มีระยะเวลาการเก็บรักษานานกว่าทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟทำปฏิกิริยากับอากาศส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.3 ค่าตัวแปรในสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model)

อุณหภูมิ (°C)	F	1-F	$k_1(min^{-1})$	$k_2(min^{-1})$	R^2	RMSD
40	0.477	0.523	0.050	3.812	0.999	0.049
60	0.359	0.640	0.039	3.812	0.991	0.163
80	0.193	0.807	0.036	3.812	0.999	0.054

จากตารางที่ 4.3 พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ช่วงอัตราการละลายเกิดรวดเร็ว) จะมีค่าเพิ่มขึ้นแต่ค่าคงที่อัตราการเกิดปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง (ช่วงอัตราการละลายเกิดช้า) จะมีค่าเท่ากันและค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าอยู่ในช่วง (0.991-0.999) ซึ่งเป็นค่าที่มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับทั้งสามรูปแบบสมการและรากที่สองของค่าเฉลี่ยยกกำลังสอง (RMSD) มีค่าอยู่ในช่วง (0.049-0.054) ซึ่งเป็นค่าที่น้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากการคำนวณมีค่าใกล้เคียงกับค่าจากการทดลอง ดังนั้นสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two – site kinetic model) จึงเหมาะกับการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมากที่สุด เนื่องจากในระบบการสกัดนี้มีช่วงการสกัดทั้งช้าและเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน

ปริญญานิพนธ์นี้ศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟและหาความสัมพันธ์รูปแบบสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้ทำนายค่าจลนพลศาสตร์ของการสกัด ซึ่งใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวนและวิเคราะห์หาสารมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลด้วยวิธี Folin-Ciocalteu จากผลการทดลองพบว่าภาวะที่เหมาะสมทำให้ได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือการใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ตัวทำละลายชนิดเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย 1 ต่อ 50 กรัมต่อมิลลิลิตร (g/mL) ณ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 0.0327 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเท่ากับ 7.682 mg GAE/gCS และเมื่อหาความสัมพันธ์ของสมการทางคณิตศาสตร์พบว่าสมการจลนศาสตร์รูปแบบทูไซด์ (two –site kinetic model) สามารถทำนายแนวโน้มได้อย่างแม่นยำที่สุด มีค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (R^2) มีค่าอยู่ในช่วง 0.991 - 0.999

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลในปริญญานิพนธ์นี้ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 60 นาทีและใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า หากใช้เยื่อหุ้มเม็ดกาแฟสายพันธุ์อื่นอาจทำให้ได้สารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้น อีกทั้งยังสามารถประหยัดพลังงานและเวลาได้อีกด้วย

5.2.2 เพื่อให้รู้องค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟควรใช้เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงหรือเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟีในการวิเคราะห์แต่อาจมีค่าใช้จ่ายในการเตรียมสารมาตรฐานหลายชนิดในการวิเคราะห์

5.2.3 การเก็บสารตั้งต้นไม่ควรเก็บนาน เนื่องจากอาจทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยลงจากการทำปฏิกิริยากับอากาศของสารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] T.Conde and S.Mussatto, 2003 "Isolation of polyphenols from spent coffee grounds and silverskin by mild hydrothermal pretreatment", *Biochem. Biotechnol.*(4) : 406–409.

[2] "กาแฟคั่ว บด กาแฟสด เครื่องชงกาแฟ กาแฟดริป - SUZUKI COFFEE", *SUZUKI COFFEE*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://suzuki-coffee.com

[3] กระทรวงพาณิชย์. 2561 [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.moc.go.th/index.php/flower-service-all-6/category/category-product010-copy-3-copy-copy.html.

[4] ประชาชาติ 9 มิถุนายน 2561

[5] J.Agric, 2004. "Characterization of a New Potential Functional Ingredient": Coffee Silverskin Journal of Agricultural and Food Chemistry" : 1338-1343.

[6] "การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร", *วิทย.เทคโน.หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ*, 2560. (1) : 86–94.

[7] Y. Narita and K. Inouye, 2018 "Review on utilization and composition of coffee silverskin", *Food Res.*: 16–22.

[8] A.Costa et.al, 2014 "Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process" : 350-357

[9] Wikipedia. 2018 Soxhlet extractor *Wikipedia*. [online]. https://en.wikipedia.org/wiki/Soxhlet_extractor.

[10] C. Poole and J. Pawliszyn, 2016 "Extraction for analytical scale sample preparation (IUPAC Technical Report)", *Pure Appl. Chem* 88(7) :649–687.

[11] C.Miles. 1999 "High power ultrasonic thawing of frozen foods", Journal of Food Engineering : 151-159.

[12] L.Ballesteros, 2014 "*Selection of the solvent and extraction conditions for maximum recovery of antioxidant phenolic compounds from coffee silverskin*", (7) : 1322-1332

[13] H.Rajha et.al, 2014 " Extraction of Total Phenolic Compounds, Flavonoids, Anthocyanins and Tannins from Grape Byproducts by Response Surface Methodology. Influence of Solid-Liquid Ratio, Particle Size, Time, Temperature and Solvent Mixtures on the Optimization Process", Food and Nutrition Sciences.5(4) : 397-409.

[14] P. Tangguh and S. P. Kusumocahyo, 1803 "Extraction of coffee silverskin to convert waste into a source of antioxidant", *AIP Conf. Proc.* (1) .

[15] S. Tan, S. and P. Kusumocahyo 2017. "Pulverization of coffee silverskin extract as a source of antioxidant"Materials Science and Engineering, 162(1) : 1-6.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[16] B. Ames. 1993 “Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging" Sci USA : 7915-7922.

[17] V. Lobo and N. Chandra, 2010 “Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health”, *Pharmacogn. Rev.* 4(8) : 118–126.

[18] K. Mishra, H. Ojha,and N. K. Chaudhury, 2012 “Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results”, *Food Chem.*,130(4) : 1036–1043.

[19] ชานนท์ นัยจิตร และ อนุรักษ์ เชื้อมั่ง, 2559 “การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบรวมฟีนอลและนิโคตินของสมุนไพรไทย 15 ชนิด” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 24(2) : 351-361

[20] Y. Tao. 2014 “Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature" : 1461-1469.

[21] ร. ม. ลีลาวดี ชมนาน, 2557 “ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารแอนโธไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง ” 22(3) : 367-360

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัด

ก.1 การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

สารที่สกัดได้จะนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นจาก 2% เป็น 0.1% 0.08% 0.06% 0.04% และ0.02% จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ DPPH ซึ่งเป็นสารละลายสีม่วง หากสารที่นำมาทดสอบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนสีของสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง [18] จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตร้าไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังสมการ (ก.1)

$$\text{Antioxidant Activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100 \qquad \text{(ก.1)}$$

โดย

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม

A_{simple} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารที่นำมาทดสอบ

สร้างกราฟโดยแกน X แทนค่า log ของความเข้มข้น 0.1% 0.08% 0.06% 0.04% และ 0.02% แกน y แทนค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นสร้างสมการเส้นตรง แทนค่าให้ y เท่ากับ 50 รายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ เป็นค่า IC_{50}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ ก.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างและสารควบคุมที่ได้จากการขั้นตอนการทดลองหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ความเข้มข้นของสารตัวอย่าง (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง
	สารควบคุม	0.549
0.1	1	0.110
0.08	2	0.149
0.06	3	0.214
0.04	4	0.306
0.02	5	0.406

ขั้นตอนที่ 1 คำนวณหาค่า Antioxidant Activity (%)

$$\text{Antioxidant Activity (\%)} = \frac{A_{control} - A_{sample}}{A_{control}} \times 100$$

หลอดที่ 1

$$\text{Antioxidant Activity} = \frac{0.549 - 0.110}{0.549} \times 100$$

$$= 79.96\%$$

หลอดที่ 2

$$\text{Antioxidant Activity} = \frac{0.549 - 0.149}{0.549} \times 100$$

$$= 72.86\%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดที่ 3

$$\text{Antioxidant Activity} = \frac{0.549 - 0.214}{0.549} \times 100$$

$$= 61.08\%$$

หลอดที่ 4

$$\text{Antioxidant Activity} = \frac{0.549 - 0.306}{0.549} \times 100$$

$$= 44.26\%$$

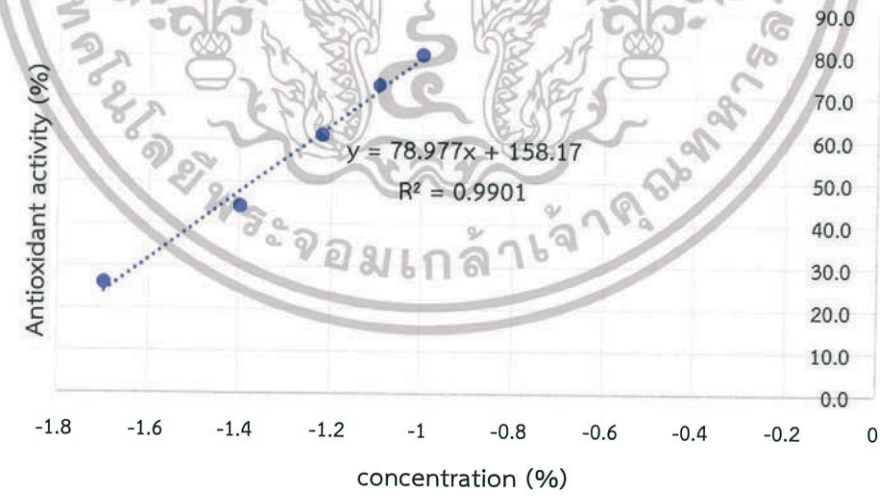
หลอดที่ 5

$$\text{Antioxidant Activity} = \frac{0.549 - 0.406}{0.549} \times 100$$

$$= 25.99\%$$

ขั้นตอนที่ 2

สร้างกราฟโดยแกน X แทนค่า log ของความเข้มข้น 0.1% 0.08% 0.06% 0.04% และ0.02% แกน y แทนค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากนั้นสร้างสมการเส้นตรง



รูปที่ ก.1 กราฟสำหรับหาค่า IC_{50}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

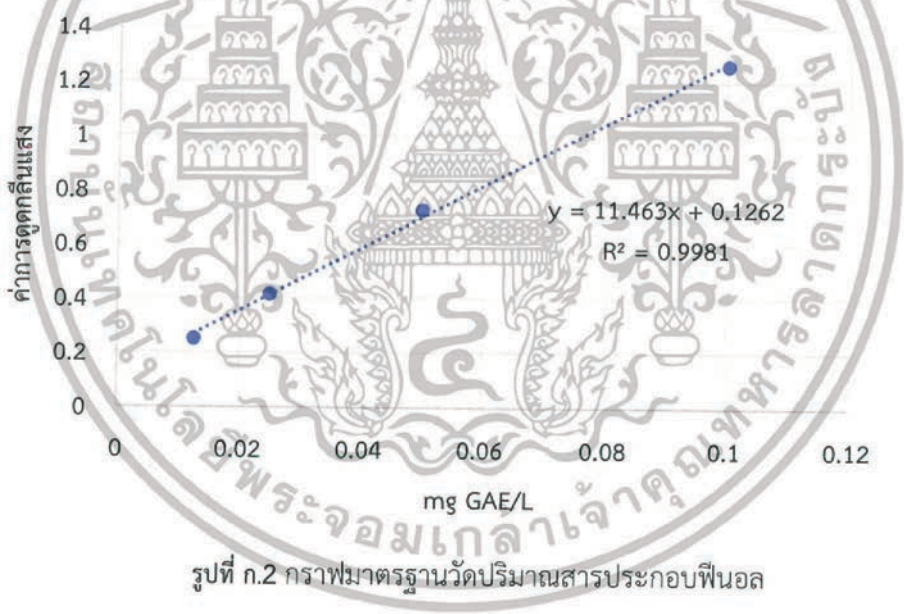
ขั้นตอนที่ 3

แทนค่าให้ y เท่ากับ 50 ในสมการ y = 78.997x + 158.17 แก้สมการหาค่า x ได้ x = -1.369 เนื่องจากค่า x คือค่า log ของความเข้มข้นดังนั้นแก้สมการหาค่าความเข้มข้นได้ 0.043 ดังนั้นความเข้มข้นที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลงครึ่งหนึ่ง IC_{50} = 0.043

ก.2 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอล

สารที่สกัดได้จะนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 1% จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent และโซเดียมคาร์บอนเนต (Na_2CO_3) หากสารสกัดที่นำมาทดสอบมีสารประกอบฟีนอล สารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่องอัลตร้าไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิคต่อลิตรดังสมการ (ก.2)

$$y = 11.463x+0.1262 \quad \text{(ก.2)}$$



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานวัดปริมาณสารประกอบฟีนอล

เนื่องจากในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร และในการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทำการเจือจางสารละลายจากความเข้มข้น 2% เป็น 1% ดังนั้นใน 1 หลอดทดลองจะมีเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 0.01 กรัม เมื่อทำการเปลี่ยนหน่วยของปริมาณสารประกอบฟีนอลเทียบเท่ากรดแกลลิค หน่วยมิลลิกรัมกรดแกลิค/หลอดทดลอง (mg GAE/tube) เป็นหน่วย มิลลิกรัมกรดแกลลิค/กรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg GAE/gCS) แสดงดังสมการ (ก.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/gCS)} = \frac{\text{mg GAE}}{\text{tube}} \times \frac{1\,\text{tube}}{50\,\text{mL}} \times \frac{50\,\text{mL}}{0.5\,\text{g CS}} \qquad \text{(ก.3)}$$

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอล

ตารางที่ ก.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ทำการเจือจางความเข้มข้นจาก 2% เป็น 1% และสารควบคุมที่ได้จากการขั้นตอนการทดลองหาปริมาณสารประกอบฟีนอล

หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง
สารควบคุม	0.000
1	0.608
2	0.699
3	0.601

ขั้นตอนที่ 1

แทนค่าการดูดกลืนแสงลงในสมการที่ได้จากกราฟสารมาตรฐานกรดแกลลิคเพื่อหาปริมาณกรดแกลลิคต่อหลอด (mg GAE/tube)

$$y = 11.463x + 0.1262$$

หลอดที่ 1

$$0.608 = 11.463x + 0.1262$$

$$x = 0.042 \quad \text{mg GAE/tube}$$

ขั้นตอนที่ 2

หาปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อตัวทำละลาย 1 มิลลิลิตร เนื่องจากทำการเจือจางสารตัวอย่างจากความเข้มข้น 2% เป็น 1% ดังนั้นในสารละลาย 50 มิลลิลิตรจะมีเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 0.5 กรัม หากในสารละลายมีปริมาตร 1 มิลลิลิตรจะมีเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเท่ากับ 0.01 กรัม

ขั้นตอนที่ 3

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลเทียบเท่ากรดแกลลิคในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิคต่อ 1 กรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg GAE/gCS) จะได้ สารประกอบฟีนอลเท่ากับ 4.2 mg GAE/gCS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลอง

การหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยศึกษาอิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ชนิดตัวทำละลาย สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย ซึ่งทำการสกัดสารด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน

ข.1 อิทธิพลของขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 และ600-850 ไมโครเมตร แสดงดังตารางที่ ข.1

ตารางที่ ข.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 และ600-850 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (µm)	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
600-850	1		สารควบคุม	0.451	0.048	0.0457
		0.1	1	0.105		
		0.08	2	0.143		
		0.06	3	0.203		
		0.04	4	0.259		
		0.02	5	0.360		
	2		สารควบคุม	0.500	0.044	
		0.1	1	0.084		
		0.08	2	0.124		
		0.06	3	0.224		
		0.04	4	0.300		
		0.02	5	0.370		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.1 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 และ600-850 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ขนาดเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (μm)	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
600-850	3	0.06	3	0.269		
		0.04	4	0.263		
		0.02	5	0.362		
250-425	1		สารควบคุม	0.058	0.033	0.0327
		0.1	1	0.058		
		0.08	2	0.088		
		0.06	3	0.145		
		0.04	4	0.222		
		0.02	5	0.325		
	2		สารควบคุม	0.441	0.031	
		0.1	1	0.194		
		0.08	2	0.233		
		0.06	3	0.290		
		0.04	4	0.332		
		0.02	5	0.414		
	3		สารควบคุม	0.493	0.034	
		0.1	1	0.086		
		0.08	2	0.128		
		0.06	3	0.183		
		0.04	4	0.257		
		0.02	5	0.360		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด สกัดด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน แสดงดังตารางที่ ข.2 และ ตารางที่ ข.3

ตารางที่ ข.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60นาที

ชนิดตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
น้ำ	1		สารควบคุม	0.511	0.111	0.1073
		0.1	1	0.256		
		0.08	2	0.292		
		0.06	3	0.343		
		0.04	4	0.394		
		0.02	5	0.450		
	2		สารควบคุม	0.500	0.100	
		0.1	1	0.219		
		0.08	2	0.270		
		0.06	3	0.316		
		0.04	4	0.365		
		0.02	5	0.432		
	3		สารควบคุม	0.531	0.111	
		0.1	1	0.266		
		0.08	2	0.304		
		0.06	3	0.352		
		0.04	4	0.406		
		0.02	5	0.464		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ชนิดตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
เอทานอล	1		สารควบคุม	0.446	0.043	0.0416
		0.1	1	0.086		
		0.08	2	0.114		
		0.06	3	0.191		
		0.04	4	0.235		
		0.02	5	0.332		
	2		สารควบคุม	0.416	0.042	
		0.1	1	0.072		
		0.08	2	0.111		
		0.06	3	0.158		
		0.04	4	0.225		
		0.02	5	0.316		
	3		สารควบคุม	0.520	0.040	
		0.1	1	0.104		
		0.08	2	0.128		
		0.06	3	0.186		
		0.04	4	0.273		
		0.02	5	0.374		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ชนิดตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
น้ำผสมเอทานอล (25:75)	1		สารควบคุม	0.484	0.050	0.0493
		0.1	1	0.154		
		0.08	2	0.181		
		0.06	3	0.228		
		0.04	4	0.281		
		0.02	5	0.343		
	2		สารควบคุม	0.524	0.047	
		0.1	1	0.158		
		0.08	2	0.189		
		0.06	3	0.240		
		0.04	4	0.287		
		0.02	5	0.382		
	3		สารควบคุม	0.511	0.051	
		0.1	1	0.136		
		0.08	2	0.176		
		0.06	3	0.252		
		0.04	4	0.305		
		0.02	5	0.395		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ชนิดตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
น้ำผสมเอทานอล (50:50)	1		สารควบคุม	0.451	0.089	0.0913
		0.1	1	0.205		
		0.08	2	0.237		
		0.06	3	0.272		
		0.04	4	0.327		
		0.02	5	0.382		
	2		สารควบคุม	0.423	0.086	
		0.1	1	0.182		
		0.08	2	0.215		
		0.06	3	0.268		
		0.04	4	0.324		
		0.02	5	0.380		
	3		สารควบคุม	0.423	0.099	
		0.1	1	0.197		
		0.08	2	0.239		
		0.06	3	0.287		
		0.04	4	0.345		
		0.02	5	0.411		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ชนิดตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
น้ำผสมเอทานอล (75:25)	1		สารควบคุม	0.058	0.033	0.0327
		0.1	1	0.058		
		0.08	2	0.088		
		0.06	3	0.145		
		0.04	4	0.222		
		0.02	5	0.325		
	2		สารควบคุม	0.441	0.031	
		0.1	1	0.194		
		0.08	2	0.233		
		0.06	3	0.290		
		0.04	4	0.332		
		0.02	5	0.414		
	3		สารควบคุม	0.493	0.034	
		0.1	1	0.086		
		0.08	2	0.128		
		0.06	3	0.183		
		0.04	4	0.257		
		0.02	5	0.360		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (25:75 50:50 75:25 โดยปริมาตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร ความเร็วรอบการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ชนิดตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/gCS)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/gCS)
น้ำ	1	0.715	5.135	5.4113
	2	0.738	5.333	
	3	0.787	5.766	
เอทานอล	1	0.379	2.204	2.4973
	2	0.392	2.314	
	3	0.467	2.974	
เอทานอลผสมน้ำ (25:75)	1	0.598	4.117	4.2463
	2	0.633	4.420	
	3	0.608	4.202	
เอทานอลผสมน้ำ (50:50)	1	0.649	4.559	4.5983
	2	0.648	4.554	
	3	0.663	4.682	
เอทานอลผสมน้ำ (75:50)	1	0.975	7.407	7.6820
	2	0.991	7.546	
	3	1.054	8.093	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 อิทธิพลของสัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิดศึกษาสกัดด้วยตัวทำละลายในภาชนะปั่นกวน แสดงดังตารางที่ ข.4 และ ตารางที่ ข.5

ตารางที่ ข.4 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
1:30	1		สารควบคุม	0.590	0.046	0.043
		0.1	1	0.120		
		0.08	2	0.181		
		0.06	3	0.256		
		0.04	4	0.347		
		0.02	5	0.445		
	2		สารควบคุม	0.549	0.043	
		0.1	1	0.110		
		0.08	2	0.149		
		0.06	3	0.214		
		0.04	4	0.306		
		0.02	5	0.406		
	3		สารควบคุม	0.535	0.040	
		0.1	1	0.080		
		0.08	2	0.123		
		0.06	3	0.189		
		0.04	4	0.294		
		0.02	5	0.383		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.4 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
1:50	1		สารควบคุม	0.058	0.033	0.0327
		0.1	1	0.058		
		0.08	2	0.088		
		0.06	3	0.145		
		0.04	4	0.222		
		0.02	5	0.325		
	2		สารควบคุม	0.441	0.031	
		0.1	1	0.194		
		0.08	2	0.233		
		0.06	3	0.290		
		0.04	4	0.332		
		0.02	5	0.414		
	3		สารควบคุม	0.493	0.034	
		0.1	1	0.086		
		0.08	2	0.128		
		0.06	3	0.183		
		0.04	4	0.257		
		0.02	5	0.360		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.4 (ต่อ) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย	การทดลองครั้งที่	ความเข้มข้น (%)	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})	ค่าเฉลี่ยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50})
1:70	1		สารควบคุม	0.500	0.029	0.0347
		0.1	1	0.061		
		0.08	2	0.082		
		0.06	3	0.130		
		0.04	4	0.225		
		0.02	5	0.299		
	2		สารควบคุม	0.416	0.040	
		0.1	1	0.063		
		0.08	2	0.085		
		0.06	3	0.152		
		0.04	4	0.202		
		0.02	5	0.321		
	3		สารควบคุม	0.422	0.035	
		0.1	1	0.052		
		0.08	2	0.081		
		0.06	3	0.127		
		0.04	4	0.194		
		0.02	5	0.315		
1:100	1		สารควบคุม	0.451	0.032	0.0318
		0.1	1	0.052		
		0.08	2	0.067		
		0.06	3	0.146		
		0.04	4	0.187		
		0.02	5	0.296		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลใช้สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย (1:30 1:50 1:70 และ 1:100 กรัมต่อมิลลิลิตร) เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาด 250-425 ไมโครเมตร โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลผสมน้ำ (75:25 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบในการปั่นกวน 600 รอบต่อวินาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

สัดส่วนวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/gCS)	ค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/gCS)
1:30	1	0.608	2.516	2.663
	2	0.699	2.993	
	3	0.601	2.481	
1:50	1	0.975	7.407	7.682
	2	0.991	7.546	
	3	1.054	8.093	
1:70	1	0.500	4.661	4.817
	2	0.514	4.827	
	3	0.525	4.964	
1:100	1	0.396	4.698	4.698

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้