การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

ศุภิสรา จันทร์ประพันธ์

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The Study of Antioxidant Extraction from Coffee Silverskin

SUPISSARA CHANPRAPHAN

A REPORT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT

FOR THE DEGREE OF BACHELOR IN CHEMICAL ENGINEERING

FACULTY OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

โดย นางสาวศุภิสรา จันทร์ประพันธ์

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์

ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปริญญานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต สาขาวิศวกรรมเคมี

คณะกรรมการตรวจสอบปริญญานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ

(ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์)

.....กรรมการ

(รศ.ดร.เกรียงศักดิ์ ไกรวัฒนวงศ์)

.....กรรมการ

(ผศ.ดร.พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	การศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ
นักศึกษา	นางสาวศุภิสรา จันทร์ประพันธ์
รหัสนักศึกษา	57011283
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต
ภาควิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2560
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์

บทคัดย่อ

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารที่มีมูลค่าสามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ เพื่อศึกษาตัวแปรสำคัญในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ โดยตัวแปรที่ได้ศึกษา คือ วิธีที่ใช้ในการกสัด (เครื่องเขย่า และ คลื่นอัลตร้าโซนิค) ชนิดของตัวทำละลาย (น้ำ เอทานอล เอทานอลผสมน้ำ (1:1 โดยปริมาตร)) ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด (0-240 รอบ/นาที) อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (30-60 °C) และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (30-120 นาที) โดยทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) และ วิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent จากผลการทดลองพบว่าภาวะที่ทำให้สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ซึ่งทำให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 23.87 mg TE/g CS และภาวะที่ทำให้สารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด คือ สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด 90 นาที ซึ่งทำให้สารสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอล 7.42 mg GAE/g CS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Report Title	The Study of Antioxidant Extraction from Coffee Silverskin
By	Miss SUPISSARA CHANPRAPHAN
Student ID	57011283
Degree	Bachelor of Engineering
Programme	Chemical Engineering
Year	2017
Report Advisor	Asst. Prof. Dr. Tanawan Pinnarat

Abstract

Coffee silverskin (CS) can be considered as an attractive source of antioxidants, which is a valuable substance can be used in food, medicine and cosmetics industries. Therefore, this work studied the antioxidant extraction from coffee silverskin. The objective of this work was to study the important variables affecting the antioxidant activity and total phenolic compounds of coffee silverskin extracts. The variables, which were evaluated are extraction method (shaker and ultrasonic), shaking speed (0-240 rpm), type of solvent (water, ethanol and mixture of ethanol and water), extraction temperature (30-60°C) and extraction time (30-120 min). The 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) radical scavenging method was used to evaluate the antioxidant activity and the Folin–Ciocalteu reagent was used to determine the total content of phenolic compounds in coffee silverskin extracts. The appropriate condition for coffee silverskin antioxidant activity extraction is extracted by ultrasonic method and using ethanol as solvent for 30 minute, obtained 23.87 mg TE/g CS. The appropriate condition for total content of phenolic compounds in coffee silverskin extraction is extracted by ultrasonic method and using mixture of ethanol and water as solvent for 90 minute, obtained 7.42 mg GAE/g CS.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความช่วยเหลือจากคณาจารย์และบุคคลหลายท่าน ผู้จัดทำขอขอบคุณ ผศ.ดร.ธนวรรณ พิณรัตน์ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์ ที่ได้ให้ความรู้ คำปรึกษา แนะนำ ตลอดจนช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการดำเนินงานมาโดยตลอด อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำปริญญานิพนธ์นี้

ขอขอบคุณคณะกรรมการตรวจปริญญานิพนธ์ รศ.ดร.เกรียงศักดิ์ ไกรวัฒนวงศ์ และ ผศ.ดร.พรสวรรค์ อัศวแสงรัตน์ ที่ได้ให้คำแนะนำสำหรับเล่มรายงานให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณบริษัท เขาช่องอุตสาหกรรม 1997 จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสำหรับใช้เป็นสารตั้งต้นในการทดลอง

ขอขอบคุณ ผศ.ดร.ธงชัย พุฒทองศิริ รองคณบดี และ นางสาวกัลยลักษณ์ ภู่รื่น นักศึกษาปริญญาโท คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้สารเคมีมาตรฐานสำหรับใช้วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และให้คำแนะนำเกี่ยวกับขั้นตอนการทดลองในการตรวจปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ขอขอบคุณอาจารย์ และ เจ้าหน้าที่ภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกท่าน ที่กรุณาให้คำแนะนำความช่วยเหลือ และช่วยแก้ไขปัญหา ในการใช้อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการของภาควิชาวิศวกรรมเคมี

ขอขอบคุณเพื่อนร่วมอาจารย์ที่ปรึกษา และเพื่อนร่วมภาควิชาวิศวกรรมเคมีทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในการทำการทดลอง และคอยให้กำลังใจแก่ผู้จัดทำเสมอมา

สุดท้ายนี้ ผู้จัดทำขอขอบคุณครอบครัวที่สนับสนุนทางด้านการศึกษา และเป็นกำลังใจให้แก่ผู้จัดทำมาโดยตลอด รวมถึงผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวนามไว้ ที่ได้ให้กำลังใจและมีส่วนช่วยเหลือจนปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ศุภิสรา จันทร์ประพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

บทคัดย่อ I

Abstract II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VI

สารบัญรูปภาพ VIII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์ 1

1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์ 2

1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 3

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ 4

2.3 การวิเคราะห์และทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ 5

2.3.1 การทดสอบความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระ 5

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล 6

2.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย 6

2.4.1 วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย 6

2.4.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด 10

บทที่ 3 การดำเนินงาน 14

3.1 การเตรียมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 14

3.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 15

3.2.1 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการใช้เครื่องเขย่า 15

3.2.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการใช้เครื่องอัลตร้าโซนิค 17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

3.3 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 19

3.3.1 การตรวจความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 19

3.3.2 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด 20

บทที่ 4 ผลการดำเนินงาน และวิเคราะห์ผล 22

4.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย 22

4.2 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่า 24

4.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัด 26

4.4 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด 29

บทที่ 5 สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ 32

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน 32

5.2 ข้อเสนอแนะ 32

เอกสารอ้างอิง 33

ภาคผนวก 36

ภาคผนวก ก. การคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัด 37

ก.1 การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 37

ก.2 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด 38

ภาคผนวก ข. ข้อมูลผลการทดลอง 40

ข.1 อิทธิพลของชนิดของตัวทำละลาย 40

ข.2 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่า 43

ข.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัด 47

ข.4 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่ทำการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการใช้เครื่องเขย่า 17

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรที่ทำการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค 18

ตารางที่ ข.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องเขย่าในการสกัด ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 40

ตารางที่ ข.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัด ระยะเวลาในการสกัด60 นาที 41

ตารางที่ ข.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องเขย่าในการสกัด ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 41

ตารางที่ ข.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัด ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 42

ตารางที่ ข.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 43

ตารางที่ ข.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที 45

ตารางที่ ข.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที 47

ตารางที่ ข.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที 49

ตารางที่ ข.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส 50

ตารางที่ ข.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค 52

ตารางที่ ข.11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ ข.12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดกาแฟ 3
รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของ DPPH 5
รูปที่ 2.3 การสกัดด้วยเครื่องซ็อกเล็ต 7
รูปที่ 2.4 การเกิดปรากฏการณ์แคปวิเตชัน 8
รูปที่ 2.5 เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่าง 9
รูปที่ 2.6 ลักษณะของเครื่องเขย่า 10
รูปที่ 3.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ก) ก่อนลดขนาด ข) หลังลดขนาด 14
รูปที่ 3.2 เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น LSI-3016R 16
รูปที่ 3.3 ชุดกรองสุญญากาศ 16
รูปที่ 3.4 เครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic) รุ่น Ultrawave-U2200 18
รูปที่ 3.5 เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ 19
รูปที่ 4.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิ ในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที 22
รูปที่ 4.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที 23
รูปที่ 4.3 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่าที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายเป็น 25
รูปที่ 4.4 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่าที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายเป็น 25
รูปที่ 4.5 อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด 120 รอบ/นาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) 27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่ 4.6 อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด 120 รอบ/นาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร).....27

รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เวลาต่างๆ เมื่อสกัดด้วยวิธีอัลตร้าโซนิค 28

รูปที่ 4.8 อิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ที่อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที.....29

รูปที่ 4.9 อิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ที่อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที.....30

รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณสารประกอบฟีนอล.....39

รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับวัดเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปริญญานิพนธ์

กาแฟเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมากเป็นอันดับสามของโลกรองจากน้ำดื่ม และชา และเป็นสินค้าที่มีการซื้อขายมากเป็นอันดับสองของโลกรองจากกลุ่มปิโตรเลียม [1] ยิ่งกว่านั้นพฤติกรรมการบริโภคกาแฟยังได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยจากข้อมูลปริมาณการบริโภคกาแฟของโลกในปี 2560 พบว่ามีปริมาณการบริโภคกาแฟมากถึงประมาณ 10 ล้านตันต่อปี [2] และในประเทศไทยมีปริมาณการบริโภคในปี 2559 ประมาณ 5 หมื่นตันต่อปี และมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปีตั้งแต่ปี 2533 จนถึงปัจจุบัน [3] ซึ่งจากการบริโภคกาแฟที่มากขึ้นนี้ส่งผลให้มีการผลิตกาแฟมากขึ้น และเกิดของเสียจากกระบวนการผลิตกาแฟเป็นปริมาณมาก เช่น กากกาแฟ และ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ซึ่งหากถูกกำจัดอย่างไม่เหมาะสมอาจทำให้ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นเยื่อบางๆที่ปกคลุมเมล็ดกาแฟอยู่ เป็นของเสียจากกระบวนการคั่วเมล็ดกาแฟ [4] ซึ่งโดยปกติจะถูกนำไปใช้เป็นปุ๋ย เชื้อเพลิง หรือนำไปฝังกลบ แต่จากงานวิจัยที่ได้ศึกษามาพบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารที่มีมูลค่าเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคความดันโลหิตสูง สามารถนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอางได้ [4] ดังนั้นการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจึงเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากปัจจุบันมนุษย์ให้ความสำคัญต่อสุขภาพร่างกายมากขึ้น เช่น การบริโภคอาหารเพื่อการป้องกันและรักษาโรค หรือเพื่อเสริมสร้างสุขภาพให้แข็งแรง อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิต โดยวิธีการสกัดที่ง่าย และต้นทุนน้อยที่สุดคือ เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย [5] ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดโดยใช้เครื่องเขย่า การสกัดด้วยซ็อกเล็ต และอีกวิธีหนึ่งที่เป็นวิธีที่ค่อนข้างใหม่และน่าสนใจคือ การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

ดังนั้นสำหรับงานวิจัยนี้จะศึกษาถึงผลของวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ การสกัดโดยใช้เครื่องเขย่า และ การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค และศึกษาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย ความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา คือ เอทานอล น้ำ และเอทานอลผสมน้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม และทำการวิเคราะห์เพื่อหา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาวะในการสกัดที่ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด

1.2 วัตถุประสงค์ของปริญญานิพนธ์

1. เพื่อเปรียบเทียบผลจากการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยวิธีการสกัดด้วยเครื่องเขย่าและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค
2. เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดทั้ง 2 วิธี

1.3 ขอบเขตของปริญญานิพนธ์

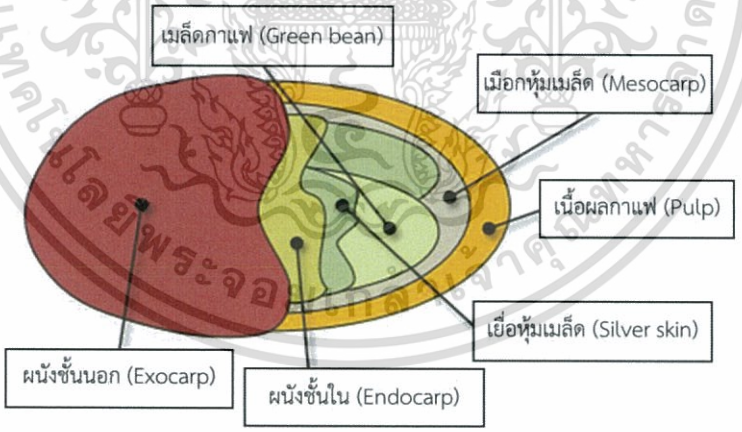
1. การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย (สกัดด้วยเครื่องเขย่า และ สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค) โดยใช้ภาวะต่างๆ
2. ตัวแปรที่ต้องการศึกษาเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ
   2.1 ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอล น้ำ และ เอทานอลผสมน้ำ (1:1 โดยปริมาตร))
   2.2 ความเร็วรอบในการเขย่า (0, 100, 120, 180 และ 240 รอบ/นาที)
   2.3 อุณหภูมิในการสกัด (30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส)
   2.4 ระยะเวลาในการสกัด (30, 60, 90 และ 120 นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีเบื้องต้นและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

กาแฟ (Coffee) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Coffeeo sp.* เป็นพืชพื้นเมืองเขตร้อนแถบแอฟริกาและเอเชียใต้ โดยสายพันธุ์ที่นิยมปลูกมากที่สุด คือ สายพันธุ์อาระบิกา (*Coffea arabica L.*) มีปริมาณการปลูกประมาณ 75% และสายพันธุ์โรบัสตา (*Coffea canephora, var. Robusta*) มีปริมาณการปลูกประมาณ 24% ของกาแฟทั่วโลก โดยในประเทศไทยปลูกกาแฟสายพันธุ์โรบัสตามากที่ภาคใต้ ในจังหวัดชุมพร ระนอง และสุราษฎร์ธานี เป็นต้น [6] ในกระบวนการนำเมล็ดกาแฟมาทำเป็นเครื่องดื่ม เมล็ดกาแฟจะต้องผ่านกระบวนการคั่วจนเมล็ดกาแฟเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล เพื่อทำให้น้ำตาลในเมล็ดกาแฟบางส่วนกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และเกิดสารระเหยที่ให้กลิ่นหอม ซึ่งทำให้เมล็ดกาแฟคั่วมีรสชาติ กลิ่น และสีที่ดี ซึ่งระหว่างกระบวนการนี้จะก่อให้เกิดของเสียเป็นกากจากผิวของเมล็ดกาแฟ หรือ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee silverskin : CS) [4] ซึ่งเป็นเยื่อบางๆที่ปกคลุมเมล็ดกาแฟอยู่ แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดกาแฟ [7]

จากงานวิจัยของ Narita และคณะ (2014) [4] รายงานองค์ประกอบในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟว่ามีเส้นใยอาหาร (Dietary fiber) สูงถึง 50-60% ขององค์ประกอบทั้งหมด ซึ่งแบ่งเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ประมาณ 15% และเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำประมาณ 85% มีปริมาณโปรตีน 16.2-19% และ ไขมัน 1.56-3.28% ซึ่งเส้นใยอาหารนี้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังได้ [1]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) คือสารที่ช่วยต่อต้านหรือกำจัดอนุมูลอิสระ (Free Radicals) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย ซึ่งเกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหาร หรือจากมลพิษต่างๆในสิ่งแวดล้อม ทำให้อะตอมหรือโมเลกุลเกิดอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในวงโคจรรอบนอกสุดจากที่ปกติอิเล็กตรอนจะอยู่เป็นคู่ กลายเป็นสารไม่เสถียร สามารถเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นได้ว่องไวมากเพื่อดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาทำให้ตัวเองมีความเสถียร ซึ่งการดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่น จะทำให้โมเลกุลนั้นสูญเสียอิเล็กตรอนในวงโคจรรอบนอกสุดไปหนึ่งตัว เกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ ที่ต้องดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นต่อไปเรื่อยๆ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิเดชัน ซึ่งสร้างความเสียหายให้กับโครงสร้างของเซลล์ ทำให้เซลล์เกิดความผิดปกติส่งผลให้เกิดโรคต่างๆขึ้น เช่น โรคชรา โรคความดันโลหิตสูง โรคปอด โรคตับแข็ง โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง เป็นต้น ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถูกนำมาเป็นส่วนผสมในอาหาร ยา และเครื่องสำอางต่างๆ เพื่อช่วยลดปริมาณของอนุมูลอิสระ [4]

สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งสารที่มีอยู่แล้วในร่างกายซึ่งเป็นพวกเอนไซม์ และสารที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอล วิตามินอี วิตามินซี สารเบต้าแคโรทีน เป็นต้น [8] ซึ่งสารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพมากกว่าวิตามินอี และวิตามินซี มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่กับสารฟีนอล (Phenol) ซึ่งช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิเดชันของอนุมูลอิสระได้ โดยเมื่อสารที่เป็นสารประกอบฟีนอลสูญเสียอิเล็คตรอนหนึ่งตัวให้กับอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลจะสามารถเกิดการเคลื่อนที่ของอิเล็คตรอนไปรอบๆทั้งโมเลกุลได้เนื่องจากมีพันธะคู่สลับเดี่ยว หรือเรียกว่า การเกิดเรโซแนนซ์ (Resonance) ซึ่งทำให้สารมีความเสถียร ไม่เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิเดชันต่อไป [9]

สารประกอบฟีนอลพบได้ตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง ซึ่งมีปริมาณ ชนิด และลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช วิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป การเก็บรักษา และปริมาณความร้อนที่ได้รับ โดยสารประกอบฟีนอลที่พบมากที่สุดคือ สารประกอบฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) [9]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 การวิเคราะห์และทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

ในการวิเคราะห์และทดสอบปริมาณสารต้านอนุมูนอิสระสามารถวัดได้ทั้งความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระ หรือวัดปริมาณสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารประกอบที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในพืชส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอล ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์และทดสอบความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระ และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในสารสกัด

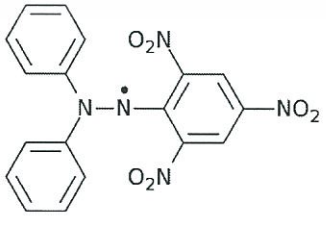
2.3.1 การทดสอบความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระ

การวัดความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในสารสกัด โดยวัดจากปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือปริมาณอนุมูลอิสระที่เหลือ ซึ่งหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงโดยเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น โทรล็อก วิตามินซี และ เฟอรัสซัลเฟต เป็นต้น โดยมีวิธีที่นิยมใช้ เช่น DPPH ABTS และ FRAP [10] ซึ่งในงานวิจัยนี้ใช้วิธีตรวจความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH

DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl เป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว มีสูตรโครงสร้างแสดงดังรูปที่ 2.2 เมื่อ DPPH อยู่ในสารละลายเอทานอลจะมีสีม่วง ซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ จะทำให้สีของสารละลายจางลงกลายเป็นสีเหลือง ซึ่งสารละลายที่สีจางลงจะถูกนำไปวัดจากค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป โดยเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐาน เช่น กรดคลอโรจินิก กรดแอสคอบิก และ โทรล็อก ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นดังสมการ 2.1

$$DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A^{\bullet} \qquad (2.1)$$

โดยที่ AH คือ สารต้านอนุมูลอิสระ [11]



รูปที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของ DPPH [11]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อดีของการวัดความสามารถโดยรวมในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH คือ สามารถทำได้ง่าย นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัด คือ อิเล็คตรอนโดดเดี่ยวของโมเลกุล DPPH อาจถูกบังด้วยวงเบนซีนและหมู่ไนตรัสออกไซด์ ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีขนาดใหญ่ไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากำจัดอนุมูลอิสระได้หรือเกิดปฏิกิริยาได้ช้า [10]

2.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล

การวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด คือ การวัดปริมาณของสารทั้งหมดที่มีหมู่ไฮดรอกซิลโดยไม่คำนึงถึงน้ำหนักโมเลกุลของสารนั้น ดังนั้น การวิเคราะห์ในรูปแบบนี้จึงไม่สามารถระบุชนิดของสารประกอบฟีนอลได้ ซึ่งมีหลักการของการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัด คือ ใช้ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งเป็นสารละลายที่มีสีเหลือง เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปสารประกอบฟีนอลจะทำปฏิกิริยาเชิงซ้อนกับ Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งประกอบด้วยกรด Phosphotungstic และ กรดPhosphomolybdic และถูกรีดิวซ์โดยหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอล เกิดเป็นสารเชิงซ้อน Phosphotungstic-Phosphomolybdic ภายใต้ภาวะที่เป็นด่าง ซึ่งเป็นสารที่มีสีน้ำเงินและดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร [12] การเกิดสีของสารประกอบจะเกิดอย่างช้า ๆ แต่สามารถเร่งได้ด้วยความร้อน ข้อดีของวิธีนี้ คือ สะดวกรวดเร็ว และมีความแม่นยำ ส่วนข้อจำกัด คือ วิธีนี้อาจมีการรบกวนจากสารอื่นๆ ได้ เช่น พวกน้ำตาล สารประกอบอะโรมาติกเอมีน และ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ [13]

2.4 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติทั้งจากพืชและสัตว์ เช่น กาแฟ ดอกไม้ ผลไม้ และเมล็ดพืช นิยมสกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย เนื่องจากเป็นวิธีที่สกัดสารได้ปริมาณสูง [14] โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถทำได้หลายวิธี และ ประสิทธิภาพในการสกัดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย

2.4.1 วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย

ในการสกัดด้วยตัวทำละลายสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดด้วยซ็อกเล็ต (Soxhlet extractor) การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Fluid extraction) การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic extraction) และ การสกัดด้วยเครื่องเขย่า (Shaker)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 การสกัดด้วยซ็อกเล็ต (Soxhlet extraction)

เครื่องสกัดแบบซ็อกเล็ตถูกคิดค้นขึ้นในปีค.ศ.1879 โดย Franz von Soxhlet ถูกออกแบบเพื่อใช้สำหรับสกัดสารที่อยู่ในตัวถูกละลายที่เป็นของแข็ง ซึ่งตัวถูกละลายมีความสามารถในการละลายในตัวทำละลายต่ำ ทำให้การสกัดต้องใช้เวลานาน จึงจำเป็นต้องสกัดอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ปริมาณสารที่อยู่ในตัวถูกละลายออกมาได้มากที่สุด [15]

เครื่องสกัดแบบซ็อกเล็ตสามารถทำการสกัดได้โดยตัวทำละลายอินทรีย์ที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วก้นกลมจะถูกให้ความร้อนจนระเหยกลายเป็นไอผ่านหลอดแก้วไปยังเครื่องควบแน่นด้านบน แล้วถูกควบแน่นกลายเป็นหยดของเหลว หยดลงมาบนตัวถูกละลายของแข็งที่ถูกบรรจุไว้ในหลอดกระดาษกรอง (Thimble) จากนั้นตัวทำละลายจะซึมผ่านตัวถูกละลายของแข็งและพาสารในตัวถูกละลายลงมาสะสมยังด้านล่างของหลอดแก้ว ทำให้ระดับของสารละลายในหลอดแก้วสูงขึ้นเรื่อยๆจนถึงระดับที่ทำให้เกิดการลักน้ำ สารละลายที่สะสมอยู่ในหลอดแก้วจะไหลลงกลับมายังขวดแก้วก้นกลม สารที่ถูกสกัดออกมาจากตัวถูกละลายของแข็งจะสะสมอยู่ในขวดแก้วก้นกลม ส่วนตัวทำละลายจะถูกให้ความร้อนจนเดือดกลายเป็นไออีกครั้งแล้วควบแน่นหยดลงมาอีกอย่างต่อเนื่อง [5]

รูปที่ 2.3 การสกัดด้วยเครื่องซ็อกเล็ต [15]

ข้อได้เปรียบของการสกัดแบบซ็อกเล็ต ตัวถูกละลายของแข็งที่บรรจุอยู่ในหลอดกระดาษกรองจะไม่ปะปนมากับสารละลาย แต่มีข้อจำกัดคือไม่เหมาะกับการใช้ตัวทำละลายผสม เนื่องจากตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ผสมกันอยู่มีจุดเดือดต่างกัน เมื่อมีการให้ความร้อนแก่ตัวทำละลายทำให้ตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถระเหยกลายเป็นไอได้ไม่พร้อมกัน ทำให้ตัวทำละลายที่ระเหยขึ้นไปและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

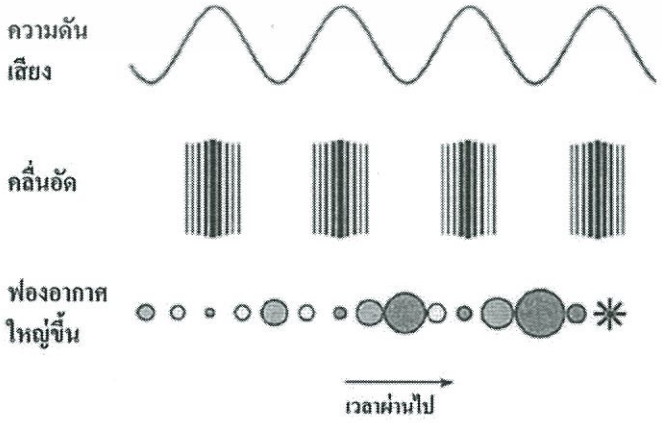
ควบแน่นกลับลงมาสกัดมีสัดส่วนของสารผสมเปลี่ยนไป ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของความสามารถการสกัดที่ต้องการศึกษา และเนื่องจากการสกัดแบบซ็อกเล็ตต้องใช้ความร้อนในการสกัด ดังนั้นสารที่นำมาสกัดต้องมีความสามารถในการทนความร้อนได้ และต้องใช้พลังงานในการให้ความร้อนมากในการสกัดเพื่อทำให้ตัวทำละลายเดือดอย่างต่อเนื่อง รวมถึงการติดตั้งอุปกรณ์ค่อนข้างซับซ้อนกว่าวิธีใช้เครื่องเขย่า และใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค [5]

2.4.1.2 การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (Supercritical Fluid extraction)

การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวดเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่นิยมนำมาใช้สกัดในกระบวนการที่เกี่ยวกับอาหาร เครื่องสำอางค์ และยา เนื่องจากไม่ทำให้มีตัวทำละลายตกค้างอยู่ในสารที่สกัดได้ ทำให้ได้สารสกัดที่มีความบริสุทธิ์ค่อนข้างสูง โดยตัวทำละลายที่นำมาสกัดจะอยู่ในภาวะที่มีอุณหภูมิและความดันเหนือจุดวิกฤต ข้อจำกัดของการสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด คือ ต้องใช้ความดันสูง และเหมาะกับการสกัดสารที่มีความชื้นต่ำ จึงทำให้ต้องใช้ต้นทุนสูงในการสกัด [16]

2.4.1.3 การสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic extraction)

คลื่นอัลตร้าซาวน์หรือคลื่นอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic waves) คือพลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาที โดยทั่วไปในการสกัดสารจากเมล็ดพืชจะใช้ความถี่ในช่วง 20-100 kHz ซึ่งทำให้เกิดปรากฏการณ์แควิเตชั่น (Cavitation) คือ คลื่นอัลตร้าโซนิคจะประกอบด้วยช่วงอัดและช่วงขยายสลับกันไปมา เมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายทำให้เกิดฟองของตัวทำละลายขนาดเล็กจำนวนมาก ฟองที่เกิดขึ้นเมื่อโดนแรงสั่นสะเทือนจากคลื่นจะรวมตัวกันทำให้ฟองมีขนาดใหญ่ขึ้นเรื่อยๆจนแตกออก และเกิดความแรงที่ทำให้ผนังเซลล์ของเมล็ดพืชที่นำมาสกัดแตกออกได้ เมื่อผนังเซลล์พืชแตกออกทำให้ตัวทำละลายซึมเข้าไปในตัวถูกละลายได้มากขึ้น ส่งผลให้มีอัตราการถ่ายเทมวลสารจากตัวถูกละลายไปยังตัวทำละลาย เป็นการชะสารออกจากเซลล์พืชที่เป็นตัวถูกละลาย [17]

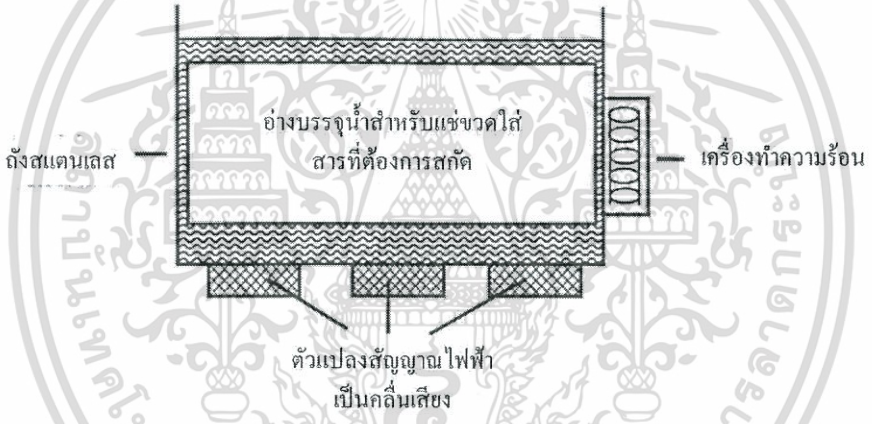


รูปที่ 2.4 การเกิดปรากฏการณ์แคปวิเตชัน [17]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อได้เปรียบของการสกัดแบบอัลตร้าโซนิค คือ ใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อย ดำเนินการได้ง่าย ลดปริมาณการใช้ตัวทำละลายได้เนื่องจากไม่เกิดการสูญเสียตัวทำละลายระหว่างดำเนินการ และสามารถทำได้ที่อุณหภูมิต่ำหรืออุณหภูมิห้องที่ไม่ต้องให้ความร้อนทำให้ลดการใช้พลังงานได้ [18] นอกจากนี้การสกัดแบบอัลตร้าโซนิคยังสามารถใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดร่วมกับกระบวนการสกัดอื่น และมีงานวิจัยรายงานว่าการสกัดแบบอัลตร้าโซนิคสามารถนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้ เช่น ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร [19] แต่มีข้อจำกัดคือ สารสกัดที่ได้จะมีสารตั้งต้นปนอยู่ ดังนั้นจึงต้องนำไปแยกโดยการกรอง เพื่อแยกสารตั้งต้นออกจากสารสกัดที่ได้

เครื่องอัลตร้าโซนิคที่ใช้ทั่วไปในปัจจุบันมีหลายชนิด แตกต่างกันตามลักษณะการออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า และแหล่งกำเนิดคลื่น ซึ่งในการทำวิจัยครั้งนี้ได้ใช้เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่าง (Ultrasonic baths) เนื่องจากเป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการ เพราะมีราคาไม่แพง โดยที่เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่างจะมีความถี่ประมาณ 40 kHz มีลักษณะดังรูปที่ 2.5 [17]



รูปที่ 2.5 เครื่องอัลตร้าโซนิคแบบอ่าง [17]

2.4.1.4 การสกัดด้วยการใช้เครื่องเขย่า (Shaking)

เครื่องเขย่า (Shaker) เป็นเครื่องมือที่ใช้สำหรับเขย่าสารเคมีให้เข้ากัน สามารถรองรับภาชนะได้หลายรูปแบบ ควบคุมความเร็วในการหมุน ทิศทางในการเขย่า ระยะเวลา และอุณหภูมิของเครื่องเขย่าได้ ซึ่งทิศทางในการเขย่ามีทั้งแบบเคลื่อนที่แบบไปกลับ หรือเคลื่อนที่เป็นวงกลมในแนวราบ การสกัดด้วยเครื่องเขย่าช่วยให้ตัวถูกละลายสัมผัสกับตัวทำละลายได้ทั่วถึงมากขึ้น ทำให้สารในตัวถูกละลายละลายออกมายังตัวทำละลายได้ดีขึ้น [7] ข้อดีของเครื่องเขย่าคือ ใช้งานได้ง่าย แต่มีข้อจำกัด คือ เหมาะกับตัวถูกละลายที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อที่ไม่แข็งแรงมาก [14] และสารสกัดที่ได้จะมีสารตั้งต้นปนอยู่ ดังนั้นจึงต้องนำไปแยกโดยการกรอง เพื่อแยกสารตั้งต้นออกจากสารสกัดที่ได้ ลักษณะของเครื่องแสดงดังรูปที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.6 ลักษณะของเครื่องเขย่า

จากรายงานของ Deng และคณะ (2015) [20] ได้ศึกษาอิทธิพลของวิธีการสกัด ที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดจากใบและเปลือกของต้นสร้อยทอง โดยสกัดด้วยสองวิธี คือ สกัดโดยแช่ไว้ในตัวทำละลาย และสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า วิธีใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าวิธีแช่ไว้ในตัวทำละลาย เนื่องจากคลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้เกิดปรากฏการณ์แควิเตชั่นซึ่งทำลายผนังเซลล์พืช ทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าไปละลายสารออกมาได้ดีขึ้น

2.4.2 ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการสกัด

ปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดด้วยตัวทำละลายขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย โดยมีปัจจัยหลักดังนี้ [5]

2.4.2.1 ชนิดของตัวทำละลาย

ตัวทำละลายที่นำมาใช้สกัดต้องสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ดี ไม่ทำปฏิกิริยากับสารสกัด และไม่ละลายสารอื่นๆที่ไม่ต้องการสกัด ซึ่งขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสาร โดยสามารถดูได้จากความมีขั้วของสาร นอกจากนี้ตัวทำละลายควรแยกออกจากสารสกัดได้ง่าย คือ มีจุดเดือดต่ำ ระเหยได้ง่าย เพื่อลดการให้ความร้อนแก่สารสกัดในการระเหย เป็นสารที่ไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก [14]

จากงานวิจัยของ Spigno และคณะ (2007) [21] ได้นำเสนอข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของตัวทำละลายว่า ในการสกัดสารจากวัสดุธรรมชาติส่วนใหญ่นิยมใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอล์ในการสกัด เนื่องจากมีจุดเดือดต่ำ สามารถระเหยได้ง่าย แต่จากงานวิจัยของ Yilmaz และ Toledo (2006) และ Pinelo และคณะ (2005) [22] รายงานว่าในการสกัดสารประกอบฟีนอลจากกากองุ่นตัวทำลายผสมระหว่างแอลกอฮอล์และน้ำมีประสิทธิภาพมากกว่าใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากน้ำจะช่วยละลายสารประกอบที่มีขั้วได้มากขึ้น เนื่องจากสารประกอบฟีนอลมีทั้งองค์ประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้ว โดยในงานวิจัยของ Spigno และคณะ (2007) [21] ศึกษาอิทธิพลของสัดส่วนของน้ำ:เอทานอลในตัวทำละลายผสม ซึ่งพบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อสัดส่วนของน้ำ:เอทานอลในตัวทำละลายผสมเพิ่มขึ้น แต่มีนัยสำคัญในช่วงสัดส่วนของน้ำเป็น 10 ถึง 30 %โดยปริมาตรของสารละลาย แต่ทั้งนี้สัดส่วนของน้ำ:เอทานอลในตัวทำละลายผสมที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของสารประกอบฟีนอลที่มีในสารตัวอย่างว่าเป็นสารมีขั้วหรือไม่มีขั้ว

จากงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23] ศึกษาผลของความเป็นขั้วของตัวทำละลายในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ โดยตัวทำละลายที่ใช้ คือ น้ำและเอทานอล เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษต่ำ น้ำและเอทานอลถูกผสมกันด้วยอัตราส่วนโดยปริมาตรต่างๆกัน คือ น้ำบริสุทธิ์, น้ำ:เอทานอล 20:70, น้ำ:เอทานอล 50:50, น้ำ:เอทานอล 75:25 และ เอทานอลบริสุทธิ์ สารสกัดที่ได้ถูกนำมาเปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบฟีนอล และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดย วิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical (DPPH•) จากผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็น น้ำ:เอทานอล 50:50 ทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลได้มากที่สุด คือ 310 มิลลิกรัมกรดแกลลิค/ลิตร (mg GAE/L) หรือคิดเป็น 15.5 mg GAE/g CS ส่วนตัวทำละลายที่ทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลได้น้อยที่สุด คือ เอทานอลบริสุทธิ์ และ น้ำบริสุทธิ์ ซึ่งอาจเป็นเพราะสารประกอบฟีนอลมีทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว สำหรับตัวทำละลายที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ น้ำ:เอทานอล 25:75 วัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้เท่ากับ 416 มิลลิกรัมโทรล็อค/ลิตร (416 mg TE/L) หรือคิดเป็น 20.8 mg TE/g CS ซึ่งแสดงให้เห็นว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี DPPH อาจมาจากสารประกอบอื่นด้วย

2.4.2.2 อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด

เนื่องจากอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดเป็นตัวแปรสำคัญที่จะช่วยลดค่าใช้จ่ายทางด้านพลังงานได้ ซึ่งอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะส่งผลให้ความสามารถในการละลายของตัวถูกละลายและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้น แต่หากอุณหภูมิสูงเกินไปสามารทำให้สารประกอบฟีนอลเกิดการสูญเสียสภาพได้ จากงานวิจัยของ Spigno และคณะ (2007) [21] ทำการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ (45 และ 60 องศาเซลเซียส) และ ระยะเวลาในการสกัด (1-24 ชั่วโมง) ที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากกากองุ่น พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 45 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียส และเมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น แต่มีนัยสำคัญในช่วง 1 ถึง 5 ชั่วโมง ดังนั้นสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอล 20 g GAE/g กากองุ่น ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลาในการสกัด 5 ชั่วโมง

จากงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23] ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 90 นาที ทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลได้มากที่สุด และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ซึ่งทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดด้วย

2.4.2.3 ชนิดของวัตถุดิบ และ ขนาดของวัตถุดิบ

จากรายงานของ Deng และคณะ (2015) [20] ได้ศึกษาอิทธิพลของระยะการเติบโตของพืชและ ส่วนต่างๆของพืช ที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด โดยใช้ใบและเปลือกของต้นสร้อยทอง (*Solidago canadensis L.*) ที่เก็บจากระยะการเติบโตของพืชที่ต่างกันสามระยะ คือ ช่วงการเจริญเติบโตของลำต้น ช่วงออกดอก และช่วงหลังออกดอก จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลจากใบและเปลือกของต้นสร้อยทองที่มีระยะการเติบโตของพืชระยะเดียวกัน ใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าเปลือก และจากผลของระยะการเติบโตของพืชพบว่า ช่วงออกดอก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ส่วนต่างๆของพืชและระยะการเติบโตของพืช มีอิทธิพลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้

จากงานวิจัยของ Regazzoni และคณะ (2016) [1] ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอล และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากเมล็ดกาแฟดิบ (Green coffee beans ; GCB) กาแฟคั่ว (Roasted coffee ; RC) กากกาแฟ (Spent coffee ; SC) และเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (Coffee silverskin ; SS) ของกาแฟสายพันธุ์อาระบิกา จากผลการทดลองพบว่ากาแฟคั่วมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุดคือ 9.30 mg/g RC รองลงมาคือเมล็ดกาแฟดิบ เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ และกากกาแฟ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลเป็น 5.77 mg/g GCB 5.06 mg/g SS และ 2.35 mg/g SC ตามลำดับ และเมื่อตรวจฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH โดยแสดงค่าเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ซึ่งค่าน้อยหมายถึงยิ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมาก จากผลการทดลองพบว่า กากกาแฟมีค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 น้อยที่สุด คือ 10.59 µg/ml รองลงมาเป็นเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ กาแฟคั่ว และเมล็ดกาแฟดิบ มีค่าความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้มีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เป็น 11.26 µg/ml 12.04 µg/ml และ 14.23 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าวัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระต่างกันด้วย ซึ่งจากงานวิจัยของ Regazzoni และคณะ (2016) พบว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด [1]

จากการประเมินความสัมพันธ์ของค่าที่ได้จากการทดลอง จากงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23] พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่วัดโดยวิธี DPPH ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่วัดได้ ($R = -0.053$) แต่จากงานวิจัยของ Narita และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kuniyo Inouye (2012) [24] พบว่าค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่วัดโดยวิธี DPPH มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่วัดได้ (R = 0.982) และจากงานวิจัยของ Rodrigues และคณะ (2014) [25] พบว่าค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่วัดโดยวิธี DPPH มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลที่วัดได้ (R = 0.69) ซึ่งจากผลที่ไม่สอดคล้องกันนี้อาจแสดงให้เห็นว่าเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจากแหล่งต่างกันทำให้องค์ประกอบในเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟแตกต่างกันด้วย ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ A. R. Catherine (1997) [9] ที่รายงานว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พันธุ์พืช วิธีการปลูก ระดับความสุก สภาพแวดล้อมการรักษาหลังการเก็บเกี่ยว กระบวนการแปรรูป ปริมาณความร้อนที่ได้รับ และวิธีการสกัด

จากงานวิจัยของ Pinelo และคณะ (2005) [26] ศึกษาผลของขนาดเปลือกองุ่นซึ่งเป็นสารตัวอย่างที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด จากงานวิจัยรายงานว่าขนาดของสารตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ สารตัวอย่างปริมาณเท่ากันที่มีขนาดเล็กกว่า จะมีพื้นที่ผิวสัมผัสมากกว่า ซึ่งส่งผลให้ใช้ระยะเวลาในการสกัดสั้นลง โดยจากงานวิจัยรายงานว่าขนาดของสารตัวอย่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 0.5 ถึง 5 มิลลิเมตร โดยสารตัวอย่างขนาด 0.5 มิลลิเมตร ทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าสารตัวอย่างขนาด 5 มิลลิเมตร 5 เท่า

2.4.2.4 สัดส่วนของวัตถุดิบต่อตัวทำละลาย

จากงานวิจัยของ Pinelo และคณะ (2005) [26] ได้นำเสนอข้อมูลเกี่ยวกับอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวถูกละลายว่า มีผลต่อปริมาณสารที่สกัดได้ โดยอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวถูกละลายสูงขึ้น จะทำให้สามารถสกัดสารออกมาได้มากขึ้น แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวถูกละลายจนถึงค่าๆหนึ่ง ปริมาณสารที่สกัดได้จะเริ่มคงที่ ซึ่งเป็นไปตามกฎของการถ่ายเทมวล คือ สารในตัวถูกละลายจะแพร่ออกมายังตัวทำละลายได้จนถึงจุดที่ความเข้มข้นสมดุล และปริมาณสารที่สกัดได้จะเริ่มคงที่เมื่อสารในตัวถูกละลายละลายออกมายังตัวทำละลายจนหมด หรือ ไม่สามารถละลายออกมายังตัวทำละลายได้อีก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงาน

3.1 การเตรียมเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

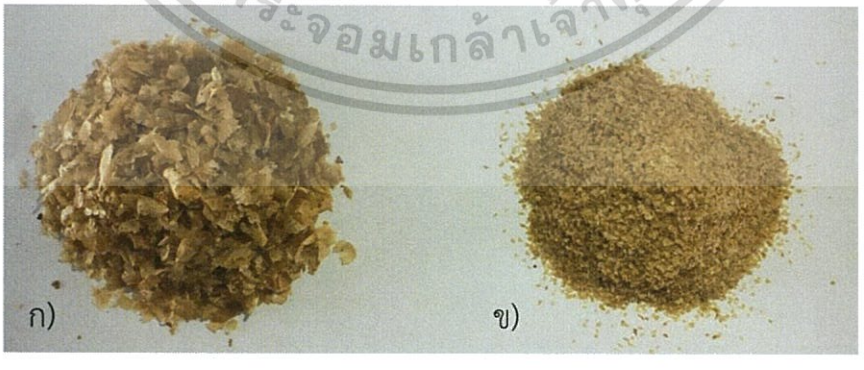
เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ใช้ได้จากบริษัท เขาช่องอุตสาหกรรม 1979 จำกัด ซึ่งได้จากเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสตา โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ได้มามีลักษณะเป็นเยื่อบางและขนาดใหญ่จึงต้องปั่นให้เยื่อมีขนาดเล็กลง เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสัมผัสกับตัวทำละลาย ซึ่งขนาดของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ใช้มีขนาดอยู่ในช่วง 600-850 ไมโครเมตร เนื่องจากงานวิจัยของ Pinelo และคณะ (2005) [26] รายงานว่าขนาดของสารตัวอย่างที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 500 ถึง 5000 ไมโครเมตร เพื่อไม่ให้เกิดความร้อนขณะปั่นลดขนาดมากเกินไปซึ่งอาจส่งผลต่อการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระได้ และต้องเก็บเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในที่แห้งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาสกัด เพื่อรักษาสภาพขององค์ประกอบภายในเยื่อ และป้องกันการเน่าเสีย [21]

อุปกรณ์

1. เครื่องปั่นอาหารแบบโถแห้ง
2. ชุดตะแกรงร่อนคัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 และ 850 ไมโครเมตร

สารเคมี

1. เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ



รูปที่ 3.1 เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ก) ก่อนลดขนาด ข) หลังลดขนาด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขั้นตอน

1. นำเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟมาลดขนาดโดยการปั่นด้วยเครื่องปั่นอาหารแบบโถแห้ง
2. คัดขนาดด้วยชุดตะแกรงร่อนคัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600 และ 850 ไมโครเมตร
3. เก็บตัวอย่างเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส

3.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ

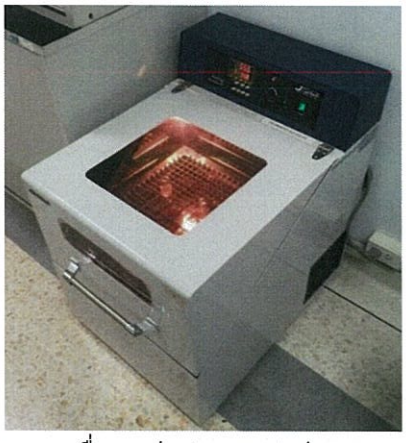
ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจะศึกษาผลที่ได้จากวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 2 วิธีคือ วิธีการสกัดด้วยเครื่องเขย่า และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค และศึกษาอิทธิพลของชนิดของตัวทำละลาย ความเร็วรอบในการสกัด อุณหภูมิในการสกัด และระยะเวลาในการสกัด ที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด

3.2.1 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยการใช้เครื่องเขย่า

อุปกรณ์

1. เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น LSI-3016R แสดงดังรูปที่ 3.2
2. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
3. ขวดรูปชมพู่แบบมีฝาปิดขนาด 250 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ชุดกรองสุญญากาศ แสดงดังรูปที่ 3.3
6. กระดาษกรอง เกรด F1001 (10~13 µm)
7. ขวดเก็บตัวอย่างสีชา ขนาด 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 เครื่องเขย่า (Shaker) รุ่น LSI-3016R

รูปที่ 3.3 ชุดกรองสุญญากาศ

สารเคมี

1. เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600-850 ไมโครเมตร
2. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.8 %โดยปริมาตร น้ำ และ สารละลายผสมเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร))

ขั้นตอน

1. ชั่งเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ผสมกับตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีฝาปิด แล้วปิดฝาให้สนิท
2. นำขวดที่ใส่สารในข้อที่ 1 ไปใส่ในเครื่องเขย่าและตั้งความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัดตามที่ต้องการศึกษา แสดงดังตารางที่ 3.1
3. นำสารที่ได้มากรองด้วยชุดกรองสุญญากาศ เพื่อแยกเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟออกจากสารสกัด
4. เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชา และเก็บไว้ในที่แห้งมีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจวิเคราะห์ เพื่อไม่ให้องค์ประกอบในสารสกัดเกิดการเปลี่ยนแปลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาวะที่เลือกมาใช้ทำการทดลอง แสดงดังตารางที่ 3.1 โดยตัวแปรที่ทำการศึกษาเป็นตัวแปรหลักที่ส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ [24] ซึ่งตัวทำละลายที่เลือกมาศึกษา เป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้ว (Polar protic solvents) เนื่องจากสารมารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับสารประกอบฟีนอลซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิล(-OH)ได้ และยังเป็นสารที่ไม่มีพิษ ไม่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร หรือ เครื่องสำอางได้ [23] สำหรับความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด อ้างอิงจากงานวิจัยของ Costa และคณะ [23] ที่สกัดโดยการกวนด้วยความเร็วรอบ 600 รอบ/นาที และรายงานว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ คือ 40 องศาเซลเซียส และ 60 นาที ดังนั้นเพื่อทำการศึกษาความเร็วรอบที่ต่ำกว่า จึงเลือกช่วงของความเร็วรอบดังตารางมาศึกษา และเลือกช่วงของอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดที่ครอบคลุมภาวะที่ดีที่สุดจากงานวิจัยที่ได้ศึกษามา

ตารางที่ 3.1 ตัวแปรที่ทำการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการใช้เครื่องเขย่า

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ทำการศึกษา
ชนิดของตัวทำละลาย	เอทานอล น้ำ และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)
อุณหภูมิในการสกัด (องศาเซลเซียส)	30, 40, 50 และ 60
ระยะเวลาการสกัด (นาที)	30, 60, 90 และ 120
ความเร็วรอบในการเขย่า (รอบ/นาที)	0, 100, 120, 180 และ 240

3.2.2 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการใช้เครื่องอัลตร้าโซนิค

อุปกรณ์

1. เครื่องอัลตร้าโซนิค รุ่น Ultrawave-U2200 แสดงดังรูปที่ 3.4
2. เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง
3. ขวดรูปชมพู่แบบมีฝาปิด ขนาด 250 มิลลิลิตร
4. กระบอกตวงขนาด 100 มิลลิลิตร
5. ชุดกรองสุญญากาศ
6. กระดาษกรอง เกรด F1001 (10~13 μm)
7. ขวดเก็บตัวอย่างสีชา ขนาด 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.4 เครื่องอัลตร้าโซนิค (Ultrasonic) รุ่น Ultrawave-U2200

สารเคมี

1. เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 600-850 ไมโครเมตร
2. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.8 %โดยปริมาตร น้ำ และ สารละลายผสมเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร))

ขั้นตอน

1. ชั่งเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ผสมกับตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีฝาปิด แล้วปิดฝาให้สนิท
2. นำขวดที่ใส่สารในข้อที่ 1 ไปสกัดในเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลาตามที่ต้องการศึกษา แสดงดังตารางที่ 3.2 และวัดอุณหภูมิขณะสกัด
3. นำสารที่ได้มากรองด้วยชุดกรองสุญญากาศ เพื่อแยกเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟออกจากสารสกัด
5. เก็บสารสกัดที่ได้ใส่ในขวดสีชา และเก็บไว้ในที่แห้งมีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจวิเคราะห์ เพื่อไม่ให้องค์ประกอบในสารสกัดเกิดการเปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 3.2 ตัวแปรที่ทำการศึกษาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟโดยการใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

ตัวแปรที่ศึกษา	ภาวะในการทำปฏิกิริยาที่ทำการศึกษา
ชนิดของตัวทำละลาย	เอทานอล น้ำ และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)
ระยะเวลาการสกัด (นาที)	30, 60, 90 และ 120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

3.3.1 การตรวจความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ขนาด 20 มิลลิลิตร
2. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. ไมโครปิเปต ขนาด 1000 ไมโครลิตร
4. เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer) แสดงดังรูปที่ 3.5

รูปที่ 3.5 เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

สารเคมี

1. สารตัวอย่าง
2. สารมาตรฐานโทรล็อกซ์ (Trolox)
3. สาร DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.15 มิลลิโมลาร์
4. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.8 %โดยปริมาตร น้ำ และ สารละลายผสมเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร))

ขั้นตอน

1. เจือจางสารตัวอย่าง 50 เท่าด้วยตัวทำละลาย ปิเปตใส่ในหลอดทดลอง 1.5 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสาร DPPH ลงไป 1.5 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำสารที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ความยาวคลื่นเป็น 517 นาโนเมตร
5. คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%radical scavenging activity) ตามสมการที่ 3.1 [11] โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากสารมาตรฐานโทรล็อกซ์

$$\text{เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \qquad (3.1)$$

โดยที่

A_C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม

A_S คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

3.3.2 การตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง ขนาด 20 มิลลิลิตร
2. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. ไมโครปิเปต ขนาด 1000 ไมโครลิตร
4. เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-VIS Spectrophotometer) แสดงดังรูปที่ 3.5

สารเคมี

1. สารตัวอย่าง
2. สารมาตรฐานกรดแกลลิค (Gallic acid)
3. สาร 2N Folin–Ciocalteu reagent เจือจาง 1:10 โดยปริมาตร
4. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5 %โดยน้ำหนัก/ปริมาตร)
5. ตัวทำละลาย (เอทานอลบริสุทธิ์ 99.8 %โดยปริมาตร น้ำ และ สารละลายผสมเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร))

ขั้นตอน

1. ปิเปตสารตัวอย่างใส่ในหลอดทดลอง 0.5 มิลลิลิตร
2. ปิเปตสาร Folin–Ciocalteu reagent 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5 %โดยน้ำหนัก/ปริมาตร) 2 มิลลิลิตรลงไป แล้วเขย่าให้เข้ากัน
3. นำสารไปอุ่นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีกเป็นเวลา 30 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำสารที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้ความยาวคลื่นเป็น 765 นาโนเมตร
5. เทียบค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากสารมาตรฐานกรดแกลลิค

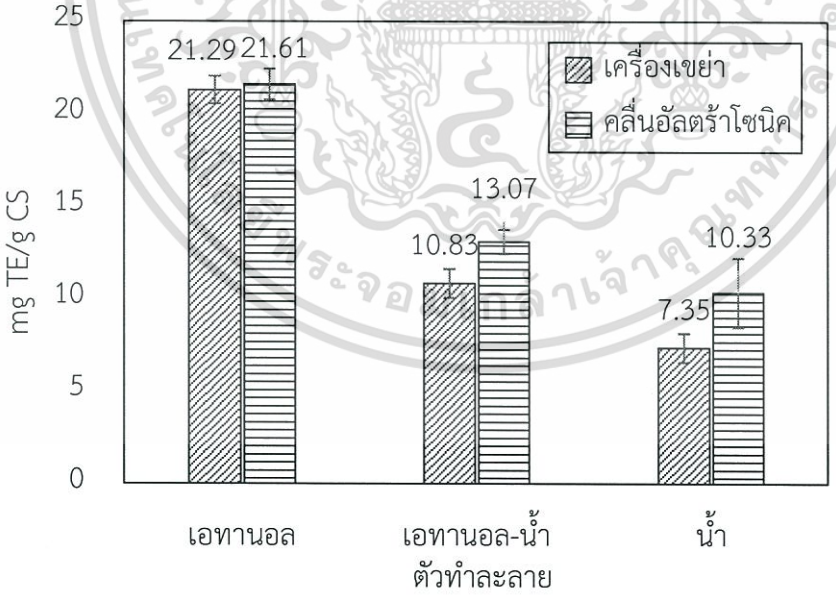
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการดำเนินงาน และวิเคราะห์ผล

ในการศึกษาเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ที่ทำให้ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอล และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ทำการทดลองโดยใช้วิธีการสกัด 2 วิธี คือ ใช้เครื่องเขย่า และใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค ซึ่งในการสกัดใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ทำการทดลองโดยเปลี่ยนปัจจัยที่ต้องการศึกษา คือ ชนิดของตัวทำละลาย ความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิในการสกัด และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ตามลำดับ และกำหนดปัจจัยอื่นให้คงที่

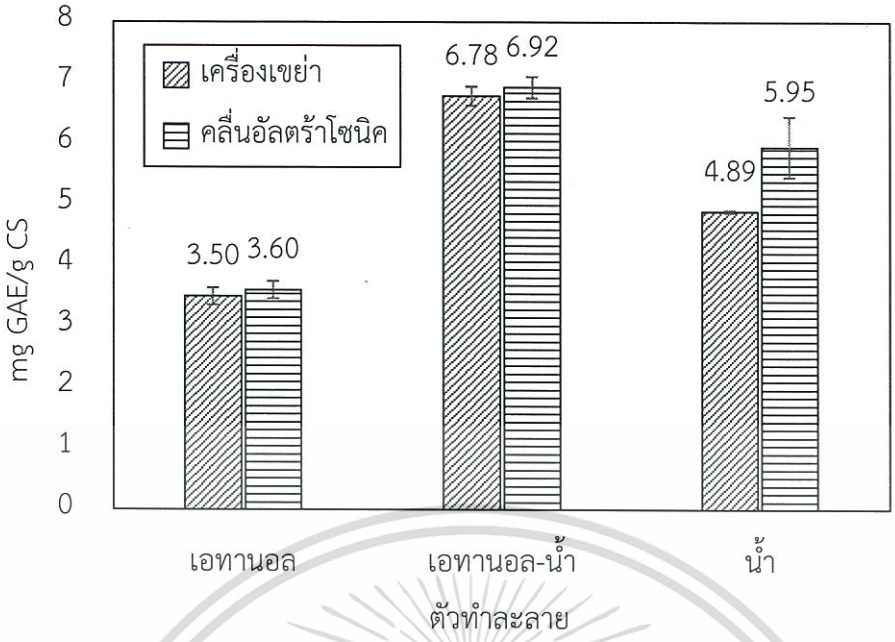
4.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลาย

ในการทดลองเพื่อหาอิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ทำการสกัด 2 วิธี คือ ใช้เครื่องเขย่า และใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที สำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่าเป็น 120 รอบ/นาที เพื่อศึกษาผลของชนิดตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เอทานอล น้ำ และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)



รูปที่ 4.1 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 อิทธิพลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.1 พบว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดทั้ง 2 วิธีที่ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ เอทานอล รองลงมา คือ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และ น้ำ ตามลำดับ ซึ่งเอทานอลและน้ำมีค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constants) 25 และ 80 ตามลำดับ [27] แสดงให้เห็นว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้ว (Polar protic solvents) มากกว่าเอทานอล ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจได้โดยวิธี DPPH เป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้วมากกว่าสารประกอบมีขั้ว ทำให้เมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลจึงสามารถสกัดสารออกมาได้มากกว่า ซึ่งไม่ตรงกับงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23] ที่ตัวทำละลายที่ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ เอทานอล-น้ำ (0.75:0.25 โดยปริมาตร) และจากผลการทดลองสารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าประมาณ 1.1 เท่า

จากรูปที่ 4.2 พบว่าตัวทำละลายที่ทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด คือ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) รองลงมา คือ น้ำ และ เอทานอล ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้มีทั้งสารประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้ว จึงทำให้ตัวทำละลายเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลออกมาได้มากที่สุด ซึ่งตรงกับงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23] แต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้น้อยกว่าประมาณ 2 เท่า

ซึ่งจากผลการทดลองที่ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Costa และคณะ (2014) [23]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจเกิดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ใช้มีสายพันธุ์ต่างกัน โดยเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟของ Costa และคณะ (2014) [23] เป็นสายพันธุ์โรบัสต้า 40% ผสมกับ อาระบิกา 60% แต่ในการทดลองใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟจากสายพันธุ์โรบัสต้าสายพันธุ์เดียว

เมื่อเปรียบเทียบวิธีสกัดพบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าการสกัดด้วยเครื่องเขย่าเล็กน้อย เนื่องจากในการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคจะเกิดปรากฏการณ์แควิเตชั่น ที่ทำให้ผนังเซลล์ของพืชแตกออก ช่วยให้สารที่อยู่ในเซลล์พืชละลายออกมาในตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น [20] แต่ทั้งนี้การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคที่เวลา 60 นาที ทำให้อุณหภูมิของสารละลายเพิ่มขึ้นเป็น 44 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงอาจไม่สามารถเปรียบเทียบกับการสกัดด้วยเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสได้โดยตรง

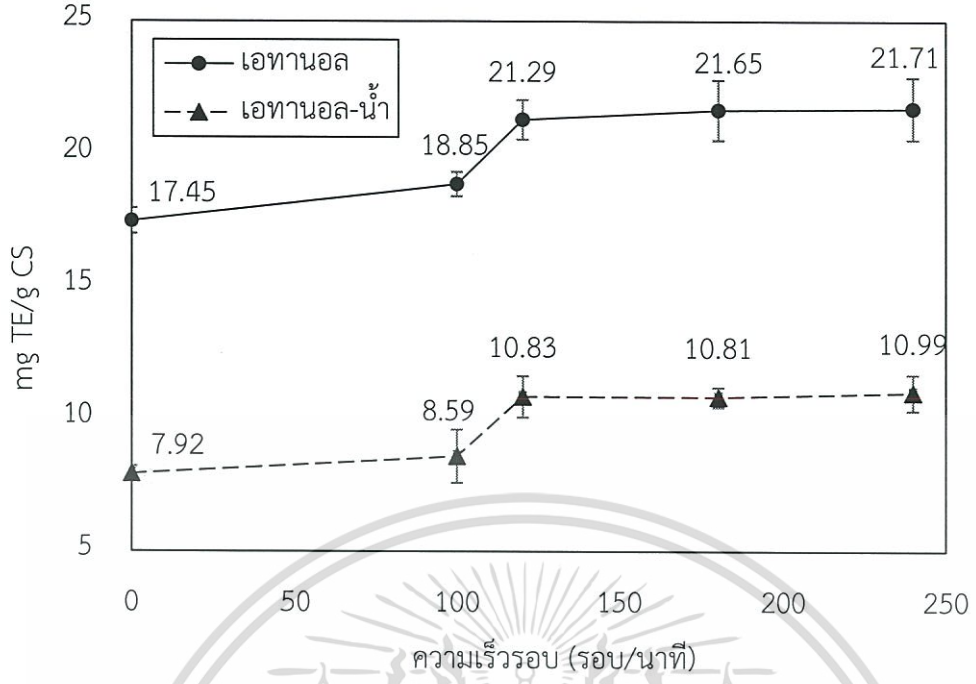
นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบผลของการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเมื่อใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันพบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคเมื่อใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำ ช่วยเพิ่มสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลมากกว่าวิธีเขย่ามากที่สุด ซึ่งอาจเป็นผลมากจากน้ำมีความหนืดน้อยกว่าเอทานอลทำให้มีความสามารถในการแพร่เข้าไปยังรูพรุนของพืชมากกว่า สามารถละลายสารสารออกมาได้มากกว่า และน้ำยังมีความดันไอต่ำกว่าเอทานอล ทำให้ในปรากฏการณ์แควิเตชั่นน้ำเกิดฟองได้น้อยกว่า แต่การแตกของฟองมีแรงมากกว่า ซึ่งมีประสิทธิภาพมากกว่าเอทานอลที่มีความดันไอสูงกว่าตามรายงานของ Rezaie และคณะ [28]

ดังนั้นจึงเลือกตัวทำละลายเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษาปัจจัยต่อไปคือ ความเร็วรอบในการเขย่าของเครื่องเขย่า อุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัด

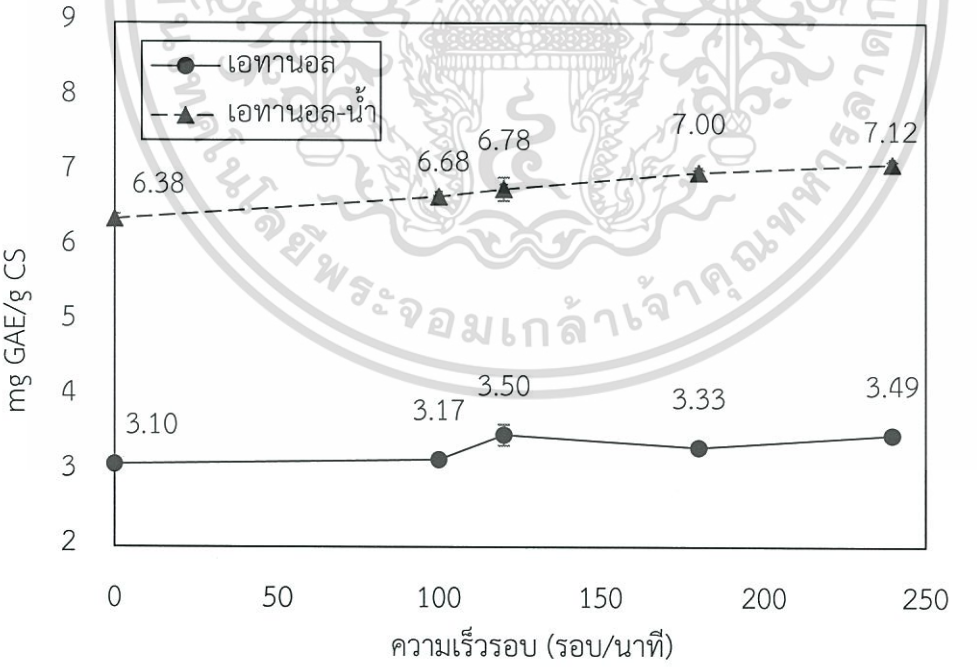
4.2 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่า

จากงานวิจัยของ Deng และคณะ (2015) [20] ที่เปรียบเทียบวิธีการสกัดโดยการแช่ทิ้งไว้กับใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค แต่จากผลทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้จากวิธีใช้เครื่องเขย่าและวิธีใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคแตกต่างกันน้อยกว่าของ Deng และคณะ (2015) [20] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเขย่าส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการแช่ทิ้งไว้ และเนื่องจากความเร็วรอบที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อค่าใช้จ่ายในการดำเนินการ ดังนั้นเพื่อศึกษาอิทธิพลของความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด จึงทำการศึกษาการสกัดโดยใช้ความเร็วรอบต่างๆ คือ 0 (ไม่มีการเขย่า), 100, 120, 180 และ 240 รอบ/นาที เพื่อหาความเร็วรอบที่เหมาะสมที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่าที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)



รูปที่ 4.4 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่าที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลที่อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

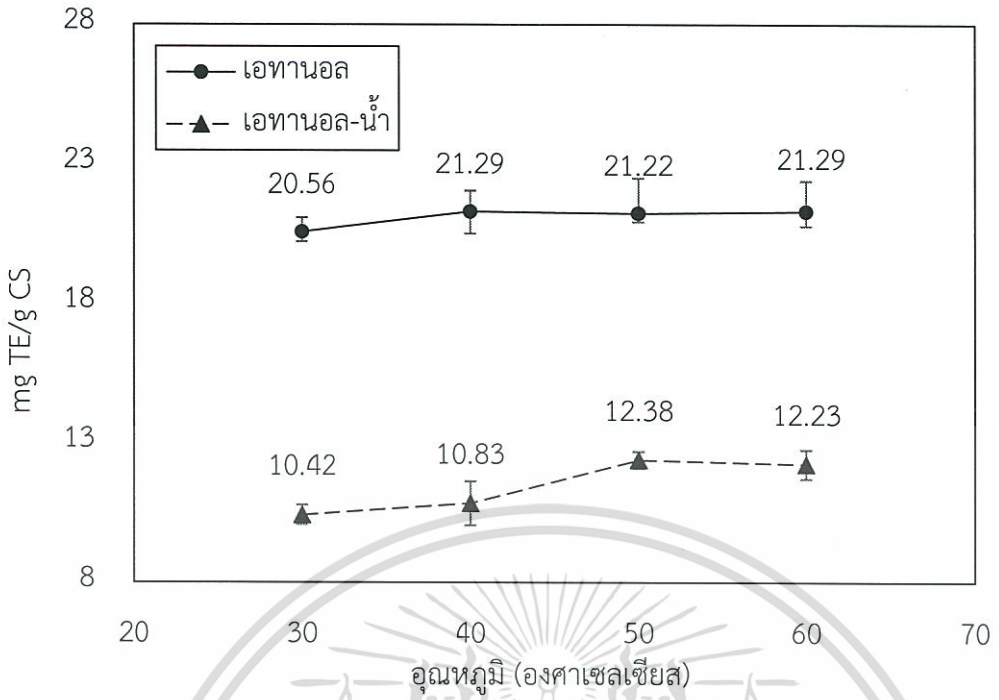
จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.3 และ รูปที่ 4.4 พบว่าเมื่อเพิ่มความเร็วรอบในการสกัดทั้งเมื่อใช้เอทานอล และเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย จาก 0 รอบ/นาที หรือ ไม่มีการเขย่า เป็น 100 รอบ/นาที ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อเพิ่มความเร็วรอบเป็น 120 รอบ/นาที พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น และเริ่มคงที่เมื่อเพิ่มความเร็วรอบมากกว่า 120 รอบ/นาที ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าความเร็วรอบมีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ ซึ่งในการทดลองนี้ความเร็วรอบที่เหมาะสมในการสกัด คือ 120 รอบ/นาที ดังนั้นจึงเลือกความเร็วรอบในการเขย่าที่ใช้ในการสกัดเป็น 120 รอบ/นาทีในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป

แต่ทั้งนี้ความเร็วรอบที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับสัดส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อตัวทำละลายและปริมาณสารที่ทำการสกัด ดังนั้นในการสกัดที่ใช้สัดส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่อตัวทำละลายและปริมาณสารที่ทำการสกัดต่างจากในการทดลองนี้ จึงอาจมีความเร็วรอบที่เหมาะสมต่างกันออกไป รวมทั้งการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมการสกัดที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ต้องคำนึงถึงปัจจัยในการกวนและผสมด้วย

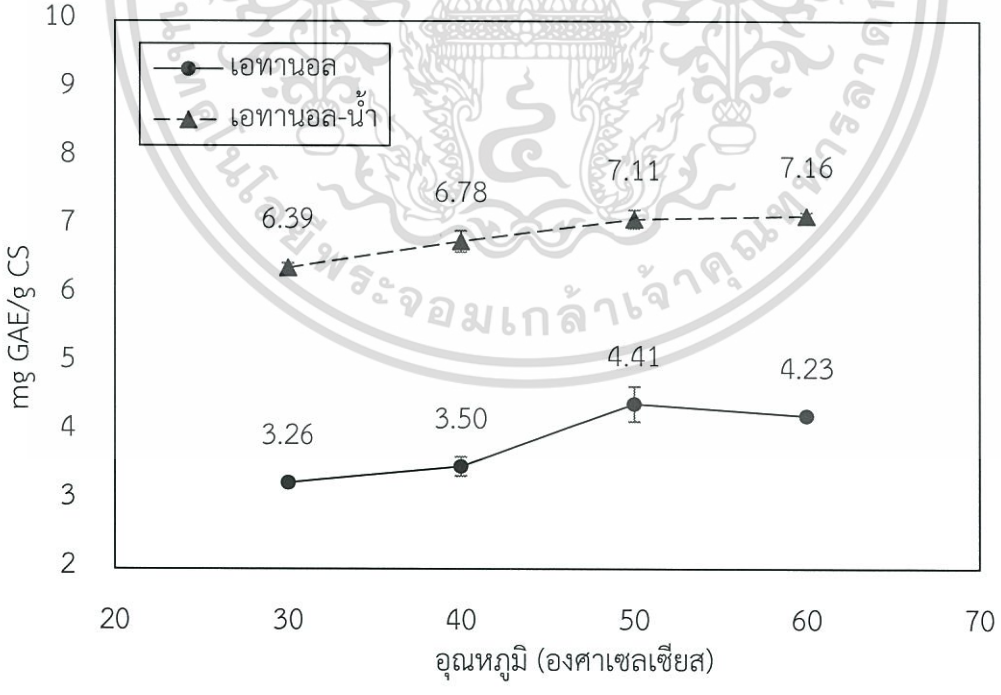
4.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัด

เนื่องจากอุณหภูมิในการสกัดส่งผลต่อความสามารถในการละลายของตัวถูกละลายและค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ ซึ่งจากรายงานของ Spigno และคณะ (2007) รายงานว่าอุณหภูมิที่สูงเกินไปสามารทำให้สารประกอบฟีนอลสูญเสียสภาพได้ [21] ดังนั้นเพื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัดจึงสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 30, 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าใช้ในการสกัดเป็น 120 รอบ/นาที และ ระยะเวลาในการสกัดเป็น 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด 120 รอบ/นาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)

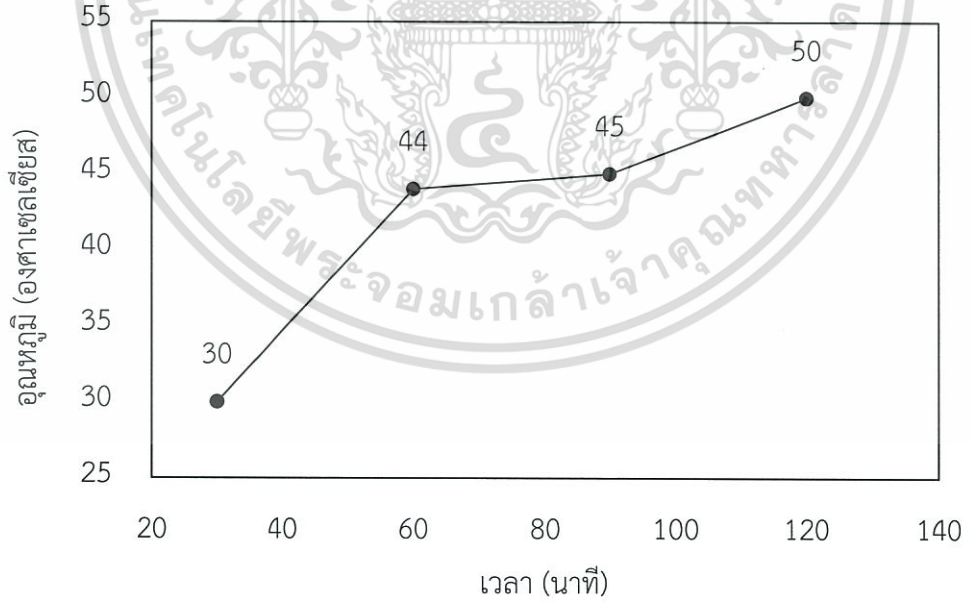


รูปที่ 4.6 อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล โดยความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด 120 รอบ/นาที ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที และใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.5 และ รูปที่ 4.6 พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทั้งเมื่อใช้เอทานอล และเอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย จาก 30 องศาเซลเซียส เป็น 40 องศาเซลเซียส ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 40 องศาเซลเซียส เป็น 50 องศาเซลเซียส พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้น ยกเว้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายเริ่มคงที่ และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจาก 50 องศาเซลเซียส เป็น 60 องศาเซลเซียสพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้เริ่มคงที่ และเริ่มเห็นแนวโน้มลดลงจากฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เอทานอล-น้ำเป็นตัวทำละลาย และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งอาจเกิดจากสารต้านอนุมูลอิสระบางตัวเริ่มเกิดการสลายตัวเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิในการสกัดมีอิทธิพลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลที่สกัดได้ ซึ่งอุณหภูมิในการสกัดที่เหมาะสมที่สุด คือ 50 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 องศาเซลเซียสในการศึกษาปัจจัยอื่นต่อไป

สำหรับการสกัดโดยใช้วิธีอัลตร้าโซนิคนั้นไม่มีการให้อุณหภูมิขณะทำการทดลอง แต่อุณหภูมิของสารตัวอย่างจะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการชนกันของสารเมื่อเกิดปรากฏการณ์แควิเตชั่น แสดงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิตามรูปที่ 4.7

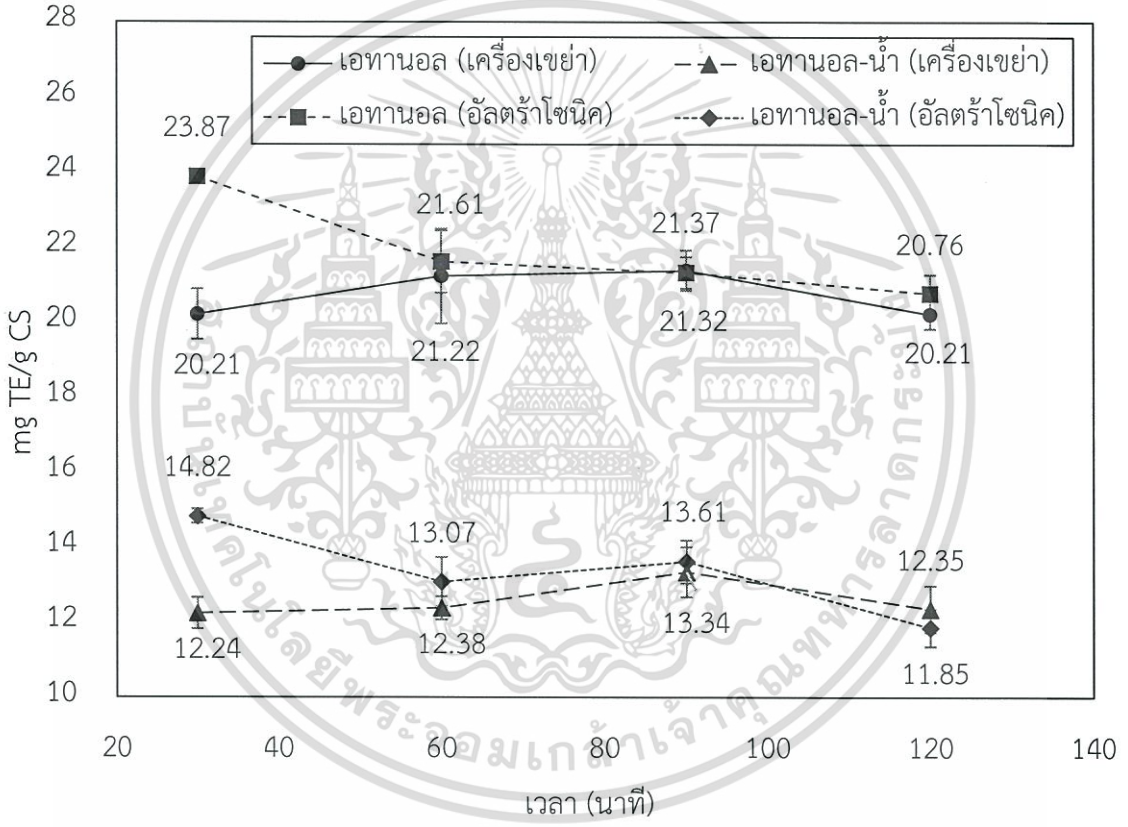


รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่เวลาต่างๆ เมื่อสกัดด้วยวิธีใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

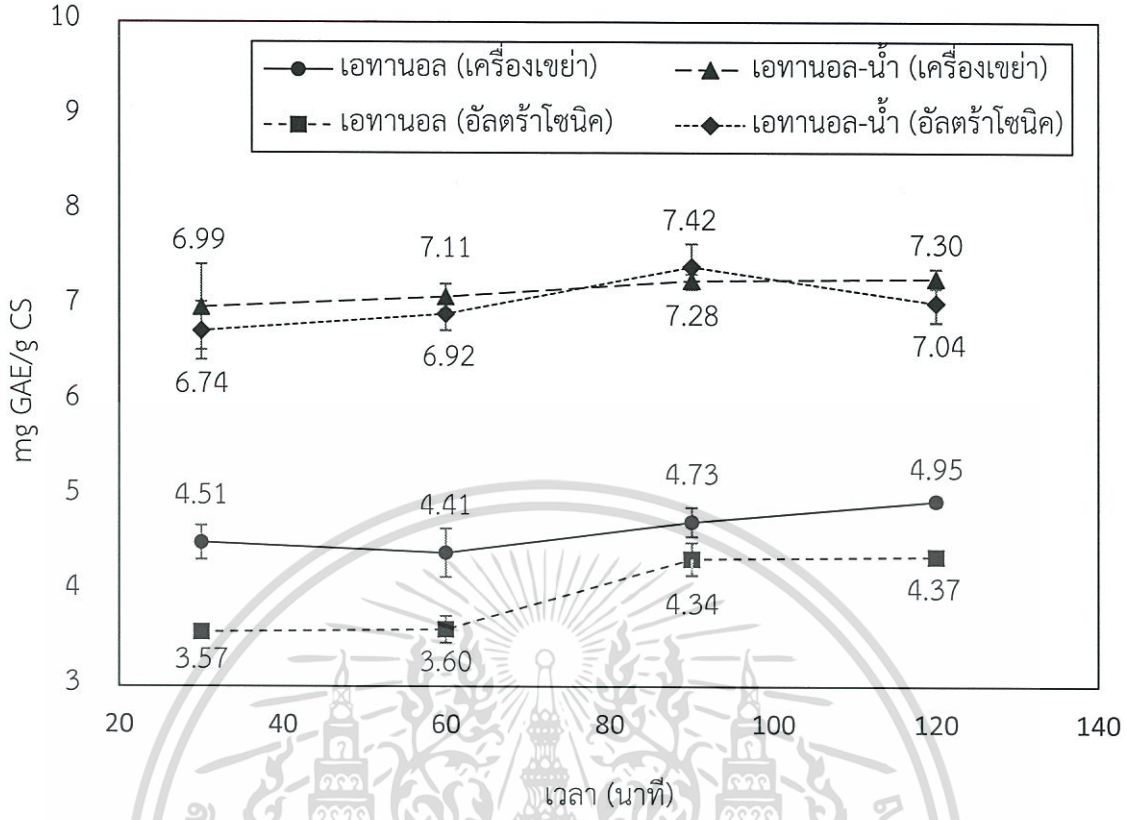
4.4 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด

เนื่องจากระยะเวลาในการสกัดเป็นตัวแปรสำคัญที่จะช่วยลดค่าใช้จ่ายในกระบวนการทางด้านพลังงานได้ ซึ่งระยะเวลาในการสกัดส่งผลต่อปริมาณของสารที่สกัดออกมาได้ ดังนั้นเพื่อศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด จึงศึกษาการสกัดโดยใช้ระยะเวลา 30, 60, 90 และ 120 นาที เพื่อหาระยะเวลาในการสกัดที่เหมาะสมที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเป็น 50 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และ ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้ในการสกัด 120 รอบ/นาที



รูปที่ 4.8 อิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ที่อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 อิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ที่อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล และ เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) และสำหรับวิธีใช้เครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.8 พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 60 นาที สำหรับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค ทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงทั้งสองตัวทำละลายในขณะที่การสกัดด้วยเครื่องเขย่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 60 นาที เป็น 90 นาที การสกัดทั้ง 2 วิธีมีค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก ยกเว้นเมื่อสกัดด้วยเครื่องเขย่าและใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อย และเมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 90 นาที เป็น 120 นาที พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งอาจเกิดจากสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระบางตัวเริ่มสลายตัวจากการสัมผัสความร้อนเป็นเวลานาน และเมื่อเปรียบเทียบผลจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคกับรูปที่ 4.7 พบว่า ในช่วงระยะเวลาที่มีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น จะทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งอาจเกิดอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นไปทำลายสารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระบางชนิด

จากผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.9 เมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 30 นาที เป็น 60 นาทีพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยรวมมีแนวโน้วเพิ่มขึ้นเล็กน้อยแต่เปลี่ยนแปลงไม่มาก เมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 60 นาที เป็น 90 นาที พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดจาก 90 นาที เป็น 120 นาที พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยรวมมีแนวโน้วคงที่และลดลง ยกเว้นเมื่อสกัดด้วยเครื่องเขย่าและใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคพบว่า เมื่อระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลง แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึง 90 นาที ซึ่งอาจเกิดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิคทำให้สารที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สลายตัวได้ง่ายถูกสกัดออกมาได้มากขึ้น ตามงานวิจัยของ Rezaie และคณะ [28]

ซึ่งจากผลการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด แสดงให้เห็นว่าสำหรับการสกัดด้วยเครื่องเขย่าควรสกัดเป็นระยะเวลาไม่เกิน 90 นาที และสำหรับการสกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค หากต้องการสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระควรสกัดเป็นระยะเวลาไม่เกิน 30 นาที แต่หากต้องการสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากควรสกัดเป็นระยะเวลาไม่เกิน 90 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการดำเนินงานและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการดำเนินงาน

ปริญญานิพนธ์นี้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 2 วิธี คือ ใช้เครื่องเขย่า และ ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค และศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด คือ ความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่ใช้สกัด อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด โดยทำการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) และ วิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าภาวะที่ทำให้สารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ซึ่งทำให้มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 23.87 mg TE/g CS และภาวะที่ทำให้สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมากที่สุด คือ สกัดด้วยคลื่นอัลตร้าโซนิค โดยใช้เอทานอล-น้ำ (1:1 โดยปริมาตร) เป็นตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด 90 นาที ซึ่งทำให้มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณสารประกอบฟีนอล 7.42 mg GAE/g CS

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟในปริญญานิพนธ์นี้ได้จากการทดลองโดยใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟสายพันธุ์โรบัสตา ซึ่งหากใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟต่างสายพันธุ์ หรือใช้สารตั้งต้นชนิดอื่น อาจทำให้ได้ภาวะที่เหมาะสมแตกต่างออกไป เนื่องจากองค์ประกอบในสารตั้งต้นอาจแตกต่างกัน

5.2.2 เพื่อให้รู้ชนิด และปริมาณขององค์ประกอบของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟที่ชัดเจน ควรวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์ปริมาณสาร เช่น เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง หรือเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี แต่จะมีค่าใช้จ่ายสูงเนื่องจากต้องใช้สารตัวอย่างมาตรฐานหลายตัวอย่างในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

[1] L. Regazzoni *et al.*, "Coffee silver skin as a source of polyphenols: High resolution mass spectrometric profiling of components and antioxidant activity," *J. Funct. Foods*, vol. 20, pp. 472–485, 2016.

[2] statista, "• Global coffee consumption, 2016/17 | Statistic." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.statista.com/statistics/292595/global-coffee-consumption/. [Accessed: 11-May-2018].

[3] statista, "• Thailand: total coffee consumption 2016 | Statistic." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.statista.com/statistics/314998/thailand-total-coffee-consumption/.

[4] Y. Narita and K. Inouye, "Review on utilization and composition of coffee silverskin," *Food Res. Int.*, vol. 61, pp. 16–22, 2014.

[5] John R. Dean, *Extraction Techniques in Analytical Sciences.* John Wiley and Sons Ltd, 2009.

[6] วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, "กาแฟ," 2017. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://th.wikipedia.org/w/index.php?title=%25E0%25B8%2581%25E0%25B8%25B2%25E0%25B9%2581%25%2520E0%25B8%259F&oldid=6838480.

[7] วิริยจารี และคณะ, "การพัฒนากลิ่นรสกาแฟพันธุ์อาราบิกาจากผลผลิตพลอยได้ของกระบวนการแปรรูปกาแฟ ระยะที่1:การผลิตเมล็ดกาแฟดิบด้วยเทคโนโลยีทางเอนไซม์," p. 3, 2016.

[8] R. Paper, "Production , Composition , and Application of Coffee and Its Industrial Residues," pp. 661–672, 2011.

[9] A. R. Catherine, "Antioxidant properties of phenolic," vol. 2, no. 4, 1997.

[10] "การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพและปริมาณสารสำคัญของสมุนไพรด้วยการเกิดปฏิกิริยาทางเคมี," 2559. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://kpi.msu.ac.th/upload/ag_tor_ref_byval/ag_16_in_1.2.7_99(2559).pdf.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[11] A. M. Pisoschi and G. P. Negulescu, "Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review," *Biochem. Anal. Biochem.*, vol. 01, no. 01, pp. 1–10, 2012.

[12] นัยจิตร และ เชื้อมั่ง, "การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบรวมฟีนอลและนิโคตินของสมุนไพรไทย 15 ชนิด," วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2559.

[13] เจริญผล และ วงศ์กระจ่าง, "การศึกษาระบบตัวทาละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง," คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม, 2558.

[14] R. Self, *Extraction of Organic Analytes from Foods*. Athenaeum Press Ltd, 2005.

[15] Wikipedia, "Soxhlet extractor." [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Soxhlet_extractor&oldid=800977513.%0A.

[16] A. B. A. De Azevedo, T. G. Kieckbush, A. K. Tashima, and R. S. Mohamed, "Extraction of green coffee oil using supercritical carbon dioxide," vol. 44, pp. 186–192, 2008.

[17] วงศ์วานิช และ บรรจง, "ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันเมล็ดองุ่นด้วยวิธีการแช่," สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2559.

[18] ชูกลิ่น และคณะ, "การใช้อัลตราซาวด์เสริมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง," มหาวิทยาลัย เทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย นครศรีฯ.

[19] K. Vilkhu, R. Mawson, L. Simons, and D. Bates, "Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry — A review," vol. 9, pp. 161–169, 2008.

[20] Y. Deng, Y. Zhao, O. Padilla-Zakour, and G. Yang, "Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and bark extracts of Solidago canadensis L.," *Ind. Crops Prod.*, vol. 74, pp. 803–809, 2015.

[21] G. Spigno, L. Tramelli, and D. M. De Faveri, "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics," *J. Food Eng.*, vol. 81, no. 1, pp. 200–208, 2007.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[22] Y. Yilmaz and R. T. Toledo, "ARTICLE IN PRESS Oxygen radical absorbance capacities of grape / wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols," vol. 19, pp. 41–48, 2006.

[23] A. S. G. Costa *et al.*, "Optimization of antioxidants extraction from coffee silverskin, a roasting by-product, having in view a sustainable process," *Ind. Crops Prod.*, vol. 53, pp. 350–357, 2014.

[24] Y. Narita and K. Inouye, "High antioxidant activity of coffee silverskin extracts obtained by the treatment of coffee silverskin with subcritical water," *Food Chem.*, vol. 135, no. 3, pp. 943–949, 2012.

[25] B. Sarmento, M. H. Amaral, F. Rodrigues, A. Palmeira-de-oliveira, and M. B. P. P. Oliveira, "Coffee silverskin : A possible valuable cosmetic ingredient," pp. 1–9, 2014.

[26] M. Pinelo, P. Del, L. Manzocco, M. Jose, and M. Cristina, "Food Chemistry Optimization of continuous phenol extraction from Vitis vinifera byproducts," vol. 92, pp. 109–117, 2005.

[27] JAMES, "All about Solvents: Non-Polar, Polar Aprotic, and Polar Protic Solvents — Master Organic Chemistry." [อ อ น ไ ล น์]. เ ข้ า ถึ ง ไ ด้ จ า ก : https://www.masterorganicchemistry.com/2012/04/27/polar-protic-polar-aprotic-nonpolar-all-about-solvents/.

[28] M. Rezaie, R. Farhoosh, M. Iranshahi, A. Sharif, and S. Golmohamadzadeh, "Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from Bene (Pistacia atlantica subsp . mutica) hull using various solvents of different physicochemical properties," *FOOD Chem.*, vol. 173, pp. 577–583, 2015.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การคำนวณปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัด

ก.1 การคำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

สารสกัดที่ได้ถูกเจือจางความเข้มข้นลง 50 เท่า แล้วนำมาทำปฏิกิริยากับ DPPH ซึ่งเป็นสารละลายสีม่วง ถ้าในสารสกัดมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง สารละลายสีม่วงจะมีสีจางลง ซึ่งวัดได้จากนำสารไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตามสมการ (ก.1)

$$\text{เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ} = \frac{A_C - A_S}{A_C} \times 100 \qquad \text{(ก.1)}$$

โดยที่

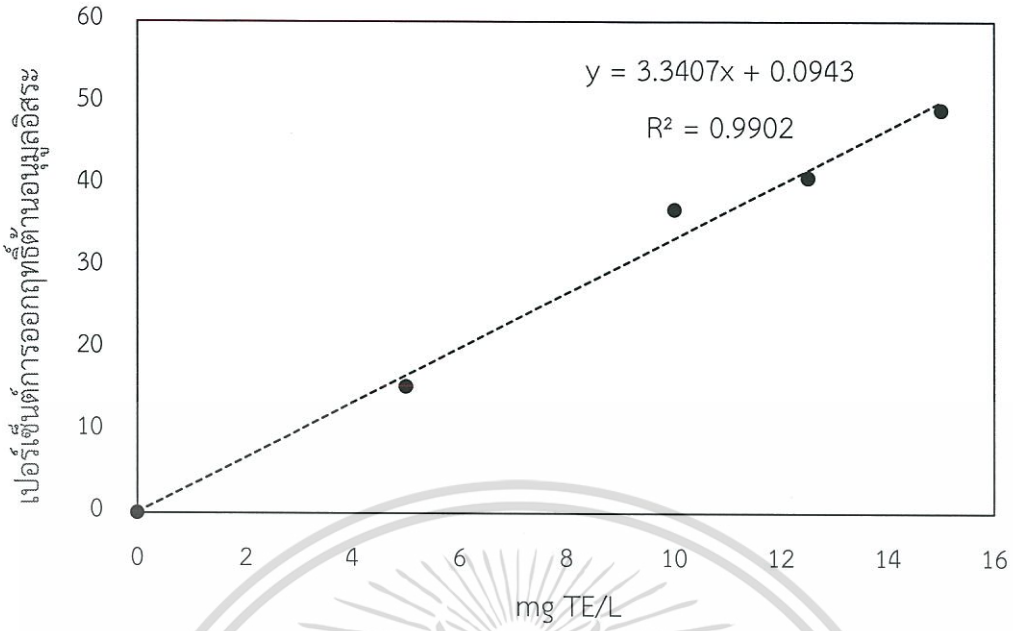
A_C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารควบคุม

A_S คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

นำค่าเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่คำนวณได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากสารมาตรฐานโทรล็อก (TE) เพื่อหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่แสดงในหน่วยเทียบเท่าปริมาณโทรล็อกต่อลิตร ซึ่งสารสกัดถูกทำให้เจือจางลง 50 เท่า ดังนั้นจึงต้องคูณ 50 เพื่อให้ได้ค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเริ่มต้น คำนวณจากสมการ (ก.2)

$$\text{ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)} = \frac{\text{เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ} - 0.0943}{3.3407} \times 50 \qquad \text{(ก.2)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสำหรับวัดเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เนื่องจากในการทำการทดลองสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในหน่วย mg TE/L แล้ว สามารถเปลี่ยนหน่วยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้เป็นมิลลิกรัมเทียบเท่าโทรล็อก/กรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg TE/g CS) ได้สมการ (ก.3)

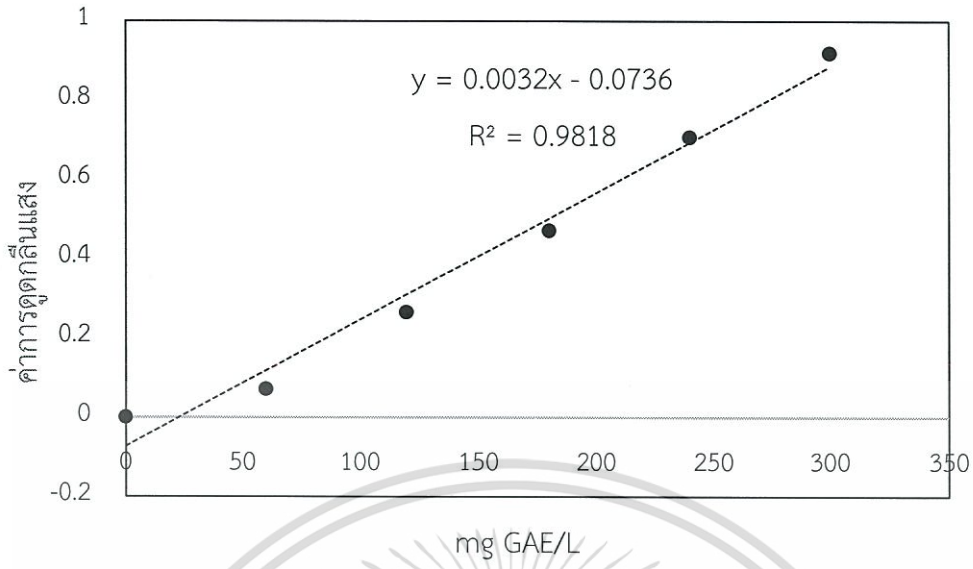
$$\text{ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)} = \text{ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/L)} \times \frac{0.05\ \text{L}}{1\ \text{g CS}} \qquad \text{(ก.3)}$$

ก.2 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลในสารสกัด

นำสารสกัดที่ได้มาทำปฏิกิริยากับ Folin–Ciocalteu reagent และ โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งถ้าในสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง สารจะมีสีน้ำเงินเข้มขึ้น ซึ่งวัดได้จากนำสารไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานที่สร้างจากสารมาตรฐานกรดแกลลิค (GAE) เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลที่แสดงในหน่วยเทียบเท่าปริมาณกรดแกลลิคต่อลิตร โดยคำนวณจากสมการ (ก.4)

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/L)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} + 0.0736}{0.0032} \qquad \text{(ก.4)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานสำหรับวัดปริมาณสารประกอบฟีนอล

เนื่องจากในการทำการทดลองสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ ใช้เยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ 1 กรัม ต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลในหน่วย mg GAE/L แล้ว สามารถเปลี่ยนหน่วยปริมาณสารประกอบฟีนอลให้เป็นมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิค/กรัมของเยื่อหุ้มเมล็ดกาแฟ (mg GAE/g CS) ได้ดังสมการ (ก.5)

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)} = \text{ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/L)} \times \frac{0.05\ \text{L}}{1\ \text{g CS}} \quad \text{(ก.5)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลอง

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอล เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดของตัวทำละลาย ความเร็วรอบในการเขย่า อุณหภูมิในการสกัด และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ตามลำดับ โดยใช้วิธีการสกัด 2 วิธี คือ ใช้เครื่องเขย่า และใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

ข.1 อิทธิพลของชนิดของตัวทำละลาย

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด ที่สกัดด้วยวิธีใช้เครื่องเขย่า และ ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค แสดงดังตารางที่ ข.1 ถึง ตารางที่ ข.4

ตารางที่ ข.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องเขย่าในการสกัด ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
เอทานอล	สารควบคุม	0.410			21.16
	1	0.291	29.02	21.65	
	2	0.301	26.59	19.82	
	3	0.289	29.51	22.01	
เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			10.93
	1	0.349	15.90	11.83	
	2	0.353	14.94	11.11	
	3	0.360	13.25	9.85	
น้ำ	สารควบคุม	0.427			7.35
	1	0.385	9.84	7.29	
	2	0.380	11.01	8.17	
	3	0.389	8.90	6.59	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัด ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
เอทานอล	สารควบคุม	0.410			21.89
	1	0.296	27.80	20.74	
	2	0.287	30.00	22.38	
	3	0.286	30.24	22.56	
เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			12.97
	1	0.337	18.80	13.99	
	2	0.346	16.63	12.37	
	3	0.345	16.87	12.55	
น้ำ	สารควบคุม	0.427			10.33
	1	0.380	11.01	8.17	
	2	0.361	15.46	11.50	
	3	0.362	15.22	11.32	

ตารางที่ ข.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องเขย่าในการสกัด ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
เอทานอล	สารควบคุม	0		3.41
	1	0.145	3.42	
	2	0.139	3.32	
	3	0.149	3.48	
เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.79
	1	0.355	6.70	
	2	0.367	6.88	
	3	0.360	6.78	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้เครื่องเขย่าในการสกัด ความเร็วรอบในการเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที (ต่อ)

ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
น้ำ	สารควบคุม	0		4.89
	1	0.238	4.87	
	2	0.239	4.88	
	3	0.241	4.92	

ตารางที่ ข.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของตัวทำละลายแต่ละชนิด โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัด ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
เอทานอล	สารควบคุม	0		1.84
	1	0.166	3.74	
	2	0.167	3.76	
	3	0.152	3.53	
เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		3.43
	1	0.352	6.65	
	2	0.384	7.15	
	3	0.362	6.81	
น้ำ	สารควบคุม	0		5.95
	1	0.299	5.82	
	2	0.280	5.53	
	3	0.342	6.49	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 อิทธิพลของความเร็วรอบในการเขย่า

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ แสดงดังตารางที่ ข.5 และ ตารางที่ ข.6

ตารางที่ ข.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ความเร็วรอบ (รอบ/นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
0	เอทานอล	สารควบคุม	0.410			17.45
		1	0.315	23.17	17.27	
		2	0.311	24.15	18.00	
		3	0.316	22.93	17.09	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			7.92
		1	0.369	11.08	8.22	
		2	0.371	10.60	7.86	
		3	0.372	10.36	7.68	
100	เอทานอล	สารควบคุม	0.410			18.85
		1	0.309	24.63	18.36	
		2	0.306	25.37	18.91	
		3	0.304	25.85	19.28	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			8.59
		1	0.372	10.36	7.68	
		2	0.361	13.01	9.67	
		3	0.368	11.33	8.40	
120	เอทานอล	สารควบคุม	0.410			21.53
		1	0.296	27.80	20.74	
		2	0.288	29.76	22.20	
		3	0.291	29.02	21.65	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที (ต่อ)

ความเร็วรอบ (รอบ/นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
120	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			10.81
		1	0.358	13.73	10.21	
		2	0.35	15.66	11.65	
		3	0.356	14.22	10.57	
180	เอทานอล	สารควบคุม	0.410			21.65
		1	0.298	27.32	20.37	
		2	0.289	29.51	22.01	
		3	0.286	30.24	22.56	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			10.81
		1	0.353	14.94	11.11	
		2	0.357	13.98	10.39	
		3	0.354	14.70	10.93	
240	เอทานอล	สารควบคุม	0.410			21.71
		1	0.286	30.24	22.56	
		2	0.288	29.76	22.20	
		3	0.298	27.32	20.37	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.415			10.99
		1	0.352	15.18	11.29	
		2	0.351	15.42	11.47	
		3	0.358	13.73	10.21	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที

ความเร็วรอบ (รอบ/นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
0	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.10
		1	0.122	3.06	
		2	0.126	3.12	
		3	0.127	3.13	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.38
		1	0.338	6.43	
		2	0.336	6.40	
		3	0.33	6.31	
100	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.17
		1	0.129	3.17	
		2	0.127	3.13	
		3	0.131	3.20	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.68
		1	0.355	6.70	
		2	0.354	6.68	
		3	0.353	6.67	
120	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.58
		1	0.147	3.45	
		2	0.172	3.84	
		3	0.148	3.46	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.79
		1	0.355	6.70	
		2	0.367	6.88	
		3	0.360	6.78	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดโดยใช้เครื่องเขย่าแต่ละความเร็วรอบ อุณหภูมิในการสกัด 40 องศาเซลเซียส และ ระยะเวลาในการสกัด 60 นาที (ต่อ)

ความเร็วรอบ (รอบ/นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
180	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.33
		1	0.140	3.34	
		2	0.136	3.28	
		3	0.142	3.37	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.00
		1	0.373	6.98	
		2	0.374	6.99	
		3	0.377	7.04	
240	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.49
		1	0.154	3.56	
		2	0.150	3.49	
		3	0.146	3.43	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.12
		1	0.380	7.09	
		2	0.382	7.12	
		3	0.384	7.15	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 อิทธิพลของอุณหภูมิในการสกัด

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที แสดงดังตารางที่ ข.7 ถึง ตารางที่ ข.8

ตารางที่ ข.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0.445			20.56
		1	0.323	27.42	20.45	
		2	0.319	28.31	21.12	
		3	0.325	26.97	20.11	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.440			10.42
		1	0.380	13.64	10.13	
		2	0.376	14.55	10.81	
		3	0.379	13.86	10.30	
40	เอทานอล	สารควบคุม	0.445			21.17
		1	0.321	27.87	20.78	
		2	0.319	28.31	21.12	
		3	0.316	28.99	21.62	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.440			10.76
		1	0.382	13.18	9.79	
		2	0.371	15.68	11.66	
		3	0.376	14.55	10.81	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.7 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที (ต่อ)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
50	เอทานอล	สารควบคุม	0.445			21.79
		1	0.311	30.11	22.46	
		2	0.315	29.21	21.79	
		3	0.319	28.31	21.12	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.440			12.52
		1	0.364	17.27	12.86	
		2	0.366	16.82	12.52	
		3	0.368	16.36	12.18	
60	เอทานอล	สารควบคุม	0.445			21.29
		1	0.317	28.76	21.45	
		2	0.312	29.89	22.30	
		3	0.325	26.97	20.11	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.440			12.23
		1	0.371	15.68	11.66	
		2	0.367	16.59	12.35	
		3	0.365	17.05	12.69	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.26
		1	0.132	3.21	
		2	0.134	3.24	
		3	0.139	3.32	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.39
		1	0.339	6.45	
		2	0.337	6.42	
		3	0.331	6.32	
40	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.41
		1	0.145	3.42	
		2	0.139	3.32	
		3	0.149	3.48	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.61
		1	0.348	6.59	
		2	0.346	6.56	
		3	0.355	6.70	
50	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.18
		1	0.191	4.13	
		2	0.193	4.17	
		3	0.198	4.24	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.20
		1	0.379	7.07	
		2	0.389	7.23	
		3	0.394	7.31	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที ระยะเวลาการสกัด 60 นาที (ต่อ)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
60	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.23
		1	0.196	4.21	
		2	0.199	4.26	
		3	0.197	4.23	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.16
		1	0.382	7.12	
		2	0.383	7.13	
		3	0.388	7.21	

ข.4 อิทธิพลของระยะเวลาในการสกัด

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที และ ใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ ข.9 ถึง ตารางที่ ข.12

ตารางที่ ข.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0.449			20.21
		1	0.328	26.95	20.10	
		2	0.323	28.06	20.93	
		3	0.331	26.28	19.60	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
30	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.454			12.24
		1	0.382	15.86	11.80	
		2	0.377	16.96	12.62	
		3	0.379	16.52	12.29	
60	เอทานอล	สารควบคุม	0.449			20.65
		1	0.316	29.62	22.10	
		2	0.323	28.06	20.93	
		3	0.335	25.39	18.93	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.454			12.24
		1	0.378	16.74	12.46	
		2	0.379	16.52	12.29	
		3	0.381	16.08	11.96	
90	เอทานอล	สารควบคุม	0.449			21.37
		1	0.318	29.18	21.76	
		2	0.319	28.95	21.60	
		3	0.324	27.84	20.76	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.454			13.34
		1	0.377	16.96	12.62	
		2	0.369	18.72	13.94	
		3	0.372	18.06	13.45	
120	เอทานอล	สารควบคุม	0.449			20.21
		1	0.326	27.39	20.43	
		2	0.326	27.39	20.43	
		3	0.330	26.50	19.76	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
120	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.454			12.35
		1	0.377	16.96	12.62	
		2	0.376	17.18	12.79	
		3	0.383	15.64	11.63	

ตารางที่ ข.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0.412			23.87
		1	0.306	31.85	23.76	
		2	0.304	32.29	24.10	
		3	0.306	31.85	23.76	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.410			14.82
		1	0.363	20.04	14.93	
		2	0.363	20.04	14.93	
		3	0.365	19.60	14.60	
60	เอทานอล	สารควบคุม	0.412			21.32
		1	0.32	28.73	21.43	
		2	0.317	29.40	21.93	
		3	0.325	27.62	20.60	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.10 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค (ต่อ)

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	%การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g CS)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย (mg TE/g CS)
60	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.410			13.07
		1	0.371	18.28	13.61	
		2	0.377	16.96	12.62	
		3	0.373	17.84	13.28	
90	เอทานอล	สารควบคุม	0.412			21.32
		1	0.318	29.18	21.76	
		2	0.321	28.51	21.26	
		3	0.323	28.06	20.93	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.410			13.61
		1	0.375	17.40	12.95	
		2	0.369	18.72	13.94	
		3	0.369	18.72	13.94	
120	เอทานอล	สารควบคุม	0.412			20.76
		1	0.321	28.51	21.26	
		2	0.324	27.84	20.76	
		3	0.327	27.17	20.26	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0.410			11.85
		1	0.379	16.52	12.29	
		2	0.385	15.20	11.30	
		3	0.381	16.08	11.96	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.51
		1	0.226	4.68	
		2	0.203	4.32	
		3	0.217	4.54	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		6.99
		1	0.354	6.68	
		2	0.407	7.51	
		3	0.361	6.79	
60	เอทานอล	สารควบคุม	0		2.32
		1	0.218	4.56	
		2	0.224	4.65	
		3	0.227	4.70	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		3.50
		1	0.371	6.95	
		2	0.376	7.03	
		3	0.378	7.06	
90	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.73
		1	0.235	4.82	
		2	0.218	4.56	
		3	0.235	4.82	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.28
		1	0.39	7.24	
		2	0.389	7.23	
		3	0.397	7.35	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้เครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิในการสกัด 50 องศาเซลเซียส (ต่อ)

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
120	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.95
		1	0.247	5.01	
		2	0.242	4.93	
		3	0.241	4.92	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.30
		1	0.386	7.18	
		2	0.399	7.38	
		3	0.395	7.32	

ตารางที่ ข.12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
30	เอทานอล	สารควบคุม	0		3.57
		1	0.158	3.62	
		2	0.154	3.56	
		3	0.153	3.54	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม			6.74
		1	0.377	7.04	
		2	0.359	6.76	
		3	0.338	6.43	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.12 ปริมาณสารประกอบฟีนอลของสารสกัดที่สกัดด้วยระยะเวลาต่างๆ โดยใช้คลื่นอัลตร้าโซนิค

เวลา (นาที)	ตัวทำละลาย	หลอดที่	ค่าการดูดกลืนแสง	ปริมาณสารประกอบฟีนอล (mg GAE/g CS)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลเฉลี่ย (mg GAE/g CS)
60	เอทานอล	สารควบคุม	0		1.84
		1	0.166	3.74	
		2	0.167	3.76	
		3	0.152	3.53	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		3.43
		1	0.352	6.65	
		2	0.384	7.15	
		3	0.362	6.81	
90	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.34
		1	0.205	4.35	
		2	0.215	4.51	
		3	0.193	4.17	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.42
		1	0.384	7.15	
		2	0.414	7.62	
		3	0.406	7.49	
120	เอทานอล	สารควบคุม	0		4.37
		1	0.208	4.40	
		2	0.201	4.29	
		3	0.209	4.42	
	เอทานอล-น้ำ (1:1)	สารควบคุม	0		7.04
		1	0.365	6.85	
		2	0.391	7.26	
		3	0.375	7.01	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้