

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ของสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์ราบิก้า
TOTAL AMOUNT OF PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT
ACTIVITIES OF CRUDE EXTRACTS FROM CHERRY COFFEE
PEELS ARABICA CULTIVARS

พัทธนันท์ นาทพิณิจ*, อัจฉรา ไชยองค์การ และ สิรินทิพย์ ยะกับ
Patthanant Natpinit*, Achara Chaiongkarn and Sirintip Yakub

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
Thailand Institute of Scientific and Technological Research

Received: 20 April 2023

Revised: 12 August 2023

Accepted: 20 August 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์ราบิก้า ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP จากเปลือกสดและแบบแห้งด้วยเอทานอล 95% หรือน้ำร้อนเป็นเวลา 7 วัน ที่อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกแห้งต่อตัวทำละลายที่ 1:10 ผลการวิจัยพบว่าการสกัดเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อนจะได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ลำดับถัดมาคือเปลือกแห้งด้วยเอทานอล เปลือกสดด้วยเอทานอล และเปลือกสดด้วยน้ำร้อน ตามลำดับ โดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในช่วง 0.39-2.83 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสำคัญในเปลือกกาแฟเชอร์รี่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากกว่า FRAP โดยมีค่า IC_{50} อยู่ที่ 143 มก.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. สารสกัดเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อนมีค่า DPPH สูงสุดที่ 821 มก.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. สำหรับ FRAP การสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่ามากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล และเปลือกแห้งมีค่ามากกว่าเปลือกสด โดยสารสกัดเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อนมีค่า

* Corresponding author: พัทธนันท์ นาทพิณิจ

Email: patthanant_n@tistr.or.th

มากที่สุดที่ 69.33 มค.ก.แอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ หรือ 122.25 มค.ก.สมมูลเฟอร์รัส ซัลเฟตต่อ ก.เปลือกกาแฟ

คำสำคัญ: เปลือกกาแฟเชอรี่, สารสกัด, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารฟีนอลิก,ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

This investigation aims to analyze the total amount of phenolic compounds and antioxidant activities of crude extract from cherry coffee peels Arabica cultivars. The amount of phenolic compounds and antioxidant activity were studied by DPPH and FRAP methods from fresh and dried peels with 95% ethanol or hot water for 7 days at peel to solvent ratio of 1:10. Research results were shown that the extraction of dried peels with hot water had the maximum yield of total phenolic compounds, followed by dried peels with ethanol, fresh peel with ethanol and fresh peel with hot water, respectively. The total phenolic compounds ranged from 0.39-2.83 mg of gallic acid/g coffee peel. For the antioxidant activity, it found that the active ingredient in coffee cherry peel had more antioxidant activity by DPPH method than FRAP. IC_{50} was 143 ug ascorbic/ml. The crude extract from dried peel with hot water had the highest value of an antioxidant activity as 821 ug ascorbic/ml. The antioxidant activity by FRAP method showed that the extraction with hot water was higher than ethanol and dried peels had antioxidant activity more than fresh peels. The crude extract of dried coffee peel with hot water had the highest value at 69.33 ug ascorbic acid/g coffee peel or 122.25 ug $FeSO_4$ /g coffee peel.

Keywords: cherry coffee peel, crude extract, antioxidant agent, phenolic compound, antioxidant activity

บทนำ

กาแฟจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งในประเทศไทย ซึ่งมีหลายสายพันธุ์ที่นิยมปลูกกันในภาคเหนือตอนบน ได้แก่ สายพันธุ์ อราบิก้า (Arabica) และโรบัสต้า (Robusta) เป็นต้น กาแฟสายพันธุ์อราบิก้าเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากในแถบภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะพื้นที่ราบสูง เพราะมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมสำหรับการปลูกกาแฟ นอกจากนี้ยังได้รับการสนับสนุนให้มีการเพาะปลูกอย่างกว้างขวาง เพื่อส่งให้กับมูลนิธิโครงการหลวงในการแปรรูปเป็นเมล็ดกาแฟอราบิก้าคุณภาพสูง ทำให้เกษตรกร และชุมชนมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้น

ในปี 2559-2561 พบว่าผลผลิตการปลูกกาแฟเฉลี่ย เป็น 120, 102 และ 92 กก./ไร่ คิดเป็นผลผลิตรวมเป็น 30,579, 25,909 และ 23,617 ตัน โดยแบ่งเป็น พันธุ์โรบัสต้าที่ 106, 92 และ 72 กก./ไร่ คิดเป็นผลผลิตรวมเป็น 21,338, 16,967 และ 13,471 ตัน ส่วนพันธุ์อราบิก้าเป็น 155, 127 และ 136 กก./ไร่ คิดเป็นผลผลิตรวมเป็น 9,241, 8,942 และ 10,146 ตัน (สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร, 2562)

จากกรรมวิธีการแปรรูปเมล็ดกาแฟพบว่า ของเสียที่เกิดขึ้น ได้แก่ เนื้อผลเชอรี่หรือเปลือกกาแฟเชอรี่ ร้อยละ 55 และกะลากาแฟ ร้อยละ 29 (ชุดิณณท์ พลอยประดับ และคณะ, 2553) จะเห็นได้ว่าเปลือกกาแฟเชอรี่มีปริมาณมากที่สุด ซึ่งส่วนใหญ่มักจะถูกทิ้งไว้ทำให้เกิดการย่อยสลายตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดกรด และกลิ่นเหม็นเปรี้ยวขึ้น จากสมบัติของเปลือกกาแฟเชอรี่ ประกอบด้วยไปด้วยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน แอนโธไซยานิน แทนนิน โพลีฟีนอล และคาเฟอีน เป็นต้น (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2550) เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีแล้วพบว่า เปลือกกาแฟเชอรี่ประกอบด้วย แทนนิน ร้อยละ 1.80-5.56 กรดคลอโรจีนิก ร้อยละ 2.6 สารกลุ่มเพคติก ร้อยละ 6.5 น้ำตาลรีดิวส์ ร้อยละ 12.4 น้ำตาลที่ยังไม่รีดิวส์ ร้อยละ 2.0 คาเฟอีน ร้อยละ 1.3 และกรดคาเฟอิก ร้อยละ 1.6 และยังพบสารประกอบในกลุ่มฟีนอลและกลุ่มฟลาโวนอยด์สูง โดยเฉพาะแอนโธไซยานินซึ่งพบมากในเปลือกกาแฟเชอรี่สีแดง และเปลือกกาแฟเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Liu et al., 2016) จากการที่เปลือกกาแฟเชอรี่สามารถเกิดการย่อยสลาย แล้วได้กรดอินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงว่าสามารถนำเปลือกกาแฟเชอรี่มาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักให้เป็นไวน์ หรือน้ำส้มสายชูหมักได้ ซึ่งช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับเปลือกกาแฟเชอรี่ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการเติมน้ำส้มสายชูหมัก มีประโยชน์ช่วยในระบบย่อยอาหาร โดยเฉพาะกรดคลอโรจีนิก ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ช่วยลดการดูดไขมันในร่างกาย โดยเฉพาะ

บริเวณลำไส้ และตับ และยังมีสารแอนติออกซิเดนท์ ช่วยลดการอักเสบของเซลล์ได้อีกด้วย (Hillkoff, 2564)

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรูปของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์ราบีก้า และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกกาแฟ โดยใช้เปลือกกาแฟสด และแห้ง ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% และน้ำร้อน เพื่อให้ได้แนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกกาแฟเชอร์รี่เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น ผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อจำหน่ายเชิงพาณิชย์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเปลือกกาแฟเชอร์รี่ และการเก็บรักษา

เปลือกกาแฟเชอร์รี่ที่ใช้ในการวิจัยนี้เป็นพันธุ์ราบีก้า ที่ได้รับการสนับสนุนจากมูลนิธิแม่ฟ้าหลวง ในพระบรมราชูปถัมภ์ มีทั้งเปลือกสด และเปลือกแห้ง โดยเปลือกสด จะนำไปเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0°C. ส่วนเปลือกแห้ง จะนำเปลือกกาแฟสดที่ได้ มาอบที่อุณหภูมิ 40°C อย่างน้อย 24 ชั่วโมง ดังรูปที่ 1

2. การวิเคราะห์ความชื้นในเปลือกกาแฟ

ชั่งน้ำหนัก (W1) ขามกระเบื้องที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105°C. 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างเปลือกกาแฟ อย่างน้อย 2 ก. (W2) แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C. 2 ชั่วโมง และทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก (W3) จากนั้นนำมาคำนวณหาความชื้น (AOAC, 1990)

$$\% \text{ความชื้น} = (W3 - W1) \times 100 / W2$$



อบที่ 40°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
การเก็บรักษาเปลือกกาแฟเชอร์รี่

รูปที่ 1 การเก็บรักษาเปลือกกาแฟเชอร์รี่

3. การสกัดเปลือกกาแฟ

ชั่งน้ำหนักเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด 320 ก. (ความชื้น 75%) หรือเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้ง 80 ก. นำไปแช่ในเอทานอล 95% หรือ น้ำร้อนที่ต้มเดือดที่ 100°C แล้ว 5 นาที ปริมาตร 800 มล. แช่ทิ้งไว้อย่างน้อย 7 วัน แล้วนำมากรองแยกเปลือกออก นำไปกลั่นด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน เพื่อแยกตัวทำละลายออก บันทึกปริมาตรของสารละลายสกัดที่ได้ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu colorimetric ดัดแปลงจากวิธีการของ (Pekal & Pyrzynska, 2004)

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) 2% (w/v) โดยชั่งน้ำหนัก NaCO_3 2 ก. ละลายในน้ำ 100 มล. เตรียมสารละลายกรดแกลลิก ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มก./มล. เตรียมสารละลายทดสอบ โดยใช้สารละลาย NaCO_3 2% 2 มล. เติมสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.1 มล. ทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้ดังรูปที่ 2. แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการตรวจวัดกรดแกลลิก จากนั้นนำสมการเส้นตรงที่ได้ไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของกรดแกลลิกของสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่ และรายงานในหน่วย มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ

$$\text{มก. GAE/ก. ตัวอย่าง} = \frac{\text{ความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักเปลือกกาแฟ}}$$

$$\% \text{yield} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่ได้จากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรที่สกัดได้} \times 100}{\text{น้ำหนักเปลือกกาแฟ} \times 1000}$$

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging assay)

ดัดแปลงจากวิธีการของ (Thomas et al., 2012)

เตรียมสารละลาย 2, 2 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0.1 มิลลิโมล โดยชั่งน้ำหนัก 0.004 ก. ละลายในเอทานอล 95% 100 มล. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 125, 200 และ 250 มก.ก.ต่อ มล. โดยชั่งกรด

แอสคอร์บิก 0.05 ก. ละลายในน้ำกลั่น 100 มล. แล้วนำไปเจือจางตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้
 ปีเปตสารละลาย DPPH 2.9 มล. เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล.
 เขย่า และทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515
 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้ดังรูปที่ 2 แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการ
 ตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก จากนั้นนำสมการเส้นตรงที่ได้ไปคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
 และความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของกรดแอสคอร์บิกของสารสกัดเปลือกกาแฟ
 เซอรี และรายงานในหน่วย มค.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ

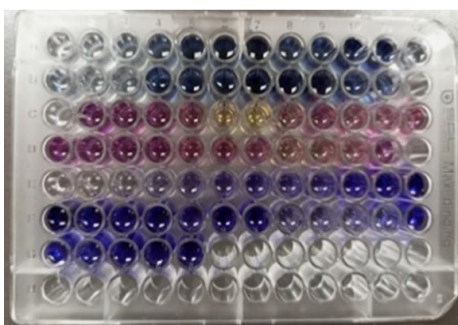
$$\text{มค.ก.AC/B/ก. ตัวอย่าง} = \frac{\text{ความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักเปลือกกาแฟ}}$$

6. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ดัดแปลงจากวิธีการของ
 (Yang et al., 2010)

เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3 ปริมาตร 1,000 มล. โดยชั่งโซเดียม
 อะซิเตต 24.6 ก. ละลายในน้ำ 300 มล. ปรับพีเอชด้วยกรดแอสติก ให้ได้พีเอชประมาณ 3.0
 และเจือจางให้ได้ปริมาตร 1,000 มล. เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยมีส่วนประกอบ
 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.054 ก. ละลายในน้ำ 10 มล. ส่วนที่ 2 ชั่ง TPTZ
 (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 0.031 ก. ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์
 หรือ 0.04 โมลาร์ 10 มล. (ปีเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1.7 มล. ละลายในน้ำกลั่น 400
 มล. และปรับปริมาตรให้เป็น 500 มล.) ส่วนที่ 3 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3
 100 มล. เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัส ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิโมล โดยชั่งเฟอร์รัสคลอไรด์
 แอนไฮดรัส 0.02535 ก. ละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมล แล้วปรับปริมาตร
 ให้เป็น 10 มล. เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัส ที่ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 800
 และ 1,000 ไมโครโมล โดยเจือจางจากสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัส 20 มิลลิโมลด้วยสาร
 ละลายกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมล เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความ
 เข้มข้น 25, 50, 100, 125, 200 และ 250 มค.ก.ต่อ มล. ปีเปตสารละลาย FRAP 0.95 มล.
 เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารละลายตัวอย่าง 0.05 มล. เขย่า และทิ้งไว้ในที่มืด 10 นาที
 แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้
 ดังรูปที่ 2 แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการตรวจวัดสารมาตรฐานเฟอร์รัส จากนั้น

นำผลการเส้นตรงที่ได้ไปคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของเฟอร์รัสซัลเฟต และนำค่าการดูดกลืนแสงของกรดแอสคอร์บิกที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน แล้วนำไปหาความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของ มค.ก.กรดแอสคอร์บิก ต่อ ก.เปลือกกาแฟ และ มค.ก.สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ ก.เปลือกกาแฟ

$$\text{มค.ก. FeSO}_4/\text{ก. เปลือกกาแฟ} = \frac{\text{ความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐาน} \times \text{ปริมาตรที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักเปลือกกาแฟ}}$$



- การทดสอบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH
- การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป FRAP

รูปที่ 2 สีของสารวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ FRAP

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ปริมาณความชื้นในเปลือกกาแฟเชอรี่ และการเก็บรักษา

เปลือกกาแฟเชอรี่ที่ได้มีความชื้นอยู่ประมาณ 86.48% ซึ่งในการเก็บรักษา เพื่อให้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตไซเดอร์นั้น จำเป็นต้องผ่านการอบ เพื่อลดปริมาณในการจัดเก็บ และยืดอายุของวัตถุดิบ เนื่องจากในองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกาแฟเชอรี่มีคาร์โบไฮเดรต โปรตีน แอมโทไซยานิน แทนนิน โพลีฟีนอลและคาเฟอีน เป็นต้น (ไพโรจน์ วิริยจารี, 2550) ซึ่งหากเก็บรักษาไม่ดี จะทำให้เกิดการหมัก และย่อยสลายได้กรดอินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งจะก่อให้เกิดกลิ่นเหม็นเปรี้ยว และรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้นเพื่อการเก็บรักษาวัตถุดิบไว้ จึงได้มีการนำมาล้าง และอบแห้งที่อุณหภูมิ 40-60°C. เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า เปลือกกาแฟเชอรี่แห้ง มีความชื้นเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 8.69 ซึ่งจะไม่ก่อให้เกิดการหมักได้อีกต่อไป

ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้ โดยที่ไม่ต้องเก็บในห้องเย็น เพื่อเป็นการประหยัดพลังงานได้ ปริมาณความชื้นแสดงได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความชื้นของเปลือกกาแฟเชอร์รี่ และแห้งในการเก็บรักษา

ตัวอย่าง	หน่วย	ปริมาณความชื้น
เปลือกกาแฟเชอร์รี่สด	ร้อยละ	86.48±0.97
เปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้ง	ร้อยละ	8.69±0.09

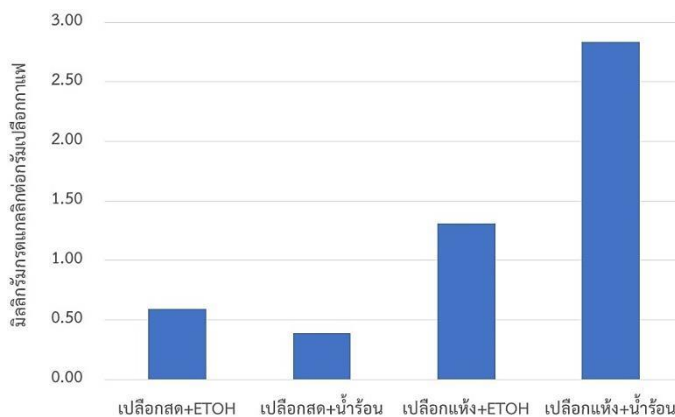
2. การสกัดสารสำคัญจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่

การสกัดเพื่อนำสารสำคัญออกจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สามารถทำได้โดยใช้น้ำร้อนหรือเอทานอลเข้มข้นในการสกัด ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำร้อน และเอทานอล 95% ในการสกัดสารสำคัญออกจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์อราบิก้าแบบสด และแบบแห้ง ในอัตราส่วนน้ำหนักแห้งเปลือกกาแฟต่อตัวทำละลายที่อัตราส่วน 1:10 โดยผลการสกัดแสดงได้ดังรูปที่ 3 จะเห็นได้ว่า การสกัดสารสำคัญจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้ง ด้วยตัวทำละลายทั้งสองชนิด จะได้สารสำคัญมากกว่าการสกัดจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด ซึ่งพบว่าการสกัดด้วยเอทานอล และน้ำร้อนจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้ง มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่แตกต่างกัน ประมาณ 1.31 และ 2.83 มก.กรดแกลลิก ต่อ ก.เปลือกกาแฟ ตามลำดับ ส่วนการสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งพบว่าการสกัดด้วยเอทานอล และน้ำร้อน ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดประมาณ 0.59 และ 0.39 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ ตามลำดับ

สรุปได้ว่า การสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งด้วยน้ำร้อนจะได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด แสดงว่าสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สามารถละลายน้ำได้ดีกว่าละลายในเอทานอล รองลงมาคือการสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งด้วยเอทานอล การสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดด้วยเอทานอล และการสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดด้วยน้ำร้อน ทั้งนี้เนื่องจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดมีปริมาณน้ำอยู่จำนวนมาก ทำให้เกิดการหมักในระหว่างการเก็บรักษา สารประกอบฟีนอลิกบางส่วนถึงสูญหายไป สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดประกอบไปด้วยกรดคลอโรจีนิค และเอพิกาทะชิน อยู่สูงถึงร้อยละ 42.2 และ 21.6 ตามลำดับ โดยเอพิกาทะชิน มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยลดความเสี่ยง

ในการเกิดมะเร็ง (Nguyen et al., 2019) โรคหัวใจหรือหลอดเลือด (Hirano et al., 2001) ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด (Kao et al., 2006) และช่วยลดไขมัน ควบคุมความอ้วน (Rains et al., 2011)

จากการสกัดเปลือกกาแฟชอรีแห้งด้วยเอทานอล 95% ในอัตราส่วนที่น้ำหนักเปลือกกาแฟเพิ่มมากขึ้น จะทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มมากขึ้น ดังงานวิจัยของ พัชรชัย ปิ่นนาค และคณะ (2563) พบว่าการสกัดเปลือกกาแฟชอรีด้วยเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 30 ก. ใน 200 มล. หรือ 15% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 9.23 ± 0.22 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ



รูปที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากการสกัดเปลือกกาแฟทั้ง 4 วิธี

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกกาแฟชอรี

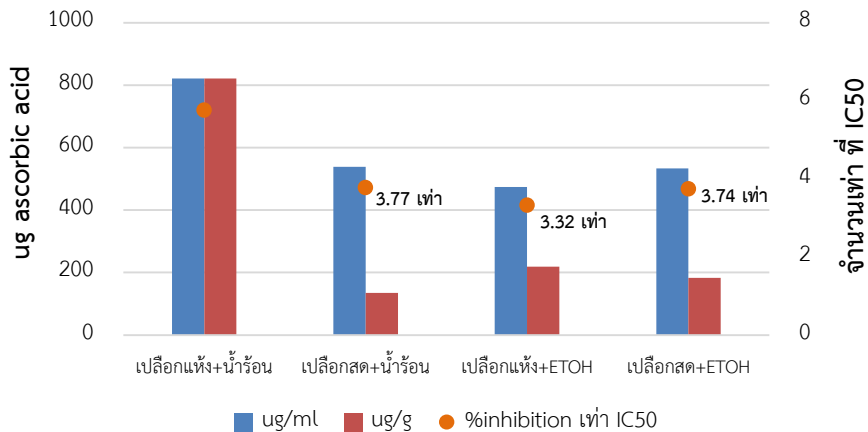
อนุมูลอิสระ เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่น กระบวนการสร้างพลังงาน (ATP) และการเจริญเติบโตของเซลล์ รวมทั้งการได้รับสารพิษจากสิ่งแวดล้อม เช่น สารเคมี รังสีแสงอาทิตย์ หรือยาบางชนิด เป็นต้น ส่วนใหญ่ สารอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร มีความไวสูง มีหลายองค์ประกอบ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) จะทำให้เกิดการขาดออกซิเจน ไฮดรอกซิล (OH^-) มีฤทธิ์ทำลาย DNA และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) มีฤทธิ์ที่แรงที่สุด เพราะสามารถแตกตัวได้ทั้งซูเปอร์ออกไซด์ และไฮดรอกซิล ซึ่งเรียกรวมกันว่าเป็นสารกลุ่ม ROS (Reactive oxygen species) หมายถึงสารที่มีองค์ประกอบของออกซิเจน ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นแล้วจะเกิดอนุมูลอิสระขึ้น (สิตา ทิศาตลติก และ เอี่ยมพร รัตนสิงห์, 2562)

สารอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในร่างกายได้ทำให้โครงสร้างของเซลล์ หรือการทำงานของเซลล์ และเนื้อเยื่อถูกทำลาย หรือเปลี่ยนไป โดยเฉพาะ DNA ทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกายเร็วขึ้น และก่อให้เกิดโรคร้ายแรงได้ ได้แก่ หลอดเลือดตีบ หัวใจวาย เบาหวาน หรือมะเร็ง เป็นต้น หากในร่างกายมีสารอนุมูลอิสระมากเกินไป ร่างกายจะอยู่ในสภาวะเครียด หรือเกิดการออกซิเดชันขึ้น (Oxidative stress) ซึ่งทำให้เกิดการทำลายไขมัน โปรตีน และสารพันธุกรรมภายในร่างกายได้ (อชิตา จารุโชติกมล และคณะ, 2562)

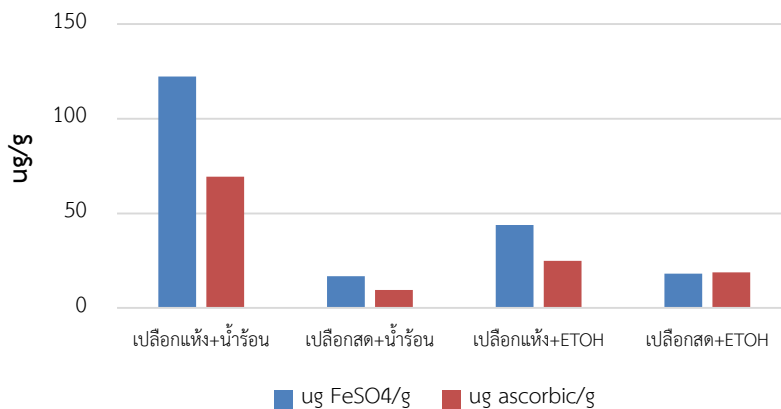
สารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่หลายชนิด ได้แก่ เอนไซม์ วิตามิน (A, C, E, K) และสารที่ไม่ใช่วิตามิน (phytochemical) ซึ่งเป็นสารที่ได้มาจากพวกพืชที่มีสีต่างๆ โดยเฉพาะสารฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มาจากพืช จะมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดแกลลิก แครโธทีนอยด์ แทนนิน และแอนโทไซยานิน เป็นต้น (Rosillo et.al., 2016)

จากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกกาแฟเชอร์รี่ พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในช่วง 0.39-2.83 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ ซึ่งสามารถแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งในรูปของ DPPH และ FRAP ได้ดังรูปที่ 4 และ 5 ซึ่งพบว่า เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบความเป็นฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แล้วพบว่า สารสกัดที่ได้ทั้ง 4 วิธี มีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH ได้ดี โดยสามารถต้านทานได้มากกว่าทั้ง IC_{50} และ IC_{100} เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ 143 และ 285 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้ 9.23 ± 0.22 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่ด้วยวิธี DPPH radical scavenging ที่ IC_{50} เป็น 0.17 ± 0.03 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. (พัทธชัย ปิ่นนาค และคณะ, 2563) จะเห็นได้ว่า ถึงแม้สารสกัดจะมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นมาก แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH ที่ IC_{50} มีค่าไม่แตกต่างกันมากนัก แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจะมีมากขึ้น เมื่อสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากยังมีปริมาณคาเทชินทั้งหมดในรูปของเอพิกัลโลคาเทชิน แกลเลต (epigallocatechin gallate) ด้วย ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกันกับสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งมีปริมาณคาเทชินทั้งหมดเป็น 21.13 ± 6.3 มก.สมมูลของเอพิกัลโลคาเทชินแกลเลตต่อ ก.เปลือกกาแฟ ซึ่งมีผลให้

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่ามากขึ้น และมีฟลาโวนอยด์ที่ 0.11 ± 0.04 มก.สมมูลของเคอร์เซติน ต่อ ก.เปลือกกาแฟ และจากการศึกษาพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวไม่ได้เป็นผลมาจาก สารประกอบฟลาโวนอยด์มากนัก (พัทธชัย ปิ่นนาค และคณะ, 2563)



รูปที่ 4 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ%ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 5 ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากรูปที่ 4 พบว่า สารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกกาแฟเขียวแห้งด้วยน้ำร้อน จะมี สารต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH เทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิกสูงที่สุดที่ 821 มก.ก.กรด แอสคอร์บิกต่อ มล. ลำดับถัดมาคือ สารสกัดเปลือกกาแฟเขียวสดด้วยน้ำร้อนที่ 538 มก.ก.

แอสคอร์บิกต่อ มล. ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดด้วยเอทานอลที่ 534 มค.ก.ต่อ มล. และ สารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งด้วยเอทานอลที่ 474 มค.ก.ต่อ มล. ซึ่งมีค่าต่ำสุด อย่างไรก็ตาม ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสารสกัดทั้ง 4 วิธี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า 50% และ 100% เมื่อเทียบกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของกรดแอสคอร์บิกที่ IC_{50} และ IC_{100} และจากรูปที่ 4 จะเห็นได้ว่าการสกัดเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อน จะได้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต้านทานมากกว่า IC_{50} ที่ 5.75 เท่า ซึ่งมีความมากที่สุด และการสกัดเปลือกสดด้วยน้ำร้อน และการสกัดเปลือกสดด้วยเอทานอล 95% มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต้านทานมากกว่า IC_{50} ใกล้เคียงกัน มีค่าเป็น 3.77 เท่า และ 3.74 เท่า ตามลำดับ ส่วนการสกัดเปลือกแห้งด้วยเอทานอล 95% มีสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ต้านทานมากกว่า IC_{50} ที่ 3.32 เท่า

เมื่อเทียบกับปริมาณเปลือกกาแฟที่ใช้สกัดแล้วพบว่า ในเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งที่สกัดด้วยน้ำร้อน และเอทานอล มีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH มากที่สุดที่ 821 และ 219 มค.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ ส่วนเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดที่สกัดด้วยเอทานอล และน้ำร้อนมีค่าต่ำกว่าในเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้ง ที่ 183 และ 135 มค.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดมีปริมาณน้ำอยู่มาก ทำให้เกิดการหมัก และออกซิไดซ์ จึงสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากรูปที่ 5 พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP พบว่าการสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด และการสกัดด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเอทานอล โดยสารสกัดจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งด้วยน้ำร้อนมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ เอทานอล ซึ่งมีค่าเป็น 122.25 และ 43.91 มค.ก.สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ หรือ 69.33 และ 24.90 มค.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ ส่วนการสกัดจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่สดด้วยเอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำร้อน โดยมีค่าเป็น 18.08 และ 16.86 มค.ก.สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ หรือ 18.80 และ 9.56 มค.ก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟเชอร์รี่ ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำร้อนมีอุณหภูมิประมาณ 80-90°C ซึ่งที่อุณหภูมิสูงมีผลต่อการทำลายฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญที่มีอยู่ในเปลือกกาแฟเชอร์รี่

ซึ่งกลไกในการรีดิวซ์เฟอร์รัส เกิดขึ้นที่อนุมูลมีต่ำได้ดีกว่าอนุมูลสูง เนื่องจากเฟอร์รัสถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย เมื่อเจอออกซิเจน หรืออนุมูลสูง (Hamama & Nawar, 1991)

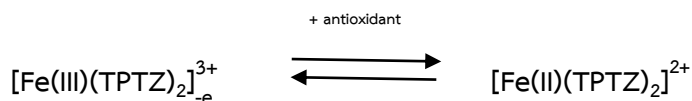
เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH และ FRAP ของสารสกัดทั้ง 4 วิธี ในรูปของกรดแอสคอร์บิก พบว่า สารสำคัญในเปลือกกาแฟเชอรีมีฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH มากกว่า FRAP แสดงว่าสารสำคัญจากเปลือกกาแฟเชอรี หรือสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มีกลไกออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระได้ดี โดยมีกลไกออกฤทธิ์แบบแลกเปลี่ยนไฮโดรเจน (hydrogen) ได้ดีกว่าที่จะออกฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือให้อิเลคตรอน (สมหมาย ปัตตาลี, 2551) ทั้งนี้เนื่องจากสารสำคัญที่มีกลไกต้านการออกซิเดชันถูกทำลายไปเนื่องจากอนุมูลจากการสกัดที่อนุมูลสูง (Hamama & Nawar, 1991)

กลไกการต้านทานอนุมูลอิสระของทั้งสองวิธีนี้มีความแตกต่างกัน ดังนี้

DPPH assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งใช้ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นตัวแทนอนุมูลอิสระ (stable radical) ที่มีสีม่วง ซึ่งสารอนุมูลอิสระนี้ (DPPH●) สามารถรับไฮโดรเจนจากสารต้านอนุมูลอิสระได้ (สารสำคัญจากเปลือกกาแฟเชอรี) แล้วได้สาร DPPH-H ซึ่งจะทำให้สีม่วงจางลง ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Thomas et al., 2012) โดยแสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้คิดเป็นร้อยละ 50 (IC₅₀) ดังสมการ



FRAP assay เป็นวิธีการทดสอบฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันหรือสามารถรีดิวซ์ Fe(III) ให้เป็น Fe(II) ได้ โดยให้อิเลคตรอนแก่ Fe³⁺ ไปเป็น Fe²⁺ โดยใช้สารประกอบเชิงซ้อนของ Fe(III) เป็นสารทดสอบ Fe(III) จะถูกรีดิวซ์โดยสารต้านออกซิเดชัน (สารสำคัญจากเปลือกกาแฟเชอรี) ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของ Fe(II) ซึ่งมีสีน้ำเงิน (Yang et al., 2011) ดังสมการ



สารสกัดจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่ ในรูปของสารประกอบฟีนอลิก มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของ (Oxygen radical antioxidant capacity, ORAC) มากกว่าวิตามินอีถึง 15,000 เท่า (ชุดิมนนท์ พลอยประดับ และคณะ, 2553)

ดังนั้นการเพิ่มมูลค่าเปลือกกาแฟเชอร์รี่ มีความเป็นไปได้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ผงชาสกัดพร้อมดื่ม ไวน์จากเปลือกกาแฟ หรือน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่ เป็นต้น โดยเฉพาะการหมักไวน์ เนื่องจากสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH และ FRAP ได้ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะถูกสกัดออกมาจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งได้ เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น ซึ่งไม่จำเป็นต้องเสียพลังงานในการใช้น้ำร้อนเพื่อสกัด เนื่องจากในการขยายกำลังการผลิต การให้ความร้อนจะเป็นการสูญเสียพลังงานอย่างมากในกระบวนการผลิต

สรุปผลการวิจัย

จากงานวิจัยนี้สรุปได้ว่า การสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่ที่อัตราส่วนน้ำหนักเปลือกกาแฟแห้งต่อตัวทำละลาย ที่อัตราส่วน 1:10 การสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งด้วยน้ำร้อนจะได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด รองลงมาคือ เปลือกแห้งด้วยเอทานอล เปลือกสดด้วยเอทานอล และเปลือกสดด้วยน้ำร้อน โดยมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในช่วง 0.39-2.83 มก.กรดแกลลิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสำคัญในเปลือกกาแฟเชอร์รี่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากกว่า FRAP คือ สารต้านอนุมูลอิสระมีกลไกออกฤทธิ์แบบแลกเปลี่ยนไฮโดรเจน ได้ดีกว่าที่จะออกฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันหรือให้อิเลคตรอน โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกด้วยวิธี DPPH ที่ IC_{50} อยู่ที่ 143 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. ซึ่งสารสกัดจากเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็น 5.75 เท่า เมื่อเทียบกับค่า IC_{50} ของกรดแอสคอร์บิก ซึ่งมีค่าสูงสุดที่ 821 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อ มล. หรือ 821 มก.ต่อ ก.เปลือกกาแฟ ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าการสกัดด้วยน้ำร้อนมีค่ามากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล และการสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งมีค่ามากกว่าเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด โดยสารสกัดเปลือกแห้งด้วยน้ำร้อนมีค่ามากที่สุดที่ 69.33 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อ ก.เปลือกกาแฟ หรือ 122.25

มค.ก.สมมูลเฟอรส์ซัลเฟตต่อ ก.เปลือกกาแฟ ดังนั้นเปลือกกาแฟเซอร์ฟิชั่นร่าบิ่ก้าสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ ได้แก่ ผงชาสกัดพร้อมดื่ม ไวน์จากเปลือกกาแฟ หรือน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกกาแฟเซอร์ฟิชั่น เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารอ้างอิง

- ชุตินณชน พลอยประดับ, พุทธพร เจียมสุขภักดิ์ และ นิรมล ปัญญาบุศยกุล. (2553). ฤทธิ์การต้านออกซิเดชั่นของส่วนต่างๆ ของผลกาแฟอาราบิ่ก้า และเปลือกกาแฟ. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 41(3/1), 577-580.
- พัทธชัย ปิ่นนาค, ธัญญ์นรี จิณะไชย, สุพิชญา เกษร และ อาลิตา มาคุณ. (2563). ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกกาแฟเซอร์ฟิชั่นและดอกกาแฟในระบบวนเกษตรของจังหวัดอุดรดิติต์. *วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์*, 1, 61 – 70.
- ไพโรจน์ วิริยจาริ. (2550). *การพัฒนากาแฟพันธุ์อาราบิ่ก้าจากผลพลอยได้ของกระบวนการแปรรูปกาแฟระยะที่ 1: การผลิตเมล็ดกาแฟดิบด้วยเทคโนโลยีทางเอนไซม์*. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนาลิิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- สมหมาย ปัตตาลี. (2551). *การศึกษาคุณภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากผลมะหลอด*. (วิทยานิพนธ์ปริญญาหมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร).
- สิตา ทิศาตลดิติก และ เอื้อมพร รัตนสิงห์. (2562). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากมะตาด. *วารสารวิจัยและพัฒนาวลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 14(3), 104-116.
- สำนักส่งเสริมและจัดการสินค้าเกษตร. (2562). *กาแฟ*. สืบค้นเมื่อวันที่ 24 เมษายน 2564, จาก <http://www.agriman.doae.go.th/home/news/2562/33-34.pdf>.

อชิตา จารุโชติกมล, ปวีตรา พูลบุตร, คະນິงนิตย คากากุล, วราภรณ์ ยุบลพาส, ฐริตา นาสิงบุตร, กนกนุช จันทะคาม, อาภาภิขย์ บัวเขียว, เกสรภรณ์ งามญาติ และ จิตติพร พลศรี. (2562).ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนผักขาว. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 27(3), 473-484.

AOAC. (1990). *Official Method of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. No. 934.06, AOAC, Arlington.

Hamama, A. A., & Nawar, W. W. (1991). Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39(6), 1063–1069.

Hillkoff. (2564). *COC #1 cider of coffee*. [Online]. Retrieved April 24, 2021, from <https://hillkoff.org/coc-1-cider-of-coffee>.

Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O., & Kondo, K. (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 47(5), 357-362.

Kao, Y. H., Chang, H. H., Lee, M. J., & Chen, C. L. (2006). Tea, obesity, and diabetes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(2), 188-210.

Liu, J., Gen, J., Yu, Y., Zhu, S., Yin, L., & Cheng, Y. (2016). Effect of laboratory-scale decoction on the antioxidative activity of Zhenjiang Aromatic Vinegar: Th contribution of melanoidins. *Journal of Functional Foods*, 21, 75-86.

Nguyen, T. M. T., Cho, E. J., Oh, T., Song, C. H., Funada, R., & Bae, H. J. (2019). Use of coffee flower as a novel resource for the production of bioactive compounds, melanoidins, and bio-sugars. *Food Chemistry*, DOI: 10.1016/j.foodchem.2019.125120.

Pekal, A., & Pyrzynska, K. (2004). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. *Food analysis*, 7, 1776-1782.

- Rains, T. M., Agarwal, S., & Maki, K. C. (2011). Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 22(1), 1-7.
- Rosillo, M., Alarcon, C., & Sanchez, M. (2016). An update on dietary phenolic compounds in the prevention and management of rheumatoid arthritis. *Chemical Science*, 7, 2943-2969.
- Thomas, J. B. (2012). A Comparative study of the Antioxidant activity (DPPH), Total flavonoid, Total Tannin, Total polyphenol levels in plant extracts of the *Annona muricata*, *Ribes nigrum* and *Manilkara zapota*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 6(9), 490-494.
- Yang, J., Chen, J. F., Zhao, Y. Y., & Mao, L. C. (2010). Effects of drying processes on the antioxidant properties in sweet potatoes. *Agricultural Sciences in China*, 9(10), 1522-1529.