

คุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟและการใช้เทคนิคอัลตราซาวด์สกัดสารประกอบฟีนอลิก
จากกากกาแฟ

PROPERTIES OF SPENT COFFEE OIL AND APPLICATION OF
ULTRASOUND TECHNIQUE TO EXTRACT PHENOLIC COMPOUNDS FROM
SPENT COFFEE GROUNDS



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-053-295

คุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟและการใช้เทคนิคอัลตราซาวด์สกัดสารประกอบฟีนอลิก
จากกากกาแฟ

PROPERTIES OF SPENT COFFEE OIL AND APPLICATION OF
ULTRASOUND TECHNIQUE TO EXTRACT PHENOLIC COMPOUNDS FROM
SPENT COFFEE GROUNDS

พิชญา เจริญธีระสกุลเดช

PICHAYA CHAROENTERASAKULDEJ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

KMITL-2018-AI-M-053-295

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**PROPERTIES OF SPENT COFFEE OIL AND APPLICATION OF ULTRASOUND
TECHNIQUE TO EXTRACT PHENOLIC COMPOUNDS FROM SPENT COFFEE
GROUNDS**

PICHAYA CHAROENTERASAKULDEJ

**THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT OF
THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
FACULTY OF AGRO-INDUSTRY**

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2018

KMITL-2018-AI-M-053-295

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2018

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABAN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์

คุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟและการใช้เทคนิคอัลตราซาวด์สกัดสารประกอบ
ฟีนอลิกจากกากกาแฟ

PROPERTIES OF SPENT COFFEE OIL AND APPLICATION OF
ULTRASOUND TECHNIQUE TO EXTRACT PHENOLIC COMPOUNDS
FROM SPENT COFFEE GROUNDS

ชื่อนักศึกษา

นางสาวพิชญา เจริญธีระสกุลเดช

รหัสประจำตัว

58608047

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา

วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

ผศ.ดร.พอใจ ถามากร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.พอใจ ถามากร	
ผศ.ดร.ภาวินี ดีแท้	
ดร.กิตติชัย บรรจง	
รศ.ดร.ระติพร มุทธสาร	

วัน / เดือน / ปีที่สอบ 10 พฤษภาคม 2561 เวลา 13.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้องสัมมนา 1 อาคารเจ้าคุณทหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตรรับรองแล้ว



(รองศาสตราจารย์ ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม)

คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 10 เดือน พค พ.ศ. 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	คุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟและการใช้เทคนิคอัลตราซาวด์สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากกากกาแฟ
นักศึกษา	นางสาวพิชญา เจริญธีระสกุลเดช
รหัสประจำตัว	58608047
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหาร
พ.ศ.	2560
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.พอใจ ถามากร

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันที่สกัดจากกากกาแฟด้วยเฮกเซนและสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารสกัดกากกาแฟด้วยเอทานอล 70% โดยวิธีการเขย่าและคลื่นอัลตราซาวด์ ปัจจัยที่ศึกษาของสภาวะการสกัดสารสกัดด้วยวิธีเขย่า คือ ระยะเวลาการสกัด (5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง) ปัจจัยที่ศึกษาของการสกัดสารสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ คือ แอมพลิจูด (20, 40, 60 และ 80 %) และระยะเวลาการสกัด (1, 3, 6, 10 และ 15 นาที) การศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟพบว่า น้ำมันกากกาแฟเป็นของไหลแบบนิวโตเนียน มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว กรดไขมันที่สำคัญประกอบด้วย กรดลิโนเลอิก (41.90%) กรดปาล์มิติก (34.30%) กรดสเตอริก (8.15%) และกรดโอเลอิก (9.40%) การสกัดด้วยวิธีเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ระยะเวลา 10 ชั่วโมงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุด ได้สารสกัดกากกาแฟที่มีความสามารถต้านออกซิเดชันจากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP (174.73 ± 5.14 , 278.21 ± 16.16 , 198.37 ± 4.09 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ ตามลำดับ) การสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่ 500 วัตต์ แอมพลิจูด 60% ระยะเวลา 6 นาที เป็นสภาวะการสกัดสารสกัดกากกาแฟมีความสามารถต้านออกซิเดชันวิเคราะห์วิธี DPPH, ABTS และ FRAP (201.55 ± 16.07 , 297.50 ± 23.23 , 201.53 ± 27.91 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ ตามลำดับ) วิเคราะห์ความคงตัวต่อออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่ไม่เติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน ร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 0, 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วน ด้วยวิธี Rancimat โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่ไม่เติมสารด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

พบว่า การเติมสารสกัดกากกาแฟร่วมกับกรดแอสคอร์บิก 100 ส่วนในล้านส่วนสามารถช่วยยืดอายุการเสื่อมเสียของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันโดยเพิ่มขึ้น(32.76% และ7.94% ตามลำดับ) จากน้ำมันที่ไม่มีการเติมสารสกัดกากกาแฟที่มีค่าเท่ากับ 4.09 และ 2.77 ชั่วโมงตามลำดับ เป็น 5.43 และ 2.99 ชั่วโมงตามลำดับ และการใช้กรดแอสคอร์บิกร่วมกับสารสกัดกากกาแฟสามารถช่วยเสริมฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดกากกาแฟได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Properties of spent coffee oil and application of ultrasound technique to extract phenolic compounds from spent coffee grounds
Student	Miss Pichaya Charoenterasakuldej
Student ID.	58608047
Degree	Master of Science
Program	Food Science
Year	2017
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Porjai Thamakorn

ABSTRACT

The objectives of this research were to study the properties of spent coffee oil extracted with hexane and to optimize the extract condition of defatted spent coffee grounds (SCG) extracts with 70% ethanol by shaker method and ultrasound-assisted extraction. Shaker time 5, 10, 15 and 20 h were attempted. The extraction amplitude (20, 40, 60 and 80 %) and time (1, 3, 6, 10 and 15 min) were studied with ultrasound-assist extraction. The results showed that SCG oil was Newtonian fluid. The total unsaturated fatty acid was higher than that the saturated fatty acid. The extracted oil from this experiment which comprised of linoleic acid 41.90%, palmitic acid 34.30%, stearic acid 8.15%, and oleic acid 9.40%. The optimum condition of shaker extract was at 200 rpm speed for 10 h extraction time with the antioxidant activities from DPPH, ABTS, and FRAP assay were 174.73 ± 5.14 , 278.21 ± 16.16 , $198.37 \pm 4.09 \mu\text{M}_{\text{Trolox}}/\text{g}$, respectively. The selected condition of ultrasound-assisted extraction was at 60% amplitude for 6 min with 500 watt power, which antioxidant activities from DPPH, ABTS, and FRAP assay were 201.55 ± 16.07 , 297.50 ± 23.23 , $201.53 \pm 27.91 \mu\text{M}_{\text{Trolox}}/\text{g}$, respectively. Oil stability analysis by Rancimat method of refined soybean oil and refined sunflower oil added with 300 ppm of defatted SCG extract and varied amount of ascorbic acid 0, 50, 100 ppm were compared with refined soybean oil and refined sunflower oil antioxidant free. Result was defatted SCG extracts combined with 100 ppm ascorbic acid could increase the oxidative stability of the soybean oil and sunflower oil (32.76% and 7.94%, respectively) from 4.09

and 2.77 h to 5.43 and 2.99 hours, respectively. The applying of ascorbic acid together with defatted SCG extract showed the synergist antioxidant effect of defatted SCG extract in the testing edible oils.



กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำวิทยานิพนธ์ในหัวข้อเรื่องสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยในการสกัดและคุณสมบัติของน้ำมันจากกาแฟได้ การสนับสนุนด้านวัตถุดิบจากกาแฟ คุณทิพลักษณ์ ภาวสุทธีวงศ์ (ผู้จัดการฝ่ายทรัพยากรบุคคลและบริหารทั่วไป) บริษัทอายิโนะโมะโต๊ะ (ประเทศไทย) จำกัด

งานวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับคำปรึกษา คำแนะนำและข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์ รวมไปถึงการแก้ปัญหาต่างๆ ขอขอบพระคุณอย่างยิ่งต่ออาจารย์ ผศ.ดร. พอใจ ถามากร ซึ่งให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ให้คำปรึกษาในด้านงานวิจัยและกรุณาเสียสละเวลาอันมีค่า เพื่อแนะนำและให้คำปรึกษาที่เป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี ตลอดจนช่วยเรียบเรียงแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นเพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบคุณอาจารย์ รศ.ดร.ระติพร มูลสาร, ดร.กิตติชัย บรรจง และ ผศ.ดร.ภาวินี คีแท้ คณะกรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์นี้ได้ให้คำแนะนำตลอดจนช่วยชี้แนะจนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้

นอกจากนี้งานวิจัยที่สำเร็จลุล่วงไปได้เกิดจากกำลังใจจาก พี่น้อง เพื่อนๆ อันเป็นที่รักของข้าพเจ้า รวมถึงการสนับสนุนและให้ความร่วมมือช่วยเหลือจากเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เหนือสิ่งอื่นใด งานวิจัยที่สำเร็จลุล่วงไปได้นี้ เกิดจากพระคุณของบิดามารดาซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูบาอาจารย์ทุกท่านที่ได้สั่งสอน ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้ให้แก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้าขอกราบขอบคุณทุกท่าน ทุกฝ่าย มา ณ ที่นี้

พิชญา เจริญธีระสกุลเดช

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตงานวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 กาแฟ.....	4
2.2 คากกาแฟ.....	5
2.2.1 องค์ประกอบของคากกาแฟ.....	5
2.3 น้ำมันคากกาแฟ.....	7
2.4 คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก.....	8
2.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.....	9
2.5.1 วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH assay).....	10
2.5.2 วิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS).....	11
2.5.3 วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay).....	11
2.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด.....	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	12
2.6.1 การสกัดน้ำมันจากกากกาแฟ.....	12
2.6.2 สารสกัดจากกากกาแฟ.....	14
2.6.3 การใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันบริ โภค.....	16
2.6.4 การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด.....	17
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	19
3.1 วัตถุประสงค์.....	19
3.2 สารเคมี.....	19
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	20
3.4 วิธีการดำเนินงาน.....	22
3.4.1 การสกัดน้ำมันจากกากกาแฟและศึกษาสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้.....	22
3.4.2 การศึกษาสารสกัดจากกากกาแฟ.....	23
3.4.3 ศึกษาประสิทธิภาพการยืดอายุน้ำมันบริ โภคของสารสกัดจากกากกาแฟ.....	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	26
4.1 การสกัดน้ำมันจากกากกาแฟและศึกษาสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้.....	26
4.2 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมัน.....	32
ด้วยวิธีเขย่า	
4.3 การสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์.....	36
4.3.1 สกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมัน ศึกษาแอมพลิจูด 20, 40, 60 และ 80 %....	36
ที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที	
4.3.2 สกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมัน ศึกษาระยะเวลาในการสกัด.....	39
1, 3, 6, 10 และ 15 นาที ที่แอมพลิจูด 60%	
4.4 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันบริ โภคของสารสกัดจาก.....	43
กาแฟ	

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.5 ศึกษาประสิทธิภาพการยืดอายุในน้ำมันบริโภคของสารสกัดกากกาแฟ.....	46
เสริมฤทธิ์ด้วยกรดแอสคอร์บิก	
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	49
บรรณานุกรม.....	51
ภาคผนวก	
ก. การวิเคราะห์ทางเคมีและกายภาพ.....	63
ข. ผลจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	78
ค. กากกาแฟและสารสกัดกากกาแฟ.....	95
ประวัติผู้เขียน.....	97

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันกากกาแฟ.....	27
4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันกากกาแฟ.....	31
4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบ.....	33
โพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการแช่ ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง	
4.4 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี.....	34
DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟ	
4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบ.....	37
โพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง	
500 วัตต์ แอมพลิจูด 20%, 40%, 60% และ 80% ระยะเวลา 10 นาที	
4.6 สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH,.....	38
ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่น	
อัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 20%, 40%, 60% และ 80% ระยะเวลา 10 นาที	
4.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบ.....	40
โพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้อัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ และ	
แอมพลิจูด 40% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที	
4.8 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH,.....	41
ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่น	
อัลตราซาวด์	
สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 40% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที	
4.9 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัด....	44
กากกาแฟสกัดน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร	
4.10 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟสกัด.....	45
น้ำมัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร	
4.11 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติม.....	46
สารสกัดกากกาแฟและกรดแอสคอร์บิก ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ	
20 ชั่วโมงต่อลิตร	
ก.1 แสดงค่าความหนืดของน้ำมันกากกาแฟด้วยเครื่องBrookfield viscometer.....	64

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ปฏิกริยาระหว่าง DPPH [•] และสารต้านอนุมูลอิสระ.....	11
4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Hue และ Chroma ของน้ำมันกากกาแฟ.....	28
4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP..... และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการเขย่าด้วย ความเร็ว 200 รอบต่อนาที กับระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง	34
4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP..... และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ กับ แอมพลิจูด 0%, 20%, 40%, 60% และ 80% โดยใช้ระยะเวลา 10 นาที	38
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP..... และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ กับ แอมพลิจูด 40% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที	41
ก.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate และ Shear stress ของน้ำมันกากกาแฟ.....	65
ก.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Hue และ Chroma ของน้ำมันกากกาแฟ.....	66
ก.3 กราฟมาตรฐานของกรดแกแลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	72
ก.4 เครื่อง Rancimat และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง.....	76
ค.1 กากกาแฟผ่านการบด (a) และกากกาแฟผ่านการสกัดน้ำมัน (b) ตามลำดับ.....	96
ค.2 น้ำมันกากกาแฟ.....	96
ค.3 สารสกัดกากกาแฟ.....	96

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

ปัจจุบันตลาดกาแฟกำลังเติบโตอย่างมาก กาแฟเป็นหนึ่งในสินค้าทางการเกษตรซึ่งมีการซื้อขายกันมากที่สุดในโลกโดยในปี ค.ศ. 2001 ผลผลิตกาแฟโลกมี ประมาณ 7.01 ล้านตัน จากเนื้อที่เก็บเกี่ยว 67.01 ล้านไร่ และบราซิลเป็นประเทศผู้ผลิต รายใหญ่ของโลก 14.39 ล้านไร่ ผลผลิต 1.78 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 124 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมาเป็นเวียดนาม ส่วนผลผลิตของไทย คิดเป็นร้อยละ 1.12 ของผลผลิตโลก (จารุภรณ์ ศรีประเสริฐ, 2540) ดังนั้นเมื่อมีการบริโภคที่เพิ่มขึ้นทำให้เกิดของเสียที่เป็นกากกาแฟในภาคอุตสาหกรรมและร้านค้าที่มีการทำเครื่องดื่มกาแฟจะเกิดกากกาแฟเป็นจำนวนมาก ตั้งแต่ปี 2010 จนถึงปี 2014 มีการเพิ่มขึ้นร้อยละ 6 มีปริมาณทั้งหมด 9,600,00 ตัน (Yang *et al.*, 2016) การผลิตกาแฟทั้งในรูปแบบสำเร็จรูปและการชงด้วยกาแฟแก้ว ทำให้เกิดกากกาแฟ (spent coffee) เหลือทิ้งจำนวนมากภายหลังจากกระบวนการผลิต นับว่าในปัจจุบันมีโอกาพบกากกาแฟเหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก มีความเป็นไปได้ในการนำกากกาแฟมาเป็นวัตถุดิบในการทำอุตสาหกรรมเพื่อผลิตน้ำมันกากกาแฟ ซึ่งนำไปต่อยอดผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซล ซึ่งกากกาแฟเป็นขยะอินทรีย์ความชื้นสูง โดยจะสร้างปัญหาในด้านการจัดเก็บและการกำจัด ขยะอินทรีย์ชนิดนี้ทำให้เกิดก๊าซมีเทน ส่งผลต่อสภาวะโลกร้อนได้ (พิชัย เอี้ยวเล็ก และกฤษ สมนึก, 2558) และส่งผลทำให้เกิดมลพิษในสภาพแวดล้อมจากกาแฟอื่นและแทนนินที่มีอยู่ในกากกาแฟ (Leifa *et al.*, 2000) แต่ในกากกาแฟประกอบด้วยน้ำมันร้อยละ 12-16 โดยน้ำหนักแห้ง มีคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และสารประกอบฟีนอลิกสูง พบว่าสารสกัดจากกากกาแฟมีกรดคลอโรจีนิกสามารถออกฤทธิ์ต้านทานการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Ramalakshmi *et al.*, 2009; Mussatto *et al.*, 2011a; Murthy and Naidu, 2012)

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นปฏิกิริยาทางเคมีในอาหารที่ประกอบด้วยไขมันและน้ำมัน เกิดระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษา ปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียด้านคุณภาพของอาหาร โดยมีปัจจัยที่กระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ออกซิเจน อุณหภูมิ แสง เอนไซม์ และโลหะ ส่งผลให้อาหารเกิดกลิ่นรสที่ไม่ต้องการ รวมไปถึงการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ

ของอาหาร (Auroma, 1998) ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ในอุตสาหกรรมอาหาร ทำให้ลดการยอมรับของผู้บริโภคในผลิตภัณฑ์อาหารนั้น

จากงานวิจัยเกี่ยวกับการผลิตไบโอดีเซล (พิชัย เอี้ยวเล็ก และกฤษ สมนึก, 2558) พบว่า กากกาแฟที่เหลือจากการสกัดน้ำมันเพื่อนำไปผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลจะไม่ได้นำไปใช้ประโยชน์ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของน้ำมันจากกากกาแฟที่สกัดได้และนำกากกาแฟที่ถูกสกัดน้ำมันออกไปแล้ว นำมาศึกษาการสกัดสารสกัดด้วยเทคนิคคลื่นอัลตราซาวด์เพื่อหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่จะสามารถสกัดสารสกัดได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดในการออกฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดดังกล่าวในการยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมัน

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.1 เพื่อศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้จากกากกาแฟ
- 1.2 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยการใช้อัลตราซาวด์ช่วยสกัด (ultrasound-assisted extraction, UAE) ได้แก่ แอมพลิจูดในการสกัด และระยะเวลาในการสกัด
- 1.3 เพื่อนำสารสกัดจากกาแฟใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมันสำหรับบริโภค

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

กากกาแฟอาราบิก้า ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อายิโนโมโตะ (ประเทศไทย) จำกัด โรงงานพระประแดง จังหวัดกรุงเทพฯ นำมาสกัดน้ำมันใช้ตัวทำละลายเฮกเซน (hexane) ด้วยวิธีการเขย่า ศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ (ความหนืด ดัชนีการหักเหแสง ค่าสี) และคุณสมบัติทางเคมี (องค์ประกอบของกรดไขมัน กรดไขมันอิสระ ค่าไอโอดีน ค่าเปอร์ออกไซด์ค่า สะปอนนิฟิเคชัน) ของน้ำมันกากกาแฟ สกัดสารสกัดจากกาแฟด้วย เอทานอล 70% วิธีที่ใช้ในการสกัดมี 2 วิธี คือ วิธีสกัดด้วยการเขย่า ศึกษาระยะเวลาการสกัด 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง และสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ ศึกษาระดับแอมพลิจูด 20, 40, 60 และ 80 % ที่เวลาในการสกัด 10 นาที และระยะเวลาในการสกัด 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถออกฤทธิ์ในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันศึกษาโดยวิธี DPPH, ABTS, FRAP ของสารสกัดกากกาแฟ นำสารสกัดกากกาแฟมาประยุกต์เติมในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ที่ไม่ได้เติมสารออกฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ความเข้มข้น 0, 100 และ 1000 ppm และศึกษาการใช้สารสกัดกากกาแฟร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเพื่อเสริมฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยใช้กรดแอสคอร์บิก 0, 50 และ 100 ppm ร่วมกับสารสกัดกากกาแฟ 300 ppm วิเคราะห์ความคงตัวของตัวอย่างน้ำมันด้วยวิธี rancimat

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 สามารถนำกากกาแฟซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมมาสกัดเป็นน้ำมันกากกาแฟที่มีประโยชน์และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้ง
- 1.4.2 ทราบผลของแอมพลิจูดในการสกัด และระยะเวลาในการสกัดที่มีต่อการสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันสำหรับการสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์
- 1.4.3 สามารถนำสารสกัดกากกาแฟเติมในน้ำมันบริ โลก เพื่อใช้เป็นสารต้านการเกิดออกซิเดชันในการยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันสำหรับบริ โลก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กาแฟ

กาแฟ (coffee) เป็นหนึ่งในสินค้าทางการเกษตรที่มีการซื้อขายกันมากที่สุดในโลก และในปัจจุบันกาแฟได้กลายเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมากที่สุด มีสารคาเฟอีน กรดคลอโรจินิก กรดซิตริก โพรตีน กลูโคส และน้ำมันหอมระเหยต่างๆ กาแฟเติบโตได้ดีในที่สูง อากาศชื้น เมล็ดกาแฟเป็นแหล่งน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ ประกอบด้วย แมนแนนหรือกาแลคโตแมนแนน อะราบิโนกาแลคแตน ไทน์ II และเซลลูโลส (Bradbury and Halliday, 1990)

พันธุ์กาแฟ มีมากมายหลากหลายพันธุ์ แต่ที่รู้จักกันโดยทั่วไปมีอยู่ 2 พันธุ์ คือ

2.1.1 กาแฟอาราบิก้า (arabica) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Coffea Arabica* L. เป็นสายพันธุ์ที่นิยมปลูกและบริโภคกันมากที่สุดในโลก มีปริมาณการผลิตถึงร้อยละ 80 ในตลาดกาแฟโลก กาแฟชนิดนี้ให้ผลผลิตที่มีคุณภาพ มีกลิ่นและรสชาติที่ดีที่สุด เมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้านี้มีรูปทรงค่อนข้างเรียวยาว รอยผ่าใ้กลางมีลักษณะคล้ายตัว S เมื่อผ่านกระบวนการผลิตแล้ว กาแฟพันธุ์นี้จะมิกกลิ่นหอมหวาน อบอวล ชับช้อน คล้ายกลิ่นช็อคโกแลตและดอกไม้รสชาตินุ่มละมุน มีปริมาณคาเฟอีนต่ำ ประมาณร้อยละ 1.1-1.7 หรือประมาณครึ่งหนึ่งของพันธุ์โรบัสต้าในสัดส่วนเท่ากัน กาแฟอาราบิก้าชอบความเย็น เจริญเติบโตและให้ผลผลิตดีในพื้นที่ที่มีระดับความสูงตั้งแต่ 800-2,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล สำหรับในประเทศไทยนิยมปลูกในเขตพื้นที่ทางภาคเหนือ เช่น เชียงใหม่ เชียงราย ตาก น่าน แม่ฮ่องสอน ลำปาง สายพันธุ์ที่นิยมปลูกมากคือ สายพันธุ์คาร์ติมอร์ (Materpiece Coffee Roasting House, 2013)

2.1.2 กาแฟโรบัสต้า (robusta) ชื่อทางวิทยาศาสตร์ *Coffea robusta* Pierre ex A.Froehner L. เป็นกาแฟพันธุ์ที่ต้องการความชุ่มชื้นสูง ปลูกง่ายให้ปริมาณผลผลิตมาก นิยมปลูกกันมากในทวีปแอฟริกาและเอเชีย สามารถปลูกในพื้นที่ที่มีระดับความสูงตั้งแต่ 500-600 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล สำหรับประเทศไทยนิยมปลูกกันทางภาคใต้ เช่น จังหวัดชุมพร, สุราษฎร์ธานี, นครศรีธรรมราช เมล็ดพันธุ์ของโรบัสต้าจะอวบอ้วน ด้านหลังมีลักษณะนูนเป็นหลังเต่า รอยผ่าใ้กลางเมล็ดจะเป็นเส้น

ค่อนข้างตรง กาแฟสายพันธุ์นี้รสชาติฝาดกว่าพันธุ์อาราบิก้า และมีปริมาณคาเฟอีนสูงกว่า 1-2 เท่าหรือประมาณร้อยละ 2.0-4.5 ส่วนใหญ่จะนำมาผลิตเป็นกาแฟสำเร็จรูป หรือนำมาผสมกับกาแฟพันธุ์ อาราบิก้า เพื่อให้ได้รสชาติที่แตกต่างออกไป (Materpiece Coffee Roasting House, 2013)

2.2 กาากาแฟ

กากกาแฟ คือ ผงของกาแฟคั่วบด ที่ผ่านการสกัดผ่านน้ำร้อนออกมา เป็นส่วนที่เหลือของกาแฟ หลังจากการชง ประกอบด้วยสารประกอบอินทรีย์จำนวนมาก ได้แก่ กรดไขมัน กรดอะมิโน โพลีฟีนอล แร่ธาตุ โพลีแซคคาไรด์ ลิกนิน เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส มีความชื้นมากกว่าร้อยละ 50 (Kondamudi *et al.*, 2008) ซึ่งเมื่อเก็บไว้นานๆจะทำให้เกิดราขึ้น หากต้องการนำไปใช้ประโยชน์มักเก็บในรูปของแข็งโดยการอบหรือตากแดดให้แห้ง กากกาแฟสามารถนำไปใช้ประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆดังนี้

1. ผลิตไบโอดีเซล (Caetano *et al.*, 2012) น้ำมันกากกาแฟสามารถใช้ผลิตไบโอดีเซล ผ่านกระบวนการเอสเทอร์ฟิเคชันและกระบวนการทรานเอสเทอร์ฟิเคชัน
2. เป็นแหล่งน้ำตาล (Mussato *et al.*, 2011b) กากกาแฟมีน้ำตาลมาก (45.3%) ถูกไฮโดรไลต์ด้วยกรดเจือจาง ได้น้ำตาลเฮมิเซลลูโลส ประกอบด้วย แมนโนส กาแลคโตส อาราบิโนส
3. ผลิตถ่านกัมมันต์ (Kante *et al.*, 2012) คาเฟอีนเป็นสารตั้งต้นของไนโตรเจนมีบทบาทสำคัญต่อตัวเร่งในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไฮโดรเจนซัลไฟด์ ในการเตรียมถ่านกัมมันต์จากกากกาแฟ
4. ตัวดูดซับเพื่อกำจัดไอออนของโลหะ (Fiol *et al.*, 2008) กากกาแฟคั่วใช้เป็นตัวดูดซับโลหะของโครเมียมจากสารละลายในน้ำที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 3.0

2.2.1 องค์ประกอบของกากกาแฟ

2.2.1.1 คาร์โบไฮเดรต มีน้ำตาลพอลิเมอร์ไรซ์จำนวนมากภายในโครงสร้างเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ประกอบด้วย แมนโนส ร้อยละ 46.8 กาแลคโตส ร้อยละ 30.4 กลูโคส ร้อยละ 19 และอาราบิโนส ร้อยละ 3.8 ในกากกาแฟพบว่า โพลีแซคคาไรด์มีสัดส่วนของแมนแนนมากที่สุด (Mussato *et al.*, 2011b) กากกาแฟสามารถไฮโดรไลซ์และมีประสิทธิภาพในการหมักยีสต์ได้เอทานอล (Mussato *et al.*, 2012) ความแตกต่างขององค์ประกอบทางเคมีของกากกาแฟมีปัจจัยคือ สายพันธุ์ของเมล็ดกาแฟ, กระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ และกระบวนการสกัด (Simoes *et al.*, 2009)

2.2.1.2 สารประกอบไนโตรเจน สารประกอบไนโตรเจนทั้งหมดของกาแฟขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเมล็ดกาแฟและกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 8.5-13.6 (Belitz *et al.*, 2004) ประกอบด้วยสารที่มีไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ ไตรโกเนลลิน เอมีนอิสระและกรดอะมิโน (Delgado *et al.*, 2008) กรดอะมิโนจำเป็นที่พบมากในกากกาแฟ คือ ลิวซีน วาลีน ฟีนิลอะลานีน และไอโซลิวซีน อยู่ในรูปของ BCAA (branched chain amino acids) (Oomah, 2001) ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีนในกากกาแฟมีมาก ประมาณ 46% ของไนโตรเจนทั้งหมด (Sikka *et al.*, 1985)

2.2.1.3 สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน เป็นส่วนของกลิ่นรสของกาแฟและคุณภาพระหว่างการคั่ว ในกากกาแฟประกอบด้วย

ก. คาเฟอีน หรือ พิวรีนแอลคาลอยด์ (purine alkaloid) เป็นสารประกอบที่พบมากในกาแฟและผลิตภัณฑ์จากกาแฟ คาเฟอีนในกากกาแฟน้อยกว่าคาเฟอีนในเมล็ดกาแฟ พบว่าคาเฟอีนมีในปริมาณที่สูงกว่าในเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (Tello *et al.*, 2011) สารสกัดกากกาแฟอาราบิก้ามีคาเฟอีนประมาณร้อยละ 0.5 คาเฟอีนในเมล็ดกาแฟประมาณร้อยละ 1.6 (Ramalakshmi *et al.*, 2009)

ข. สารประกอบสีน้ำตาล สารประกอบไนโตรเจนสีน้ำตาลเกิดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ หรือปฏิกิริยาเมลลาร์ดระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์และสารประกอบในกลุ่มกรดอะมิโนอิสระ ได้แก่ เมลานอยดิน (Moreira *et al.*, 2012) ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอาหารและการถนอมอาหาร มีความสามารถเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Jung *et al.*, 2014) กากกาแฟประกอบด้วยเมลานอยดิน (melanoidins) ร้อยละ 16 (Nunes and Coimbra, 2010)

2.2.1.4 ลิปิด ในกากกาแฟ มีลิปิดร้อยละ 10-15 (Jenkins *et al.*, 2014) และบางครั้งค่าเฉลี่ยสูงกว่าร้อยละ 20 (19.9-27.8%) (Lago *et al.*, 2001) น้ำมันกากกาแฟสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีความเป็นกรดร้อยละ 3.65 และค่าสะaponิฟิเคชัน 173 (Al-Hamamre *et al.*, 2012) มีกรดไขมันอิสระ 7.9-14 % ค่าความเป็นกรด 4-10 และค่าสะaponิฟิเคชัน 120-148 (Ravindranath *et al.*, 1972)

2.2.1.5 แร่ธาตุ กากกาแฟมีเถ้าร้อยละ 1.6 ประกอบด้วย โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม โพแทสเซียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากที่สุด (Mussatto *et al.*, 2011a) กากกาแฟเอสเปรสโซ มีแร่ธาตุทั้งหมดดังนี้ โพแทสเซียม แมกนีเซียมฟอสฟอรัส แคลเซียม โซเดียม เหล็ก แมงกานีส และ คอปเปอร์ มีทั้งหมดร้อยละ 0.82-3.52 (Cruz *et al.*, 2012)

2.2.1.6 สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกในกากกาแฟมีความสามารถในการต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบและต้านสารก่อมะเร็ง (de Souza *et al.*, 2004) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในเมล็ดกาแฟคือ กรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid, CGA) สูงถึงร้อยละ 12 (Esquivel and Jimenez, 2012) กรดคลอโรจีนิกละลายน้ำได้อยู่ในรูปเอสเทอร์ระหว่างกรดควินิก (quinic acid) และกรดคาเฟอิก (caffeic acid) หรือกรดทรานส์-ซินนามิก (trans-cinnamic acid) สารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในการกาแฟคือในกรดคาเฟอิลควินิก (caffeoylquinic acid, CQA) ประกอบด้วย กรดโมโนคาเฟอิลควินิก (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA) และกรดไดคาเฟอิลควินิก (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA) เป็นตัวบ่งชี้และปริมาณในกากกาแฟที่ได้จากแหล่งต่างกัน (Bravo *et al.*, 2012) สารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกจากกากกาแฟ สกัดโดยวิธีใช้ตัวทำละลายเพื่อละลายสารที่ต้องการออกจากของแข็ง (solid-liquid method) ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เมทานอล 60% (40 มิลลิลิตรต่อกรัมของกากกาแฟ, 90 นาที) ได้สารสกัดที่มีฟีนอลิกมาก (16 มิลลิกรัมแกลลิกสมมูล (GAE) ต่อกรัมของกากกาแฟ) มีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง (FRAP 0.10 มิลลิโมลของเหล็ก(II)ต่อกรัม) (Mussatto *et al.*, 2011a) สารสกัดกากกาแฟมีสารประกอบฟีนอลิกมากน้อยขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมในการสกัดที่เป็นมิตรและขั้นตอนการสกัดด้วยตัวทำละลาย การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เอทานอลมีอิทธิพลต่อธรรมชาติของสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่สกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ (Pavlovic *et al.*, 2013)

2.3 น้ำมันกากกาแฟ

น้ำมันกากกาแฟแบ่งเป็น 2 กลุ่มตามปริมาณของกรดไขมันคือ น้ำมันกากกาแฟที่มีกรดปาล์มติกต่ำ (น้อยกว่า 40%) กรดลิโนเลอิกสูง (มากกว่า 40%) และน้ำมันกากกาแฟที่มีกรดปาล์มติกสูง (มากกว่า 40%) กรดลิโนเลอิกต่ำ (น้อยกว่า 40%) น้ำมันกากกาแฟที่มีกรดปาล์มติกสูงเป็นแหล่งกรดปาล์มติกที่เหมาะสมสำหรับการผลิตสบู่ น้ำมันกากกาแฟกลุ่มที่มีอัตราส่วนกรดไขมันไม่อิ่มตัวต่อกรดไขมันอิ่มตัวมากกว่า 1 สามารถลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดโรคหลอดเลือดแข็งตัว และป้องกันโรคหัวใจ (Rudel *et al.*, 1995) น้ำมันกากกาแฟจากเทคนิคการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด มีองค์ประกอบของกรดไขมันแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสถานะการสกัด ได้แก่ ความดัน, อุณหภูมิ และอัตราตัวทำละลายต่อก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Ahangari *et al.*, 2013)

น้ำมันกากกาแฟประกอบด้วย ไตรเอซิลกลีเซอรอล ร้อยละ 84.4 แอลกอฮอล์เอสเตอร์ไอเทอร์พีน ร้อยละ 12.3 สเตอรอล ร้อยละ 1.9 สารมีขี้ ร้อยละ 1.3 และสเตอรอลเอสเตอร์ร้อยละ 0.1 (Ratnayake *et al.*, 1993) สารที่สะปอนนิไฟเคชันไม่ได้ ประกอบด้วยไอเทอร์พีน(diterpenes) คาห์วีออล (kahweol) และคาเฟสตอล (cafestol) มีความสามารถในการป้องกันผิวจากรังสียูวีบี ด้านมะเร็งด้านการอักเสบ และด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Silva *et al.*, 2014) กรดไขมันที่พบในน้ำมันกากกาแฟประกอบด้วยกรดไขมัน ลิโนเลอิก ปาล์มิติก สเตอริก และโอเลอิก กรดไขมันลอริกและไมริสติก พบน้อยในน้ำมันกากกาแฟขึ้นอยู่กับ สภาพการสกัด กระบวนการผลิตและธรรมชาติของกากกาแฟที่ใช้สกัด (Todaka *et al.*, 2013)

ในน้ำมันกากกาแฟอาราบิก้ามีสเตอรอลร้อยละ 5.4 ประกอบด้วย ซิโตสเตอรอล (sitosterol, 53%) สติกมาสเตอร์อล (stigmasterol, 21%) แคมเปสเตอร์อล (campesterol, 11%) และไซโคอาร์ทีนอล (cycloartenol, 8%) สเตอรอลของกากกาแฟขึ้นอยู่กับธรรมชาติของกากกาแฟที่สกัดและแหล่งที่มาของกาแฟ (Spiller, 1998)

2.4 คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก

คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves) หรือคลื่นอัลตราซาวด์เป็นคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่หูมนุษย์จะได้ยิน การนำเอาคลื่นย่านอัลตราโซนิกมาใช้ เพราะเป็นคลื่นที่มีทิศทางทำให้สามารถส่งคลื่นเสียงไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้โดยเจาะจง ยิ่งคลื่นมีความถี่สูงขึ้นความยาวคลื่นก็จะยิ่งสั้นลง

การนำคลื่นอัลตราซาวด์ มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหรือในกระบวนการแปรรูปอาหาร สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่

- 1) การใช้อัลตราซาวด์กำลังต่ำและความถี่สูง (low power and high frequencies) ความถี่ที่ใช้อยู่ในช่วง 5-10 เมกะเฮิร์ตซ์ และให้พลังงานเสียงอยู่ในระดับ 100 มิลลิวัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ถึง 1 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ซึ่งใช้ในด้านการวิเคราะห์ (diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่

- 2) การใช้อัลตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) หรือพาวเวอร์อัลตราซาวด์ (power ultrasound) ความถี่ที่ใช้อยู่ในช่วง 20 - 100 กิโลเฮิร์ตซ์ และให้พลังงานเสียงอยู่ในระดับ 10-1000 วัตต์ต่อตารางเซนติเมตร ลักษณะเครื่องผลิตอัลตราซาวด์ชนิดดังกล่าวนี้เป็นแบบโพรบ

(probe) (Baumann *et al.*, 2005) มักนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารเพื่อการตรวจวัดคุณภาพ และใช้ในการแปรรูปอาหาร เช่น การสกัด (sonication) การทำให้เกิดอิมัลชัน (emulsification) การทำลายเซลล์ของจุลินทรีย์ เช่น รา ยีสต์ และแบคทีเรีย เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ซึ่งอาจใช้ร่วมกับเทคนิคอื่น เช่น การแปรรูปด้วยความร้อน (thermal processing) การใช้ความดันสูง นอกจากนี้คลื่นอัลตราโซนิกยังนำมาใช้ในการล้างทำความสะอาดวัตถุดิบ เช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร โดยให้น้ำสั่นที่ความถี่สูง สิ่งสกปรกจะหลุดออกมาได้ง่ายขึ้น

การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการสกัดของพืช เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบเป็นเซลล์นั้น มีส่วนผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุดซึ่งจะเป็นตัวต้านทานการสกัดได้ การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ความถี่ต่ำ (low frequency ultrasound) 20-100 กิโลเฮิร์ตซ์ ช่วยในการสกัด ซึ่งการสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอน คือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะสารสำคัญ ออกจากเซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง โดยอัลตราซาวด์ทำให้ swelling index สูงขึ้นดีกว่าการใช้การกวนทางกล อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการโดยการเกิดปรากฏการณ์แคปิวเทชัน (cavitation) เนื่องมาจากคลื่นประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟอง (bubble) ของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก เมื่อฟองเหล่านี้ได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัด จะทำให้ฟองแตกออกและเกิดเป็นคลื่นกระแทกขนาดเล็ก (microjet) ที่มีความแรงมากทำให้ผนังเซลล์ของพืชถูกทำลาย เมื่อผนังเซลล์ของพืชแตกออกจะทำให้อัตราการถ่ายเทมวลสารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการชะสารสำคัญออกจากเซลล์พืชที่ถูกทำลายได้มากขึ้น นอกจากนี้การทำให้ขนาดของตัวอย่างเล็กลงก่อนจะเพิ่มการสัมผัสกับตัวทำละลายและเกิดโพรงได้ง่ายขึ้น (สุเมธ บุญเกิด, 2556)

การสกัดโดยวิธีใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยสกัด มี 3 รูปแบบ (สุเมธ บุญเกิด, 2556)

1. การสกัดทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง เช่น น้ำในการส่งผ่านคลื่นเสียง
2. การสกัดโดยตรงแบบใช้โพรบ (probe) เป็นแหล่งกำเนิดคลื่นเสียง
3. การสกัดโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับถังสกัด

2.5 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity determination)

สารต้านอนุมูลอิสระสามารถจำแนกออกได้เป็นหลายประเภท และมีกลไกในการทำปฏิกิริยาแตกต่างกันออกไปตามคุณสมบัติเฉพาะตัว ดังนั้น การวิเคราะห์หรือทดสอบความสามารถในการยับยั้ง

หรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระจึงไม่สามารถทำได้อย่างสมบูรณ์โดยใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งเพียงวิธีเดียว เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระ จากธรรมชาติมีความซับซ้อนของคุณสมบัติในทางเคมี วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

1) วิธีการวิเคราะห์กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพเป็นการทดสอบเพื่อหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยอาศัยหลักการต่างๆ เช่น การทำให้เกิดสี การทำให้เกิดตะกอน ความสามารถในการละลายในตัวทำละลายและการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ การตรวจวัดสารโพลีฟีนอลชนิดต่างๆ เช่น Shinoda test และ Pew test โครมาโตกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography, TLC) และการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC)

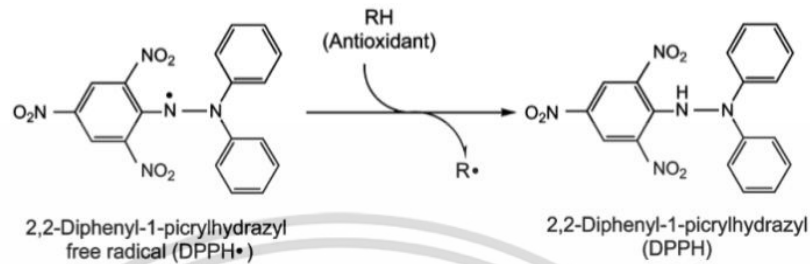
2) วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่างๆ โดยวิธีที่นิยมใช้ ได้แก่ 2, 2-azobis (3 ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ the oxygen radical absorption capacity (ORAC) และอื่นๆ ซึ่งนำมาใช้ในการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันในผักและผลไม้

2.5.1 วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH assay)

เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในสารต้านออกซิเดชัน โดยใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็น stable radical ในตัวทำละลายเมทานอล เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมมาก เพราะเป็นวิธีที่เรียบง่ายและมีความไวสูง (Moon and Shibamoto, 2009 ; Karadag *et al.*, 2009) วิธี DPPH ขึ้นอยู่กับกลไกการถ่ายโอนอิเล็กตรอน และเฉพาะเจาะจงมากขึ้นสำหรับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดลิโปฟิลิก ระหว่างการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH นั้น สารต้านอนุมูลอิสระสามารถให้อิเล็กตรอนหรือโปรตอนกับ DPPH จะได้ DPPH ที่เป็นสารสีม่วงเข้ม แสดงดังภาพที่ 2.1 (Ebada *et al.*, 2008 ; Molyneux, 2004 ; Gressler *et al.*, 2010 ; Moon and Shibamoto, 2009) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ สามารถประเมินได้โดยการตรวจสอบการดูดกลืนแสงที่ลดลงในช่วงความยาวคลื่นระหว่าง 515 และ 528 นาโนเมตร (Giada and Mancini-Filho, 2009 ; Wu *et al.*, 2006 ; Karadag *et al.*, 2009) ตัวอย่างที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงจะลดลง

ซึ่งจะรายงานผลการทดลอง เป็นค่า 50% effective concentration (EC_{50}) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH[•] เหลืออยู่ 50%



ภาพที่ 2.1 ปฏิกริยาระหว่าง DPPH[•] และสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : Moon and Shibamoto (2009)

2.5.2 วิธี 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS)

เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt เป็น stable radical ใน aqueous solution สารละลายนี้มีสีเขียว มีหลักการ คือ สร้างอนุมูลอิสระที่มีสีขึ้น โดยสร้างอนุมูลอิสระจากการทำปฏิกิริยาของสารละลาย ABTS กับ oxidizing agent คือ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) เมื่อ ABTS ถูกออกซิไดซ์ ด้วย oxidizing agent จะเกิด ABTS free radical ($ABTS^{\bullet+}$) สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการนำมาทดสอบจะขจัด $ABTS^{\bullet+}$ ที่เกิดขึ้นแล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยหากค่าการดูดกลืนแสงลดลงมาก หรือสีของสารละลายจางลงมากจะแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี

2.5.3 วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay)

เป็นวิธีที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine [$Fe(III) (TPTZ)_2$]³⁺ ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine [$Fe(II) (TPTZ)_2$]²⁺ มีสีม่วงน้ำเงิน สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่า absorbance ที่ 595 nm จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสารตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ferrous sulfate แล้วรายงานเป็นค่า FRAP value (บุหรัน พันธุ์สุวรรณ, 2556)

2.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

ในการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดนิยมใช้วิธี folin-Ciocalteu เป็นวิธี โดยการถ่ายโอนอิเล็กตรอน มีการใช้กันอย่างแพร่หลายสำหรับการหาปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดในพืช เนื่องจากความสะดวก ความเรียบง่ายและให้ผลวิเคราะห์ที่เป็นที่ยอมรับ (Prior *et al.*, 2005) ปฏิกริยาของสาร folin-Ciocalteu กับกลุ่มไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิกในสภาวะที่เป็นด่าง จะทำให้เกิดสารเชิงซ้อนสีน้ำเงินที่สามารถตรวจสอบได้ด้วยวิธี spectrophotometry ในช่วง ความยาวคลื่นระหว่าง 750 และ 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน แสดงผลเป็น ปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเทียบเท่ากับกรดแกลลิก (Karadag *et al.*, 2009 ; Lim *et al.*, 2007) การทดสอบนี้มีความน่าเชื่อถือเทียบเคียงกับผลที่ได้ด้วยวิธี HPLC มีค่าใช้จ่ายน้อย เนื่องจากสารเคมีมีราคาไม่สูงนัก และใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่าวิธี HPLC (Hrnecirik and Fritsche, 2004)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.6.1 การสกัดน้ำมันกากกาแฟ

Al-Hamamre และคณะ (2012) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากกากกาแฟ โดยการสกัดแบบชอกเลต โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน คือ ตัวทำละลายมีขี้ (ไอโซโพรพานอล, เอทานอล และอะซิโตน) และไม่มีขี้ (โทลูอีน, คลอโรฟอร์ม, เฮกเซน และเพนเทน) และศึกษาคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ประกอบด้วย ปริมาณกรดไขมันอิสระ(FFA) หรือ ค่าความกรด(AV), ค่าสะปอนนิฟิเคชัน (SV), ความหนาแน่น, ความหนืด, องค์ประกอบของกรดไขมัน และค่าความร้อนของน้ำมันที่สกัดได้จากกากกาแฟ พบว่า การใช้ตัวทำละลายเฮกเซนในการสกัดน้ำมันเป็นเวลา 30 นาที ได้น้ำมันออกมามากที่สุด 15.3% ค่าความกรด(AV) และ ค่าสะปอนนิฟิเคชัน(SV) ของน้ำมันที่ได้จากการสกัดมีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด โดยปริมาณกรดไขมันอิสระของน้ำมันกากกาแฟที่สกัดด้วยเฮกเซนเป็น 3.65% (ค่าความเป็นกรดของน้ำมันกากกาแฟ 7.3 มิลลิกรัม โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำมันกากกาแฟ) ซึ่งมีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่น (เอทานอล 3.85%, ไอโซโพรพานอล 6.40%, คลอโรฟอร์ม 4.55% และโทลูอีน 4.15%) ค่าสะปอนนิฟิเคชันของน้ำมันกากกาแฟที่สกัดด้วยเฮกเซน 173.9 มีค่าความหนาแน่นของน้ำมันกากกาแฟที่สกัดด้วยเฮกเซน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 1.1084 กรัมต่อลูกบาศก์เซนติเมตร

Abdullah และKoc (2013) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากกากกาแฟผสมระหว่างสายพันธุ์อาราบิก้า และสายพันธุ์โรบัสต้าโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัด พบว่าสามารถสกัดกากกาแฟได้น้ำมัน 13% โดยน้ำหนักแห้ง วิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดเป็นเวลา 30 นาที สามารถสกัดน้ำมันออกจากกากกาแฟได้ถึง 98% และการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดสามารถเพิ่มผลผลิตของน้ำมันจากกากกาแฟและช่วยลดปริมาณเฮกเซนที่ใช้ในการสกัด น้ำมันจากกาแฟมีองค์ประกอบเมทิลเอสเทอร์ของกรดไขมันเหมือนกับในน้ำมันถั่วเหลืองโดยพบกรดลิโนเลอิก (C18:2) มากที่สุด รองลงมาคือกรดปาล์มิติก (C16:0), กรดโอเลอิก (C18:1) และกรดสเตอริก (C18:0) ตามลำดับ องค์ประกอบของกรดไขมันที่คล้ายกันของน้ำมันจากกาแฟและน้ำมันถั่วเหลืองบ่งชี้ว่า น้ำมันจากกาแฟสามารถเป็นแหล่งผลิตเชื้อเพลิงไบโอดีเซลได้

Acevedo และคณะ (2013) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากกากกาแฟโดยใช้เฮกเซนด้วยวิธีการสกัดน้ำมันที่แตกต่างกัน (วิธีชอกเลต, วิธีสกัดด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด, สะปอนนิฟิเคชัน โดยตรง) และศึกษาสารประกอบ ไคเทอร์พีน (คาห์วีโอล, คาเฟสตอล) จากกากกาแฟเพื่อตรวจสอบองค์ประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการออกฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของกากกาแฟและกากกาแฟสกัดไขมันออก พบว่า การสกัดน้ำมันโดยวิธีชอกเลตได้ผลผลิตน้ำมันสูงที่สุด (26.4%) น้ำมันจากกากกาแฟมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (50%) โดยมีกรดลิโนเลอิก (45%) และกรดปาล์มิติก (30%) เป็นกรดไขมันอิสระที่พบมากในกากกาแฟ กากกาแฟเป็นแหล่งสารประกอบโพลีฟีนอลิก สารประกอบโพลีฟีนอลิกของสารสกัดจาก เอทานอล 50% ต่อกากกาแฟ 5 ต่อ 1 และ เอทานอล 50% ต่อกากกาแฟสกัดน้ำมัน 5 ต่อ 1 คือ 255 และ 273 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม ตามลำดับ มีสารไคเทอร์พีนสูงที่สุด (คาห์วีโอล 214 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมกากกาแฟ และ คาเฟสตอล 466 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมกากกาแฟ)

Barbosa และคณะ (2014) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสกัดน้ำมันด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวดของกากกาแฟเอสเปรสโซ โดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์บริสุทธิ์เพื่อเพิ่มปริมาณสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยเทอร์พีน 2 หน่วยหรือไอโซพรีน 4 หน่วย ได้แก่ kahweol, cafestol และ 16-O-methylcafestol ตัวแปรที่ศึกษา คือความดัน (140-160 บาร์), อุณหภูมิ (40-70 องศาเซลเซียส) และ เอทานอลในก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (เอทานอล 0-5% โดยน้ำหนัก) สภาวะการสกัดที่ดีที่สุด ได้ผลผลิตที่สูงที่สุดคือ ความดัน 190 บาร์, อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ เอทานอล 5 % โดยน้ำหนัก ได้ผลผลิตน้ำมัน 11.97 กรัมไขมันต่อ 100 กรัมกากกาแฟ สภาวะของการสกัดน้ำมันด้วยของไหลวิกฤติ

ยิ่งยวดที่ให้ความเข้มข้นของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยเทอร์พีน 2 หน่วยในการทดลองที่ได้ผลที่ดีที่สุด คือ ความดัน 140 บาร์, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และ เอทานอล 0% ได้ 102.90 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำมัน เมื่อหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดที่สุด คือ ความดัน 140 บาร์, อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เอทานอล 0 % และ ความดัน 190 บาร์, อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และ เอทานอล 0 % การสกัดน้ำมันด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยเทอร์พีน 2 หน่วย ถึง 212 - 410 %

Melo และคณะ (2014) ศึกษาการสกัดน้ำมันด้วยชอกเลตโดยใช้เฮกเซนสกัดจากกากกาแฟเอสเปรสโซเพื่อศึกษาองค์ประกอบของไตรเอซิลกลีเซอไรด์ พบว่า มีกรดลิโนเลอิก 44.5%, กรดปาล์มิติก 37.5%, กรดโอเลอิก 8.31%, กรดสเตอริก 7.07%, แอลฟาไลโนเลอิก 1.42% และกรดอะราคิติก 1.16% สกัดน้ำมันได้ 15.0% โดยน้ำหนักแห้ง

Phimsen และคณะ (2016) ศึกษาการสกัดน้ำมันจากกากกาแฟพันธุ์อาราบิก้าโดยวิธีชอกเลตด้วยตัวทำละลายเฮกเซน พบว่าได้น้ำมันจากการสกัดกากกาแฟ 13% น้ำมันกากกาแฟมีค่ากรดไขมันอิสระสูง 6.14% ในการผลิตไบโอดีเซลได้ศึกษาตัวแปร คือ ระยะเวลา, อุณหภูมิ และไฮโดรเจนต่อน้ำมัน พบว่า ระยะเวลา 2 ชั่วโมง และอุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะการผลิตที่ได้ปริมาณดีเซลที่มาก ผลผลิตก้นที่ได้อีกส่วนประกอบด้วย n-pentadecane และ n-heptadecane

2.6.2 สารสกัดกากกาแฟ

Zuorro และ Lavecchia (2012) ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากกากกาแฟโดยใช้เอทานอลสกัดในอ่างควบคุมอุณหภูมิและคนด้วยแท่งแม่เหล็ก พบว่า กากกาแฟที่เก็บจากร้านกาแฟ (SCG-1) มีฟีนอลิกทั้งหมด 17.75 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ และกากกาแฟจากกาแฟสดเอสเปรสโซ่ แบบสำเร็จรูป (SCG-2) มีสารฟีนอลิกทั้งหมด 21.56 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ การสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้เอทานอลและการสกัดได้สภาวะอุณหภูมิไม่สูง โดยศึกษาตัวแปร คือ อุณหภูมิ (30-50 องศาเซลเซียส), เวลาในการสกัด (60-120 นาที), อัตราส่วนของเหลวต่อของแข็ง (20-40 มิลลิลิตรต่อกรัม) และความเข้มข้นของเอทานอล (30-70 %โดยปริมาตร) ในสภาวะที่ดีที่สุด พบว่าได้สารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 90% โดยอุณหภูมิ, อัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว และความเข้มข้นของเอทานอล เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลมากที่สุดและมีผลกระทบต่อประสิทธิภาพการสกัด

Pascoa และคณะ (2013) ตรวจสอบคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกากกาแฟ โดยวิธีฟูเรียทรานสฟอร์ม เนียร์อินฟราเรด สเปกโตรสโกปี (FT-NIR spectroscopy) ตรวจสอบคุณสมบัติความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างกากกาแฟ (n=101) ความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกากกาแฟตรวจสอบโดยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดกากกาแฟมีสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงได้แก่ กรดคลอโรจีนิก และฟลาโวนอยด์ ตัวอย่างกากกาแฟมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูง ความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกากกาแฟตรวจสอบโดยวิธี ABTS พบว่า ค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกากกาแฟอยู่ในช่วงระหว่าง 35 ถึง 296 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ ค่าฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟอยู่ในช่วงระหว่าง 3.9 ถึง 30.5 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ และค่าฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟอยู่ในช่วงระหว่าง 2.2 ถึง 19.5 มิลลิกรัมคาเทชินต่อกรัมกากกาแฟ

Xu และคณะ (2015) ศึกษาการสกัดสารฟีนอลิกที่สามารถออกฤทธิ์ต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากกากกาแฟด้วยการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤต โดยศึกษาผลผลิตของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยการวิเคราะห์ ABTS และ DPPH โดยศึกษา 3 ตัวแปร คือ อุณหภูมิ (160-180 องศาเซลเซียส), เวลา (35-55 นาที) และอัตราของแข็งต่อของเหลว (14.1-26.3 กรัมต่อลิตร) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุด มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 86.23 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ สารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป ABTS 81.38 มิลลิโมลของกรดโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ และ DPPH 42.13 มิลลิโมลของโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ ศึกษาวิธีการซ้อนกราฟ contour พบว่าที่ อุณหภูมิ 179 องศาเซลเซียส, เวลา 36 นาที และอัตราของแข็งต่อของเหลว 14.1 กรัมต่อลิตรเป็นที่ยอมรับในข้อมูลของการทำน่ายภายใต้สภาวะที่เหมาะสม มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 88.34 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ สารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปอนุมูล ABTS $^{+}$ 88.65 มิลลิโมลของกรดแกลลิกต่อกรัมกากกาแฟ และ DPPH $^{+}$ 38.28 มิลลิโมลของโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ และพบว่า มีสาร 3-O-caffeoylquinic acid และ 4-O-caffeoylquinic acid เป็นสารหลักของสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกากกาแฟ

Magalhaes และคณะ (2016) ศึกษาวิธีการประเมินอย่างรวดเร็ว (rapid assessment) โดยวิธีฟูเรียทรานสฟอร์ม เนียร์อินฟราเรด สเปกโตรสโกปี (FT-NIR spectroscopy) กับโดเมนทางความถี่ของพี

นอลิกที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัดจากกากกาแฟ โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50% ในการศึกษา การวิเคราะห์หีสเปกตรัมด้วยเทคนิค NIR เป็นเทคนิคที่รวดเร็วและเป็นเทคนิคทดสอบแบบไม่ทำลาย พบว่า กากกาแฟเป็นแหล่งของสารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีมาก กากกาแฟมีฟีนอลิก 3 ชนิด ได้แก่ กรดคาเฟอิก, คาเทชิน และ กรดคลอโรจีนิก และเมทิลแซนทิน 3 ชนิด ได้แก่ คาเฟอีน, ทีโอโบรมีน และทีโอฟีลลีน ตรวจโดยใช้ HPLC ด้วยตัววัดชนิด diode array คาเฟอีนเป็นสารประกอบที่พบ มีความเข้มข้น 740 ถึง 12,400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมกากกาแฟ และกรดคลอโรจีนิกมีความเข้มข้น 157 ถึง 3,593 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมกากกาแฟ

2.6.3 การใช้สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันบริโภค

Frankel (1996) กล่าวว่า คุณสมบัติของสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดแอสคอร์บิกในน้ำมันบริโภค การทำงานของกรดแอสคอร์บิกขึ้นกับสถานะของกรดแอสคอร์บิก สามารถเป็น antioxidant, pro-oxidant, metal chelator, reducing agent หรือ oxygen scavenger ระบบของเหลวที่มีโลหะ กรดแอสคอร์บิกสามารถทำหน้าที่เป็น pro-oxidant เพื่อให้ไอเล็กตรอนแก่โลหะ กรดแอสคอร์บิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพที่ความเข้มข้นสูง การใช้ร่วมกันระหว่างกรดแอสคอร์บิกกับแอลฟาโทโคฟีรอลมีผลช่วยเสริมฤทธิ์กัน ได้ดีในรูปแบบตัวรับอิเล็กตรอน

Carelli และคณะ (2005) ศึกษาความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในน้ำมันทานตะวัน ของแอลฟาโทโคฟีรอล กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก และแอสคอร์บิลปาลมิเตต โดยเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และทดสอบความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชันด้วยวิธี rancimat พบว่า ความคงตัวของน้ำมันที่เติมกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก ความคงตัวของน้ำมันที่เติมแอสคอร์บิลปาลมิเตต เพิ่มขึ้นจนถึงเติมแอสคอร์บิลปาลมิเตตที่ 400 ส่วนในล้านส่วน เพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเติมแอสคอร์บิลปาลมิเตตจาก 400 ถึง 800 ส่วนในล้านส่วน ซึ่งเพิ่มน้อยกว่าเมื่อเทียบกับกรดแอสคอร์บิก กรดแอสคอร์บิกละลายได้ดีในน้ำมันเมื่อไม่มีเอสเทอร์ การเติมกรดแอสคอร์บิกในน้ำมันทานตะวันพบว่า กรดแอสคอร์บิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพดีมาก เมื่อเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติชนิดอื่น

Regazzoni และคณะ (2016) ศึกษาสาร โพลีฟีนอลจากเมล็ดกาแฟ, กาแฟคั่วจากเครื่องเอสเพรสโซ และเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (coffee silver skin) สกัดด้วยเอทานอล 70% และวิเคราะห์ด้วยเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารผสมที่อยู่ในสถานะของเหลว ซึ่งอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบที่ผ่านไปในคอลัมน์ (HPLC-UV) เทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวโดยสารบริสุทธิ์จะ

ถูกตรวจวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์จะได้ข้อมูลจำแนกชนิดและปริมาณขององค์ประกอบฟีนอล พบว่าส่วนเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นแหล่งที่มีคุณค่าทางอุตสาหกรรมในด้านการผลิตสารสกัดที่มีอนุพันธ์ของกรดคลอโรจีนิกซึ่งมีปริมาณและคุณภาพของสารประกอบฟีนอลของเมล็ดกาแฟ วิธีวิเคราะห์ด้วยการเปรียบเทียบความเข้มของสีในการประเมินองค์ประกอบของฟีนอล พบว่ามีรูปอิสระ (เช่น กรดคลอโรจีนิก (CGAs)) และในรูปไม่แตกตัว (เช่น เมลานอยดิน) การสกัดสารสกัดในตัวอย่างกากกาแฟได้ผลผลิต 4.91% สารสกัดจากกาแฟคั่วและกากกาแฟ พบว่า มีฟีนอลสูงที่สุดเมื่อเทียบกับในผลิตภัณฑ์ทั้งหมดมีค่าเกือบ 50% องค์ประกอบของฟีนอลแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A (ความยาวคลื่นสูงสุด 324 นาโนเมตร) ได้แก่ caffeoylquinic acids (CQA), feruloylquinic acids (FQA), dicaffeoylquinic acid (diCQA), feruloyl-caffeoylquinic(FCQA)) และกลุ่ม B (ความยาวคลื่นสูงสุด 310 นาโนเมตร) ได้แก่ para-coumaroylquinic acids (p-CoQA), Coumaroyl-caffeoylquinic acids (p-CoCQA)) โพลีฟีนอลของสารสกัดเมล็ดกาแฟคล้ายกับโพลีฟีนอลของสารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ และสารสกัดจากกากกาแฟ ซึ่งประกอบด้วย caffeoylquinic acids (CQA), feruloylquinic acids (FQA), para-coumaroylquinic acids (p-CoQA), dicaffeoylquinic acid (diCQA), feruloyl-caffeoylquinic(FCQA) และสารสกัดจากกากกาแฟมีโพลีฟีนอล 0.4 %

2.6.4 การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

Al-Dhabi และคณะ (2016) ศึกษาการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกจากกากกาแฟที่สกัดน้ำมันออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยวิธีซอกเลตโดยใช้เอทานอล ปัจจัยที่ศึกษาคือ กำลังคลื่นเสียง, อุณหภูมิ, เวลา และอัตราของแข็งต่อของเหลว พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ กำลังคลื่นเสียง 244 วัตต์, อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, เวลา 34 นาที และอัตราของแข็งต่อของเหลว 1:17 กรัมต่อมิลลิลิตร ได้ฟีนอลิกทั้งหมด 33.84 ± 0.59 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัม, ฟลาโวนอยด์ 5.04 ± 0.07 มิลลิกรัมของควิซตินต่อกรัม, กรดคลอโรจีนิก 1.43 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกรัม และกรดโปรโตคาเทชูอิก 0.53 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม

Oniszczyk และ Olech (2016) ศึกษาความเหมาะสมในการสกัดสารจากผักกะหล่ำโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ และวิเคราะห์กรดฟีนอลิกจากผักกะหล่ำด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีชนิดของเหลว โดยสารบริสุทธิ์จะถูกตรวจวัดด้วยเครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ ตัวอย่างจะถูกทำให้แตกตัวเป็นไอออนด้วยค่าศักย์ไฟฟ้ากำลังสูง หรือใช้เทคนิควิเคราะห์สัดส่วนมวลต่อประจุของอนุภาคที่มีประจุ ศึกษาโดย

ใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิดในการสกัด (เอทานอล, เอทานอล 80%, เมทานอล, เมทานอล 80%) และศึกษา
ระยะเวลาในการสกัด (40 และ 60 นาที) สกัดด้วยคลื่นเสียงที่มีความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต กำลัง 100 วัตต์ พบว่า
ทั้งชนิดของสารละลายและระยะเวลาการสกัดมีอิทธิพลต่อสารฟีนอลิกที่สกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่
สูงในการช่วยสกัด สภาวะการสกัดสารฟีนอลิกที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือ การใช้ตัวทำละลายเอทา
นอล 80% เวลาในการสกัด 60 นาที การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงช่วยในการสกัดให้ผลผลิตของ
สารประกอบที่สูงในระยะเวลาที่สั้น และลดปริมาณการใช้ของตัวทำละลาย

Tomsik และคณะ (2016) ศึกษาการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์สารประกอบออกฤทธิ์ทาง
ชีวภาพจากกระเทียมป่า โดยศึกษา 4 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ (40 ถึง 80 องศาเซลเซียส), ความเข้มข้นเอทา
นอล (30% ถึง 70%), เวลาการสกัด (40 ถึง 80 นาที) และกำลังคลื่นเสียงความถี่สูง (19.2 ถึง 38.4 วัตต์ต่อ
ลิตร) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการช่วยสกัด คือ อุณหภูมิ 80
องศาเซลเซียส, ความเข้มข้นเอทานอล 70%, เวลาการสกัด 79.8 นาที และกำลังของคลื่นเสียงความถี่สูง
20.06 วัตต์ต่อลิตร จากโมเดลพื้นผิวตอบสนอง ได้ค่าสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 1.60 มิลลิกรัมกรด
แกลลิกต่อ 100 กรัมกากกาแฟ, ค่าฟลาโวนอยด์ 0.35 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมกากกาแฟ, สารที่
ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 0.71 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ ผลผลิตจากการสกัด 38.1%

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุดิบ

3.1.1 กาแฟอาราบิก้า (*Coffea Arabica* L.) จากบริษัท อายิโนโมโตะ (ประเทศไทย) จำกัด
โรงงานพระประแดง

3.1.2 น้ำมันถั่วเหลืองจำหน่ายตามท้องตลาด ยี่ห้อก๊วก

3.1.3 น้ำมันทานตะวันจำหน่ายตามท้องตลาด ยี่ห้อก๊วก

3.2 สารเคมี

3.2.1 Hexane (commercial grade)	Etalmar, Thailand
3.2.2 Potassium hydroxide	Ajax Finechem, Australia
3.2.3 Acetic acid	RCI Labscan, Thailand
3.2.4 Chloroform	RCI Labscan, Thailand
3.2.5 Hydrochloric acid	RCI Labscan, Thailand
3.2.6 Acetone	Carlo Erba, Italy
3.2.7 95% Ethyl alcohol	Etalmar, Thailand
3.2.8 Potassium iodide	Carlo Erba, Italy
3.2.9 Sodium hydroxide	Carlo Erba, Italy
3.2.10 Sodium thiosulfate	Carlo Erba, Italy
3.2.11 Starch	Fluka, Germany
3.2.12 Phenolphthaleine	Carlo Erba, Italy
3.2.13 Wijs reagent	Panreac, USA
3.2.14 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	Sigma, USA

3.2.15 Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid)	Sigma, USA
3.2.16 Folin-Ciocalteu's Reagent	Carlo Erba, Italy
3.2.17 p-Anisidine	Acros, Belgium
3.2.18 Isooctane	Merck, Germany
3.2.19 Gallic acid monohydrate	Sigma, USA
3.2.20 Sodium carbonate	Merck, Germany
3.2.21 Sulfuric acid	RCI Labscan, Thailand
3.2.22 ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid))	Sigma, USA
3.2.23 Ethanol	RCI Labscan, Thailand
3.2.24 Potassium persulphate	Carlo Erba, Italy
3.2.25 Cyclohexane	RCI Labscan, Thailand
3.2.26 L-ascorbic	Sigma, USA
3.2.27 Propylen glycol	Ajax Finechem, Australia

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องบดละเอียด (pin mill)	Retsch (ZM 200), Germany
3.3.2 เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator)	BUCHI (B-169), Switzerland
3.3.3 เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic processor)	Sonics (Vibra cell 750), Germany
3.3.4 เครื่องเขย่าสาร (orbital Shaker)	New Brunswick Innova (innova 2100), US
3.3.5 ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Memmert (UM 400), Germany
3.3.6 เครื่องกรองสุญญากาศ (vacuum pump)	Sahaburapa (SP-1A), Thailand
3.3.7 เครื่องวิเคราะห์ความคงตัวของไขมัน	Metrohm (743), Switzerland
3.3.8 เครื่องย่อยไนโตรเจน (kjeldatherm)	Gerhardt (KB 8S), Germany
3.3.9 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (vapodest)	Gerhardt (VAP 30S), Germany

3.3.10 เครื่องสกัดไขมัน (soxtherm)	Gerhardt (S306AK), Germany
3.3.11 เครื่องวิเคราะห์เยื่อใย	Foss (Fibertec™ M6-1020), Denmark
3.3.12 เตาเผา (muffle furnace)	Nabertherm LT40, Germany
3.3.13 เครื่องชั่งละเอียด 2 ตำแหน่ง	Ohuau (ARC 120), USA
3.3.14 เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง	Denver (SI-324), Germany
3.3.15 กระดาษกรองเบอร์ 1	Whatman, England
3.3.16 เครื่องวัดความหนืด	Brookfield (DV-III), USA
3.3.17 เครื่องวัดสี (colormeter)	Hunter Lab (Color Quest XE), Hong Kong
3.3.18 เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์	Shimadzu (UV-1601), Japan
3.3.19 เครื่องวิเคราะห์ดัชนีการหักเหของแสง	ATAGO (RI 1.435-1.520), Japan
3.3.20 เครื่อง centrifuge	Wisd (WiseSpin CF-10), Korea
3.3.21 Vortex mixer	
3.3.22 Micropipettes และ Tips	
3.3.23 Hot plate stirrer	
3.3.24 Thermometer	
3.3.25 ตู้อบลมร้อนแบบถาด (tray dryer)	
3.3.26 โถสำหรับดูดความชื้น (desiccator)	
3.3.27 อุปกรณ์เครื่องแก้ว	

3.4 วิธีการดำเนินงาน

นำกากกาแฟสดที่ขนส่งจากบริษัทผู้ผลิต อบแห้งในตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำกากกาแฟที่ได้มาบดด้วยเครื่องบดละเอียด ผ่านตะแกรงขนาด 60 Mesh (0.25 มิลลิเมตร) เก็บตัวอย่างกากกาแฟที่ผ่านการบดแล้ว นำใส่ถุงที่ปิดสนิทเก็บในที่แห้งที่อุณหภูมิห้อง จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลอง

3.4.1 การสกัดน้ำมันจากกาแฟและศึกษาสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้

ชั่งตัวอย่างกากกาแฟ 15 กรัม น้ำหนักแห้ง ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเฮกเซน 200 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยฟอยล์ นำไปเข้าเครื่องเขย่าสาร ที่อุณหภูมิห้อง เขย่า 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (Regazzoni *et al.*, 2015) เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วนำมากรองสุญญากาศผ่านกระดาษกรอง (Whatman) เบอร์ 1 เพื่อกรองเอาส่วนที่เป็นของแข็งออก จากนั้นนำของเหลวไปแยกตัวทำละลายออกจากน้ำมันด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วนำน้ำมันที่ได้จากการระเหยไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักปริมาณน้ำมันที่ได้ คำนวณหาปริมาณผลผลิต นำน้ำมันจากกาแฟที่สกัดได้จากวิธีการเขย่า เก็บในขวดสีชาปิดสนิท เก็บในตู้เย็น และนำไปวิเคราะห์คุณภาพดังต่อไปนี้

3.4.1.1 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพของน้ำมันจากกาแฟ

3.4.1.1.1 วิเคราะห์ความหนืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer

3.4.1.1.2 วิเคราะห์ดัชนีการหักเหแสงโดยใช้เครื่อง Master refractometer

3.4.1.1.3 วิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE)

3.4.1.2 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของน้ำมันจากกาแฟ

3.4.1.2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมัน (fatty acid compositions) ตามวิธี AOCS (1989)

3.4.1.2.2 วิเคราะห์กรดไขมันอิสระ (free fatty acid) ตามวิธี AOCS (1997)

3.4.1.2.3 วิเคราะห์ค่าไอโอดีน (iodine value; IV) วิธีการ Wijs ตามวิธี AOCS (2009)

3.4.1.2.4 วิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value; PV) ตามวิธี AOCS (1997)

3.4.1.2.5 วิเคราะห์ค่าสะaponนิฟิเคชัน (saponification value; SV) ตามวิธี AOCS (2009)

3.4.2 การศึกษาสารสกัดจากกากกาแฟ

3.4.2.1 การสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยวิธีการเขย่า

ซึ่งกากกาแฟที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 5 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำทำละลายเอทานอล 70% 200 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยฟอยล์ (Regazzoni *et al.*, 2015) นำไปสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันโดยใช้เครื่องเขย่าสาร ความถี่ 200 รอบต่อนาที (Regazzoni *et al.*, 2015) โดยใช้เวลาในการสกัด 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วนำมากรองสุญญากาศ ระเหยตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันได้จากวิธีการเขย่า ปรับปริมาตร 90 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาปิดสนิท ในตู้เย็น เพื่อนำไปวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

3.4.2.1.1 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด (total polyphenol content)

วิเคราะห์ตามวิธีของ Pourmorad *et al.* (2006) ใช้สารสกัดจากกาแฟเจือจาง 0.5 มิลลิลิตร ทำปฏิกิริยากับ 5 มิลลิลิตร Folin Ciocalteu reagent โดยเตรียมจาก Folin Ciocalteu ต่อน้ำกลั่น อัตราส่วน 1 ต่อ 10 หลังจากทำปฏิกิริยา 5 นาที ทำให้สารละลายเป็นกลางด้วย 4 มิลลิลิตร โซเดียมคาร์บอเนต 1 โมล จากนั้นบ่มไว้ 10 นาที นำสารละลายไปตรวจด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่การดูดกลืนแสง 765 นาโนเมตร สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดแสดงในรูปแบบ กรดแกลลิกสมมูล

3.4.3.1.2 วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

a) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging activity) วิเคราะห์ตามวิธีของ Brand-williams *et al.* (1995) เตรียม Stock solution จาก 0.012 กรัม DPPH ละลายในเมทานอล 50 มิลลิลิตร DPPH working solution สามารถเตรียมได้จากการผสมระหว่าง stock solution 10 มิลลิลิตรกับเมทานอล 45 มิลลิลิตร นำสารสกัดจากกาแฟ 0.3 มิลลิลิตรทำปฏิกิริยากับ DPPH working solution 5.7 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและบ่มในที่มืด 30 นาที ตรวจด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่การดูดกลืนแสง 515 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานเส้นตรงระหว่าง 20 ถึง 800 ไมโครโมล ไทรลอกซ์ ผลแสดงในรูปแบบ ไมโครโมล ไทรลอกซ์สมมูลต่อ 1 กรัมกากกาแฟ

b) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging activity) วิเคราะห์ตามวิธีของ Thaipong *et al.* (2006) เตรียม Stock solution จาก 7.4 มิลลิโมล ABTS และ 2.6 มิลลิโมล โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ABTS working solution สามารถเตรียมได้จากการผสมระหว่าง stock solution กับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 หลังจากทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง stock solution เจือจางด้วย เมทานอล 95% นำสารสกัดจากกาแฟ 0.3 มิลลิลิตรทำปฏิกิริยากับ ABTS working solution 5.7 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและบ่มในที่มืด 2 ชั่วโมง ตรวจด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่การดูดกลืนแสง

734 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานเส้นตรงระหว่าง 20 ถึง 600 ไมโครโมลโทรลอกซ์ ผลแสดงในรูปไมโครโมลโทรลอกซ์สมมูลต่อ 1 กรัมกากกาแฟ

c) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP (FRAP radical scavenging activity) วิเคราะห์ตามวิธีของ Benzie and Strain *et al.* (1996) เตรียม Stock solution จาก 10 ไมโครโมล TPTZ ละลายด้วย 40 ไมโครโมล กรดไฮโดรคลอริก กับ 300 มิลลิโมล อะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.6 และ 20 ไมโครโมล เฟอร์ริกคลอไรด์ เฮกซะไฮเดรต FRAP working solution สามารถเตรียมได้จากการผสมระหว่างสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ กับ สารละลาย TPTZ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ในอัตราส่วน 10 ต่อ 1 ต่อ 1 นำสารสกัดกากกาแฟ 0.3 มิลลิลิตรทำปฏิกิริยากับ FRAP working solution 5.7 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันและบ่มในที่มืด 30 นาที ตรวจด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่การดูดกลืนแสง 593 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานเส้นตรงระหว่าง 20 ถึง 400 ไมโครโมลโทรลอกซ์ ผลแสดงในรูปไมโครโมลโทรลอกซ์สมมูลต่อ 1 กรัมกากกาแฟ

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ กำหนดระดับความเชื่อมั่นทางสถิติที่ 95 %

3.4.2.2 การสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งกากกาแฟที่สกัดน้ำมันออกแล้ว 10 กรัมลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมตัวทำละลายเอทานอล 70% 400 มิลลิลิตร ปิดปากขวดด้วยฟอยล์ (Regazzoni *et al.*, 2015) สกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์กำลัง 500 วัตต์

3.4.2.2.1 ศึกษาแอมพลิจูด 20, 40, 60 และ 80 % ที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที

3.4.2.2.2 ศึกษาระยะเวลาในการสกัด 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที ที่แอมพลิจูดที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดจาก 3.4.2.2.1

เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำมากรองสูญญากาศ ระเหยตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นำสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันได้จากวิธีการเขย่าและการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ปรับปริมาตร 90 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาปิดสนิท ในตู้เย็น เพื่อนำไปวิเคราะห์เหมือนข้อ 3.4.2.1.1 และ 3.4.2.1.2

3.4.3 ศึกษาประสิทธิภาพการยืดอายุน้ำมันบริโภคของสารสกัดกากกาแฟ

การเตรียมน้ำมัน (ดัดแปลงจาก Galdon, 2007 และ Salta *et al.*, 2007) โดยเตรียมน้ำมันตัวเหลืองและน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ผสมกับโพรพิลีนไกลคอลร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักของน้ำมัน ไข่แดงแม่เหล็กควน 5 นาที โดยโพรพิลีนไกลคอลทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์

การเตรียมสารสกัดกากกาแฟ นำสารสกัดกากกาแฟไปเซนทริฟิวส์ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที ที่ความเร็วรอบ 10000 รอบต่อนาที เพื่อแยกสารแขวนลอยออกจากส่วนใสของสารสกัด นำส่วนใสของสารสกัดเติมในน้ำมันบริโภค

3.4.3.1 ศึกษาการเติมสารสกัดกากกาแฟ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวัน

นำสารสกัดกากกาแฟปริมาณ 0 ppm, 100 ppm, 1000 ppm เติมในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ที่ไม่เติมสารด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี rancimat ทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ลิตรต่อชั่วโมง คำนวณค่าความคงตัวต่อการออกซิเดชัน (oil stability index; OSI) (AOCS,1997) แสดงเป็นค่า induction time มีหน่วยเป็นชั่วโมง

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ กำหนดระดับความเข้มข้นทางสถิติที่ 95%

3.4.3.2 ศึกษาปริมาณสารสกัดที่มีผลต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันบริโภค

นำน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ที่ไม่เติมสารด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเติมสารสกัดกากกาแฟปริมาณ 0 ppm, 100 ppm, 200 ppm และ 300 ppm วิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี rancimat ทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ลิตรต่อชั่วโมง

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ กำหนดระดับความเข้มข้นทางสถิติที่ 95%

3.4.3.3 ศึกษาการใช้สารสกัดกากกาแฟร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเพื่อด้านการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันบริโภค

ใช้กรดแอสคอร์บิก 50 ppm และ 100 ppm ร่วมกับสารสกัดกากกาแฟปริมาณ 300 ppm เติมในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ที่ไม่เติมสารด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมันด้วยวิธี rancimat ทดสอบความคงตัวที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ลิตรต่อชั่วโมง โดยเปรียบเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์และน้ำมันทานตะวันผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ที่ไม่ได้เติมสารออกฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

วางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำการทดลอง 2 ซ้ำ กำหนดระดับความเข้มข้นทางสถิติที่ 95%

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การสกัดน้ำมันจากกาแฟและศึกษาสมบัติของน้ำมันที่สกัดได้

4.1.1 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้

จากการทดลองโดยสกัดน้ำมันจากกาแฟด้วยวิธีการเขย่าเป็นการสกัดน้ำมันโดยใช้สารละลายเฮกเซน พบว่า ได้ปริมาณน้ำมัน 19.63% ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Lago และคณะ (2001) มีปริมาณน้ำมันอยู่ในช่วง 19.9-27.8% โดยใช้กาแฟจากบริษัทผลิตกาแฟสำเร็จรูป 3 ราย ในประเทศ บราซิล ผลิตทั้งแบบ คั่วบด และไม่คั่วบด สกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ตามด้วยระเหยตัวทำละลายในเครื่องระเหยแบบหมุนภายใต้สูญญากาศ แหล่งกาแฟและวิธีการชงกาแฟที่ต่างกันจึงทำให้ได้ช่วงปริมาณน้ำมันที่ได้แตกต่างกัน ปริมาณน้ำมันขึ้นอยู่กับชนิดสายพันธุ์ของกาแฟ สภาพแวดล้อมในการปลูก กระบวนการสกัดกาแฟ

4.1.2 คุณสมบัติน้ำมันจากกาแฟ

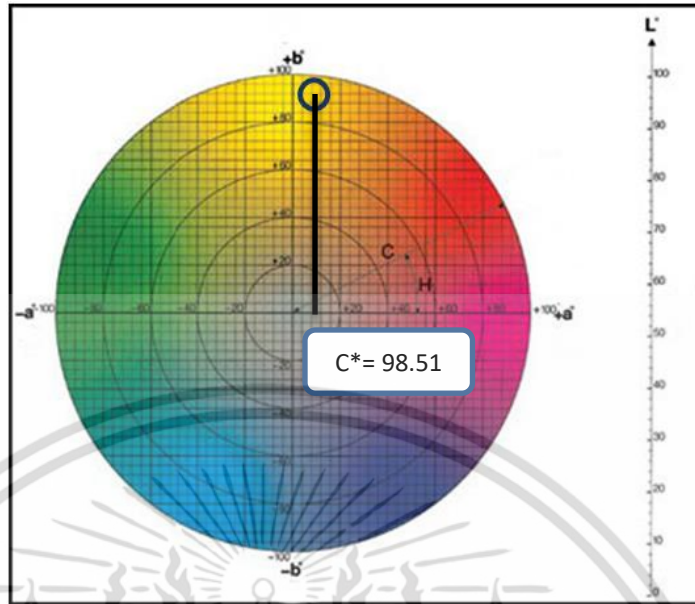
จากการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันจากกาแฟที่สกัดได้ ผลแสดงในตารางที่ 4.1 ความหนืดเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของของเหลวแต่ละชนิด โดยศึกษาแรงต้านการไหลภายใน เมื่อถูกแรงกระทำ แรงต้านเกิดขึ้นเนื่องจากการยึดเกาะกันระหว่างโมเลกุลภายในของเหลว พบว่า น้ำมันจากกาแฟเป็นของไหลแบบนิวโตเนียน (newtonian fluid) ซึ่งของไหลมีกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเค้นเฉือน (shear stress) กับอัตราเฉือน (shear rate) เป็นเส้นตรง เส้นกราฟเริ่มต้นที่จุดกำเนิด (0,0) ค่าความชันของเส้นกราฟเป็นความหนืดของน้ำมันจากกาแฟที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่า 52.49 มิลลิปาสคาลตามตารางที่ 4.1 ซึ่งมีจากงานวิจัยของ Al-Hamamre และคณะ (2012) น้ำมันจากกาแฟวัดความหนืดที่ 40 องศาเซลเซียส มีค่า 50.99 มิลลิปาสคาลวินาที ความหนืดที่แตกต่างกันของน้ำมันจากกาแฟในการทดลองกับงานวิจัยของ Al-Hamamre และคณะ (2012) เนื่องจากอุณหภูมิของน้ำมันจากกาแฟที่ใช้ทดสอบไม่เท่ากัน โดยปัจจัยที่มีผลต่อความหนืด คือ อุณหภูมิของของเหลว โครงสร้างทางโมเลกุลของน้ำมัน และความไม่อึดตัวของกรดไขมัน ถ้าอุณหภูมิของของเหลวสูง ความหนืดของของเหลวจะมีค่าลดลง เมื่อมีกรดไขมันที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้น จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น และหากกรดไขมันมีความไม่อึดตัวเพิ่มขึ้นจะทำให้ความหนืดของไขมันและน้ำมันจะลดลง ในการวัดความหนืดใช้ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เนื่องจากน้ำมันจากกาแฟที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีสถานะเป็นของแข็ง จึงต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในการทดลองเพื่อเปลี่ยนสถานะของน้ำมันจากกาแฟเป็นของเหลว เมื่อ

เปรียบเทียบ งานวิจัย Wanasundara และ Shahidi (2005) พบว่า ความหนืดของน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน น้ำมันมะพร้าว และ น้ำมันมะกอก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่า 45, 47, 39, 55 มิลลิปาสคาลวินาที ตามลำดับ ความหนืดของน้ำมันกากกาแฟมากกว่าน้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน และ น้ำมันมะพร้าว แต่มีความหนืดน้อยกว่าน้ำมันมะกอก

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันกากกาแฟ

คุณสมบัติ	
คุณสมบัติทางกายภาพ	
- ความหนืด ที่อุณหภูมิ 30 ^o C (mPa.s)	52.49 ± 0.02
- ดัชนีการหักเหแสง	1.47 ± 0.00
- ค่าสี	
- Lightness (L*)	69.95 ± 0.72
- Red/Green opponent colors (a*)	13.26 ± 0.27
- Yellow/Blue opponent colors (b*)	97.61 ± 0.17
- Chroma (C*)	98.51 ± 0.20
- Hue angle (H*)	82.26 ± 0.00
คุณสมบัติทางเคมี	
- ค่ากรดไขมันอิสระในรูปกรดกรดลิโนเลอิก (%)	3.91 ± 0.09
- ค่าความเป็นกรด (mg KOH/g)	7.78 ± 0.10
- ค่าไอโอดีน	89.41 ± 1.78
- ค่าเปอร์ออกไซด์ (mEq/kg)	5.04 ± 0.35
- ค่าสะปอนนิฟิเคชัน	156.11 ± 3.40

Note: ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 3 ครั้ง



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Hue และ Chroma ของน้ำมันกากกาแฟ

การวิเคราะห์ดัชนีการหักเหของแสง เป็นการศึกษาค่าความเร็วของแสงที่วิ่งผ่านวัสดุตัวกลาง เทียบกับความเร็วของแสงที่วิ่งผ่านสุญญากาศ เพื่อศึกษาว่าน้ำมันได้เกิดการหักเหแสงเมื่อเดินทางผ่าน วัสดุตัวกลางทั้งสองชนิดนี้ส่งผลให้มันเกิดปฏิกิริยาต่อการมองเห็น โดยค่าที่วัดได้คือ 1.47 ± 0.00 ตาม ตารางที่ 4.1 ซึ่งบ่งชี้ถึงกำลังหักเหแสงของน้ำมันกากกาแฟ ถ้ายิ่งตัวเลขมีค่ามากเท่าใดก็จะมีกำลังการ หักเหแสงที่สูงขึ้น โดยเมื่อแสงเดินทางผ่านตัวกลางที่มีความหนาแน่นน้อยสู่ตัวกลางความหนาแน่น มาก แสงจะหักเหออกเข้าหาเส้นปกติ ดัชนีการหักเหของแสงของอากาศและน้ำที่อุณหภูมิ 20 องศา เซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1 และ 1.33 พบว่า ดัชนีการหักเหของแสงของน้ำมันกากกาแฟมีค่ามากกว่าดัชนี การหักเหของแสงของอากาศและน้ำ ดังนั้นแสงที่เคลื่อนที่ผ่านน้ำมันกากกาแฟ แสงจะหักเหออกเข้าหา เส้นปกติมากกว่าแสงที่เคลื่อนที่ผ่านน้ำ

สีเป็นคุณสมบัติทางแสงของวัตถุ การทดสอบค่าสีของน้ำมันกากกาแฟโดยใช้หลักการของ สเปกโตรโฟโตเมตรี ให้แสงจากแหล่งกำเนิดแสงภายในตัวเครื่อง ตกกระทบกับผิวของวัตถุ อนุภาค ของสีบนผิววัตถุจะดูดกลืนแสงบางช่วงคลื่นไว้ สะท้อนแสงบางช่วงคลื่นออกมา และช่วงคลื่นที่ สะท้อนออกมามจะถูกบันทึกโดยชุดรับสัญญาณ จากการทดลองพบว่า น้ำมันกากกาแฟมีสีใส เป็นวัสดุ แบบทรานสมิชชัน (transmission) ซึ่งแสงสามารถทะลุผ่านได้ มีค่า L^* คือ 69.95 ± 0.72 ตามตารางที่ 4.1 แสดงว่า น้ำมันกากกาแฟค่อนข้างใส มีสีเล็กน้อย มีค่า a^* และ b^* 13.26 ± 0.27 และ 97.61 ± 0.17 เป็นบวก ดังนั้นน้ำมันกากกาแฟมีสีเหลืองเข้มเกือบแดงเพียงเล็กน้อย ค่อนข้างใส ค่า C^* 98.51 แสดงถึง ความสดของสี พบว่าน้ำมันกากกาแฟมีสีที่สด และค่า H^* 82.26 บ่งบอกว่าสีอยู่ตำแหน่งใดของกราฟสี

เพื่อสามารถระบุค่าสีได้ชัดเจนมากขึ้น จากภาพที่ 4.1 แสดงถึงโทนสีของน้ำมันกากกาแฟ พบว่ามีสีเหลือง เมื่อเทียบกับสีที่จางมองเห็น พบว่า น้ำมันกากกาแฟมีสีเหลือง การวัดค่าสีสามารถบอกค่าออกมาเป็นตัวเลขซึ่งแสดงให้เห็นถึงค่าสีเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมได้ จึงมีความสำคัญที่สามารถตรวจสอบและบ่งบอกคุณภาพทางกายภาพของอาหารได้ มีความสำคัญมากในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากสีของอาหารเป็นสิ่งแรกที่ผู้บริโภคใช้ในการตัดสินใจในการเลือกซื้อสินค้า

ค่าความเป็นกรด (AV) และ กรดไขมันอิสระ (FFA) เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำมันและความหืนของน้ำมัน โดยไขมันในรูปไตรกลีเซอไรด์ ถูกย่อยสลายด้วยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยมีเอนไซม์ไลเปสและความร้อนเป็นตัวเร่ง ได้กลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ ดังนั้นน้ำมันจึงมีค่า AV สูงขึ้น แสดงว่าระดับของกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลให้คุณภาพของน้ำมันมีการเสื่อมเสียและเกิดกลิ่นหืนมากขึ้น จากตารางที่ 4.1 พบว่า น้ำมันกากกาแฟจากการทดลองมีค่าความเป็นกรด 7.78 ± 0.10 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกรัมไขมัน และมีปริมาณกรดไขมันอิสระ 3.91 % โดยมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Al-Hamamre และคณะ (2012) ซึ่งน้ำมันกากกาแฟที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน มีค่าความเป็นกรด 7.3 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกรัมไขมัน และมีปริมาณกรดไขมันอิสระ 3.65 %

ค่าไอโอดีน เป็นค่าที่บ่งชี้ว่าน้ำมันมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลมากน้อยเพียงใด หากน้ำมันมีค่าไอโอดีนสูง แสดงว่า มีปริมาณกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมาก และทำให้เกิดกลิ่นหืนชนิดออกซิเดชันได้ง่าย จากผลในตารางที่ 4.1 พบว่า น้ำมันกากกาแฟมีค่าไอโอดีน 89.41 ± 1.78 เมื่อเทียบกับน้ำมันปาล์ม 50-55 (Codex Alimentarius Commission, 1993) พบว่า น้ำมันกากกาแฟมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่สูงกว่า ทำให้เกิดกลิ่นหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายกว่าน้ำมันปาล์ม เมื่อเทียบกับน้ำมันถั่วเหลือง 124-139 และน้ำมันทานตะวัน 118-141 (Codex Alimentarius Commission, 1993) พบว่าน้ำมันกากกาแฟมีค่าไอโอดีนที่ต่ำกว่ามีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่น้อยกว่า เกิดกลิ่นหืนจากปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายกว่าน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวัน

ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงการเสื่อมเสียของน้ำมันจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน (rancidity) ในอาหารที่มีไขมันสูง โดยปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันคือ ระดับของกรดไขมันไม่อิ่มตัว เมื่อพันธะคู่ของไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดส์ด้วยออกซิเจนจะเกิดเปอร์ออกไซด์ (peroxide) ขึ้น ดังนั้นค่าเปอร์ออกไซด์บ่งบอกถึงระดับการเกิดออกซิเดชันและบ่งบอกว่า น้ำมันได้ถูกออกซิไดส์ไปมากเพียงใด พบว่า จากตารางที่ 4.1 น้ำมันกากกาแฟที่สกัดได้มีค่า PV 5.04 ± 0.35 มิลลิอิกวิวาเลนตต่อกิโลกรัม เมื่อระดับการเกิดออกซิเดชันมีมาก ค่า PV จะมีค่ามากตามไปด้วย และน้ำมันกากกาแฟที่สกัดได้เป็นน้ำมันดิบ ที่ยังไม่ผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ ทำให้มีค่า PV มาก

ค่าสะปอนนิฟิเคชัน (SV) เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงขนาดโมเลกุลหรือน้ำหนักโมเลกุลของกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ โดยหากค่า SV มีค่ามาก แสดงว่า กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์มีน้ำหนักโมเลกุลน้อย เพราะค่า SV เป็นค่าที่บอกจำนวนที่ใช้ไปของโพแทสเซียมในการไฮโดรไลซ์น้ำมันอย่างสมบูรณ์ซึ่งจะได้ออกมาเป็นกลีเซอรอลและสบู่ จากตาราง 4.1 พบว่าค่าสะปอนนิฟิเคชันของน้ำมันกากกาแฟ มีค่า 156.11 ± 3.40 บ่งบอกว่า กรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันกากกาแฟมีน้ำหนักโมเลกุลน้อย เนื่องจากน้ำมันกากกาแฟมีค่าสะปอนนิฟิเคชันที่สูง แต่มีค่าน้อยกว่างานวิจัยของ Al-Hamamre และคณะ (2012) ค่า สะปอนนิฟิเคชันของน้ำมันกากกาแฟที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน คือ 173.9 จะพบว่า น้ำมันกากกาแฟจากงานวิจัยทั้งสองงานมีสถานะแวดล้อมในการปลูกกาแฟ กระบวนการผลิตกาแฟ ที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้มีผลต่อองค์ประกอบกรดไขมันใน โมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ของน้ำมันกากกาแฟ



ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมันกากกาแฟ

องค์ประกอบของกรดไขมัน (%)	ผลการทดลอง	Acevedo และคณะ (2013)	Melo และคณะ(2014)
Caprylic acid (C8:0)	0.02	-	-
Capric acid (C10:0)	0.02	0.03	-
Lauric acid (C12:0)	0.05	-	-
Tridecanoic acid (C13:0)	0.01	-	-
Myristic acid (C14:0)	0.10	0.06	-
Pentadecanoic acid (C15:0)	0.04	0.03	-
Palmitic acid (C16:0)	34.30	30.11	37.37
Palmitoleic acid (C16:1)	0.04	0.03	-
Margaric acid (C17:0)	0.08	0.09	-
Stearic acid (C18:0)	8.15	8.46	7.07
Trans-Elaidic acid (C18:1trans)	0.04	-	-
Oleic acid (C18:1)	9.40	9.34	8.31
Linoleic acid (C18:2)	41.90	45.13	44.67
Alpha- Linolenic acid (C18:3)	0.62	1.14	1.42
Arachidic acid (C20:0)	3.70	-	1.16
Eicosenoic acid (C20:1)	0.38	0.11	-
Eicosadienoic acid (C20:2)	0.06	0.05	-
Heneicosanoic acid (C21:0)	0.10	-	-
Behenic acid (C22:0)	0.59	-	-
Tricosanoic acid (C23:0)	0.13	-	-
Lignoceric acid (C24:0)	0.30	-	-
Unsaturated fatty acid	52.40	60.44	54.40
Saturated fatty acid	47.60	39.56	45.60
Monounsaturated fatty acid	9.81	9.78	8.32
Polyunsaturated fatty acid	42.59	50.66	46.08

การวิเคราะห์องค์ประกอบของกรดไขมันเพื่อศึกษาองค์ประกอบของกรดไขมันที่พบในน้ำมันกากกาแฟ จากตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับงานวิจัย Acevedo และคณะ (2013) และ งานวิจัย Melo และ คณะ (2014) แสดงให้เห็นว่า น้ำมันกากกาแฟประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว และมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะมากกว่ากรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ 1 พันธะ พบว่า น้ำมันกากกาแฟมีกรดไขมันที่สำคัญคือ กรด โนเลอิก กรดปาล์มิติก กรดสเตอริก และกรดโอเลอิก มีค่า 41.90%, 34.30%, 8.15%, 9.40% ตามลำดับ โดยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายอันที่พบมากที่สุดคือน้ำมันกากกาแฟ คือ กรดลินโนเลอิก ถัดมาคือกรดไขมันอิ่มตัวปาล์มิติก ซึ่งมีผลสอดคล้องไปในทางเดียวกันกับงานวิจัยของ Acevedo และ คณะ (2013) และ งานวิจัยของ Melo และ คณะ (2014) ที่ศึกษาจากกากกาแฟพันธุ์อาราบิก้า โดยน้ำมันกากกาแฟในงานวิจัยนี้แบ่งกลุ่มตามปริมาณของกรดไขมัน อยู่ในประเภทน้ำมันกากกาแฟกลุ่มที่มีกรดลินโนเลอิกสูง (มากกว่า 40 %) และกรดปาล์มิติกต่ำ (น้อยกว่า 40%)

4.2 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยวิธีเย้า

สารสกัดที่สกัดด้วยวิธีการเย้าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีโดยใช้ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง ให้ผลการทดลองดังตารางที่ 4.3 พบว่า การสกัดที่ใช้ระยะเวลา 20 ชั่วโมงได้สารสกัดกากกาแฟที่มีสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมากที่สุด คือ 18.75 ± 1.65 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ซึ่งกำหนดระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า ระยะเวลาการสกัดที่แตกต่างกันให้ผลไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP จากตารางที่ 4.4 พบว่า ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูง เนื่องจากมีค่าสหสัมพันธ์เข้าใกล้ 1 โดยมีค่าสหสัมพันธ์ TPC กับ DPPH, ABTS, FRAP เท่ากับ 0.8964, 0.7955, 0.8343 ตามลำดับ แสดงว่า ถ้าสารประกอบโพลีฟีนอลในน้ำมันกากกาแฟมีมาก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกากกาแฟจะมากตามไปด้วย สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดกากกาแฟ โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดคือน้ำมันกากกาแฟ คือ กรดคาเฟอิลควินิก (Caffeoylquinic acid; CQA) ประกอบด้วย กรดโมโนคาเฟอิลควินิก (3-CQA, 4-CQA, 5-CQA) และกรดไดคาเฟอิลควินิก (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, 4,5-diCQA) (Bravo *et al.*, 2012) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Pascoa และคณะ (2013) พบว่าในงานวิจัยสกัดสารสกัดกากกาแฟ

ด้วยกากกาแฟ 50 มิลลิกรัม ใช้สารสกัดเอทานอล 50% 20 มิลลิลิตร โดยใช้เวลา 5 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 13.0 ± 5.6 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกจากการสารสกัดกากกาแฟที่สกัดในงานวิจัยโดยใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมง และในทำนองเดียวกัน งานวิจัยของ Mussatto และคณะ (2011a) พบว่าสกัดสารสกัดกากกาแฟอัตราตัวทำละลายต่อตัวอย่าง 10 มิลลิลิตรต่อกรัม โดยใช้เมทานอล 60 % เป็นตัวทำละลาย ใช้ระยะเวลา 90 นาที ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 10.7 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง งานวิจัยที่ศึกษาซึ่งมีความแตกต่างกันเนื่องจากเป็นกากกาแฟที่ได้มีแหล่งกำเนิดกาแฟที่ต่างกัน วิธีการสกัดสารสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน

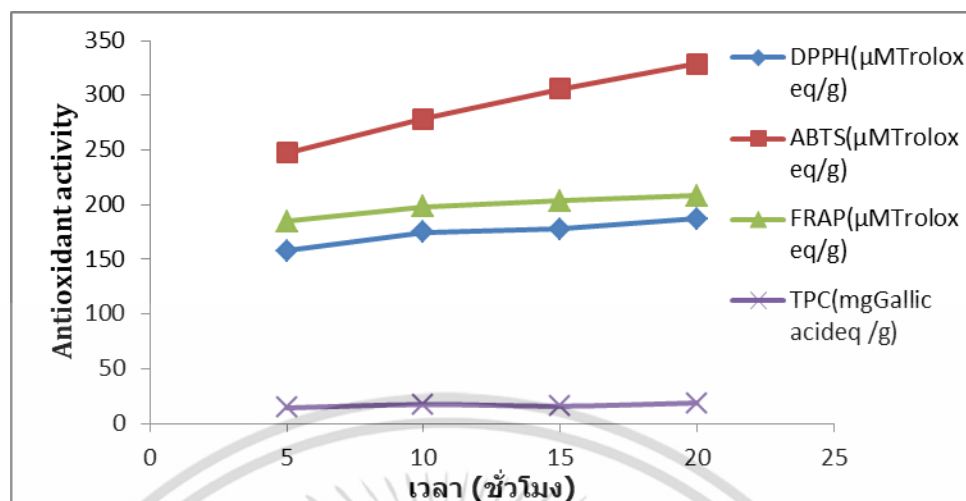
ตารางที่ 4.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดกากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการเขย่า ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	DPPH ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	ABTS ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	FRAP ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	TPC ^{ns} ($\text{mg}_{\text{Gallic acideq}}/\text{g}$)
5	157.91 ± 4.50^b	247.50 ± 45.46^b	184.42 ± 2.98^b	14.16 ± 2.05
10	174.73 ± 5.14^a	278.21 ± 16.16^{ab}	198.37 ± 4.09^{ab}	17.26 ± 2.35
15	177.91 ± 7.07^a	306.07 ± 1.01^{ab}	203.63 ± 5.58^a	15.74 ± 1.04
20	187.00 ± 5.79^a	328.93 ± 3.03^a	208.37 ± 9.30^a	18.75 ± 1.65

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง

a,b หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแถวคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ns หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแถวคอลัมน์เดียวกันไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที กับระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.4 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟ

	DPPH	ABTS	FRAP	TPC
DPPH	1	0.9690	0.9917	0.8964
ABTS		1	0.9748	0.7955
FRAP			1	0.8343
TPC				1

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟโดยใช้วิธี DPPH และ ABTS เป็นการทดสอบความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระ วิธี FRAP เป็นการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ จากผลการทดลองในตารางที่ 4.3 พบว่า สารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีเขย่าโดยใช้ระยะเวลา 20 ชั่วโมง ให้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH, ABTS และ FRAP คือ 187.00 ± 5.79 , 328.93 ± 3.03 และ 208.37 ± 9.30 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ใช้เวลาในการสกัดมาก แต่ได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มน้อยมาก เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าสารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดที่ใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการกำจัด DPPH, ABTS และ FRAP

ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่ระยะเวลา 15 และ 20 ชั่วโมง หรือสามารถเลือกใช้ การสกัดสารสกัดจากกาแฟที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง เพราะความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกับสารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดที่ใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมงไม่มากนัก ซึ่งช่วยลดระยะเวลาและลดการใช้พลังงานในการสกัดได้ จากภาพที่ 4.2 พบว่า เส้นกราฟระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

สารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกาแฟ เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Acevedo และคณะ (2013) พบว่า สารสกัดจากกาแฟสกัดด้วยกาแฟสกัดน้ำมันในอัตราส่วนตัวทำละลายต่อตัวอย่าง 5:1 โดยใช้สารสกัดเอทานอล 50% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (101.63 ± 13.48 ไมโครโมลสมมูลของ Trolox ต่อกรัมตัวอย่าง) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดจากกาแฟที่สกัดโดยใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมง ในงานวิจัยที่ศึกษาซึ่งมีความแตกต่างกันเนื่องจากเป็นกาแฟที่มีแหล่งกำเนิดกาแฟที่ต่างกัน วิธีการสกัดสารสกัดโดยใช้ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย และใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน ในกับงานวิจัยของ Pascoa และคณะ (2013) พบว่า สารสกัดจากกาแฟสกัดด้วยกาแฟ 50 มิลลิกรัม ใช้สารสกัดเอทานอล 50% 20 มิลลิลิตร โดยใช้เวลา 5 ชั่วโมง เขย่าที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระตามวิธี ABTS 180.0 ± 57 ไมโครโมลสมมูลของ Trolox ต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งมีค่าน้อยกว่าสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดจากกาแฟที่สกัดโดยใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมง ในงานวิจัยที่ศึกษาซึ่งมีความแตกต่างกันเนื่องจากเป็นกาแฟที่ได้มีแหล่งกำเนิดกาแฟที่ต่างกัน มีวิธีการสกัดสารสกัดโดยใช้ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด ความเร็วรอบในการสกัด และใช้อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างกับตัวทำละลายในการสกัดที่แตกต่างกัน

ดังนั้นการสกัดสารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที โดยศึกษาการใช้ระยะเวลาต่างๆ (5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง) พบว่า สกัดด้วยการเขย่าเป็นระยะเวลา 10 ชั่วโมงเป็นสภาวะการสกัดที่เหมาะสม ได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดที่มีค่ามาก หรือเลือกใช้การสกัดสารสกัดจากกาแฟที่ระยะเวลา 5 ชั่วโมง เพราะความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกับสารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดที่ใช้ระยะเวลา 10 ชั่วโมงไม่มากนัก อีกทั้งยังช่วยลดระยะเวลาในการสกัด และลดการใช้พลังงานได้

4.3 การสกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมันด้วยการใช้คลื่นอัลตราซาวด์

4.3.1 สกัดสารสกัดจากกากกาแฟสกัดน้ำมัน ศึกษาแอมพลิจูด 20, 40, 60 และ 80 % ที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที

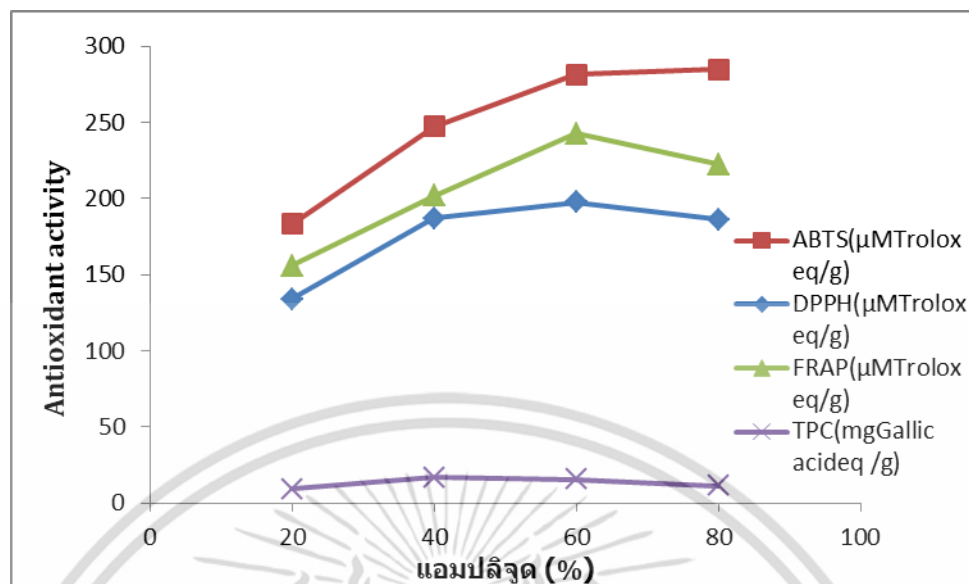
การสกัดสารสกัดจากกาแฟโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ สามารถช่วยลดระยะเวลา และลดการใช้พลังงานที่ใช้ในการสกัดเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยการเขย่า โดยใช้อัตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) ผ่านหัวโพรบ (probe) ที่ใช้ในการกระจายคลื่นเสียง เกิดปรากฏการณ์ cavitation เนื่องจากคลื่นประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยาย ในช่วงขยาย เมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟองของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก เมื่อฟองเหล่านี้ได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัด จะทำให้ฟองแตกออกและเกิดเป็นคลื่นกระแทกขนาดเล็กที่มีความแรงมากทำให้ผนังเซลล์ของพืชถูกทำลาย สารละลายที่ใช้สกัดสารสกัดเข้าไปจะสารสำคัญออกจากเซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง ในตารางที่ 4.5 พบว่า การสกัดสารสกัดจากกาแฟที่แอมพลิจูด 40% มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 16.78 ± 0.96 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งเหมาะสมที่สุดทั้งทางด้านปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มากที่สุดและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับแอมพลิจูด 60 และ 80% เพราะแอมพลิจูดที่ใช้ในการสกัดที่น้อยแต่ได้สารสกัดจากกาแฟที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเมื่อเทียบกับแอมพลิจูดต่างๆที่ศึกษา การใช้แอมพลิจูดสูงในการสกัดอาจเกิดความร้อน โดยพบว่าที่แอมพลิจูด 80% ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลง เมื่อเทียบกับสารสกัดแอมพลิจูด 40% และ 60% ทำให้มีผลต่อเสถียรภาพของสารประกอบฟีนอลิก เช่นเดียวกับสารต้านอนุมูลอิสระในงานของ Hernández-Santos และคณะ (2016) สกัดน้ำมันเมล็ดพืชทองโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ได้ศึกษาระยะเวลาในการสกัด (5-30 นาที) และแอมพลิจูด (25-100%) พบว่า น้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยระยะเวลา 5 นาที ที่แอมพลิจูด 62% ได้น้ำมันสูงที่สุด แสดงว่า แอมพลิจูดเป็นปัจจัยที่ส่งผลกับปริมาณการสกัดน้ำมันจากกาแฟ ซึ่งอาจส่งผลต่อปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกของสารสกัดจากกาแฟ จากตารางที่ 4.6 แสดงค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP พบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูงไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากมีค่าสหสัมพันธ์เข้าใกล้ 1 มีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH กับวิธี ABTS และ FRAP เท่ากับ 0.9410, 0.9450 ตามลำดับ แต่สหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดกับความความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีค่าสหสัมพันธ์ปานกลาง อาจเนื่องจากสารสกัดจากกาแฟมีสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่นนอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ คือ สาร

ลิปิดกลุ่ม unsaponifiable ได้แก่ diterpenes, kahweol และ cafestol ซึ่งมีความสามารถด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Silva และคณะ, 2014) ในขณะที่สารประกอบ ฟีนอลิกอาจถูกทำลายด้วยความร้อนจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ (ศรีณย์ และคณะ, 2555 ; พงศธร และคณะ, 2551 ; Areekul และ Mettamethar, 2006) หรือในสารสกัดจากกาแฟอาจมีสารต้านออกซิเดชันที่มีอิทธิพลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 20%, 40%, 60% และ 80% ระยะเวลา 10 นาที

แอมพลิจูด (%)	DPPH ($\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$ /g)	ABTS ($\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$ /g)	FRAP ($\mu\text{M}_{\text{Trolox}}$ /g)	TPC ($\text{mg}_{\text{Gallic acid}}$ /g)
20	134.00±0.00 ^b	183.27±8.49 ^c	156.10±34.29 ^b	9.29±3.76 ^b
40	187.18±9.64 ^a	247.27±6.60 ^b	201.85±2.83 ^{ab}	16.78±0.96 ^a
60	197.64±19.28 ^a	281.60±11.79 ^a	242.85±9.19 ^a	15.47±0.46 ^{ab}
80	186.27±4.50 ^a	284.93±4.24 ^a	222.60±2.47 ^a	11.32±2.97 ^{ab}

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง a,b,c หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแถวคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่ กำลัง 500 วัตต์ กับ แอมป์ลิจูด 0%, 20%, 40%, 60% และ 80% โดยใช้ระยะเวลา 10 นาที

ตารางที่ 4.6 สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่ กำลัง 500 วัตต์ แอมป์ลิจูด 20%, 40%, 60% และ 80% ระยะเวลา 10 นาที

	DPPH	ABTS	FRAP	TPC
DPPH	1	0.9410	0.9450	0.7776
ABTS		1	0.9353	0.5190
FRAP			1	0.5962
TPC				1

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟโดยใช้วิธี DPPH, ABTS และ FRAP จากตารางที่ 4.5 พบว่า ในการวิเคราะห์ทางสถิติของการสกัดสารสกัดจากกาแฟสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่แอมป์ลิจูด 60% ให้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH, ABTS และ FRAP คือ 197.64 ± 19.28 , 281.60 ± 11.79 และ 242.85 ± 9.19 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ภาพที่ 4.3 พบว่า เส้นกราฟระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระวิธี

DPPH, ABTS และ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงว่า เส้นกราฟของสารสกัดจากกาแฟที่สกัด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงแอมพลิจูด 60% แล้วลดลง เมื่อสกัดโดยใช้แอมพลิจูด 80% แสดงว่า แอมพลิจูดของคลื่นเสียงที่ใช้ในสกัดเป็นปัจจัยที่ส่งผลกับความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในงานวิจัยของ Pascoa และคณะ(2013) พบว่า ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS โดยตรงจากสารสกัดจากกาแฟจากเอทานอล 50% ค่าในช่วงระหว่าง 85 และ 367 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอคซ์ต่อกรัมตัวอย่างกาแฟ ขึ้นอยู่กับกระบวนการการสกัด ซึ่งสารสกัดในงานมีค่าอยู่ในช่วงตามงานวิจัยของ Pascoa และคณะ(2013) เนื่องจากได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการกำจัด DPPH ABTS และ FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่แอมพลิจูด 80% แม้การสกัดสารสกัดจากกาแฟที่แอมพลิจูด 40% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดสารสกัดจากกาแฟที่แอมพลิจูด 60% แต่สารสกัดจากกาแฟที่แอมพลิจูด 60% มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มีค่าสูงกว่ามากและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดที่แอมพลิจูด 40% จึงเลือกใช้การสกัดที่แอมพลิจูด 60% ในขั้นตอนต่อไป

ดังนั้นการสกัดสารสกัดจากกาแฟใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์โดยศึกษาแอมพลิจูดที่ใช้ในการสกัด (0%, 20%, 40%, 60%, 80%) โดยใช้ระยะเวลา 10 นาที พบว่า การสกัดสารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ที่แอมพลิจูด 60% เหมาะสม ได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS, FRAP ที่ดีที่สุด และการสกัดสารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ ที่แอมพลิจูด 40% เป็นอีกตัวเลือกที่เหมาะสม ได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด ซึ่งประหยัดและลดการใช้พลังงานในการสกัดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยวิธีการเขย่า

4.3.2 สกัดสารสกัดจากกาแฟสกัดน้ำมัน ศึกษาระยะเวลาในการสกัด 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที ที่แอมพลิจูด 60%

สารสกัดจากกาแฟโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ที่ 500 วัตต์ช่วยในการสกัดและใช้แอมพลิจูด 60% โดยศึกษาระยะเวลาในการสกัด คือ 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที ดังตารางที่ 4.7 พบว่า การสกัดสารสกัดจากกาแฟที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที มีปริมาณปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมด 16.81 ± 0.33 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ได้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลมากที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน

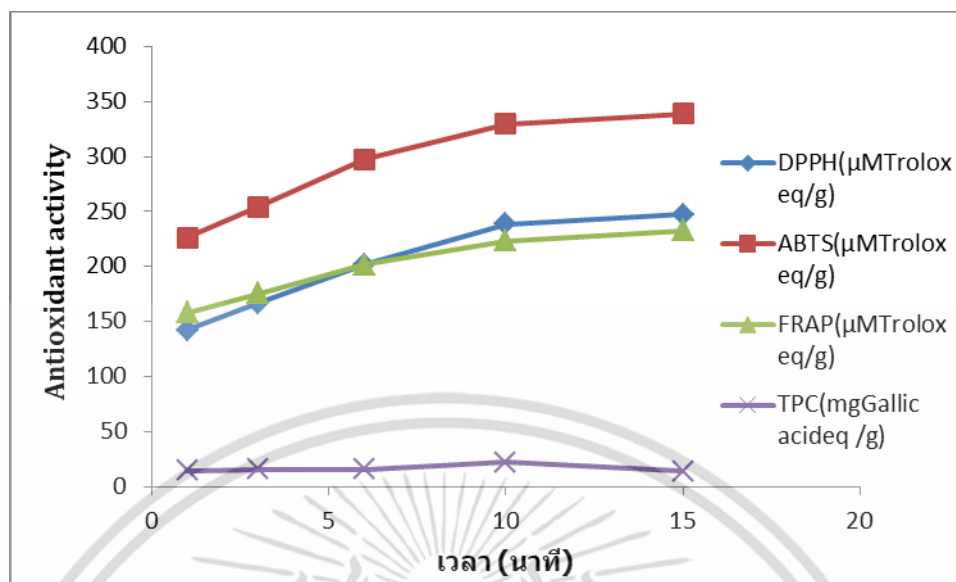
(ANOVA) ซึ่งกำหนดระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่า สารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ใช้ระยะเวลา 6 นาที เป็นระยะเวลาในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้สารสกัดจากกาแฟที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที จากตารางที่ 4.8 แสดงค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลทั้งหมดกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP พบว่า ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้ง 3 วิธี โดยมีค่าสหสัมพันธ์ 0.3503, 0.3324 และ 0.3032 ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากสารสกัดจากกาแฟมีสารต้านออกซิเดชันชนิดอื่นที่มีฤทธิ์ด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน นอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ คือ สารลิปิดกลุ่ม สารสะปอนนิไฟด์ไม่ได้ (unsaponifiable matter) ซึ่งมีความสามารถด้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งอาจมีอิทธิพลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากกาแฟ

ตารางที่ 4.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้อัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ และแอมพลิจูด 60% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที

ระยะเวลา (นาที)	DPPH ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	ABTS ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	FRAP ($\mu\text{M}_{\text{Troloxecq}}/\text{g}$)	TPC ($\text{mg}_{\text{Gallic acideq}}/\text{g}$)
1	142.45±8.36 ^c	226.43±11.62 ^c	158.11±13.40 ^c	14.79±0.90 ^{bc}
3	166.55±20.57 ^{bc}	254.29±27.78 ^{bc}	175.74±6.33 ^{bc}	15.14±0.28 ^{bc}
6	201.55±16.07 ^{ab}	297.50±23.23 ^{ab}	201.53±27.91 ^{ab}	15.52±0.13 ^{ab}
10	238.82±19.93 ^a	329.29±9.60 ^a	223.11±1.86 ^a	16.81±0.33 ^a
15	247.00±21.21 ^a	338.93±3.03 ^a	232.84±12.65 ^a	13.84±0.58 ^c

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง

a,b,c หมายถึง ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแถวคอลัมน์เดียวกันที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่ กำลัง 500 วัตต์ กับ แอมพลิจูด 60% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที

ตารางที่ 4.8 สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และสารประกอบโพลีฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัด ที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 60% โดยใช้ระยะเวลา 1, 3, 6, 10 และ 15 นาที

	DPPH	ABTS	FRAP	TPC
DPPH	1	0.9976	0.9984	0.3503
ABTS		1	0.9985	0.3324
FRAP			1	0.3032
TPC				1

การวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟโดยใช้วิธี DPPH, ABTS และ FRAP จากตารางที่ 4.7 พบว่า การสกัดสารสกัดจากกาแฟสกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่ระยะเวลา 15 นาที ให้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ได้ดี ที่สุด คือ 247.00 ± 21.21 , 338.93 ± 3.03 และ 232.84 ± 12.65 ไมโครโมลสมมูลของโทรลอกซ์ต่อกรัม ตัวอย่าง ตามลำดับ วิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ กำหนดระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบว่าสารสกัดจากกาแฟที่ได้จากการสกัดโดยใช้ระยะเวลา 6 นาที เป็นระยะเวลาการ

สกัดที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากได้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการกำจัด DPPH, ABTS และ FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดที่ระยะเวลา 10 และ 15 นาที จากภาพที่ 4.4 พบว่า เส้นกราฟระหว่างความสามารถต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แสดงว่า ระยะเวลาที่ใช้สกัดเป็นปัจจัยที่ส่งผลกับความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตารางที่ 4.8 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS, FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า ความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP มีความสัมพันธ์กันค่อนข้างสูงไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากมีค่าสหสัมพันธ์เข้าใกล้ 1 โดยมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH กับวิธี ABTS และ FRAP เท่ากับ 0.9976, 0.9984 ตามลำดับ

ดังนั้นการสกัดสารสกัดจากกาแฟวิธีการใช้อัลตราซาวด์ช่วยสกัดที่กำลัง 500 วัตต์โดยศึกษา ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (1, 3, 6, 10 และ 15 นาที) โดยใช้การสกัดที่แอมพลิจูด 60% พบว่า การสกัด สารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีการใช้อัลตราซาวด์ที่ใช้ระยะเวลาในการสกัด 6 นาทีเหมาะสมที่สุด เมื่อเทียบ การสกัดจากกาแฟจากวิธีการเขย่าและวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ พบว่า การสกัดได้สารสกัดจากกาแฟ ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ประหยัดเวลาและต้นทุน คือ วิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ กำลัง 500 วัตต์ ที่แอมพลิจูด 60% ระยะเวลา 6 นาทีเป็นการสกัดที่ให้สารสกัดจากกาแฟที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เนื่องจากสารสกัดจากกาแฟที่สกัดด้วยคลื่นอัลตราซาวด์ที่แอมพลิจูดและ ระยะเวลาสกัดสูง ทำให้เกิดความร้อนซึ่งส่งผลต่อความคงตัวของสารประกอบฟีนอลิก ทำให้มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกลดลง เนื่องจากเสื่อมสลายได้ง่ายด้วยความร้อนรวมถึงส่งผลต่อความสามารถใน การต้านอนุมูลอิสระด้วย (ศรีณย์ และคณะ, 2555 ; พงศธร และคณะ, 2551 ; Arekul และ Mettamethar, 2006) โดยสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วยสองส่วน คือ กรดฟีนอลิกอิสระ (free phenolic acid) และ กรดฟีนอลิกยึดเหนี่ยวทั้งหมด (bound phenolic acid) อาจเนื่องจากกรดฟีนอลิกอิสระเป็นส่วนที่มีผลต่อ ความสามารถต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกาแฟ การสกัดด้วยวิธีเขย่าเป็นการแพร่ของตัวทำ ละลายเข้าไปในเซลล์และสกัดเอาสารสกัดออกมาจากเซลล์ การสกัดโดยคลื่นอัลตราซาวด์เป็น ปรากฏการณ์ cavitation คือ คลื่นเสียงเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟองของตัวทำละลายขนาด เล็กจำนวนมาก ฟองเหล่านี้ได้รับแรงจากคลื่นในช่วงอัด ทำให้ฟองแตกออกและเกิดเป็นคลื่นกระแทก ขนาดเล็ก ทำให้ผนังเซลล์ของพืชถูกทำลาย สารละลายที่ใช้สกัดสารสกัดเข้าไปชะสารสำคัญออกจาก เซลล์เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลายลง (สุเมธ บุญเกิด, 2556)

4.4 ศึกษาประสิทธิภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันบริโภคของสารสกัดกากกาแฟ

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเสื่อมเสียของน้ำมันบริโภคเกิดจากน้ำมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันคือ การที่น้ำมันสัมผัสกับแสง ออกซิเจน ความร้อน และโลหะ ทำให้น้ำมันเกิดกลิ่นหืน สารสกัดกากกาแฟมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมันได้ (Zuorro and Lavecchia, 2012) จึงนำมาทดสอบประยุกต์ใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันบริโภค ซึ่งสามารถตรวจการเสื่อมเสียได้โดยวิเคราะห์ค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันที่ทดสอบโดยให้อากาศไหลผ่านน้ำมันด้วยอัตราคงที่ ที่อุณหภูมิสูง เพื่อเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในน้ำมัน ทำให้เกิดการแตกตัวของน้ำมันและเกิดสารประกอบในรูปไอกรด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าการนำไฟฟ้าของน้ำกลั่น ผลจากตารางที่ 4.9 แสดงเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟ พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองผ่านการทำให้บริสุทธิ์มีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน 3.35 ชั่วโมง มากกว่า น้ำมันทานตะวันผ่านการทำให้บริสุทธิ์ที่ 2.61 ชั่วโมง เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวต่อการออกซิเดชันขึ้นอยู่กับความแตกต่างขององค์ประกอบของกรดไขมันในน้ำมัน และโครงสร้างของกรดไขมันที่ต่างกัน น้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันอิ่มตัวในปริมาณมากจะมีความคงตัวสูงกว่าน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิดพันธะคู่ตำแหน่งเดียว (MUFA) และชนิดพันธะคู่หลายตำแหน่ง (PUFA) ตามลำดับ

จากการทดลองพบว่า น้ำมันถั่วเหลืองมีความคงตัวสูงกว่าน้ำมันทานตะวัน จากงานของ Orthofer (1996) เมื่อพิจารณาองค์ประกอบของกรดไขมันของน้ำมันทั้งสองชนิด พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด PUFA มากที่สุด คือ กรดลิโนเลอิก C18:2 (ร้อยละ 53.2) มีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับน้ำมันทานตะวัน (ร้อยละ 68.2) และกรดโอเลอิกในน้ำมันถั่วเหลือง (ร้อยละ 23.4) มีปริมาณสูงกว่าในน้ำมันทานตะวัน (ร้อยละ 18.6) ทำให้น้ำมันถั่วเหลืองมีค่าความคงตัวสูงกว่าน้ำมันทานตะวัน สอดคล้องตาม Salunkhe และ คณะ (1992) รายงาน กรดไขมันในน้ำมันทานตะวันมีองค์ประกอบของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่าน้ำมันถั่วเหลือง องค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกันทำให้ตัวอย่างมีความคงตัวที่ต่างกัน โดยพบว่า น้ำมันที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูงหรือมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในปริมาณต่ำจะมีความคงตัวต่อการออกซิเดชันสูง (Liu and White, 1992)

ตารางที่ 4.9 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟสกัดน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร

ชนิดของน้ำมัน	Induction time(ชั่วโมง)	
	น้ำมันถั่วเหลือง	น้ำมันทานตะวัน
ไม่เติมสารสกัดจากกาแฟ	3.35±0.01 ^b	2.61±0.05 ^b
เติมสารสกัดจากกาแฟ 100 ppm	3.38±0.04 ^{ab}	2.66±0.04 ^{ab}
เติมสารสกัดจากกาแฟ 1000 ppm	3.43±0.04 ^a	2.72±0.06 ^a

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 3 ครั้ง

จากตารางที่ 4.9 การเติมสารสกัดจากกาแฟในน้ำมันบริโภค ทำการทดลองเติมในปริมาณสูงถึง 1000 ส่วนในล้านส่วน เนื่องจากสารสกัดไม่ใช่สารสกัดบริสุทธิ์ และภายหลังการสกัดมีการปรับปริมาตรสุดท้ายภายหลังการสกัดเป็น 90 มิลลิลิตร ทำให้สารสกัดมีความเข้มข้นสุดท้ายของการสกัดต่ำ จากผลการทดลองพบว่า การเติมสารสกัดจากกาแฟในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันสามารถช่วยยืดอายุการเสื่อมเสียเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเทียบกับน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่ไม่ได้เติมสารสกัดจากกาแฟ การเติมสารสกัดจากกาแฟ 1000 ส่วนในล้านส่วนในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันมีแนวโน้มช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมันถั่วเหลืองเป็น 3.43±0.04^a ชั่วโมง และน้ำมันทานตะวันเป็น 2.72±0.06^a ชั่วโมง ได้เพิ่มขึ้น แต่การเติมสารสกัดจากกาแฟ 1000 ส่วนในล้านส่วน ทำให้น้ำมันขุ่นขึ้น ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันอาจเกิดเพราะเกิดอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water-in-oil emulsion, W/O) จากเอทานอล 70% ที่เป็นตัวทำละลายในสารสกัดจากกาแฟโดยละลายเพียงบางส่วนที่ไม่มีขั้ว การเติมสารสกัดจากกาแฟ 100 ส่วนในล้านส่วน มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันถั่วเหลืองได้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 1000 ส่วนในล้านส่วน และความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 1000 ส่วนในล้านส่วน ไม่ต่างจากน้ำมันถั่วเหลืองที่ไม่เติมสารสกัดจากกาแฟ ดังนั้นสารสกัดจากกาแฟอาจมีความเข้มข้นที่ต่ำ เมื่อเติมในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันจึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ไม่ต่างจากจากน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่ไม่เติมสารสกัดจากกาแฟ งานวิจัยของนิอร์ (2010) ศึกษาความคงตัวของการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันทานตะวันด้วยสารสกัดจากกาแฟ พบว่า สารสกัดงาดำที่ 0, 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วน (โดยนำสารสกัดงาดำละลายด้วยตัวทำ

ละลายก่อนจึงเติมในตัวอย่าง) และสารสกัดจากงาขาวที่ 0, 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วนที่เติมในน้ำมันทานตะวันผ่านการทำให้บริสุทธิ์ มีค่าความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน เท่ากับ 1.39, 1.93, 1.98, 1.39, 1.85 และ 2.13 ชั่วโมง ตามลำดับ ความคงตัวของสารสกัดออกซิเดชันในน้ำมันทานตะวันผ่านการทำให้บริสุทธิ์ที่เติมสารสกัดจากงา 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วนแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ปริมาณสารสกัดที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อการความคงตัวของสารสกัดออกซิเดชันของน้ำมันเล็กน้อยสอดคล้องกับผลการทดลอง โดยความเข้มข้นสูงอาจเกิดการสูญเสียกิจกรรมในการต้านออกซิเดชันและทำหน้าที่เป็นโปรออกซิเดนท์ (Wanasundara and Shahidi, 2005) รายงานของ Moure และคณะ (2001) พบว่าแนวโน้มของความสามารถในการต้านออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้นอย่างมีปริมาณจำกัดโดย ขึ้นกับสารต้านออกซิเดชัน และวิธีการที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งโดยส่วนใหญ่สารสกัดจากธรรมชาติมีระดับความเข้มข้นสูงสุดที่ร้อยละ 0.05 ความเข้มข้นของสารสกัดจากสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมในของสารสกัดของเมล็ดองุ่นและสารสกัดผลกุหลาบ (rose hip) คือ 0.1 มิลลิโมลาร์ แต่สำหรับ BHT คือ 0.02 มิลลิโมลาร์และสำหรับ catechin อยู่ในช่วง 0.05 ± 0.2 มิลลิโมลาร์ (Gabrielska et al., 1997)

ดังนั้นสารสกัดจากกาแฟมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันและสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมันบริโภคได้เล็กน้อย อาจเนื่องจากไม่ใช่สารสกัดบริสุทธิ์ และความเข้มข้นสุดท้ายของการสกัดต่ำเกินไป เนื่องจากปรับปริมาตรสุดท้ายภายหลังการสกัดเป็น 90 มิลลิลิตร หากต้องการให้ความเข้มข้นของสารสกัดสูงขึ้นอาจต้องระเหยตัวทำละลายให้เหลือน้อยลงในสารสกัด ต่างกับงานของนิอร (2010) ที่ใช้สารสกัดที่ได้ในรูปของแข็งมาเติมในน้ำมัน

ตารางที่ 4.10 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟสกัดน้ำมันออก ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร

ชนิดน้ำมัน	Induction time (ชั่วโมง)
น้ำมันทานตะวัน	11.29±0.01 ^{ab}
น้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 100 ppm	11.05±0.15 ^b
น้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 200 ppm	11.10±0.03 ^b
น้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 300 ppm	11.55±0.11 ^a

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง

ผู้วิจัยจึงทำการทดลองศึกษาความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของการเติมสารสกัดกากกาแฟในน้ำมันทานตะวัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร โดยเมื่อใช้อุณหภูมิในการทดสอบความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ต่ำลง เพื่อให้เห็นความชัดเจนของข้อมูลมากขึ้น ทำให้ induction time สูงขึ้น เพราะการลดอุณหภูมิในการทำการทดลอง ทำให้น้ำมันเสื่อมเสียช้าลง ซึ่งความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงมากกว่าการใช้อุณหภูมิในการทดลองที่สูงขึ้น เลือการศึกษาด้วยน้ำมันทานตะวัน เนื่องจากน้ำมันทานตะวันมีความทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าน้ำมันถั่วเหลือง โดยน้ำมันทานตะวันมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูงกว่าน้ำมันถั่วเหลือง มีความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าน้ำมันถั่วเหลือง สามารถประหยัดเวลาการทดลองได้มากกว่าการทดลองด้วยน้ำมันถั่วเหลืองและศึกษาการเติมสารสกัดกากกาแฟ 100, 200 และ 300 ส่วนในล้านส่วน

จากตารางที่ 4.10 พบว่า ปริมาณการเติมสารสกัดที่เหมาะสมต่อการยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำมันทานตะวัน คือ การเติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน แต่น้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟ 100 และ 200 ส่วนในล้านส่วน มีค่าเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับน้ำมันทานตะวันไม่เติมสารสกัดกากกาแฟและน้ำมันทานตะวันเติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน มีแนวโน้มที่จะยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมันทานตะวันได้ จึงนำความเข้มข้นนี้ไปศึกษาต่อไป

4.5 ศึกษาประสิทธิภาพการยืดอายุในน้ำมันบริโภคของสารสกัดกากกาแฟเสริมฤทธิ์ด้วยกรด

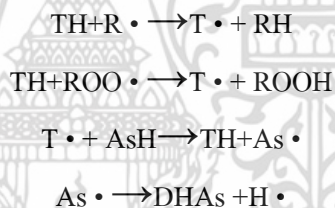
แอสคอร์บิก

ตารางที่ 4.11 ความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟและกรดแอสคอร์บิก ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร

ชนิดของน้ำมัน	Induction time (ชั่วโมง)	
	น้ำมันถั่วเหลือง	น้ำมันทานตะวัน
ไม่เติมสารสกัดกากกาแฟ	4.09±0.04 ^c	2.77±0.07 ^b
น้ำมันเติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ppm	4.04±0.06 ^c	2.80±0.06 ^{ab}
น้ำมันเติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ppm และกรดแอสคอร์บิก 50 ppm	4.54±0.08 ^b	2.91±0.08 ^{ab}
น้ำมันเติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ppm และกรดแอสคอร์บิก 100 ppm	5.43±0.08 ^a	2.99±0.07 ^a

หมายเหตุ ค่าแสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ที่ได้จากการวัด 2 ครั้ง

กลไกการเสริมฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เกิดจากการมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระ 2 ชนิดหรือมากกว่านั้นสามารถเสริมฤทธิ์กัน หรือหักล้างกัน การเสริมฤทธิ์กันเป็นปรากฏการณ์ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระแบบปฏิสัมพันธ์ของสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆมากกว่าผลรวมของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดรวมกัน สารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพของการเกิดปฏิกิริยารีดักชัน (E°) สูงกว่าอีกชนิดหนึ่ง ทำหน้าที่เป็น primary antioxidant และสารต้านอนุมูลอิสระที่มีค่า E° ต่ำกว่า ทำหน้าที่เป็น synergist ซึ่งมีความสามารถในการทำให้เกิดการเกิดใหม่ของ primary antioxidant ที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเดิม (Decker, 2002) ตัวอย่าง ได้แก่ การเสริมฤทธิ์ของกรดแอสคอร์บิกและโทโคฟีรอล โดยโทโคฟีรอล ($E^\circ = 500$ มิลลิโวลต์) เป็น primary antioxidant และกรดแอสคอร์บิก ($E^\circ = 330$ มิลลิโวลต์) เป็น synergist (Liebler 1993) สารโทโคฟีรอล (TH) ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระของ alkyl ($R \cdot$) หรือ alkyl peroxy ($ROO \cdot$) ในอาหารและกลายเป็นอนุมูลโทโคฟีรอล ($T \cdot$) ซึ่งไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หลังจากนั้นกรดแอสคอร์บิก (AsH) ให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลโทโคฟีรอลทำให้กลับเป็นโทโคฟีรอลที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเดิม และเกิดเป็น semihydroascorbyl ($As \cdot$) และ dehydroascorbic acid (DHAs) มีกลไกการเกิดตามสมการนี้ (Buettner 1993):



กรดแอสคอร์บิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพและสามารถช่วยเสริมฤทธิ์ (Synergist) ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงทำการทดลองเดิมในปริมาณ 50 และ 100 ส่วนในล้านส่วนร่วมกับสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน จากตารางที่ 4.11 พบว่า น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันเติมสารสกัดกากกาแฟและกรดแอสคอร์บิกมีเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟเพียงอย่างเดียว โดยน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน และกรดแอสคอร์บิก 100 ส่วนในล้านส่วน มีความเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันดีที่สุด โดยเพิ่มขึ้นจากน้ำมันที่ไม่มีสารสกัดกากกาแฟที่มีค่าเท่ากับ 4.09 และ 2.77 ชั่วโมงตามลำดับ ในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันเพิ่มเป็น 5.43 และ 2.99 ชั่วโมงตามลำดับ

งานวิจัยของ Raga และคณะ (2015) ศึกษาความคงตัวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (ประกอบด้วย Tween, น้ำมันทานตะวันทำให้บริสุทธิ์และ Polyglycerol polyricinoleate) เติมกรด

แอสคอร์บิก 0, 5, 10, 15, 25, 50,100 ส่วนในล้านส่วน ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส อัตราการไหลของอากาศ 20 ชั่วโมงต่อลิตร พบว่า induction time เท่ากับ 2.40, 2.07, 2.38, 2.41, 2.45, 2.84 และ 3.40 ชั่วโมงตามลำดับ



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาคุณสมบัติของน้ำมันกากกาแฟและสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดกากกาแฟสกัดไขมันด้วยวิธีการเขย่าและวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์โดยศึกษาปัจจัยต่างๆ ได้แก่ เวลาที่ใช้ในการสกัดและแอมพลิจูดของคลื่นเสียงที่ใช้ในการช่วยสกัด โดยตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถต้านอนุมูลอิสระเพื่อหาสภาวะการสกัดสารสกัดกากกาแฟที่เหมาะสมที่สุด รวมถึงการนำไปประยุกต์เติมสารสกัดกากกาแฟในน้ำมันบริโภคเพื่อยืดอายุในการเก็บรักษา โดยทดสอบความคงทนต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันบริโภค และศึกษาการใช้สารต้านออกซิเดชันตามธรรมชาติในการช่วยเสริมฤทธิ์ให้สารสกัดกากกาแฟมีความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาในน้ำมันบริโภค สามารถสรุปได้ดังนี้

1. คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของน้ำมันกากกาแฟ

คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันกากกาแฟ น้ำมันกากกาแฟเป็นของไหลแบบนิวโตเนียน และคุณสมบัติทางเคมีของน้ำมันกากกาแฟ คือ มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัวโดยน้ำมันกากกาแฟมีกรดไขมันที่สำคัญประกอบด้วย กรดลิโนเลอิก (41.90%) กรดปาล์มิติก (34.30%) กรดสเตอริก (8.15%) และกรดโอเลอิก (9.40%) โดยน้ำมันในงานวิจัยนี้เป็นน้ำมันกากกาแฟกลุ่มที่มีกรดลิโนเลอิกสูง (มากกว่า 40 %) ค่าความเป็นกรด 7.78 มิลลิกรัมโพแทสเซียมต่อกรัม ปริมาณกรดไขมันอิสระ 3.91 % ค่าไอโอดีนสูง(89.41) เนื่องจากมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวในโมเลกุลสูง ทำให้เกิดกลิ่นหืนได้ง่ายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน และกรดไขมันของไตรกลีเซอไรด์ในน้ำมันกากกาแฟมีน้ำหนักโมเลกุลน้อยเนื่องจากน้ำมันกากกาแฟมีค่าสะปอนนิฟิเคชันสูง (156.11)

2. สภาวะที่เหมาะสมของการสกัดสารจากกากกาแฟด้วยวิธีเขย่าและการใช้คลื่นอัลตราซาวด์

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดกากกาแฟด้วยวิธีการเขย่า ความเร็ว 200 รอบต่อนาที สกัดด้วยระยะเวลา 10 ชั่วโมงเป็นสภาวะการสกัดจากสารสกัดกากกาแฟที่เหมาะสมที่สุด ได้สารสกัดกากกาแฟที่มีความสามารถต้านออกซิเดชันวิเคราะห์วิธี DPPH, ABTS และ FRAP 174.73 ± 5.14 , 278.21 ± 16.16 , 198.37 ± 4.09 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อกรัมกากกาแฟ ตามลำดับ

สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 60% เป็นระยะเวลา 6 นาที เป็นสภาวะการสกัดสารสกัดจากกาแฟที่เหมาะสมที่สุด โดยมีความสามารถต้านออกซิเดชันวิเคราะห์วิธี DPPH, ABTS และ FRAP (201.55 ± 16.07 , 297.50 ± 23.23 , 201.53 ± 27.91 ไมโครโมลโทรลออกซ์ต่อกรัมกาแฟ, ตามลำดับ) โดยให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (15.52 ± 0.13 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง) น้อยกว่าการสกัดด้วยวิธีเขย่า (17.26 ± 2.35 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง)

เมื่อเปรียบเทียบการสกัดสารสกัดด้วยวิธีการเขย่าและวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัด สภาวะการสกัดสารสกัดจากกาแฟด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สกัดที่กำลัง 500 วัตต์ แอมพลิจูด 60% ระยะเวลา 6 นาที เป็นสภาวะการสกัดที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากประหยัดระยะเวลาการสกัดและพลังงานที่ใช้ในการสกัด

3. ประสิทธิภาพการยืดอายุในน้ำมันบริโภคของสารสกัดจากกาแฟ

การเติมสารสกัดจากกาแฟในน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันปริมาณ 300 ppm สามารถช่วยยืดอายุการเสื่อมเสียของน้ำมันเล็กน้อย เนื่องจากสารสกัดมีสารต้านออกซิเดชัน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก และสารที่สะปอนนิไฟเคชันไม่ได้ ประกอบด้วยไดเทอร์ปีน คาห์วืออล และคาเฟสตอล การที่เติมในปริมาณสูง แต่มีประสิทธิภาพต่ำ เนื่องจากสารสกัดอยู่ในรูปสารละลาย และการใช้กรดแอสคอร์บิกสามารถช่วยเสริมฤทธิ์ในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟในน้ำมันบริโภคได้ โดยน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันเติมสารสกัดจากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วน และกรดแอสคอร์บิก 100 ส่วนในล้านส่วน มีเสถียรภาพต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าน้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันทานตะวันที่เติมสารสกัดจากกาแฟเพียงอย่างเดียว ในการเติมสารสกัดร่วมกับสารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถช่วยยืดอายุของน้ำมันบริโภคที่ดีที่สุดในการทดลอง ความสามารถในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระในน้ำมันทานตะวันเติมสารสกัดจากกาแฟร่วมกับกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้นอาจเกิดจากอิทธิพลของกรดแอสคอร์บิกเพียงอย่างเดียวหรืออิทธิพลร่วมกันระหว่างสารสกัดจากกาแฟและกรดแอสคอร์บิก จึงต้องศึกษาร่วมกันต่อไป

ข้อเสนอแนะ

1. สารสกัดเป็นสารละลายความเข้มข้นต่ำ เนื่องจากภายหลังการสกัดปรับปริมาณเป็น 90 มิลลิลิตร หากต้องการให้มีความเข้มข้นสูง จะต้องระเหยตัวทำละลายให้มีปริมาตรสุดท้ายน้อยกว่านี้

บรรณานุกรม

- จารุภรณ์ ศรีประเสริฐ. 2540. การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในกาแฟสำเร็จรูป (ชนิดน้ำ) บรรจุ
กระป๋องในโครงการฝึกหัดการวิจัย. เพชรบุรี, สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.
- นิอร ชุมศรี. 2553. การใช้ประโยชน์สารสกัดจากงากำจัดไขมันเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมัน
บริโภค. ปริญญาานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร คณะ
อุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 21 : 275-286.
- พงศธร ล้อสุวรรณ, จิตศิริ รัชตพันธุ์ และศศิธร จันทนวางกูร. 2551. สารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด
สมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการต้านจุลินทรีย์ของเปลือกผลไม้. 554-561. ใน การ
ประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46.
- พิชัย เอี้ยวเล็ก, กฤษ สมนึก. 2558. การใช้ประโยชน์จากกากกาแฟเพื่อเป็นเชื้อเพลิงเหลวและเชื้อเพลิง
แข็ง. ใน การประชุมวิชาการเครือข่ายวิศวกรรมเครื่องกลแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 29.
- ศรัณย์ ลากนิธิพร, ณัฏฐา เลหากุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. 2555. องค์ประกอบทางเคมี กายภาพและ
คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมะม่วงหิมพานต์. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 43(2) :
409-412.
- สุเมธ บุญเกิด, 2556. การใช้อัลตราซาวนด์ในการช่วยสกัดพืชสมุนไพร. กลุ่มวิจัยอุตสาหกรรมเกษตร
และผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, ปทุมธานี
- Materpiece Coffee Roasting House. 2013. สายพันธุ์กาแฟ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :
<http://www.coffeemasterpiece.com/> (วันที่สืบค้น 24 สิงหาคม 2559)
- The ReFresher. 2009. กาแฟ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : [http://www.refreshertai.com/article/
species_of_coffee.php](http://www.refreshertai.com/article/species_of_coffee.php) (วันที่สืบค้น 24 สิงหาคม 2559)
- Abdullah, M. and Koc, A.B. 2013. Oil removal from waste coffee grounds using two-phase solvent
extraction enhanced with ultrasonication. Renewable Energy. 50 : 965-970.

- Acevedo, F., Rubilar, M., Scheuermann, E., Cancino, B., Uquiche, E., Garces, M., Inostroza, K., and Shene, C. 2013. Spent coffee grounds as a renewable source of bioactive compounds. *Biobased Materials and Bioenergy*. 7 : 1-9.
- Ahangari, B. and Sargolzaei, J. 2013. Extraction of lipids from spent coffee grounds using organic solvents and supercritical carbon dioxide. *Food Processing and Preservation*. 37(5) : 1014-1021.
- Al-Dhabi, N.A., Ponmurugan, K. and Jeganathan, P.M. 2017. Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds. *Ultrasonics Sonochemistry*. 34 : 206-213.
- Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kroger, M. and Kaltschmitt, M. 2012. Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel*. 96 : 70-76.
- Ame, S. N., Shigrenaga, M. K. and Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proceedings of the national Academy of Sciences of the United States of America*. 90(17) : 7915-7922.
- AOAC. 1984. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. 14th ed. Association of Official Analytical Chemists Inc., Arlington.
- AOCS. 1989. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society* 3th ed. Champaign Illinois, USA.
- AOCS. 1997. *Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society* 5th ed. Champaign Illinois, USA.
- AOCS. 2009. *Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society* 6th ed. Champaign Illinois, USA.
- Areekul, V. and Mettamethar, N. 2006. The impact of manufacturing process on polyphenol content and antioxidant capacity of herbal tea infusion. In *Proceedings of the 8th Agro-Industrial Conference*. June 15-16 2005. Bangkok, Thailand.

- Auroma, O.I. 1998. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. the American Oil Chemists' Society. 75 : 199-212.
- Balasundram, N., Sundram, K. and Samman, S. 2006. Phenolic compounds in plants and agricultural by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Food Chemistry. 99(1) : 191-203.
- Barbosa, H.M.A., de Melo, M.M.R., Coimbra, M.A., Passos, C. and Silva, C.M. 2014. Optimization of the supercritical fluid coextraction of oil and diterpenes from spent coffee grounds using experimental design and response surface methodology. Supercritical Fluids. 85 : 165-172.
- Baumann, A.R., Martin, S.E. and Feng, H. 2005. Power ultrasound treatment of *Listeria monocytogenes* in apple cider. Food Protection. 68 : 2333-2340.
- Belitz, H.D., Grosch, H. and Schieberte, P. 2004. **Food chemistry**. Berlin, Germany: Springer. 939-969.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1996. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of Antioxidant Power : The FRAP Assay. Analytical Biochemistry. 239, 70–76.
- Bradbury, A.G. and Halliday, D.J. 1990. Chemical structures of green coffee bean polysaccharides. Agricultural and Food Chemistry. 38(2) : 389-392.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft and Technologie. 28 : 25-30.
- Bravo, J., Juaniz, I., Monente, C., Caemmerer, B., Kroh, L.W. and De Pena, M.P.. 2012. Evaluation of spent coffee obtained from the most common coffeemakers as a source of hydrophilic bioactive compounds. Agricultural and Food Chemistry. 60(51) : 12565-12573.
- Buettner, GR. 1993. The pecking order of free radicals and antioxidants: lipid peroxidation, α -tocopherol and ascorbate. Archives of Biochemistry and Biophysics. 300 : 535–543.
- Burton, G. W. and Traber, M. G. 1990. Vitamin E: antioxidant activity, biokinetics, and bioavailability. Annual Review of Nutrition. 10(1) : 357-382.

- Caetano, N.S., Silva, V.F. and Mata, T.M. 2012. Valorization of coffee grounds for biodiesel production. Italian Association of Chemical Engineering. 26 : 267-272.
- Cameron, E. and Pauling, L. 1973. Ascorbic acid and the glycosaminoglycans. An orthomolecular approach to cancer and other diseases. Oncology. 27 : 181-192.
- Carelli, A.A., Franco, I.C. and Crapisate, G.H. 2005. Effectiveness of added natural antioxidants in sunflower oil. Grasas y Aceities. 56(4) : 303-310.
- Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme. 1993. Report of the fourteenth session of the codex committee on fats and oils. London, United Kingdom, Rome, Italy.
- Cruz, R., Cardoso, M.M., Fernandes, L., Oliveira, M., Mendes, E. and Baptista, P. 2012. Espresso coffee residues: a valuable source of unextracted compounds. Agricultural and Food Chemistry. 60(32) : 7777-7784.
- Decker, EA. 2002. **Antioxidant mechanisms**. Food lipids. 2nd ed. New York: Marcel Dekker Inc. 517-542.
- Delgado, P.A., Vignoli, J.A., Siika-aho, M. and Franco, T.T. 2008. Sediments in coffee extracts: composition and control by enzymatic hydrolysis. Food Chemistry. 110(1) : 168-176.
- Denisov, E. T. and Afanas' ev, I. B. 2005. **Oxidation and Antioxidants in Organic Chemistry and Biology**. Florida : Chemical Rubber Company press.
- Ebada, S. S., Edrada, R. A., Lin, W. and Proksch, P. 2008. Methods for isolation, purification and structural elucidation of bioactive secondary metabolites from marine invertebrates. Nature protocols. 3(12) : 1820-1831.
- Esquivel, P. and Jimenez, V.M. 2012. Functional properties of coffee and coffee by-product. Food Research International. 46(2) : 488-495.
- Fiol, N., Escudero, C. and Villaescusa, I. 2008. Reuse of exhausted ground coffee waste for Cr (VI) sorption. Separation Science and Technology. 43(3) : 582-596.
- Frankel, E.N. 1996. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. Food Chemistry. 57(1): 51-55.

- Frankel, E. N., Bosanek, C. A., Meyer, A. S., Silliman, K. and Kirk, L. L. 1998. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. *Agricultural and Food Chemistry*. 46(3) : 834-838.
- Gabrielska, J., Oszmianski, J. and Lamer-Zarawska, E. 1997. Protective effect of plant flavonoids on the oxidation of lecithin liposomes. *Pharmazie*. 52 : 2-3.
- Giada, M. D. and Mancini-Filho, J. 2009. Antioxidant capacity of the striped sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed extracts evaluated by three in vitro methods. *International journal of food sciences and nutrition*. 60(5) : 395-401.
- Gopalakrishna Kao, N. and Natarajan, C.P. 1974. Utilisation of coffee by products. *Indian Coffee*. 38 : 3-5.
- Gressler, V., Yokoya, N. S., Fujii, M. T., Colepicolo, P., Mancini Filho, J., Torres, R. P. and Pinto, E. 2010. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. *Food Chemistry*. 120(2) : 585-590.
- Hernández-Santos, B., Rodríguez-Miranda, J., Herman-Lara, E., Torruco-Uco, J.G., Carmona-García, R., Juárez-Barrientos, J.M., Chávez-Zamudio, R. and Martínez-Sánchez, C.E. 2016. Effect of oil extraction assisted by ultrasound on the physicochemical properties and fatty acid profile of pumpkin seed oil (*Cucurbita pepo*). *Ultrasonics Sonochemistry*. 31 : 429-436.
- Hrnčirik, K. and Fritsche, S. 2004. Comparability and reliability of different techniques for the determination of phenolic compounds in virgin olive oil. *European journal of lipid science and technology*. 106(8) : 540-549.
- Ignat, I., Volf, I. and Popa, V. I. 2011. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry*. 126(4) : 1821-1835.
- Jaiswal, A., Rajauria, G., Abu-Ghannam, N. and Gupta, S. 2011. Phenolic composition, antioxidant capacity and antibacterial activity of selected Irish Brassica vegetables. *Natural Product Communications*. 6 : 1299-1304.
- Janjarasskul, T., Min, S. and Krochta, J. M. 2011. Storage stability of ascorbic acid incorporated in edible whey protein films. *Agricultural and Food Chemistry*. 59(23): 12428-12432.
- Jenkins, R.W., Stageman, N., Fortune, C. and Chuck, C.J. 2014. Effect of the type of bean, processing and geographical location on the biodiesel produced from waste coffee grounds.

- Energy Fuels. 28 : 1166-1174.
- Jully, K.M.M., Toto, C.S. and Were, L. 2016. Antioxidant effect of spent, ground, and lyophilized brew from roasted coffee in frozen cooked pork patties. Food Science and Technology. 66 : 244-251.
- Jung, W.K., Park, P.J., Ahn, C.B. and Je, J.Y. 2014. Preparation and antioxidant potential of maillard reaction products from (MRPs) chitooligomer. Food chemistry. 145 : 173-178.
- Kante, K., Nieto-Delgado, C., Rangel-Mendez, J.R. and Bandosz, T.J. 2012. Spent coffee-based activated carbon: specific surface features and their importance for H₂S separation process. Hazardous Materials. 201 : 141-147.
- Karadag, A., Ozcelik, B. and Saner, S. 2009. Review of methods to determine antioxidant capacities. Food analytical methods. 2(1) : 41-60.
- Kente, K., Nieto-Delgado, C., Rangel-Mendez, J.R. and Bandosz, T.J. 2012. Spent coffee-based activated carbon: specific surface features and their importance for H₂S separation process. Hazardous Materials. 201 : 141-147.
- Kondamudi, N., Mohapatra, SK. and Misra, M. 2008. Spent coffee grounds as a versatile source of green energy. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 5 : 57-60.
- Lago, R.C.A., Antoniassi, R. and Freitas, S.C. 2001. Centesimal composition and amino acids of raw, roasted and spent ground of soluble coffee. In II Simposio de Pesquisa dos Cafes do Brasil Vitoria, ES. Resumos (pp. 104).
- Leifa, F., Pandey, A. and Soccol, C.R. 2000. Solid state cultivation-an efficient method to use toxic agro-industrial residue. Basic Microbiology. 40(3) : 187-197.
- Lim, Y. Y., Lim, T. T. and Tee, J. J. 2007. Antioxidant properties of several tropical fruits: A comparative study. Food chemistry. 103(3) : 1003-1008.
- Liu, H.R. and White, P.J. 1992. Oxidative stabilities of soybean oil with altered fatty acid compositions. the American Oil Chemists' Society. 69 : 528-532.
- Maestri, D. M., Nepote, V., Lamarque, A. L. and Zygodlo, J. A. 2006. Natural products as antioxidants. Phytochemistry: Advances in research. 37(661) : 105-135.

- Magalhaes, L.M., Machado, S., Segundo, M.A., Lopes, J.A. and Pascoa, R.N.M.J. 2016. Rapid assessment of bioactive phenolics and methylxanthines in spent coffee grounds by FT-NIR spectroscopy. *Talanta*. 147 : 460-467.
- Melo, M.M.R., Barbosa, H.M.A., Passos, C.P. and Silva, C.M. 2014. Supercritical fluid extraction of spent coffee grounds: Measurement of extraction curves, oil characterization and economic analysis. *Supercritical Fluids*. 86 : 150-159.
- Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2) : 211-219.
- Moon, J. K. and Shibamoto, T., 2009. Antioxidant assays for plant and food components. *Agricultural and Food Chemistry*. 57(5) : 1655-1666.
- Moreira, A.S., Nunes, F.M., Domingues, M.R. and Coimbra, M.A. 2012. Coffee melanoidins: structure, mechanisms of formation and potential health impacts. *Food and Function*. 3(9) : 903-915.
- Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J. and Parajo, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*. 72(2) : 145-171.
- Murthy, P.S. and Naidu, M.M. 2012. Recovery of phenolic antioxidants and functional compounds from coffee industry by-products. *Food Bioprocess Technol*. 5 : 897-903.
- Mussatto, S.I., Ballesteros, L.F., Martins, S. and Teixeira, J.A. 2011a. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*. 83 : 173-179.
- Mussatto, S.I., Carneiro, L.M., Silva, J., Roberto, I.C. and Teixeira, J.A. 2011b. A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*. 83(2) : 368-374.
- Mussatto, S.I., Machado, E., Carneiro, L.M. and Teixeira, J.A. 2012. Sugars metabolism and ethanol production by different yeast strain from coffee industry wastes hydrolysates. *Applied Energy*. 92 : 763-768.

- Nagasaka, H., Hirano, K. I., Ohtake, A., Miida, T., Takatani, T., Murayama, K. and Takayanagi, M. 2007. Improvements of hypertriglyceridemia and hyperlactacemia in Japanese children with glycogen storage disease type Ia by medium-chain triglyceride milk. *European journal of pediatrics*. 166(10) : 1009-1016.
- Nakabeppu, Y., Sakumi, K., Sakamoto, K., Tsuchimoto, D., Tsuzuki, T. and Nakatsu, Y. 2006. Mutagenesis and carcinogenesis caused by the oxidation of nucleic acids. *Biological Chemistry*. 387(4) : 373-379.
- Nunes, F.M. and Coimbra, M.A. 2010. Role of hydroxycinnamates in coffee melanoidin formation. *Phytochemistry Reviews*. 9(1) : 171-185.
- Oestreich-Janzen, S. 2010. Chemistry of coffee. In L. Mander, H.W. Liu (Eds.), **Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology. Development and Modification of Bioactivity**, (Vol. 3 pp.1085-1117). Oxford, UK: Elsevier.
- Oniszczuk, A. and Olech, M. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction and LC-ESI-MS/MS analysis of phenolic acids from *Brassica oleracea* L. var. *sabellica*. *Industrial Crops and Products*. 83 : 359-363.
- Oomah, B.D. 2001. Flaxseed as a functional food source. *Science of Food and Agriculture*. 81(9) : 889-894.
- Orthofer, F.T. 1996. Rice bran oil: healthy lipid source, *Food Technology*. 50 : 62-64.
- Parr, A. J. and Bolwell, G.P. 2000. Phenols in the plant and in man. The potential for possible nutritional enhancement of the diet by modifying the phenols content or profile. *Science of Food and Agriculture*. 80(7) : 985-1012.
- Papas, A. M. (Ed.). 1998. **Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health**. Vol. 9. Florida : Chemical Rubber Company press.
- Pascoa, R.N.M.J., Magalhaes, L.M. and Lopes, J.A. 2013. FT-NIR spectroscopy as a tool for valorization of spent coffee grounds: Application to assessment of antioxidant properties. *Food Research International*. 51 : 579-586.
- Pavlovic, M.D., Buntic, A.V., Siler-Marinkovic, S.S. and Dimitrijevic-Brankovic, S.I. 2013. Ethanol influenced fast microwave-assisted extraction for natural antioxidants obtaining from spent filter coffee. *Separation and Purification Technology*. 118 : 503-510.

- Phimsen, S., Kiatkittipong, W., Yamada, H., Tagawa, T., Kiatkittipong, K., Laosiripojana, N. and Assabumrungrat, S. 2016. Oil Extracted from spent coffee grounds for bio-hydro-treated diesel production. *Energy Conversion and Management*. 126 : 1028-1036.
- Pourmorad, F., Hosseinimehr, S.J. and Shahabimajd, N. 2006. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants. *Biotechnology*. 5(11) : 1142-1145.
- Puerta, R., Gutierrez, V.R. and Hault, J.R.S. 1999. Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochemical pharmacology*. 57(4) : 445-449.
- Rage, S., Momin, S. and Bhowmick, D. 2015. Effect of ascorbic acid on the oxidative stability of water-in-oil emulsion in the presence of lipophilic antioxidants. *International Journal of Food Properties*, 18 : 2, 259-265.
- Ramalakshmi, K., Rao, L.J.M., Takano-Ishikawa, Y. and Goto, M. 2009. Bioactivities of low-grade green coffee and spent coffee in different in vitro model systems. *Food Chemistry*. 115 : 79-85.
- Ravindranath, R., Khan, R., Obi Reddy, T., ThirumalaRao, S.D. and Reddy, B.R. 1972. Composition and characteristics of Indian coffee bean, spent coffee grounds and oil. *Science of Food and Agriculture*. 23(3) : 307-310.
- Regazzoni, L., Saligari, F., Marinello, C., Rossoni, G., Aldini, G., Carini, M. and Orioli, M. 2016. Coffee sliver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity. *Functional Foods*. 20 : 472-485.
- Rudel, L.L., Parks, J.S. and Sawvey, J.K. 1995. Compared with dietary monounsaturated and saturated fat, polyunsaturated fat protects African green monkeys from coronary artery atherosclerosis. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 15(12) : 2101-2110.
- Salta, F.N., Mylona, A., Chiou, A., Boskou, G. and Andrikopoulos, N.K. 2007. Oxidative stability of edible vegetable oils enriched in polyphenols with olive leaf extract. *Food Science and Technology International*. 13(6) : 413-421.
- Salunkhe, D. K., Chavan, J. K., Adsule, R.N. and Kadam, S. S. 1992. **World oilseeds: chemistry,**

- technology, and utilization.** New York: Van Nostrand. Reinhold.
- Sánchez-Moreno, C., Jiménez-Escrig, A. and Saura-Calixto, F. 2000. Study of low-density lipoprotein oxidizability indexes to measure the antioxidant activity of dietary polyphenols. *Nutrition Research*. 20(7) : 941-953.
- Scott, D. A., Poston, R. N., Wilson, R. F., Coward, P.Y. and Palmer, R. M. 2005. The influence of vitamin C on systemic markers of endothelial and inflammatory cell activation in smokers and non-smokers. *Inflammation Research*. 54(3) : 138-144.
- Sies, H., Stahl, W. and Sundquist, A. R. 1992. Antioxidant functions of vitamins. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 669(1) : 7-20.
- Sikka, S.S., Bakshi, M.P.S. and Ichhponani, J.S. 1985. Evaluation in vitro of spent coffee grounds as a livestock feed. *Agricultural Wastes*. 13 : 315-317.
- Silva, V.M., Vieira, G.S. and Hubinger, M.D. 2014. Influence of different combinations of wall materials and homogenization pressure on the microencapsulation of green coffee oil by spray drying. *Food Research International*. 61 : 132-143.
- Simoes, J., Madureira, P., Nunes, F.M., Domingues, Mdo.R., Vilanova, M. and Coimbra, M.A. 2009. Immunostimulatory properties of coffee mannans. *Molecular Nutrition and Food Research*. 53(8) : 1036-1043.
- Sliva, M.A., Nebra, S.A., Sliva, M.J.M. and Sanchez, C.G. 1998. The use of biomass residues in the BRAZILIAN soluble coffee industry. *Biomass and Bioenergy*. 14 : 457-467.
- de Souza, A.L., Garcia, R., Cabral, L., Bernardino, F.S., Zervoudakis, J.T. and Rocha, F.C. 2004. Coffee hulls in diets of dairy cows: nitrogenous compounds balance. *Poultry Science*. 83 : 51.
- Spiller, M.A. 1998. **The chemical components of coffee.** In G.A. Spiller (Ed.), *Caffeine* (pp. 97-161). Boca Raton, FL. CRC Press.
- Tan, C.P., Man, Y.C., Selamat, J. and Yusoff, M.S.A. 2002. Comparative studies of oxidative stability of edible oils by differential scanning calorimetry and oxidative stability index methods. *Food Chemistry*. 76(3) : 385-389.

- Tello, J., Viguera, M., and Calvo, L. 2011. Extraction of caffeine from Robusta coffee (*Coffeacanephora* var. Robusta) husks using supercritical carbon dioxide. *Supercritical Fluids*. 59 : 53-60.
- Tesoriere, L., Allegra, M., Gentile, C. and Livrea, M. A. 2009. Betacyanins as phenol antioxidants. Chemistry and mechanistic aspects of the lipoperoxyl radical-scavenging activity in solution and liposomes. *Free radical research*. 43(8) : 706-717.
- Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Byrne, D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Food Composition and Analysis*. 19 : 669-675.
- Todaka, M., Kowhakul, W., Masamoto, H., Shigematsu, M. and Onwona-Agyeman, S. 2013. Thermal decomposition of biodiesel fuels produced from rapeseed, jatropha, and coffee oils with different alcohols. *Thermal Analysis and Calorimetry*. 113(3) : 1355-1361.
- Tomsik, A., Pavlic, B., Vlastic, J., Ramic, M., Brindza, J. and Vidovic, S. 2016. Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (*Allium ursinum* L.). *Ultrasonics Sonochemistry*. 29 : 502-511.
- Valacchi, G., Pagnin, E., Corbacho, A. M., Olano, E., Davis, P. A., Packer, L. and Cross, C. E. 2004. In vivo ozone exposure induces antioxidant/stress-related responses in murine lung and skin. *Free Radical Biology and Medicine*. 36(5) : 673-681.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M. and Telsler, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*. 39(1) : 44-84.
- Wanasundara, P.K.J.P.D. and Shahidi, F. 2005. **Antioxidants: Science, Technology, and Application. In Bailey's Industrial Oil and Fat Product.** New York. 1 : 431-489.
- Wu, X., Beecher, G. R., Holden, J. M., Haytowitz, D. B., Gebhardt, S. E. and Prior, R. L. 2006. Concentrations of anthocyanins in common foods in the United States and estimation of normal consumption. *Agricultural and Food Chemistry*. 54(11) : 4069- 4075.
- Xu, H., Wang, W., Liu, X., Yuan, F. and Gao, Y. 2015. Antioxidative phenolics obtained from spent coffee grounds (*Coffea Arabica* L.) by subcritical water extraction. *Industrial Crops and*

Products. 76 : 946-954.

Yang, L., Nazari, L., Yuan, Z., Corscadden, K., Xu, C. and He, Q. 2016. Hydrothermal liquefaction of spent coffee grounds in water medium for bio-oil production. Biomass and Bioenergy. 86 : 191-198.

Zuorro, A. and Lavecchia, R. 2012. Spent coffee grounds as a valuable source of phenolic compounds and bioenergy. Cleaner Production. 34 : 1087-1094.





ก1. การวิเคราะห์ความหนืด Brookfield viscometer (Brookfield DV-III)

1.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

1.1.1 Brookfield viscometer รุ่น Brookfield DV-III

1.1.2 ชุด Small Sample adapter

1.1.3 หัววัดเบอร์ 18

1.2 วิธีการทดลอง

1.2.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำมันกากกาแฟ 8 มิลลิลิตร ใส่ใน chamber ซึ่งติดตั้งเข้ากับชุด small sample adapter และควบคุมอุณหภูมิการวัดที่ 30 ± 1 องศาเซลเซียส

1.2.2 ใส่หัววัดเบอร์ 18 และจุ่มในตัวอย่าง

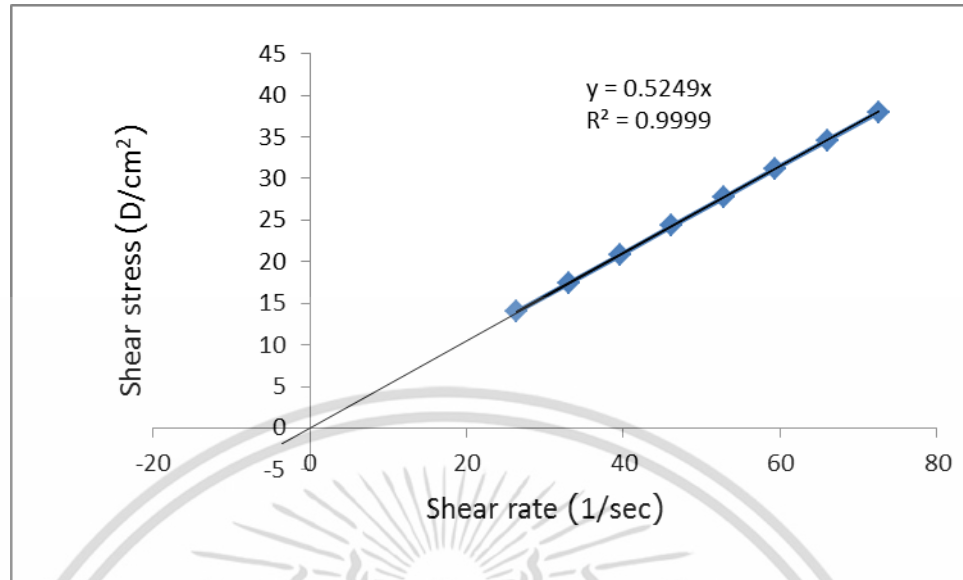
1.2.3 กด select spindle เพื่อเลือกขนาดของหัววัดและกด select spindle อีกกรอบเพื่อตอบตกลง

1.2.4 เลือกความเร็วรอบ โดยพิจารณาความเร็วรอบจากค่าทอร์ก (torque) ที่เข้าใกล้ 100 อ่านค่าความหนืดของน้ำมันเป็นเซนติพอยส์ (cP)

การทดลอง

ตารางที่ ก.1 แสดงค่าความหนืดของน้ำมันกากกาแฟจาก เครื่อง Brookfield viscometer LV DV-III ULTRA (หัว No.18)

ตัวอย่าง	RPM	Torque	Viscosity (cP)	Shear stress	Shear rate	อุณหภูมิ
น้ำมัน กาก	20	35.4	53.1	14.0	26.4	30.5
กาแฟ	25	44.0	52.8	17.4	33.0	
	30	52.7	52.7	20.8	39.6	
	35	61.3	52.5	24.3	46.2	
	40	70.0	52.5	27.7	52.8	
	45	78.7	52.5	31.2	59.4	
	50	87.5	52.5	34.6	66.0	
	55	96.0	52.4	38.0	72.6	



ภาพที่ ก.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Shear rate และ Shear stress ของน้ำมันกากกาแฟ

น้ำมันกากกาแฟเป็นของไหลนิวโตเนียน

ความหนืดของน้ำมันกากกาแฟ คือ 52.49 cP หรือ 52.49 mPa.s

ก2. การวัดค่าสีด้วยเครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE)

2.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

2.1.1 เครื่อง Hunter Lab Color Quest XE

2.1.2 เครื่องคอมพิวเตอร์ที่มีโปรแกรม Universe.exe

2.1.3 อุปกรณ์สำหรับเครื่อง Hunter Lab (Black card, white calibrated tile, เซลล์ใส่ตัวอย่าง)

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 เปิดเครื่องสำรองไฟฟ้า, เครื่อง Hunter Lab และเครื่องคอมพิวเตอร์

2.2.2 เปิดโปรแกรม Hunter Lab-Universal.exe

2.2.3 เตรียมน้ำมันชนิดต่างในขวดตัวอย่าง

2.2.4 ตั้งค่าการวัดสีใน โปรแกรม Universal (ใช้ระบบ CIE L* a* b* , Mode, ซ้ำที่วัด, แหล่งกำเนิดแสง)

2.2.5 ทำการ Calibration ตามขั้นตอนที่โปรแกรมกำหนด

2.2.5.1 Black card ที่ transmiss port ทำการ standardize แล้วนำ black card ออก

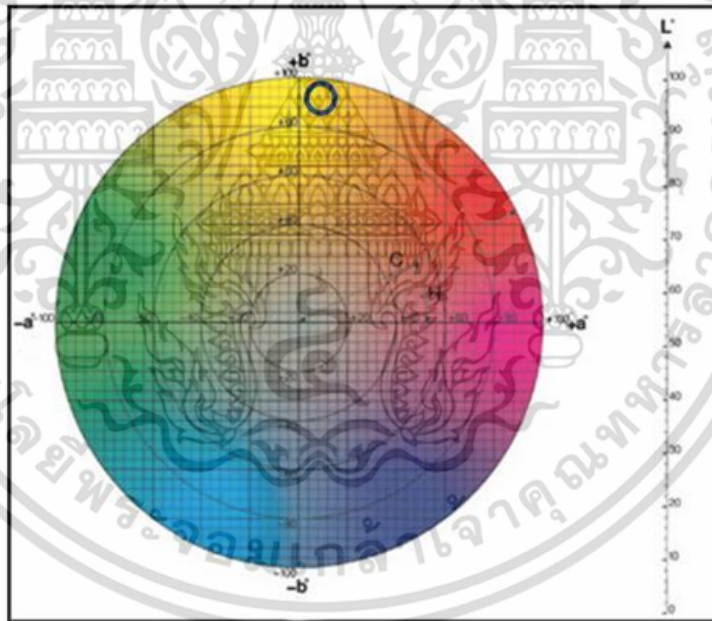
2.2.5.2 นำ cell blank (น้ำกลั่น) วางแทนที่ black card

- 2.2.5.3 นำ white calibrated tile วางที่ reflectance port
- 2.2.6 ใส่ cell ตัวอย่างน้ำมันที่จะวัดแทนที่ cell blank
- 2.2.7 กดปุ่ม Read Sample เพื่อให้เครื่องวัดค่าสีตัวอย่าง

การทดลอง

วิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่อง Hunter Lab (Color Quest XE)

- $L^* = 69.95$ (L^* เป็น + บ่งบอกถึงสีขาว)
- $a^* = 13.26$ (a^* เป็น + บ่งบอกถึงสีแดง)
- $b^* = 97.61$ (b^* เป็น + บ่งบอกถึงสีเหลือง)
- Chroma (C^*) = $\sqrt{a^{*2} + b^{*2}} = \sqrt{13.26^2 + 97.61^2} = 98.51$
- Hue (h^*) = $\tan^{-1} \left| \frac{b^*}{a^*} \right| = \tan^{-1} \left| \frac{97.02}{13.26} \right| = 82.26$



ภาพที่ ก.2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่า Hue และ Chroma ของน้ำมันกากกาแฟ

ก3. การวิเคราะห์ค่ากรดและกรดไขมันอิสระ (Acid value; AV หรือ Free fatty acid) ตามวิธี AOCS (1997)

3.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 3.1.1 ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
- 3.1.2 Magnetic stirrer
- 3.1.3 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 3.1.4 บิวเรตพร้อมขาตั้งและชุดจับบิวเรต

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 เอทิลแอลกอฮอล์ 95 %
- 3.2.2 สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 0.1% ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95%
- 3.2.3 สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล

3.3 วิธีการทดลอง

- 3.3.1 ชั่งน้ำมันกอกกาแฟ 4.5 ± 0.01 กรัม จดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.3.2 เติมเอทิลแอลกอฮอล์ 95 % 30 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที
- 3.3.3 หยดสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 0.1% เป็นอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด นำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เขย่าแรงๆจนได้สารละลายสีชมพู สีต้องคงที่เป็นเวลา 30 นาที
- 3.3.4 บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่ใช้ในการไตเตรท
- 3.3.5 คำนวณค่าปริมาณกรดไขมันอิสระ

$$\text{Acid value} = \frac{\text{Sample titration} \times \text{Normality of KOH} \times 56.11}{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}$$

(mg KOH/g)

$$\% \text{Free fatty acid} = \frac{\text{Sample titration} \times \text{Normality of KOH} \times 25.6}{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}$$

(mg KOH/g)

การทดลอง

$$\begin{aligned}\% \text{Free fatty acid of palmitic}_1 &= \frac{6.8 \times 0.1 \times 25.6}{4.4669} = 3.8971 \\ \% \text{Free fatty acid of palmitic}_2 &= \frac{7.2 \times 0.1 \times 25.6}{4.5921} = 4.0138 \\ \% \text{Free fatty acid of palmitic}_3 &= \frac{6.85 \times 0.1 \times 25.6}{4.5795} = 3.8292\end{aligned}$$

%Free fatty acid ของน้ำมันกากกาแฟ คือ 3.91 %

ก4. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide value;PV) ตามวิธี AOCS (1997)

4.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 4.1.1 ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
- 4.1.2 บิวเรตพร้อมขาตั้งและชุดจับบิวเรต

4.2 สารเคมี

- 4.2.1 สารละลายผสมอะซิติก : คลอโรฟอร์ม (3:2)
- 4.2.2 สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว
- 4.2.3 สารละลาย โซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.01 นอร์มอล
- 4.2.4 สารละลายน้ำแข็งความเข้มข้น 1%

4.3 วิธีการทดลอง

- 4.3.1 ชั่งน้ำมันกากกาแฟ 5 ± 0.05 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 4.3.2 เติมสารละลายผสมอะซิติก : คลอโรฟอร์ม (3:2) 30 มิลลิลิตร
- 4.3.3 เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว 0.5 มิลลิลิตร
- 4.3.4 เขย่าสารละลายเป็นเวลา 1 นาที ในที่มืด และเติมน้ำกลั่นทันที 30 มิลลิลิตร
- 4.3.5 ไตรเตรทด้วยสารละลาย โซเดียมไทโอซัลเฟตความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเป็นสีเหลืองอ่อนและเติมสารละลายน้ำแข็งความเข้มข้น 1% 2 มิลลิลิตร และไตรเตรทต่อจนสีน้ำเงินจางหาย
- 4.3.6 บันทึกปริมาตรสารละลาย โซเดียมไทโอซัลเฟต ที่ใช้ในการไตรเตรท
- 4.3.7 ทำ blank ตามวิธีเดียวกับข้างต้น แต่ไม่ใส่ตัวอย่างน้ำมัน
- 4.3.8 คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์

$$\text{Peroxide value} = \frac{\text{Volume of Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \times \text{Normality of Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} \times 1000}{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}$$

(mg_{eq peroxide}/g)

การทดลอง

$$\text{Peroxide value}_1 = \frac{(2.7 - 0.1) \times 0.01 \times 1000}{5.07} = 5.1282 \text{ mg}_{\text{eq peroxide}}/\text{kg}$$

$$\text{Peroxide value}_2 = \frac{(2.8 - 0.1) \times 0.01 \times 1000}{5.05} = 5.3465 \text{ mg}_{\text{eq peroxide}}/\text{kg}$$

$$\text{Peroxide value}_3 = \frac{(2.45 - 0.1) \times 0.01 \times 1000}{5.05} = 4.6535 \text{ mg}_{\text{eq peroxide}}/\text{kg}$$

Peroxide value ของน้ำมันกากกาแฟ คือ 5.04 mg_{eq peroxide}/kg

ก5. การวิเคราะห์ค่าไอโอดีน (Iodine value; IV) วิธีการ Wijs ตามวิธี AOCS (2009)

5.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 5.1.1 ขวดรูปชมพู่ 500 มิลลิลิตร
- 5.1.2 บิวเรตพร้อมขาตั้งและชุดจับบิวเรต

5.2 สารเคมี

- 5.2.1 สารละลาย Wijs
- 5.2.2 สารละลาย Potassium Iodide 10% (w/v)
- 5.2.3 สารละลาย Glacial acetic acid-Cyclohexane 1:1 (v/v) 4.
- 5.2.4 กรดไฮโดรคลอริก 5. สารละลายน้ำ แป้ง 1%
- 5.2.5 สารละลายมาตรฐาน Sodium thiosulfate 0.1 N

5.3 วิธีการทดลอง

- 5.3.1 ชั่งน้ำมันกากกาแฟ 10 ± 0.02 ใส่น้ำมันใน flask ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Cyclohexane 15 มิลลิลิตร เขย่าให้ละลายเข้ากัน
- 5.3.2 เติมสารละลาย Wijs 25 มิลลิลิตร ปิดจุกแล้วเขย่าเบาๆจนละลายผสมกัน จับเวลา 30 นาที นำไปเก็บในที่มืด เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเก็บรักษาที่อุณหภูมิ ประมาณ 25 ± 5 °C
- 7.3.3 เติมสารละลาย Potassium Iodide (KI) 10% จำนวน 20 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
- 5.3.4 ไตเตรทด้วยสารละลาย Sodium thiosulfate 0.1 N จนสารละลายสีเหลืองจางลงจากนั้นเติม

- น้ำแข็งเป็นอินดิเคเตอร์ประมาณ 1-2 มิลลิลิตร ไตเตรตต่อจนสารละลายสีฟ้าเริ่มจางลง
- 5.3.5 ทำสารละลาย blank ตามวิธีเดียวกับข้างต้น แต่ไม่ใส่ตัวอย่างน้ำมัน
- 5.3.6 คำนวณค่าไอโอดีน

$$\text{Iodine value} = \frac{(\text{Blank titration} - \text{sample titration}) \times \text{Normality of Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12.69}{\text{น้ำหนักน้ำมัน}}$$

(mg Na₂S₂O₃/g)

การทดลอง

$$\text{Iodine value}_1 = \frac{(41.7 - 33.75) \times 0.1 \times 12.69}{0.111} = 90.8878$$

$$\text{Iodine value}_2 = \frac{(41.7 - 34.48) \times 0.1 \times 12.69}{0.1048} = 87.4254$$

$$\text{Iodine value}_3 = \frac{(41.7 - 33.9) \times 0.1 \times 12.69}{0.1101} = 89.9019\text{mg}$$

Iodine value ของน้ำมันกากกาแฟ คือ 89.41

ก6. การวิเคราะห์ค่าสะaponนิฟิเคชัน (Saponification value; SV) ตามวิธี AOCS (2009)

6.1 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 6.1.1 ขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร
- 6.1.2 บิวเรตพร้อมขาตั้งและชุดจับบิวเรต
- 6.1.3 Air Condenser ใ้ตรง

6.2 สารเคมี

- 6.2.1 Hydrochloric acid 0.5 M (41.60 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)
- 6.2.2 Potassium hydroxide (KOH)
- 6.2.3 Phenolphthalein indicator 1.0% ใน ethyl alcohol 95%

6.3 วิธีการทดลอง

- 6.3.1 ชั่งน้ำมันกากกาแฟ 4 ± 0.01 กรัม ใส่ขวดก้นกลม ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 6.3.2 เติมสารละลาย โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 25 มิลลิลิตร
- 6.3.3 ทำสารละลาย blank โดยทำเช่นเดียวกับวิธีดังกล่าว

- 6.3.4 นำขวดตัวอย่างน้ำมันต่อกับ Air Condenser แล้วต้มจนน้ำมันเกิดการ saponified อย่างสมบูรณ์ ใช้เวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง
- 6.3.5 นำขวดตัวอย่างน้ำมันออกมาทิ้งไว้ให้เย็น (ไม่เย็นจนเกินไป)
- 6.3.6 เติมฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด และไตเตรทด้วยสารละลายไฮโดรคลอริก 0.5 โมลาร์ จนสารละลายสีชมพูจางหายไป
- 6.3.7 บันทึกปริมาตรที่ใช้ในการไตเตรท คำนวณค่าสะปอนนิฟิเคชัน

$$\text{Saponification value} = \frac{(\text{Blank titration} - \text{sample titration}) \times \text{Normality of acid} \times 56.1}{\text{น้ำหนักน้ำมัน}} \text{ (mg KOH/g)}$$

การทดลอง

$$\text{Saponification value}_1 = \frac{(45.8 - 23.5) \times 0.5 \times 56.1}{4.0089} = 156.0316$$

$$\text{Saponification value}_2 = \frac{(45.8 - 23.0) \times 0.5 \times 56.1}{4.0081} = 159.5619$$

$$\text{Saponification value}_3 = \frac{(45.8 - 24.0) \times 0.5 \times 56.1}{4.0031} = 152.7541$$

Saponification value ของน้ำมันกากกาแฟ คือ 156.12

ก7. การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ตามวิธีของ Pourmorad *et al.* (2006)

7.1 สารเคมี

7.1.1 Folin-Ciocalteu

7.1.2 โซเดียมคาร์บอเนต

7.1.3 กรดแกลลิก

7.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

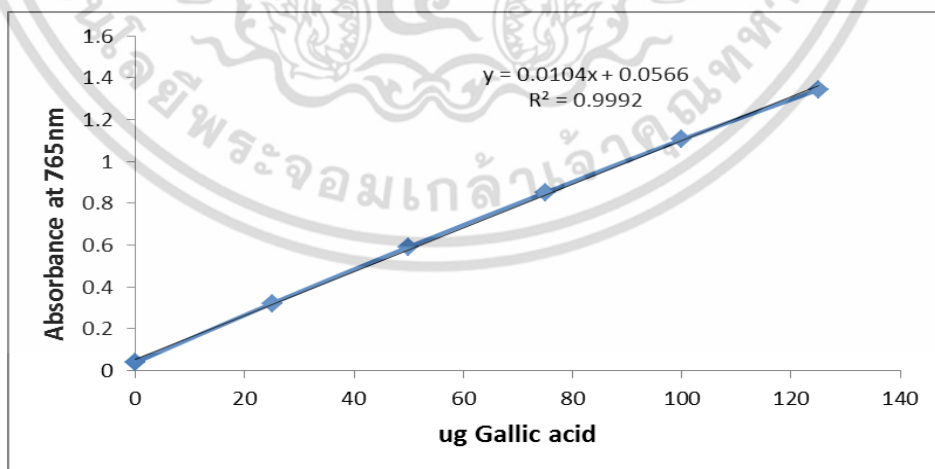
7.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานแกลลิก โดยนำกรดแกลลิก 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด

7.2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวมเป็น 5 มิลลิลิตร

7.2.3 เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 หลอดละ 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที

7.2.4 ทำให้เป็นกลาง โดยเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 โมล ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณกรดแกลลิก

จากการเตรียมกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก ซึ่งใช้เป็นสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากกาแฟสกัดด้วยวิธีการเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ระยะเวลา 5, 10, 15 และ 20 ชั่วโมง โดยมีสมการเส้นตรงคือ $y = 0.0104x + 0.0566$ และค่า $R^2 = 0.9992$ ดังแสดงในรูปที่ ก.3



ภาพที่ ก.3 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

7.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

- 7.3.1 ปิเปตสารสกัดกากกาแฟ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง
- 7.3.2 เติมน้ำกลั่น Folin-Ciocalteu ต่อน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 หลอดละ 5 มิลลิลิตร
เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
- 7.3.3 ทำให้เป็นกลาง โดยเติมน้ำกลั่นโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 โมล ปริมาตร 4
มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ 10 นาที
- 7.3.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็น blank

ก8. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ตามวิธีของ Brand-williams et al. (1995)

8.1 สารเคมี

- 8.1.1 2,2-Diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH)
- 8.1.2 เมทานอล
- 8.1.3 ไทรลอกซ์

8.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

- 8.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระดีพีพีเอช เตรียมโดยนำ 0.012 กรัม DPPH ละลาย
ในเมทานอล 50 กรัม
- 8.2.2 เตรียมสารละลายไทรลอกซ์ โดยนำไทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจน
ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด
- 8.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.06, 0.12,
0.18, 0.24, 0.30, 0.36, 0.42, 0.48, 0.60, 0.90, 0.12, 0.15, 0.18, 0.21, 0.24 มิลลิลิตร
ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวมเป็น 0.3 มิลลิลิตร
- 8.2.4 เติมน้ำกลั่นมาตรฐานอนุมูลอิสระดีพีพีเอช หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้ง
และบ่มในที่มืด 30 นาที
- 8.2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร คัดค่าเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง

$$\% \text{ Inhibition} = A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}$$

8.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

- 8.3.1 ปิเปตสารสกัดกากกาแฟ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง
- 8.3.2 เติมน้ำกลั่นมาตรฐานอนุมูลอิสระดีพีพีเอช หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่ม

ในที่มืด 30 นาที

8.3.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank

ก9. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอปิทีเอส ตามวิธีของ Thaipong et al. (2006)

9.1 สารเคมี

9.1.1 ABTS

9.1.2 เมทานอล

9.1.3 ไทโรลอกซ์

9.1.4 โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต

9.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

9.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอปิทีเอส เตรียมโดยนำ 7.4 มิลลิโมล ABTS และ 2.6 มิลลิโมล โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เขย่าให้เข้ากัน ผสมกับ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 หลังจากทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง เจือจางด้วยเมทานอล 95%

9.2.2 เตรียมสารละลายไทโรลอกซ์ โดยนำไทโรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด

9.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอปิทีเอส ใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.30, 0.36, 0.42, 0.48, 0.60, 0.90, 0.12, 0.15, 0.18 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวมเป็น 0.3 มิลลิลิตร

9.2.4 เติมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอปิทีเอส หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งและบ่มในที่มืด 30 นาที

9.2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร

9.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีเอปิทีเอส

9.3.1 ปิเปตสารสกัดกากกาแฟ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง

9.3.2 เติมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอปิทีเอส หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืด 2 ชั่วโมง

9.3.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank

ก10. การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพี ตามวิธีของ Benzie and Strain et al. (1996)

10.1 สารเคมี

- 10.1.1 TPTZ
- 10.1.2 ไฮโดรคลอริก
- 10.1.3 อะซิเตทบัฟเฟอร์
- 10.1.4 เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต
- 10.1.5 เมทานอล
- 10.1.6 ไทรลอกซ์

10.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

10.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพี เตรียมโดยนำ 10 ไมโครโมล TPTZ ละลายด้วย 40 ไมโครโมล ไฮโดรคลอริก กับ 300 มิลลิโมล อะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 3.6 และ 20 ไมโครโมล เฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต เขย่าให้เข้ากัน ผสมระหว่างสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ กับ สารละลายTPTZ และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ในอัตราส่วน 10 ต่อ 1 ต่อ 1

10.2.2 เตรียมสารละลายไทรลอกซ์ โดยนำไทรลอกซ์ 0.025 กรัม ปรับปริมาตรด้วย เมทานอลจนได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เก็บในที่มืด ผสมกับ โปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 หลังจากทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง เจือจางด้วย เมทานอล 95%

10.2.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพีใส่หลอดทดลอง หลอดละ 0, 0.06, 0.12, 0.18, 0.24, 0.30, 0.36, 0.42, 0.48, 0.60, 0.90, 0.12 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรรวมเป็น 0.3 มิลลิลิตร

10.2.4 เติมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพี หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืด 30 นาที

10.2.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร

10.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพี

10.3.1 ปิเปตสารสกัดจากกาแฟ ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง

10.3.2 เติมสารละลายมาตรฐานอนุมูลอิสระเอพอาร์เอพี หลอดละ 5.7 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มในที่มืด 30 นาที

10.3.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร โดยใช้เมทานอลเป็น blank

ก11. การวิเคราะห์ความคงตัวของน้ำมันต่อการออกซิเดชัน (AOCS,1997)

11.1 อุปกรณ์และสารเคมี

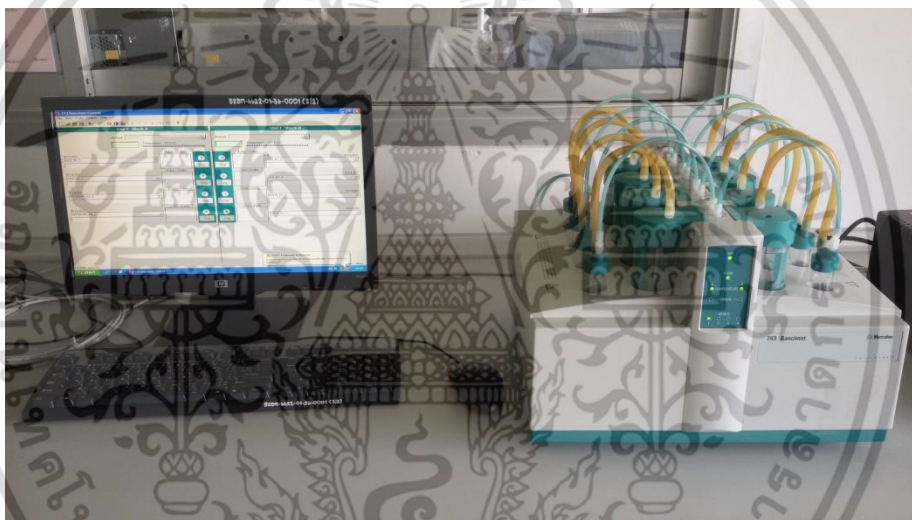
11.1.1 เครื่อง Rancimat

11.1.2 อุปกรณ์สำหรับเครื่อง Rancimat

11.1.3 น้ำ DI

11.2 วิธีการทดลอง

11.2.1 เปิดเครื่องและเข้าโปรแกรม เลือก set อุณหภูมิที่ต้องการ และอัตราการไหลของอากาศ(20 L/h) เมื่อ set ค่าต่างๆเสร็จแล้ว กดปุ่ม Heat โดยปุ่ม Heat จะเป็นสีแดง รอนกว่าจะเป็นสีเขียวจึงพร้อม สำหรับใช้งาน



ภาพที่ ก.4 เครื่อง Rancimat และอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง

11.2.2 ประกอบอุปกรณ์ของเครื่องเตรียมไว้ โดยใส่ถุงมือเพื่อป้องกันน้ำมันจากมือปนเปื้อนกับอุปกรณ์

11.2.2.1 ประกอบสาย Connecting tubing (green) เข้ากับ Connection nipple

11.2.2.2 ประกอบสาย Connection tubing (white) เข้ากับ Connection piece

11.2.2.3 ประกอบ PTFE tube เข้ากับ Sealing ring นำใส่เข้ากับ Measuring vessel cover ซึ่งเป็น electrode วัด นำ PTFE tube ใส่ลงในช่อง Open IN และประกอบ Protective ring ใส่ไปที่ปลาย electrode

11.2.2.4 ตวงน้ำ DI 60 มิลลิลิตร ใส่ Measuring vessel

- 11.2.2.5 นำส่วนประกอบ 2.3 มาครอบปิด Measuring vessel ที่ตวงน้ำไว้แล้ว
- 11.2.2.6 นำ Reaction vessel ใส่ในอุปกรณ์ นำไปชั่งในเครื่องชั่งละเอียด โดยใช้ Dropper คูด ตัวอย่างน้ำมัน โดยชั่งน้ำมัน 3.01 - 3.02 กรัม
- 11.2.2.7 ประกอบ Air inlet tube เข้ากับ Sealing ring แล้วใส่ลงไปในห้อง Reaction vessel cover นำ สาย Connection tubing(green) จากข้อ 13.2.2.1 ต่อเข้า Air inlet tube จึงประกอบลงไปในช่อง Connection หมุนเกลียวให้หลังล็อก จากนั้นประกอบ Foam barrier เข้ากับ Air tube
- 11.2.2.8 นำส่วนประกอบจากข้อ 13.2.2.7 ใส่ลงใน Reaction vessel ที่ใส่ตัวอย่าง หมุนให้หลังล็อกสนิท
- 11.2.3 นำ Measuring vessel จาก 13.2.2.5 ใส่ลงในช่องของเครื่อง ให้ปลายของ Connecting plug เสียบเข้ากับ ช่องของตัวเครื่อง ต่อสาย Connection tube (white) ที่เตรียมจากข้อ 13.2.2.2 เข้าไปตรงด้านบนของ ช่อง Open IN หมุนเกลียวให้สนิท
- 11.2.4 เมื่อ โปรแกรมแสดงอุณหภูมิถึงอุณหภูมิที่ต้องการใส่หลอดตัวอย่างที่ประกอบ เรียบร้อยแล้ว ลงใน Block A และ Block B แล้วเชื่อมสาย Connection tubing(white) เข้ากับช่อง Connection ของฝาปิดหลอด ทดลอง แล้วเชื่อมสาย Connection tubing(green) เข้ากับช่อง Air supply connection ด้านบน ของเครื่อง ใส่หลอด ทดลองครั้งละ 1 หลอด แล้วกดปุ่ม start ที่ช่องนั้น แล้วกดปุ่ม
- 11.2.5 ผลการทดลองจะแสดงผลเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยา



ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟ
ที่สกัดด้วยวิธีการเขย่า ความเร็ว 20 รอบต่อนาที 5, 10, 15, 20 ชั่วโมง ด้วยวิธี DPPH

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5	2	1.579091E2	4.4997447	3.1818000E0	117.480498	198.337702	154.7273	161.0909
10	2	1.747272E2	5.1425755	3.6363500E0	128.523042	220.931458	171.0909	178.3636
15	2	1.779091E2	7.0710678	5.0000000E0	114.378076	241.440124	172.9091	182.9091
20	2	1.870000E2	5.7854063	4.0909000E0	135.020187	238.979813	182.9091	191.0909
Total	8	1.743864E2	12.0500417	4.2603331E0	164.312276	184.460449	154.7273	191.0909

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	886.260	3	295.420	9.078	.029
Within Groups	130.165	4	32.541		
Total	1016.425	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a			
5	2	1.579091E2	
10	2		1.747272E2
15	2		1.779091E2
20	2		1.870000E2
Sig.		1.000	.102

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

- a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟ
ที่สกัดด้วยวิธีการเขย่า ความเร็ว 200 รอบต่อนาที 5, 10, 15, 20 ชั่วโมง ด้วยวิธี ABTS

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5	2	2.475000E2	45.4569251	3.2142900E1	-160.914268	655.914268	215.3571	279.6429
10	2	2.782143E2	16.1624811	1.1428600E1	133.000169	423.428431	266.7857	289.6429
15	2	3.060714E2	1.0101727	.7143000	296.995358	315.147442	305.3571	306.7857
20	2	3.289286E2	3.0304475	2.1428500E0	301.701059	356.156041	326.7857	331.0714
Total	8	2.901786E2	37.3693076	1.3212045E1	258.937039	321.420086	215.3571	331.0714

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7437.494	3	2479.165	4.242	.098
Within Groups	2337.762	4	584.440		
Total	9775.256	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a	5	2	2.475000E2
	10	2	2.782143E2
	15	2	3.060714E2
	20	2	3.289286E2
Sig.			.076

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการแช่ ความเร็ว 200 รอบต่อนาที 5, 10, 15, 20 ชั่วโมง ด้วยวิธี FRAP

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5	2	1.844210E2	2.9772731	2.1052500E0	157.671312	211.170788	182.3158	186.5263
10	2	1.983684E2	4.0937947	2.8947500E0	161.587164	235.149736	195.4737	201.2632
15	2	2.036316E2	5.5823959	3.9473500E0	153.475713	253.787387	199.6842	207.5789
20	2	2.083684E2	9.3040403	6.5789500E0	124.774964	291.961936	201.7895	214.9474
Total	8	1.986974E2	10.6028734	3.7486818E0	189.833151	207.561599	182.3158	214.9474

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	643.595	3	214.532	5.986	.058
Within Groups	143.352	4	35.838		
Total	786.946	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a	5	2	1.844210E2
	10	2	1.983684E2
	15	2	2.036316E2
	20	2	2.083684E2
Sig.			.080
			.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยวิธีการแช่ ความเร็ว 200 รอบต่อนาที 5, 10, 15, 20 ชั่วโมง

Descriptives

Gallicacid

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
5	2	1.415865E1	2.0465302	1.4471154E0	-4.228691	32.545998	12.7115	15.6058
10	2	1.725962E1	2.3524899	1.6634615E0	-3.876667	38.395898	15.5962	18.9231
15	2	1.573558E1	1.0402629	.7355769	6.389186	25.081968	15.0000	16.4712
20	2	1.875481E1	1.6521822	1.1682692E0	3.910540	33.599076	17.5865	19.9231
Total	8	1.647716E1	2.2986024	.8126787	14.555484	18.398843	12.7115	19.9231

ANOVA

Gallicacid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	23.451	3	7.817	2.310	.218
Within Groups	13.534	4	3.384		
Total	36.985	7			

Gallicacid

TRT	N	Subset for alpha = 0.05
Duncan ^a		1
5	2	14.158654
15	2	15.735577
10	2	17.259615
20	2	18.754808
Sig.		.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟ
ที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด แอปพลิเคชัน 20, 40, 60, 80% ที่ 10 นาที ด้วยวิธี DPPH

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
20	2	1.340000E2	.0000000	.0000000	134.000000	134.000000	134.0000	134.0000
40	2	1.871818E2	9.6423909	6.818200E0	100.548355	273.815245	180.3636	194.0000
60	2	1.976364E2	19.2847111	1.3636350E1	24.370095	370.902605	184.0000	211.2727
80	2	1.862727E2	4.4997447	3.1818000E0	145.844098	226.701302	183.0909	189.4545
Total	8	1.762727E2	27.8000869	9.8288150E0	153.031258	199.514167	134.0000	211.2727

ANOVA

Trolox

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4924.790	3	1641.597	13.535	.015
Within Groups	485.123	4	121.281		
Total	5409.914	7			

Trolox

Duncan

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
20	2	1.340000E2	
80	2		1.862727E2
40	2		1.871818E2
60	2		1.976364E2
Sig.		1.000	.366

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟ
ที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด แอปพลิเคชัน 20, 40, 60, 80% ที่ 10 นาที ด้วยวิธี ABTS

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
20	2	1.832667E2	8.4852814	6.0000000E0	107.029472	259.503928	177.2667	189.2667
40	2	2.472666E2	6.5996397	4.6666500E0	187.971240	306.562060	242.6000	251.9333
60	2	2.816000E2	11.7850659	8.3333000E0	175.715384	387.484616	273.2667	289.9333
80	2	2.849333E2	4.2426407	3.0000000E0	246.814686	323.051914	281.9333	287.9333
Total	8	2.492667E2	44.1224606	1.5599646E1	212.379362	286.153963	177.2667	289.9333

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13355.098	3	4451.699	65.360	.001
Within Groups	272.443	4	68.111		
Total	13627.541	7			

Trolox

Duncan

TRT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
20	2	1.832667E2		
40	2		2.472666E2	
60	2			2.816000E2
80	2			2.849333E2
Sig.		1.000	1.000	.707

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัดจากกาแฟ
ที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด แอปพลิเคชัน 20, 40, 60, 80% ที่ 10 นาที ด้วยวิธี FRAP

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
20	2	1.561000E2	34.2946789	2.4250000E1	-152.025465	464.225465	131.8500	180.3500
40	2	2.018500E2	2.8284271	2.0000000E0	176.437591	227.262409	199.8500	203.8500
60	2	2.428500E2	9.1923882	6.5000000E0	160.259669	325.440331	236.3500	249.3500
80	2	2.226000E2	2.4748737	1.7500000E0	200.364142	244.835858	220.8500	224.3500
Total	8	2.058500E2	36.9478397	1.3063034E1	174.960833	236.739167	131.8500	249.3500

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8281.250	3	2760.417	8.662	.032
Within Groups	1274.750	4	318.688		
Total	9556.000	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a			
20	2	1.561000E2	
40	2	2.018500E2	2.018500E2
80	2		2.226000E2
60	2		2.428500E2
Sig.		.062	.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด แอพลิจูด 20, 40, 60, 80% ที่ 10 นาที

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
20	2	9.293269E0	3.7599043	2.6586538E0	-24.488131	43.074669	6.6346	11.9519
40	2	1.678365E1	.9586736	.6778846	8.170313	25.396995	16.1058	17.4615
60	2	1.546635E1	.4555399	.3221154	11.373482	19.559210	15.1442	15.7885
80	2	1.132212E1	2.9712083	2.1009615E0	-15.373132	38.017363	9.2212	13.4231
Total	8	1.321635E1	3.7344953	1.3203435E0	10.094230	16.338462	6.6346	17.4615

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	73.534	3	24.511	4.070	.104
Within Groups	24.092	4	6.023		
Total	97.625	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a	20	2	9.293269
	80	2	1.132212E1
	60	2	1.546635E1
	40	2	1.678365E1
Sig.			.069
			.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด ที่แอฟฟิจูด 60% 1, 3, 6, 10, 15 นาที ด้วยวิธี DPPH

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	2	1.424545E2	8.3566587	5.9090500E0	67.372951	217.536149	136.5455	148.3636
3	2	1.665455E2	20.5703727	1.4545450E1	-18.272016	351.362916	152.0000	181.0909
6	2	2.015455E2	16.0706279	1.1363650E1	57.156587	345.934313	190.1818	212.9091
10	2	2.388182E2	19.9275419	1.4090900E1	59.776340	417.860060	224.7273	252.9091
15	2	2.470000E2	21.2132034	1.5000000E1	56.406929	437.593071	232.0000	262.0000
Total	10	1.992727E2	44.5856359	1.4099216E1	167.378087	231.167373	136.5455	262.0000

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	16292.564	4	4073.141	12.742	.008
Within Groups	1598.346	5	319.669		
Total	17890.910	9			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a	1	2	1.424545E2	
	3	2	1.665455E2	1.665455E2
	6	2		2.015455E2
	10	2		2.388182E2
	15	2		2.470000E2
Sig.			.236	.108
				.057

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด ที่แอฟลิจูด 60% 1, 3, 6, 10, 15 นาที ด้วยวิธี ABTS

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	2	2.264286E2	11.6167745	8.2143000E0	122.056022	330.801178	218.2143	234.6429
3	2	2.542858E2	27.7791849	1.9642850E1	4.699676	503.871824	234.6429	273.9286
6	2	2.975000E2	23.2335489	1.6428600E1	88.754845	506.245155	281.0714	313.9286
10	2	3.292857E2	9.5964290	6.7857000E0	243.065207	415.506193	322.5000	336.0714
15	2	3.389286E2	3.0304475	2.1428500E0	311.701059	366.156041	336.7857	341.0714
Total	10	2.892857E2	47.3327500	1.4967930E1	255.425910	323.145530	218.2143	341.0714

ANOVA

Trolox

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	18615.798	4	4653.949	15.035	.005
Within Groups	1547.705	5	309.541		
Total	20163.503	9			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a	1	2	2	2
	3	2	2	2
	6	2	2	2
	10	2	2	2
	15	2	2	2
Sig.		.174	.057	.071

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความสามารถด้านการเกิดออกซิเดชันของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด ที่แอฟลิจูด 60% 1, 3, 6, 10, 15 นาที ด้วยวิธี FRAP

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	2	1.581052E2	13.3977643	9.4736500E0	37.731114	278.479386	148.6316	167.5789
3	2	1.757368E2	6.3266965	4.4736500E0	118.893737	232.579963	171.2632	180.2105
6	2	2.015264E2	27.9121209	1.9736850E1	-49.254107	452.306807	181.7895	221.2632
10	2	2.231053E2	1.8608222	1.3158000E0	206.386476	239.824124	221.7895	224.4211
15	2	2.328421E2	12.6535344	8.9474000E0	119.154604	346.529596	223.8947	241.7895
Total	10	1.982632E2	31.7093394	1.0027374E1	175.579675	220.946665	148.6316	241.7895

ANOVA

Trolox

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7887.152	4	1971.788	8.483	.019
Within Groups	1162.188	5	232.438		
Total	9049.340	9			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Duncan ^a				
1	2	1.581052E2		
3	2	1.757368E2	1.757368E2	
6	2		2.015264E2	2.015264E2
10	2			2.231053E2
15	2			2.328421E2
Sig.		.300	.152	.103

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด
จากกาแฟที่สกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยสกัด ที่เอพลิจูด 60% 1, 3, 6, 10, 15 นาที

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
1	2	1.479091E1	.8999541	.6363636	6.705142	22.876676	14.1545	15.4273
3	2	1.606364E1	1.0285190	.7272727	6.822760	25.304513	15.3364	16.7909
6	2	1.551818E1	.1285649	.0909091	14.363072	16.673291	15.4273	15.6091
10	2	2.229091E1	.4499770	.3181818	18.248026	26.333792	21.9727	22.6091
15	2	1.383636E1	.5785419	.4090909	8.638371	19.034356	13.4273	14.2455
Total	10	1.650000E1	3.1942901	1.0101232E0	14.214942	18.785058	13.4273	22.6091

ANOVA

Trolox

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	89.410	4	22.352	46.154	.000
Within Groups	2.421	5	.484		
Total	91.831	9			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	15	2	1.383636E1		
	1	2	1.479091E1	1.479091E1	
	6	2	1.551818E1	1.551818E1	
	3	2		1.606364E1	
	10	2		2.229091E1	
Sig.			.066	.136	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความคงตัวการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลืองที่
เติมสารสกัดจากกาแฟ 0, 100, 1000 ส่วนในล้านส่วน ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 20
ชั่วโมงต่อลิตร

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	3.353333E0	.0057735	.0033333	3.338991	3.367676	3.3500	3.3600
100	3	3.380000E0	.0435890	.0251661	3.271719	3.488281	3.3300	3.4100
1000	3	3.433333E0	.0416333	.0240370	3.329910	3.536756	3.4000	3.4800
Total	9	3.388889E0	.0464878	.0154959	3.353155	3.424623	3.3300	3.4800

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.010	2	.005	4.073	.076
Within Groups	.007	6	.001		
Total	.017	8			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a			
0	3	3.353333	
100	3	3.380000	3.380000
1000	3		3.433333
Sig.		.386	.111

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความคงตัวการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวัน
 ที่เติมสารสกัดจากกาแฟ 0, 100, 1000 ส่วนในล้านส่วน ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 20
 ชั่วโมงต่อลิตร

Descriptives

Trolox								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	3	2.613333E0	.0513160	.0296273	2.485857	2.740809	2.5700	2.6700
100	3	2.660000E0	.0360555	.0208167	2.570433	2.749567	2.6200	2.6900
1000	3	2.716667E0	.0550757	.0317980	2.579851	2.853482	2.6800	2.7800
Total	9	2.663333E0	.0612372	.0204124	2.616262	2.710404	2.5700	2.7800

ANOVA

Trolox					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.016	2	.008	3.459	.100
Within Groups	.014	6	.002		
Total	.030	8			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a	0	3	2.613333
	100	3	2.660000
	1000	3	2.716667
Sig.			.280
			.200

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความคงตัวการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันถั่วเหลือง
เติมสารสกัดกากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วนและเติมกรดแอสคอร์บิก 0, 50, 100 ส่วนในล้านส่วน ที่
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 20 ชั่วโมงต่อลิตร

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	2	4.090000E0	.0424264	.0300000	3.708814	4.471186	4.0600	4.1200
300	2	4.040000E0	.0565685	.0400000	3.531752	4.548248	4.0000	4.0800
350	2	4.535000E0	.0777817	.0550000	3.836159	5.233841	4.4800	4.5900
400	2	5.430000E0	.0848528	.0600000	4.667628	6.192372	5.3700	5.4900
Total	8	4.523750E0	.5982579	.2115161	4.023594	5.023906	4.0000	5.4900

ANOVA

Trolox

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.487	3	.829	181.709	.000
Within Groups	.018	4	.005		
Total	2.505	7			

Trolox

TRT	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	
Duncan ^a	300	2	4.040000E0		
	0	2	4.090000E0		
	350	2		4.535000E0	
	400	2		5.430000E0	
Sig.			.500	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ผลจากการวิเคราะห์ทางสถิติด้วย CRD ของข้อมูลความคงตัวของสารเกิดออกซิเดชันของน้ำมันทานตะวัน
เติมสารสกัดจากกาแฟ 300 ส่วนในล้านส่วนและเติมกรดแอสคอร์บิก 0, 50, 100 ส่วนในล้านส่วน ที่
อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ความเร็วลม 20 ชั่วโมงต่อลิตร

Descriptives

Trolox

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0	2	2.770000E0	.0707107	.0500000	2.134690	3.405310	2.7200	2.8200
300	2	2.795000E0	.0636396	.0450000	2.223221	3.366779	2.7500	2.8400
350	2	2.910000E0	.0848528	.0600000	2.147628	3.672372	2.8500	2.9700
400	2	2.990000E0	.0707107	.0500000	2.354690	3.625310	2.9400	3.0400
Total	8	2.866250E0	.1097969	.0388191	2.774458	2.958042	2.7200	3.0400

ANOVA

Trolox	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.063	3	.021	3.962	.108
Within Groups	.021	4	.005		
Total	.084	7			

Trolox

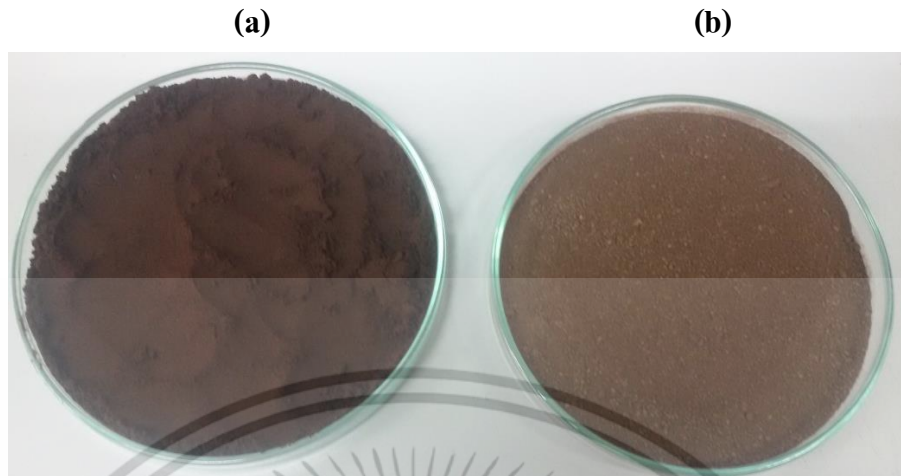
TRT	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Duncan ^a			
0	2	2.770000	
300	2	2.795000	2.795000
350	2	2.910000	2.910000
400	2		2.990000
Sig.		.132	.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษา⁹⁵เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.1 กากกาแฟผ่านการบด (a) และกากกาแฟผ่านการสกัดน้ำมัน (b) ตามลำดับ



ภาพที่ ค.2 น้ำมันกากกาแฟ



ภาพที่ ค.3 สารสกัดกากกาแฟ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษา⁹⁶เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวพิชญา เจริญธีระสกุลเดช
วัน เดือน ปีเกิด	23 กรกฎาคม 2535 ที่กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่	635 ถนน เจริญกรุง แขวงตลาดน้อย เขตสัมพันธวงศ์ กรุงเทพฯ 10100 โทร. 084-106-6319
ประวัติการศึกษา	2548 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น: โรงเรียนสตรีวัดมหาพฤฒารามในพระบรมชินูปถัมภ์ 2551 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย: โรงเรียนสตรีวัดมหาพฤฒารามในพระบรมชินูปถัมภ์ สายวิทยาศาสตร์ – คณิตศาสตร์ 2558 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร (เกียรตินิยมอันดับ1) สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2558 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วท.ม.) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	2557 เจ้าหน้าที่แผนกผลิต บริษัท ซีพีแรม จำกัด จ. กรุงเทพมหานคร
รางวัลที่เคยได้รับ	2556 เกียรติบัตรมีผลการเรียนดีเด่น 2557 เกียรติบัตรมีผลการเรียนดีเด่น 2558 เกียรติบัตรมีผลการเรียนดีเด่น