

องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกาแฟ

Chemical composition, antioxidant activity and volatile compound of cherry coffee pulp

ภัทรภร ภควีระชาติ¹, ชนิดา ป้อมเสน², นิซูฟยาน นิมะมิง¹ และ ศศธร สิงขรอาจ^{1*}

Pattarabhorn Pakaweerachat¹, Chanida Pomsen¹, Nisufyan Nimaming¹ and Sasathorn Singkhornart^{1*}

Received: 24 May 2024 ; Revised: 14 June 2024 ; Accepted: 31 July 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ความสามารถในการออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบสารหอมระเหยในเปลือกกาแฟพันธุ์โรบัสต้า และอาราบิก้า จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าพันธุ์อาราบิก้า ปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร และเถ้าของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า ยิ่งไปกว่านั้นเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟอาราบิก้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและการออกฤทธิ์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH (radical scavenging assay) มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณและผลการออกฤทธิ์ในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟโรบัสต้า ในขณะที่ค่าการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ABTS (cation radical scavenging assay) และ FRAP (Ferric reducing antioxidant power) ของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า มีค่าการออกฤทธิ์มากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้ง 2 พันธุ์มีค่าไม่แตกต่างกัน นอกจากนี้ปริมาณคาเฟอีน และกรดคลอโรจีนิกในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ายังสูงกว่าโรบัสต้าเล็กน้อย จากการวิเคราะห์สารหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS พบว่ามีสารหอมระเหยทั้งหมด 32 ตัว สารหอมระเหยที่มีมากที่สุด คือ phenol 54.78% และคาเฟอีน (caffeine) 12.90% แต่อย่างไรก็ตามพบว่ามีสารหอมระเหยที่น่าสนใจคือ borneol และ turmerone ซึ่งให้กลิ่นรสพิเศษในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟโรบัสต้าเท่านั้น ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้งโรบัสต้า และอาราบิก้ามีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่จำนวนมากและมีสารสำคัญที่สามารถเป็นแนวทางการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากของเหลือทิ้งทางการเกษตร เพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้งโรบัสต้า และอาราบิก้าต่อไป

คำสำคัญ: เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ, สารต้านอนุมูลอิสระ, สารหอมระเหย

Abstract

This research aimed to study the chemical composition, the number of antioxidants, antioxidant activity, and volatile compounds of Robusta and Arabica cherry coffee pulp. According to the analysis of the chemical composition, it was found that the cherry coffee pulp of Robusta coffee cherry has a higher carbohydrate content than the Arabica cherry coffee pulp. The amounts of protein, fat, dietary fiber, and ash of the Arabica cherry pulp coffee were higher than those of the Robusta cherry pulp coffee. Moreover, the Arabica cherry pulp coffee has a phenolic compound content and DPPH antioxidant activities that were also higher in comparison with the Robusta cherry coffee pulp, while the values of ABTS (cation radical scavenging assay) antioxidant activity and FRAP (ferric reducing antioxidant power) of Robusta cherry pulp coffee were lower. The amount of anthocyanin in both of the two varieties of coffee cherry pulp has no different. In addition, the caffeine and chlorogenic acid content in Arabica coffee cherry pulp was slightly higher than in Robusta. According to the analysis of volatile compounds with the GC-MS method, there were a total of 32 volatiles. The most volatile compounds were found to be phenol (54.78%) and caffeine (12.90%), but they

¹ สาขาวิชาอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

² สาขาวิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ

¹ Home Economics Technology, Rajamangala University of Technology Krungthep. Bangkok, 10120

² Technical Education, Rajamangala University of Technology Krungthep. Bangkok, 10120

* corresponding author: sasathorn.s@mail.rmutk.ac.th

also discovered borneol and turmerone, which give only the Robusta coffee cherry pulp a special flavor. The results revealed that both Robusta and Arabica coffee cherry pulp contain large amounts of antioxidants and important bioactive compounds that can guide development of the utilization of agricultural waste, which value-added the cherry pulp of both Robusta and Arabica coffee.

Keywords: Cherry coffee pulp, antioxidant activity, volatile compound

บทนำ

กาแฟเป็นเครื่องดื่มที่นิยมบริโภคกันมาก ส่วนใหญ่ในประเทศไทยมีทั้งพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า แม้สายพันธุ์ของกาแฟมีอยู่มากกว่า 6,000 สายพันธุ์ทั่วโลก แต่ที่ได้รับความนิยมมากที่สุด คือ อาราบิก้า (Arabica coffee) และโรบัสต้า (Robusta coffee) โดยการปลูกกาแฟ 2 สายพันธุ์นี้มีปัจจัยทางสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ในประเทศไทยการปลูกกาแฟพันธุ์อาราบิก้านิยม ปลูกทางภาคเหนือเพาะปลูกมากแถบจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน และตาก ซึ่งเป็นพื้นที่สูงกว่าระดับน้ำทะเลและอากาศเย็น ส่วนโรบัสตานิยมปลูกทางภาคใต้ซึ่งเพาะปลูกมากแถบจังหวัดชุมพร ระนอง สุราษฎร์ธานี กระบี่ และนครศรีธรรมราช ปัจจุบันเกษตรกรในเขตภาคตะวันตกของประเทศไทยที่มีสภาพภูมิอากาศและภูมิประเทศใกล้เคียงกับภาคใต้แต่เป็นที่หุบเขาสูงและอากาศหนาวเย็นเหมือนภาคเหนือทำให้โดยเฉพาะจังหวัดกาญจนบุรี จึงสามารถเพาะปลูกกาแฟทั้งสองพันธุ์ได้ดี และเกษตรกรได้รับการสนับสนุนให้ปลูกกาแฟมากขึ้น ทำให้ในกระบวนการผลิตและแปรรูปกาแฟ มีวัสดุเหลือทิ้งจำนวนมากซึ่งหลักๆ ได้แก่ เนื้อเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ (cherry coffee pulp) คือ ประมาณร้อยละ 55 ของผลสด และเปลือกหุ้มเมล็ดกาแฟ (hull and husk) ประมาณร้อยละ 29 ของผลสด (Shahidi & Naczki, 2003) ซึ่งโดยทั่วไปส่วนเนื้อผล เชอร์รี่กาแฟนี้จะถูกนำไปหมักก่อนที่จะทำเป็นปุ๋ย กลุ่มเกษตรกรจึงมักจะทิ้งเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟให้หมักเองตามธรรมชาติ และนำไปทำเป็นปุ๋ยสำหรับต้นกาแฟในไร่ อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า ปุ๋ยที่ได้จากการหมักเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟให้ผลได้ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากในเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟมีสารประกอบบางชนิด เช่น สารประกอบ ฟีนอล คาเฟอีน และสารแทนนิน (Ramirez-Martinez, 2006) ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ช่วยในการหมักปุ๋ย นอกจากนี้การนำเศษเหลือทิ้งของเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟไปใช้เป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ แต่มีข้อจำกัดเนื่องจากเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอล คาเฟอีน และแทนนินในปริมาณสูง ซึ่งจะยับยั้งการดูดซึมสารอาหารของสัตว์ ทำให้สัตว์ไม่สามารถใช้สารอาหารในเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟได้เต็มที่ (Rojas *et al.*, 2002) มีรายงานว่าเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟเป็นหนึ่งในแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่สำคัญ เนื้อผลเชอร์รี่กาแฟมีสารประกอบฟีนอลเป็น

องค์ประกอบในรูปของกรดคลอโรจีนิค (chlorogenic acid) และสารประกอบในกลุ่มฟลาโวนอยด์อยู่สูง (Dimitrios, 2006) โดยรายงานของ Ramirez-Martinez (2006) พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟ มีกรดคลอโรจีนิค และอีพิคาเทชิน (epicatechin) อยู่สูงถึงร้อยละ 42.2 และ 21.6 ของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามลำดับ ซึ่งมนุษย์นิยมบริโภคกาแฟเป็นจำนวนมากอยู่แล้ว และสารออกฤทธิ์ในเนื้อผลเชอร์รี่กาแฟที่กล่าวมาข้างต้นมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถลดอัตราการเสี่ยงของการเกิดโรคหลายชนิดและมีรายงานว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาหลายเท่า ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญของเปลือกกาแฟเชอร์รี่ในจังหวัดกาญจนบุรี ที่น่าจะมีสารประกอบที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ แต่ยังไม่ถูกนำไปใช้ประโยชน์ จึงศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารหอมระเหยในเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้าเพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่ากับส่วนที่เหลือทิ้งจากการเกษตร

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ

เมล็ดกาแฟผลสดพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า จากวิสาหกิจชุมชนกาแฟทองผาภูมิ อำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงฤดูการการเก็บเกี่ยวกาแฟเดือนพฤศจิกายน – เมษายนของทุกปี ผลเมล็ดกาแฟสีแดงสุกถูกนำมาสีเปียก (wet process) แยกเอาเฉพาะเนื้อและเปลือกผลเชอร์รี่ที่หุ้มเมล็ดกาแฟ (cherry coffee pulp) ออกมาจากเมล็ดกาแฟ (green bean) เข้าสู่กระบวนการผลิตกาแฟต่อไป ส่วนเนื้อและเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟที่ถูกสีออกมา จะถูกนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จนมีความชื้นคงที่ จากนั้นนำไปบด และร่อนแยกขนาดผ่านตะแกรงขนาด 60 เมช นำผงตัวอย่างกาแฟที่ได้จากการทำแห้ง 1 กรัม มาละลายเอทานอล 10 มิลลิลิตร สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic extraction) โดยใส่สารละลายตัวอย่างใน ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปั่นแยกตะกอนออกด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็ว 8,000 x g ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที นำส่วนของเหลวใสด้านบนมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

และสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity และ Ferric reducing antioxidant power ต่อไป

2. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (Chemical composition)

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณ (Proximate analysis) ของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน โยอาหาร ใย ความชื้น ตามวิธีของ AOAC (2019)

3. วิเคราะห์ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารสำคัญในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ

3.1 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดัดแปลงจากวิธีของ Singleton and Rossi (1965) โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมผสมกับ 10% folin-ciocalteu phenol reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที เติม 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณสารฟีนอลิก โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 20-100 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างในเทอมของมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม (Gallic acid equivalent; GAE) ใช้ น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง เติม 10% folin-ciocalteu phenol reagent และ 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต เช่นเดียวกับตัวอย่างเป็นสารละลายแบลนด์ (blank)

3.2 วิเคราะห์สารแอนโทไซยานินด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC-DAD)

ชั่งน้ำหนักเปลือกเชอร์รี่กาแฟบด 0.5 กรัม ผสมกับสารละลายผสมเอทานอลกับ 0.1 โมลาร์ HCl (85:15 โดยปริมาตร) ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยเครื่อง sonicator ที่อุณหภูมิ 80 °C 30 นาที จากนั้นกรองสารสกัดที่ได้ด้วยตัวกรองขนาด 0.45 ไมครอน (Agilent captiva premium syringe filter, regenerated cellulose, 0.45 µm, 25 mm, p/n 5190-5111) เพื่อให้อยู่ในรูปของ Cyanidin-3-Glucoside ก่อนนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (HPLC-DAD, Agilent 1200 series, Diode-Array Detector, auto injector) โดยใช้ คอลัมน์ Mightysil C18 column (150 × 4.6) particle เส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 5 ไมครอน (Kanto chemical, Japan) ใช้ สภาวะในการแยกแบบ Gradient ด้วยสารละลาย 0.1 M TFA ในน้ำ (A) กับ อะซิโตรไนไตร (B) โดยที่เวลา 0 – 5 นาที ความเข้มข้น B เท่ากับ 5%, เวลา 5 – 25 นาที ความเข้มข้น B เท่ากับ 5 - 95%, เวลา 25 – 35 นาที ความเข้มข้น

B เท่ากับ 95%, เวลา 35 – 35.1 นาที ความเข้มข้น B เท่ากับ 95 - 5% และเวลา 35.1 – 45 นาที ความเข้มข้น B เท่ากับ 5% ฉีดตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร อุณหภูมิ 60 °C ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 530 นาโนเมตร เตรียมสารมาตรฐาน cyanidin-3-glucoside ละลายในสารละลายผสมเอทานอล 0.1 โมลาร์ HCl ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร (85:15 โดยปริมาตร) ที่ความเข้มข้น 100 400 และ 800 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยวิธีการเดียวกับการเตรียมตัวอย่าง แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

3.3 วิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน (Caffeine) และกรดคลอโรจีนิค (chlorogenic acid)

เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟบดที่เตรียมไว้ 0.5 กรัม และ MgO 5 กรัม กวนผสมกับน้ำ 200 มิลลิลิตร ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 90°C เป็นเวลา 20 นาที และทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สารละลายที่เตรียมนำไปกรองด้วยตัวกรองเซลลูโลส ขนาด 0.45 ไมครอน, 25 มิลลิเมตร, p/n 5190-5111 และฉีดเข้าเครื่อง HPLC วิเคราะห์ทันที สารละลายมาตรฐานคาเฟอีน 1.0 มิลลิกรัม และคลอโรจีนิค 0.8 มิลลิกรัม ถูกเตรียมด้วยวิธีเดียวกัน ทำ 3 ซ้ำ ปริมาณคาเฟอีนและกรดคลอโรจีนิค วิเคราะห์โดยเครื่อง reversed-phase HPLC system, (Agilent 1200series, Diode-Array Detector) (150 × 4.6-mm I. D.), คอลัมน์ชนิด Mightysil C18 column ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 ไมครอน ใช้เฟสเคลื่อนที่ชนิดเดียวคือ 25% MeOH ในน้ำ (v/v) ที่อัตราการไหลคงที่ 1 มิลลิลิตรต่อนาที นาน 15 นาที โดยใช้ปริมาณสารละลาย 10 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิคอลัมน์คงที่ 25°C. ตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 272 นาโนเมตร

3.3 วิเคราะห์คุณสมบัติการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ

1) วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH•) scavenging activity Assay

วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยปิเปตสารสกัดเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟปริมาตร 50 ไมโครลิตร กับสารละลาย 0.1 มิลลิโมลาร์ DPPH• 150 ไมโครลิตร ลงใน 96-well polystyrene microplate ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader (TECAN model Infinite M200) ได้ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (A sample) โดยใช้เมทานอลเป็น negative control (A blank) และใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันจากสูตรคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH• ดังสมการ

$$\text{DPPH radical scavenging effect (\%)} = \frac{A_{\text{Blank}} - (A_{\text{Sample}} + A_{\text{Control}})}{A_{\text{Blank}}} \times 100$$

A Blank

โดยที่

A Control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control (น้ำกลั่น + DPPH•)

A Blank คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (ตัวอย่าง + เอทานอล)

A Sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (ตัวอย่าง + DPPH•)

ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล DPPH กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมของตัวอย่างเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ (mg Trolox equivalence /g sample)

2) วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP Assay)

เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสมสารละลาย acetate buffer เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ (pH = 3.6) สารละลาย $\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl 40 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 ตามลำดับ ผสมสารละลายสารสกัดเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ 50 ไมโครลิตร กับสารละลาย FRAP 150 ไมโครลิตร ใน 96-well polystyrene microplate ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร เมตร ด้วยเครื่อง microplate reader ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารละลายของสารละลายมาตรฐาน Trolox (0.02-0.10 มิลลิโมลาร์) และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ (mg Trolox equivalence /g sample)

3) วิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS•+) radical scavenging Assay

เตรียมสารละลาย ABTS•+ โดยผสมสารละลาย 7 มิลลิโมลาร์ ABTS•+ กับสารละลาย 2.45 มิลลิโมลาร์ โพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตอัตราส่วน 2:1 บ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง และเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ในช่วง 0.70 ± 0.03 นาโนเมตร จากนั้นวิเคราะห์ประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS•+ โดยปิเปตสารสกัดเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ ปริมาตร 10 ไมโครลิตร กับสารละลาย ABTS•+ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใน 96-well polystyrene microplate ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader คำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูล

ABTS•+ ดังสมการ

ABTS radical scavenging effect (%)

$$= \frac{A_{\text{Blank}} - (A_{\text{Sample}} + A_{\text{Control}})}{A_{\text{Blank}}} \times 100$$

A Blank

โดยที่

A Control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control (น้ำกลั่น + ABTS•+)

A Blank คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (ตัวอย่าง + เอทานอล)

A Sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (ตัวอย่าง + ABTS•+)

ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สร้างกราฟระหว่างค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล ABTS กับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน Trolox และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อกรัมของตัวอย่างเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ (mg Trolox equivalence /g sample)

4. การวิเคราะห์สารหอมระเหย (volatile compounds) ด้วยเครื่อง GC-MS

วิเคราะห์สาร volatile compounds ด้วย solid phase micro extraction gas chromatography-mass spectrometry (SPME GC-MS) โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง 2 แบบ คือ การวิเคราะห์ตัวอย่างแห้ง (CPR และ CPA) และตัวอย่างสารละลาย (CPR + H_2O , CRA + H_2O) โดยนำตัวอย่าง 1 กรัม แช่ในน้ำ 2 มิลลิลิตร และใช้ ไฟเบอร์ DVB/CAR/PDMS ดูดซับไอระเหยที่อุณหภูมิ 60 °C 30 นาที จากนั้นวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบด้วย GC-MS โดยใช้ capillary คอลัมน์ชนิด DB-WAX UI (30m x length 320µm x 0.5 µm) ฉีดตัวอย่างแบบ spitless อุณหภูมิ injector เท่ากับ 240 °C เป็นเวลา 20 นาที สภาวะของคอลัมน์ อุณหภูมิเริ่มต้นที่ 50 °C เป็นเวลา 2 นาที และเพิ่มขึ้นในอัตรา 5 °C ต่อนาที จนถึง 90 °C และคงไว้ 5 นาที จากนั้นปรับให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นในอัตรา 2 °C ต่อนาที จนถึง 220 °C และคงไว้ 15 นาที ใช้ฮีเลียมเป็นแก๊สตัวพา flow rate 1.6 มิลลิลิตรต่อนาที แปลผลโดยเทียบกับ library ของ NIST และ Wiley ที่ quality match >80%

ผลการทดลองและอภิปรายผล

การวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมี (Chemical composition)

ผลการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบทางเคมีจากเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้าทำหึ่งค์บดผง แสดงดัง Table 1 พบว่า ความชื้นเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้าหลังจากทำหึ่งค์บดผง มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 4.37 และ

7.16 ตามลำดับ และเปลือกกาแฟปริมาณโปรตีนของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้าร้อยละ 10.77 ซึ่งมีปริมาณมากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าที่มีโปรตีน ร้อยละ 8.32 เช่นเดียวกันกับผลการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน เส้นใยอาหาร และเถ้าของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า ร้อยละ 1.56, 39.24 และ 7.18 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณมากกว่าในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า สอดคล้องกับงานวิจัยเปลือกกาแฟในจังหวัดเชียงราย ของ Duangjai *et al.* (2016) พบปริมาณไขมัน และเถ้า เฉลี่ยประมาณร้อยละ 1.8 และ 8.6 ตามลำดับ

แต่อย่างไรก็ตาม จากรายงานพบว่าปริมาณโปรตีนในเปลือกผลกาแฟจากจังหวัดเชียงราย มีน้อยกว่าที่พบในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้งพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า จากอำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี ส่วนของการโบไฮเดรตในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าของจังหวัดกาญจนบุรีมีปริมาณร้อยละ 65.46 ซึ่งปริมาณสูงกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า (ร้อยละ 39.60) และความชื้นของเปลือกผลเชอร์รี่พันธุ์โรบัสต้ามีสูงกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า ซึ่งผลการวิเคราะห์มีทิศทางเดียวกับปริมาณคาร์โบไฮเดรต

Table 1 Chemical composition of Robusta Coffee pulp and Arabica Coffee pulp

Chemical composition (%)	Robusta cherry coffee pulp	Arabica cherry coffee pulp
Protein	8.32 ± 0.62	10.77 ± 0.06
Lipid	0.83 ± 0.10	1.56 ± 0.39
Fiber	20.52 ± 0.21	39.24 ± 0.38
Ash	5.16 ± 0.11	7.18 ± 0.33
Carbohydrate	65.46 ± 0.55	39.60 ± 0.30

Moisture 7.16 ± 0.11

การวิเคราะห์ปริมาณ และคุณสมบัติการออกฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกกาแฟผลสด

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (radical scavenging assay) พบว่า สารสกัดจากเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า มีค่าเท่ากับ 114.41 ± 5.32 mg Trolox eq/g sample ซึ่งมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าสารสกัดจากเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า ที่มีค่าเท่ากับ 79.32 ± 4.61 mg Trolox eq/g sample ผลการทดสอบดังกล่าวสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า ซึ่งพบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า (87.14 ± 0.08 mg GA E/g DW) สูงกว่าในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าถึง 21 เท่า จึงส่งผลให้สารสกัดจากเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเลคตรอนแก่อนุมูลอิสระ (Kumazawa *et al.*, 2004) เกิดเป็นสารที่เสถียรจึงสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ ในขณะที่ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้งสายพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า มีปริมาณใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 5.78-5.28 mg Cyanidin-3-Glucoside/100 g DW sample

แอนโทไซยานิน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) เป็นอนุพันธ์ชนิดหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิกที่ให้สีม่วงแดงในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟ ซึ่งในงานวิจัยนี้ไม่ได้มีปริมาณที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS (cation radical scavenging assay) และFRAP (Ferric reducing antioxidant power) ในเปลือกผลเชอร์รี่พันธุ์โรบัสต้ามีค่าการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่าเปลือกผล เชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า ซึ่งแสดงผลไปในทิศทางตรงกันข้ามกับผลการออกฤทธิ์ที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ดังแสดงใน Table 2 อาจเกิดจากในส่วนของเปลือกนั้นประกอบไปด้วยสารประกอบอื่นๆ ที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้โดยสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สอดคล้องกับรายงานของ Rohaya *et al.* (2023) และ Dos Santos *et al.* (2024) พบว่า เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าที่ปลูกในประเทศบราซิล มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และค่าการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ตรวจด้วยวิธี FRAP assay มากกว่าในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า แต่ไม่แสดงผลการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างชัดเจนจากการตรวจสอบด้วยวิธี DPPH Assay และมีผลงานวิจัยของปราโมทย์ คูวิจิตรจากร และปราณีต โอปะโสภิต (2556) ซึ่งรายงานความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของมะขามป้อม และเปลือกมังคุดที่พบว่า ค่าความสามารถในการต้านอนุมูล

อิสระกับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่ได้มีความสัมพันธ์ที่มีรูปแบบชัดเจน

การทดสอบความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการดักจับอนุมูลอิสระ ในปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ DPPH• สารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH• จะได้เป็นสาร DPPH ที่เสถียร ปฏิกิริยาจะเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง (เกสรี่และคณะ, 2559) DPPH เป็นการศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากความสามารถในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนอะตอม หรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ โดย DPPH เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวเมื่ออยู่ในรูป สารละลาย DPPH จะมีสีม่วง การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ABTS เป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มีหลักการคล้ายกับวิธี DPPH คือ สร้างอนุมูลอิสระที่มีสีขึ้น โดยสร้างอนุมูลอิสระจากการทำปฏิกิริยา

ของสารละลาย ABTS กับ oxidizing agent คือ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต ($K_2S_2O_8$) เมื่อ ABTS ถูกออกซิไดซ์ด้วย oxidizing agent จะเกิด ABTS free radical ($ABTS^{\bullet+}$) สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการนำมาทดสอบจะขัด ABTS•+ ที่เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะได้สาร ABTS ที่เสถียร จาก $ABTS^{\bullet+}$ สีเขียวเข้มเป็นสารละลายสีเขียวจางลง ยิ่งจางลงมากจะแสดงถึง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี ในขณะที่ FRAP เป็นการทดสอบที่เลือกใช้ในการศึกษาฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (เหล็ก) ซึ่งเป็นอีกกลไกหนึ่งในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสารที่มีค่า FRAP สูง แสดงว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กได้ดีมากเช่นเตยว แสดงว่าจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีด้วย มีผลการวิจัยของ Maxiselly *et al.* (2023) ที่ยืนยันว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณน้อยกว่าในพันธุ์อาราบิก้า

แต่แสดงค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ไม่แตกต่างกันระหว่าง 2 สายพันธุ์ จากการวัดด้วยวิธี FRAP assay

Table 2 Total Phenolic content, Anthocyanin content and antioxidant activity analyzed by ABTS, DPPH and FRAP assay from Arabica and Robusta cherry coffee pulp

	Robusta cherry coffee pulp	Arabica cherry coffee pulp
Chlorogenic acid (mg/L)	1,862.87 ± 300.64	2,331.77 ± 219.59
Caffeine (mg/L)	21,077.25 ± 3602.95	22,597 ± 510.47
Total Phenolic content (mg GA E/g DW)	4.39 ± 1.25	87.14 ± 0.08
Anthocyanin content (mg Cyanidin-3-Glucoside/100 g DW sample)	5.78 ± 0.26	5.28 ± 0.26
DPPH scavenging (mg Trolox eq/g sample)	79.32 ± 4.61	114.41 ± 5.32
ABTS scavenging (mg Trolox eq/g sample)	41.84 ± 2.04	28.04 ± 2.47

FRAP Ferric reducing antioxidant power (mg Trolox eq/g sample)

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดคลอโรจินิกจากเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้า ด้วยเครื่อง HPLC ดัง Figure A และ B แสดงรีเทนชันไทม์ (retention time) ที่ขึ้นตรงกับ peak ของสารมาตรฐานที่คาเฟอีน และกรดคลอโรจินิกอย่างชัดเจน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ว่า สารสกัดเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้ามีคาเฟอีน และกรดคลอโรจินิก และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และพันธุ์โรบัสต้า พบว่า มีปริมาณคาเฟอีนเท่ากับ 22,507.62 mg/L และ 21,077.25 mg/L ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Cañas *et al.* (2023) ที่พบว่าในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟมีคาเฟอีน และสารประกอบฟีนอลิกจำนวนมาก ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่มีจำนวนมากที่สุด คือ กลุ่มกรด ฟีนอ

ลิก และ ฟลาโวนอยด์ สอดคล้องกับปริมาณกรดคลอโรจินิกซึ่งเป็นกรดฟีนอลิกที่มีอยู่ในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้าโดยประมาณ 2,331.77 mg/L และในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าประมาณ 1,862.872 mg/L สอดคล้องกับรายงานของ Dos Santos *et al.* (2024) พบว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามีสารคาเฟอีนมากกว่าพันธุ์โรบัสต้า แต่มีการรายงานผลตรงกันข้ามสำหรับกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid) ที่พบว่าปริมาณกรดคลอโรจินิกในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้ามากกว่าพันธุ์อาราบิก้า และ Vignoli *et al.* (2014) รายงานว่าเมล็ดกาแฟพันธุ์โรบัสต้ามีความสามารถในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่า เมล็ดกาแฟพันธุ์อาราบิก้า และสารประกอบฟีนอลิกที่พบในเมล็ดกาแฟดิบเป็นกรดคลอโรจินิกร้อยละ 6-8

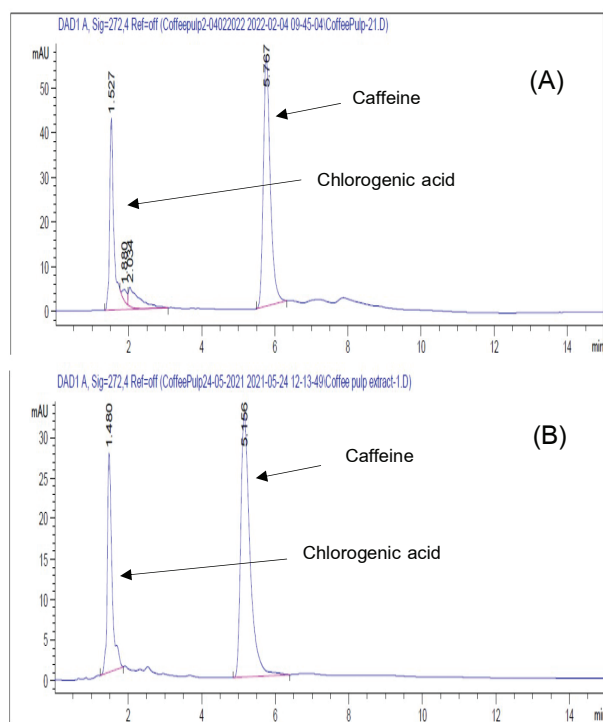


Figure 1 Chromatograms of chlorogenic acid and caffeine in Arabica cherry coffee pulp (A) and Robusta cherry coffee pulp (B)

คาเฟอีน (Caffeine) หรือเทอีน (theine) ชื่อทางเคมีคือ 1,3,7-trimethylxanthine เป็นสารประกอบอินทรีย์ ประเภท alkaloid จัดอยู่ในอนุพันธ์ xanthine ไม่มีกลิ่น มีรสขม มีอยู่ตามธรรมชาติในกาแฟ ใบชา โกโก้ คาเฟอีนมีผลทำให้ช่วยเพิ่มการตื่นตัว และการทำงานของสมอง พบว่าหากมีระดับคาเฟอีนในร่างกายที่ไม่สูงเกินไป ส่วนกรดคลอโรจีนิกเป็นเอสเทอร์ของกรดควินิกกับกรดคาเฟอิกหรือ กรดเฟอรูริก กรดคลอโรจีนิก เป็นสารที่ให้รสขมในกาแฟและจัดเป็นกลุ่มของสารประกอบที่แบ่งเป็นสารสำคัญ 2 กลุ่มใหญ่ คือ เอสเทอร์ของกรดควินิกกับกรดคาเฟอิก ซึ่งเรียกว่า กรดคาเฟอิลควินิก เช่น กรด 3-คาเฟอิลควินิกกับกรดเฟอรูิลควินิก

(3-feruloylquinic acid) โดยทั่วไปในเมล็ดกาแฟจะมีปริมาณกรดคลอโรจีนิก ชนิดกรด 3-คลอโรจีนิกมากที่สุด รองลงมาจะเป็นกรด 5-คาเฟอิลควินิก และกรด 4-คาเฟอิลควินิกตามลำดับ ปริมาณกรดคลอโรจีนิกในเมล็ดกาแฟแต่ละชนิดมีไม่เท่ากันเช่นเดียวกับคาเฟอีน นั่นคือเมล็ดกาแฟที่มีปริมาณคาเฟอีนมากจะมีกรดคลอโรจีนิกมากด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้ง 2 พันธุ์ อย่างไรก็ตาม อวยพร อภิรักษ์ธำรงวง (2548) รายงานว่า เมล็ดกาแฟชนิดโรบัสต้าจะมีคาเฟอีนและกรดคลอโรจีนิกสูงกว่าเมล็ดกาแฟชนิดอาราบิก้า แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคาเฟอีนกับกรดคลอโรจีนิก ประมาณ 5 เท่า ในกาแฟแต่ละถ้วยจะมีปริมาณกรดคลอโรจีนิก ประมาณ 100-200 มิลลิกรัม ปริมาณกรดคลอโรจีนิกประมาณ 1 ใน 3 จากที่ร่างกายได้รับจะถูกดูดซึมผ่านลำไส้เล็กเข้าสู่ร่างกาย ส่วนอีก 2 ใน 3 กรดคลอโรจีนิกจะผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ แล้วถูกเมแทบอลิต์ โดยแบคทีเรียได้เป็นกรดคาเฟอิก (caffeic acid) หรือ กรด 3,4-ไดไฮดรอกซีซินนามิก (3,4- dihydroxycinnamic acid) และกรดควินิก (quinic acid) หลังจากนั้นทั้งสองสารจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดเบนโซอิกในร่างกาย เช่นเดียวกับกรดคลอโรจีนิกที่ถูกดูดซึมผ่านลำไส้เล็ก ซึ่งกรดเบนโซอิกจะเกิดคอนจูเกตกับกลูโคสเป็นกรดอินบูอิกแล้วถูกขับออกในปัสสาวะ

การวิเคราะห์สารหอมระเหย (volatile compounds) ด้วยเครื่อง GC-MS

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเครื่อง GC-MS พบสารทั้งหมด 32 ชนิด (ตารางที่ 3) เป็นสารที่มีปริมาณมาก 5 ชนิด ได้แก่ Phenol 54.78%, Caffeine 12.9%, Methyl ester hexadecanoic acid 4.73% และ 5-hydroxymethyl furfural 3.42% เป็นสารที่พบในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟปริมาณมากนั้นสามารถพบได้ตามธรรมชาติในผลกาแฟและผลไม้แห้ง โดยกาแฟคว่ำหลาย ชนิดมี HMF อยู่ระหว่าง 300 – 2,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Murkovic & Pichler, 2006)

Table 3 Total volatile compounds from Arabica and Robusta cherry coffee pulp by GC-MS

RT (min)	Volatile compounds	% Relative Peak				The odor descriptions
		CPR	CPA	CPR + H2O	CPA + H2O	
22.19	5-methyl-2-furancarboxaldehyde	0.45	0.19	0.37	-	almond and caramel flavor
84	dihydro-furanone	0.31	-	-	-	
27.72	dimethyl-silanediol	3.33	1.46	6.71	6.89	
29.28	borneol	0.58	-	1.76	-	Patchouli, Borneo camphor
30.54	phenylmethyl ester acetic acid	0.28	-	-	-	sweet

Table 3 Total volatile compounds from Arabica and Robusta cherry coffee pulp by GC-MS (continue)

RT (min)	Volatile compounds	% Relative Peak				The odor descriptions
		CPR	CPA	CPR + H ₂ O	CPA + H ₂ O	
32.40	methyl salicylate		0.34	1.28	2.22	wintergreen leaves
37.16	hexanoic acid	1.66	10.31			fatty, cheesy, waxy
38.49	benzyl alcohol	1.38	1.23	1.24	1.17	floral and fruity
40.18	Phenylethyl alcohol	1.44	0.84	2.21	2.01	mild rose
43.04	1-1H-pyrrol-2-yl-ethanone	1.90	1.69	1.68		musty, nutty and tea-like
44.80	Phenol	54.78	38.89	42.54	27.99	
47.67	octanoic acid	1.20	0.89	1.82	1.14	cheesy, coconut oil, goat milk
52.15	4-cyclopropyl-2-methoxyphenol	0.31				
52.62	nonanoic acid	1.09	0.93	1.67	2.10	Waxy, oily and fatty
54.53	methyl ester hexadecanoic acid	4.73	5.18	8.15	15.23	Waxy, oily and fatty
55.73	Turmerone	0.87		2.42		turmeric
56.78	2,3- dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one	0.80	2.33			the intermediate stage of Maillard reaction
57.81	3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-Pyran-4-one,	1.53	0.95			fruity
59.10	2,4-di-tert-butylphenol	1.59	1.64	2.67	4.55	phenolic
62.65	4-(1,1-dimethylpropyl)-phenol	1.49	0.44	2.33	0.89	
63.27	Benzoic acid	1.35	1.03	1.59		Substrate of Gallic acid
64.12	methyl ester octadecenoic acid	0.86	0.32	1.81		Oleic acid
65.41	2, 4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol	0.39		0.46		antioxidant
66.10	methyl ester octadecadienoic acid		1.53			conjugated linoleic acid (CLA)
66.13	dodecanoic acid			3.20		lauric acid
66.48	5-hydroxymethyl furfural	3.42				honey and caramel aroma
68.44	3-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde	1.37	0.96	1.76	1.45	Isovanillin
74.32	Tetradecanoic acid		1.10	3.24	1.93	myristic acid
77.02	Dodecanamide		1.98	1.32	2.55	a fatty amide of lauric acid
82.07	Hexadecanoic acid		8.30	6.26	13.39	palmitic acid
92.51	caffeine	12.90	17.49	3.52	16.51	

RT = Retention time, CPR = เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟโรบัสต้า, CPA = เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟอาราบิก้า, CPR+H₂O = สารละลายเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟโรบัสต้า, CPA+H₂O = สารละลายเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟอาราบิก้า, The odor descriptions were cited from <http://www.flavornet.organdarecentreport>

Husøya *et al.* (2008) รายงานว่าลูกพลัมแห้งมี HMF สูงถึง 2,200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในเบียร์ดำ 13.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ที่มี HMF อยู่ระหว่าง 4.1 - 151 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Ramírez-Jimenez *et al.*, 2000) ยิ่งไปกว่านั้น Berneol 0.58% เป็นสารหอมระเหยของพืชมะเขือเทศ และ Turmerone 0.87% เป็นสารหอมระเหยของขมิ้น ที่พบในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าเท่านั้น และ 4-cyclopropyl-

2-methoxyphenol ที่พบในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า methyl salicylate ในน้ำมันระกำ กรดเฮกซะโนอิก (hexanoic acid) เป็นกรดไขมันชนิดสายสั้น (short chain fatty acid) ซึ่งระเหยได้และให้กลิ่นรสในอาหาร กรดชนิดนี้พบเป็นส่วนประกอบมากในเนย (butter) ไขมันเนย (butter fat) และกรดออกตะโนอิก (octanoic acid) จัดเป็นกรดไขมันชนิดสายสั้น (short chain fatty acid) พบมากในไขมันนมและน้ำมันมะพร้าว เป็นสารให้

กลิ่นและรสชาติ อย่างไรก็ตามสารหอมระเหยที่อยู่ในกลุ่มน้ำมัน เช่น conjugated linoleic acid myristic acid lauric acid และ palmistic acid รวมถึง caffeine พบในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า จากการวิเคราะห์สารหอมระเหยในตัวอย่างแห้ง (CPR, CPA) และตัวอย่างสารละลาย (CPR + H₂O, CRA + H₂O) แสดงให้เห็นว่า การแช่เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้าในน้ำ ทำให้เกิด สารหอมระเหยที่เปลี่ยนแปลงไป สารหอมระเหยที่หายไป ในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า (CPR + H₂O) ส่วนใหญ่ เป็นกลุ่มที่ละลายน้ำได้ คือ 5-phenylmethyl ester acetic acid (sweet) 3,5-dihydroxy-2-methyl-4H-Pyran-4-one (Fruity) 5-hydroxymethyl furfural (honey and caramel aroma) และ 2,3- dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-one (the intermediate stage of Maillard reaction) ซึ่งอาจจะระเหยไประหว่างการเตรียม แต่ความน่าสนใจของงานวิจัยนี้ คือ การเตรียมตัวอย่างเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า และอาราบิก้าโดยการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 60 °C ให้สารหอมระเหยที่พบมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกลิ่นที่มีลักษณะพิเศษ ได้แก่ borneol, methyl salicylate (wintergreen leaves), Phenylethyl alcohol (mild rose), octanoic acid (cheesy, coconut oil, goat milk), oonanoic acid, oleic acid, 2, 4-bis(1,1-dimethylethyl)-phenol (antioxidant), lauric acid, Isovanillin, myristic acid, Dodecanamide (a fatty amide of lauric acid) และ palmitic acid การสกัดสารหอมระเหยกาแฟด้วยน้ำและความร้อนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารหอมระเหย ซึ่งไม่เสถียรและสลายตัวได้ง่าย ทำให้จำนวนของสารหอมระเหยจากเปลือกผลเชอร์รี่พันธุ์อาราบิก้าที่แช่น้ำมีจำนวนน้อยที่สุด แต่อย่างไรก็ตามจากการวิเคราะห์การสกัดด้วยน้ำอุ่นทำให้สารหอมระเหยบางตัวในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถระเหยปลดปล่อยกลิ่นได้มากขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Buck *et al.* (2021) พบการเปลี่ยนของกลิ่นเปลือกกาแฟที่ผ่านกระบวนการตาก เช่น geraniol (flowery) เพิ่มขึ้น แต่ส่วนใหญ่จะพบว่า มีกลิ่นลดลง และในงานวิจัยนี้พบกลิ่น octanoic acid (fatty, musty) เหมือนกับที่พบในเปลือกผลเชอร์รี่ของกาญจนบุรี อย่างไรก็ตามกลิ่นและรสชาติของกาแฟจะขึ้นอยู่กับแหล่งเพาะปลูก

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากกว่าพันธุ์อาราบิก้า ปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร และเถ้าของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ามากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า เปลือกผลเชอร์รี่กาแฟอาราบิก้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและการออกฤทธิ์การเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH assay มีค่าสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณและผลการออกฤทธิ์ในเปลือกผล

เชอร์รี่กาแฟโรบัสต้า ในขณะที่ค่าการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ABTS assay และ FRAP assay ของเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์โรบัสต้า มีค่าการออกฤทธิ์มากกว่าเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้า และปริมาณแอนโทไซยานินในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟทั้ง 2 พันธุ์มีค่าไม่แตกต่างกัน นอกจากนั้นปริมาณคาเฟอีน และกรดคลอโรจีนิกในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟพันธุ์อาราบิก้ายังสูงกว่าโรบัสต้าเล็กน้อย จากการวิเคราะห์สารหอมระเหยด้วยเครื่อง GC-MS พบว่ามีสารหอมระเหยทั้งหมด 32 ตัว สารหอมระเหยที่มีมากที่สุด คือ phenol และ caffeine แต่อย่างไรก็ตามพบว่า มีสารหอมระเหยที่น่าสนใจคือ borneol และ turmerone ซึ่งให้กลิ่นรสพิเศษในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟโรบัสต้าเท่านั้น

จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าเปลือกผลกาแฟเป็นส่วนที่มีสารสำคัญที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันอยู่ในปริมาณสูง ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์สำคัญได้ เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกกาแฟได้ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในด้านสุขภาพและความงามต่อไปได้ อย่างไรก็ตามปริมาณสารออกฤทธิ์และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกผลกาแฟพันธุ์อาราบิก้า และโรบัสต้าที่ได้จากอำเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี มีความแตกต่างกัน ในส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ABTS assay และ FRAP assay เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระในเปลือกผลเชอร์รี่กาแฟมีหลายชนิดมีปริมาณไม่เท่ากัน และแต่ละชนิดมีความสามารถในการออกฤทธิ์ต่างกัน และอาจจะต้องมีการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกแต่ละชนิดเพิ่มเติมเพื่อเป็นฐานข้อมูลงานวิจัยเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานนี้เป็นส่วนต่อยอดของโครงการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมชุมชนเพื่อยกระดับศักยภาพและความเข้มแข็งของชุมชนในจังหวัดกาญจนบุรี ภายใต้งบประมาณสนับสนุนทุนวิจัยโดยกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) และหน่วยบริหารและจัดการทุนด้านการพัฒนาระดับพื้นที่ (บพท.)

เอกสารอ้างอิง

เกสรี กลิ่นสุคนธ์, อุดมลักษณ์ สุขอิตตะ, ประภัสสร รักถาวร, & ลลิตา ศุภรัตน์. (2559). การศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกกล้วยไม้สกุลหวายบางชนิด. *การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54* (น. 849–856). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

- ปราโมทย์ คูวิจิตรจารุ, & ปราณีต โอปะโสภิต. (2556). การพัฒนาวิธีการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในมังคุดและมะขามป้อมด้วยเทคนิคสเปกโตรสโกปีอินฟราเรดย่านใกล้ [รายงานวิจัย]. สถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อวยพร อภิรักษ์ธำรงวง. (2548). การบริโภคกาแฟกับความเสี่ยงต่อเบาหวานชนิดที่ 2. *วารสารไทยโภชนาการ*, 2(4), 11–21.
- AOAC International. (2019). *Official methods of analysis of AOAC International* (21st ed.). AOAC International.
- Boskou, D. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(9), 505–512. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.04.008>
- Buck, N., Wohlt, D., Winter, A. R., & Ortner, E. (2021). Aroma-active compounds in Robusta coffee pulp puree—Evaluation of physicochemical and sensory properties. *Molecules*, 26(13), Article 3925. <https://doi.org/10.3390/molecules26133925>
- Cañas, S., Rebollo-Hernanz, M., Martín-Trueba, M., Braojos, C., Gil-Ramírez, A., Benítez, V., Martín-Cabrejas, M. A., & Aguilar, Y. (2023). Exploring the potential of phenolic compounds from the coffee pulp in preventing cellular oxidative stress after in vitro digestion. *Food Research International*, 172, Article 113116. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2023.113116>
- Dos Santos, É. M., de Macedo, L. M., Ataide, J. A., Delafiori, J., de Oliveira Guarnieri, J. P., Rosa, P. C. P., Ruiz, A. L. T. G., Lancellotti, M., Jozala, A. F., Catharino, R. R., Camargo, G. A., Paiva-Santos, A. C., & Mazzola, G. P. (2024). Antioxidant, antimicrobial and healing properties of an extract from coffee pulp for the development of a phytocosmetic. *Scientific Reports*, 14, Article 4453. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-55029-3>
- Duangjai, A., Suphrom, N., Wungrath, J., Ontawong, A., Nuengchamnon, N., & Yosboonruang, A. (2016). Comparison of antioxidant, antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. *Integrative Medicine Research*, 5(4), 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.imr.2016.09.002>
- Husøya, T., Haugen, M., Murkovic, M., Jöbstl, D., Stølen, L. H., Bjellaas, T., Rønningborg, C., Glatt, H., & Alexander, J. (2008). Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3697–3702. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.09.048>
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329–339. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00256-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00256-4)
- Maxiselly, Y., Maulana, H., Chumthong, A., & Chiarawipa, R. (2023). Relationship analysis based on phytochemical contents among coffee pulp from three coffee species collected in Southern Thailand and Jambi, Indonesia. *Biodiversitas*, 24(10), 5439–5445. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241001>
- Murkovic, M., & Pichler, N. (2006). Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in coffee, dried fruits and urine. *Molecular Nutrition & Food Research*, 50(9), 842–846. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600051>
- Ramírez-Jiménez, A., García-Villanova, B., & Guerra-Hernández, E. (2000). Hydroxymethylfurfural and methylfurfural content of selected bakery products. *Food Research International*, 33(10), 833–838. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00112-8](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00112-8)
- Ramirez-Martinez, J. R. (1988). Phenolic compounds in coffee pulp: Quantitative determination by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 43(2), 135–144. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740430205>
- Rohaya, S., Anwar, S. H., Amhar, A. B., Sutriana, A., & Muzaifa, M. (2023). Antioxidant activity and physicochemical composition of coffee pulp obtained from three coffee varieties in Aceh, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1182, Article 012063. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/1182/1/012063>
- Rojas, J. B. U., Verreth, J. A. J., Van Weerd, J. H., & Huisman, E. A. (2002). Effect of different chemical treatments on nutritional and antinutritional properties of coffee pulp. *Animal Feed Science and Technology*, 99(3–4), 195–204. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(02\)00130-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(02)00130-7)

- Shahidi, F., & Naczk, M. (2003). *Food phenolics: Sources, chemistry, effects, applications*. CRC Press.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A., Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagent. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144–158. <https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Vignoli, J. A., Viegas, M. C., Bassoli, D. G., & Benassi, M. T. (2014). Roasting process affects differently the bioactive compounds and the antioxidant activity of arabica and robusta coffees. *Food Research International*, 61, 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.06.004>