

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดใบอ่อนและใบแก่
ของกาแฟโรบัสต้าเก็บจากสวนกาแฟในอำเภอโกสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร
และสารสกัดใบอ่อนและใบแก่ของกาแฟอาราบิก้า เก็บจากสวนกาแฟในอำเภอ
เมือง จังหวัดตาก

Antioxidant activity and total phenolic compounds in the
extracts of young and mature leaves of Robusta coffee collected
from coffee gardens in Kosamphi Nakhon District, Kamphaeng
Phet Province, and the extracts of young and mature leaves of
Arabica coffee collected from coffee gardens in Mueang District,
Tak Province

จิตรัตน์ พรหมมา¹, ปารिता อาบวารี¹, ชีรศักดิ์ สารรัตน์¹,
อักรินทร์ บุรีรักษ์¹, ศุภวัฒน์ วิสุทธิศิริกุล¹, นเรศ ขำเจริญ² และ ปราณี เลิศแก้ว^{1,*}

¹โปรแกรม วิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

²โปรแกรมวิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

Thidarat Promma¹, Parita Abwaree¹, Therasak Sanrat¹,
Akarin Bureeruk¹, Supawat Wisitsirikul¹, Nares Khamcharoen², and Pranee Lertkaeo^{1,*}

¹General Science Program, Faculty of Education, Kamphaeng Phet Rajabhat University

²Public health Program faculty of science and technology kamphaeng Phet Rajabhat university

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดใบ
กาแฟจากสายพันธุ์โรบัสต้า (ใบอ่อน) สายพันธุ์โรบัสต้า (ใบแก่) สายพันธุ์อาราบิก้า (ใบอ่อน) และสายพันธุ์อาราบิก้า

*Corresponding author : pranee_l@kpru.ac.th

Received : 13/09/2023

Revised : 24/09/2024

Accepted : 15/10/2024

(ใบแก่) โดยสกัดด้วย 65% เอทานอล แล้วนำไประเหยแห้งเอาตัวทำละลายออก สารสกัดสายพันธุ์อาราบิก้า (ใบแก่) มีร้อยละผลผลิตมากที่สุด เท่ากับ 13.23 โดยน้ำหนัก ขณะที่สายพันธุ์โรบัสต้า (ใบอ่อน) มีร้อยละผลผลิตน้อยที่สุด เท่ากับ 2.44 โดยน้ำหนัก นำไปทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay โดยใช้บีเอชที (BHT) เป็นสารมาตรฐาน พบว่า สายพันธุ์โรบัสต้า (ใบแก่) ให้ฤทธิ์สูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.397 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม และสารสกัดสายพันธุ์อาราบิก้า (ใบอ่อน) ให้ฤทธิ์ต่ำสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 57.053 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เมื่อศึกษาสารประกอบ ฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดสายพันธุ์โรบัสต้า (ใบอ่อน) มีปริมาณสูงสุด คือ 558.54 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

คำสำคัญ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม, กาแฟโรบัสต้า, กาแฟอาราบิก้า

Abstract

This research aimed to study antioxidant activities and total phenolic content in coffee leaf extracts from *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Young leaves), *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (old leaves), *Coffea arabica* L. (young leaves) and *Coffea arabica* L. (old leaves). The leaves were extracted with 65 % ethanol, and the mixture was concentrated using rotary evaporation. The *Coffea arabica* L. (old leaves) extract provided the highest yield of 13.23%, while *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Young leaves) extract had the lowest yield of 2.44%. Antioxidant properties using DPPH assays demonstrated that *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (old leaves) extract showed the highest DPPH scavenging activity with IC_{50} 11.397 μ g/ml, while the *Coffea arabica* L. (young leaves) extract showed the lowest value with IC_{50} 57.053 μ g/ml. The highest total phenolic content of *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner (Young leaves) extract was observed at 558.54 GAE/g extract.

Keywords : Antioxidant activities, Total phenolic content, *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner, *Coffea arabica* L

ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันกาแฟเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายและเข้ามามีบทบาทในทุกกลุ่มของผู้บริโภคไม่ว่าจะเป็นกลุ่มนักเรียน นักศึกษา และโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มคนวัยทำงานที่มีความนิยมในการดื่มกาแฟกันมากขึ้น [1] เนื่องจากในกาแฟมีสารคาเฟอีน ซึ่งมีฤทธิ์กระตุ้นหัวใจ ทำให้ร่างกายสดชื่น ขจัดความง่วงซึมและอ่อนล้า กาแฟเป็นพืชเศรษฐกิจที่สร้างรายได้มากมาย ปัจจุบันมีการปลูกกาแฟมากกว่า 70 ประเทศทั่วโลก สำหรับประเทศไทยมีการปลูกในหลายพื้นที่ ซึ่งในบริเวณภาคเหนือตอนบนนิยมปลูกสายพันธุ์อาราบิก้าและโรบัสต้า เป็นต้น เนื่องจากมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสม กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า มีชื่อสามัญ Arabian coffee ชื่อวิทยาศาสตร์ *Coffea arabica* L. อยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ไม่ทิ้งใบหรือผลัดใบ มีสีเขียวตลอดปี ลำต้นกาแฟมีข้อปล้อง โคนก้านใบจะมีตา 2 ชนิด ตาบนและตาล่าง ใบมีลักษณะเป็นรูปไข่หรือรูปโล่ ยอดใบแหลมก้านใบอวบสั้น ขอบใบเรียบเป็นคลื่น ผิวใบด้านบนมี

สีเขียวเข้มมันเงาด้านใบได้มีสีเขียวอ่อน (ภาพที่ 1ก) ดอกกาแฟมีกลีบดอกสีขาวหรือสีครีม รูปร่างคล้ายดาว มีผลเดี่ยว รูปร่างค่อนข้างรี ลักษณะเมล็ดมีรูปร่างกลมรียาว [2] ส่วนกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีชื่อสามัญ Robusta coffee ชื่อวิทยาศาสตร์ *Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner อยู่ในวงศ์ Rubiaceae เป็นไม้พุ่มขนาดกลาง ลำต้นตั้งตรง โคนก้านใบจะมีตา 2 ชนิด ตาบนและตาล่าง ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ปลายใบแหลม โคนใบแหลม ขอบใบเป็นคลื่น ก้านใบสั้น ผิวใบเรียบ มีหูใบระหว่างก้านใบ (ภาพที่ 1ข) ช่อดอกออกตามข้อบริเวณซอกใบ ผลแบบผลเมล็ดเดี่ยวแข็ง มักออกเป็นคู่ประกบกัน รูปรี ก้านผลสั้น ผลดิบสีเขียว ผลสุกสีส้ม สีแดง หรือสีแดงเข้ม เมล็ดเป็นรูปไข่ยาวหรือกลมรี [3] ในเมล็ดและใบกาแฟมีกรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid, CGA) สูง เป็นสารประกอบฟีนอลิกในพืชที่ได้จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันระหว่างกรดทรานซินนามิก (trans-cinnamic acids) กับกรดควินิก ((-)-quinic acid) [4,5] ซึ่งพืชที่มี CGA มากที่สุด คือ กาแฟ [6] กรดคลอโรจินิกมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันต้านมะเร็ง ฤทธิ์ด้านการเจริญของจุลินทรีย์ และมีฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ [7] นอกจากนี้ยังพบว่าส่วนประกอบต่าง ๆ ของต้นกาแฟยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์และสร้างผลิตภัณฑ์ได้หลากหลาย เช่น ดอกกาแฟ สามารถนำไปขังดื่ม หรือทำชาจากดอกกาแฟได้ ซึ่งในดอกกาแฟมีคาเฟอีน สารประกอบฟีนอลิกรวม และสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยยับยั้งการเกิดโรคมะเร็งของสุภาพสตรี และพบว่าช่วยลดไขมันในเส้นเลือด [8, 9, 10] เมล็ดกาแฟเป็นส่วนที่มีสารคาเฟอีนที่สูงกว่าส่วนอื่น ๆ มีส่วนประกอบ คือ คาเฟอีน สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก แทนนิน ไขมันและน้ำมัน แร่ธาตุ กลูโคส และเดกซ์ทริน มีงานวิจัยพบว่าเมล็ดกาแฟมีสารคาเฟอีนที่สูงที่มีฤทธิ์ในการกระตุ้นหัวใจและระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ตาแข็ง นอนไม่หลับ ร่างกายรู้สึกสดชื่น ขจัดความเชื่องซึมและอ่อนล้า

ใบกาแฟเป็นส่วนที่จะถูกตัดทิ้งเพราะผู้ผลิตกาแฟจะเก็บเฉพาะเมล็ดกาแฟ ซึ่งส่วนใหญ่มักคิดว่าใบกาแฟไม่มีประโยชน์ แต่มีงานวิจัยพบว่าในใบกาแฟมีส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิก ในปริมาณที่สูงกว่าเมล็ดกาแฟ [11, 12] ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอกระบวนการเกิดออกซิเดชัน โดยมีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายรูปแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ การเสริมฤทธิ์และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบไนโตรเจน เป็นต้น [13] ซึ่งนิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติที่เปลี่ยนไป ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น วิตามินซี และวิตามินอี ซึ่งสารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการค้นคว้าอย่างมากในปัจจุบันเนื่องจากเชื่อว่าจะมีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากการสังเคราะห์ [14, 15] สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ในพืชทุกชนิดเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่พบได้ทั่วไปในผักผลไม้ สารประกอบฟีนอลิก ส่วนใหญ่จะพบในรูปของอนุพันธ์และหรือไอโซเมอร์ของฟลาโวนส์ ไอโซฟลาโวนส์ ฟลาโวนอลส์ คาร์ทีซิน และกรดฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีนมีหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่สารประกอบฟีนอลพื้นฐานสารประกอบฟีนอลิกมีประโยชน์หลายประการ เช่น มีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ [16]

ดังนั้นงานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าที่ปลูกในพื้นที่ตำบลลานดอกไม้ตก อำเภอโกสัมพินคร จังหวัดกำแพงเพชร และใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่ปลูกในพื้นที่ตำบลแม่ท้อ อำเภอเมือง จังหวัดตาก เพื่อเป็นข้อมูลในการส่งเสริมให้ประชาชน



(ก)



(ข)

ภาพที่ 1: (ก) กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า (ข) กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า

สนใจ และนำไปกาแฟมาใช้ประโยชน์ เช่น ทำชา หรือผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพอื่น ๆ เพื่อเป็นการเพิ่มรายได้ และส่งผลดีต่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามปัจจุบันการศึกษาคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระในใบกาแฟ ยังไม่มีการศึกษาอย่างแพร่หลาย

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดของใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์

1.1 การเตรียมใบกาแฟ

ใบอ่อนและแก่ของกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าเก็บจากสวนในตำบลลานดอกไม้ตก อำเภอโกสัมพีนคร จังหวัดกำแพงเพชร และกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าเก็บจากสวนในตำบลแม่ท้อ อำเภอเมือง จังหวัดตาก ในช่วงเดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2563 ต้นกาแฟมีอายุ 5-15 ปี โดยใบอ่อนจะเก็บนับจากใบยอดลงมาตรงตำแหน่งที่ 1-4 ซึ่งลักษณะใบอ่อนมีสีเขียวอ่อน ผิวเรียบ อ่อน และใบกำลังขยาย ใบแก่จะเก็บนับจากใบยอดลงมาตรงตำแหน่งที่ 5-8 ลักษณะใบแก่มีเนื้อหยาบและมีสีเขียวเข้ม

1.2 การเตรียมสารสกัดจากใบกาแฟ

นำใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าและใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าทั้งอ่อน และแก่ มาทำให้แห้ง โดยการนำเข้าเครื่องตู้อบลมร้อน (Hot air oven; รุ่น WGLL-125BE, LAB CONNECTION COMPANY LIMITED) ที่อุณหภูมิ 60

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นนำไปกาแฟมาบดด้วยโม่บดสาร (Mortar and Pestle) แล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 65% ปริมาตร 800 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker Incubator; รุ่น SI500, Stuart) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ 100 รอบ/นาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนครบ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบางที่พับซ้อนกัน 2 ชั้น และนำมารองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำเข้าเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Rotary evaporator; รุ่น R-300, BUCHI) ภายใต้ความดัน 175 mbar ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้สารสกัดใบกาแฟ แล้วชั่งน้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้ เพื่อคำนวณหาผลผลิตร้อยละ (%yield) ของสารสกัดจากใบกาแฟ ดังสมการที่ 1

$$\text{ผลผลิตร้อยละ} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดแห้งที่ได้}(g)}{\text{น้ำหนักใบกาแฟแห้งที่ใช้ในการสกัด}(g)} \times 100 \quad (1)$$

2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี DPPH assay

การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดในใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี DPPH assay ดัดแปลงจาก [17] เตรียมสารละลาย DPPH (ALDRICH, Germany) ความเข้มข้น 0.1 mM หลีกเลียงการถูกแสง จากนั้นดูดสารสกัดตัวอย่างใบกาแฟแก่และอ่อน 2 สายพันธุ์ ที่สกัดไว้ข้างต้น ใส่หลอดละ 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH คำนวณ ดังสมการที่ 2

$$\% \text{inhibition} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ

A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (ไม่มีสารสกัดตัวอย่าง)

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

หมายเหตุ สารละลายมาตรฐานปีเอชที ใช้แทนสารสกัดในขั้นตอนการทดลองแบบเดียวกับการทดลองข้างต้น

นำค่าที่ได้มาสร้างกราฟ เพื่อหาค่า IC_{50} โดยที่ค่า IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นที่สารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% โดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

3. การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดในใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric

ตารางที่ 1: แสดงร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่างสารสกัด	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักของสาร สกัด (กรัม)	ร้อยละของผลผลิต
ใบกาแฟแก่สายพันธุ์โรบัสต้า	80.00	3.38	4.23 %
ใบกาแฟอ่อนสายพันธุ์โรบัสต้า	80.00	1.95	2.44 %
ใบกาแฟแก่สายพันธุ์อาราบิก้า	80.00	10.58	13.23 %
ใบกาแฟอ่อนสายพันธุ์อาราบิก้า	80.00	9.58	11.98 %

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Colorimetric ดัดแปลงจาก [18] ปิเปตต์สารสกัดในใบกาแฟแก่และอ่อนทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 65% ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นปิเปตต์สารละลาย 10% Folin Ciocalteu Reagent ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยปิเปตต์ตัวอย่างละ 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากัน บ่มไว้เป็นเวลา 8 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นปิเปตต์สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7.5% w/v) ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยปิเปตต์ตัวอย่างละ 1.2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

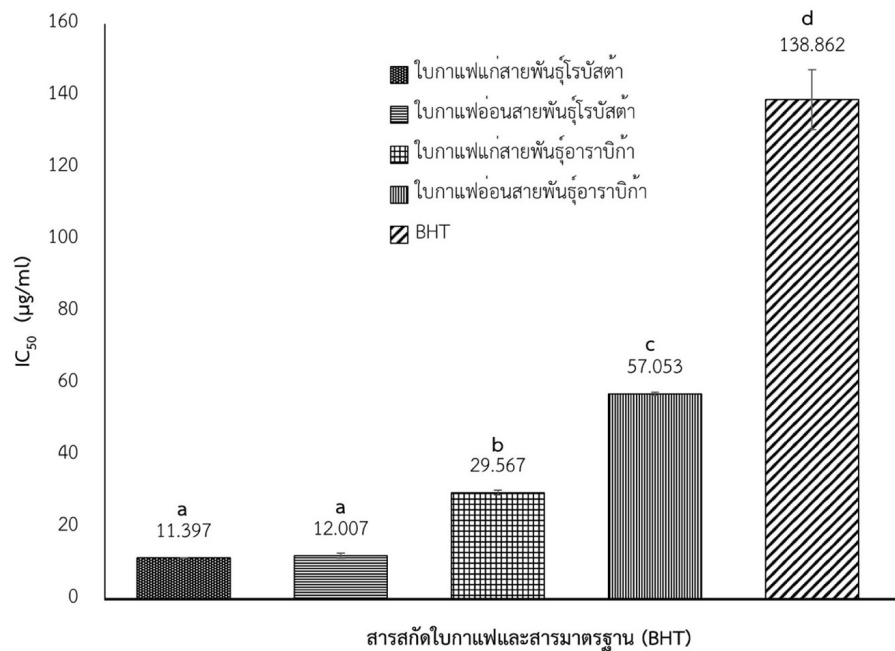
4. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

แสดงผลการศึกษาในรูปแบบของค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ความคลาดเคลื่อน (SEM) จากข้อมูลผลการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้ One-way Anova เพื่อวิเคราะห์หาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. ปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัดใบกาแฟ

เมื่อพิจารณาจากน้ำหนักสารสกัดจากใบกาแฟตัวอย่าง 4 ประเภท พบว่า น้ำหนักสารสกัดจากใบกาแฟแก่สายพันธุ์อาราบิก้ามีมากที่สุดเท่ากับ 10.58 กรัม (13.23%) รองลงมา คือ น้ำหนักสารสกัดจากใบกาแฟอ่อนสายพันธุ์อาราบิก้ามีน้ำหนักเท่ากับ 9.58 กรัม (11.98%) ถัดมา คือ น้ำหนักสารสกัดจากใบกาแฟแก่สายพันธุ์โรบัสต้ามีน้ำหนักเท่ากับ 3.38 กรัม (4.23%) และลำดับสุดท้าย คือ น้ำหนักสารสกัดจากใบกาแฟอ่อนสายพันธุ์โรบัสต้ามีน้ำหนักเท่ากับ 1.95 กรัม (2.44%) แสดงให้เห็นว่าใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้ามีสารสกัดประเภทชีวสูงมากกว่าใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า นอกจากนี้ประเภทใบแก่ยังให้สารสกัดในปริมาณมากกว่าอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [19] เมื่อใช้ตัวทำละลายเอทานอล อะซิโตน เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน ในการสกัดใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า พบว่า

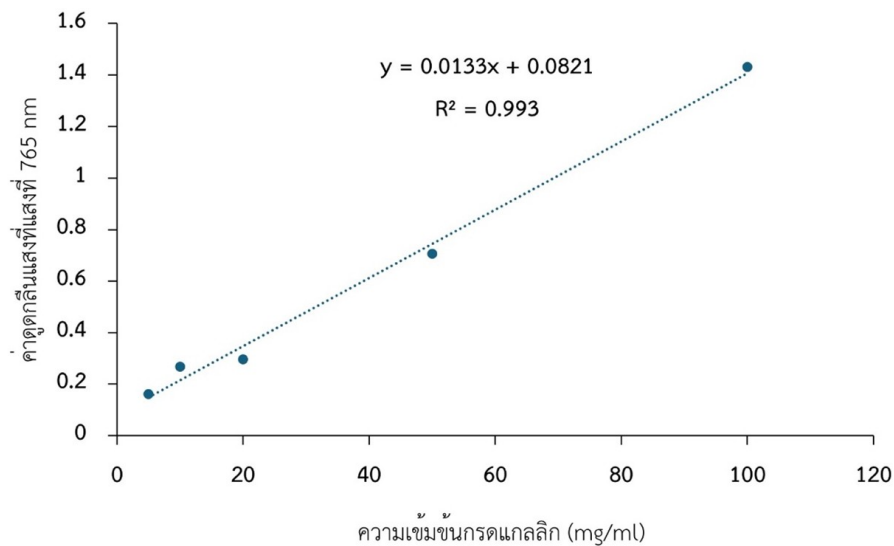


ภาพที่ 2: แผนภูมิแสดงค่า IC₅₀ ของสารสกัดใบกาแฟและสารมาตรฐานบีเอชที, Data express as mean $\pm$ SEM ($n = 3$) ตัวเลขที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

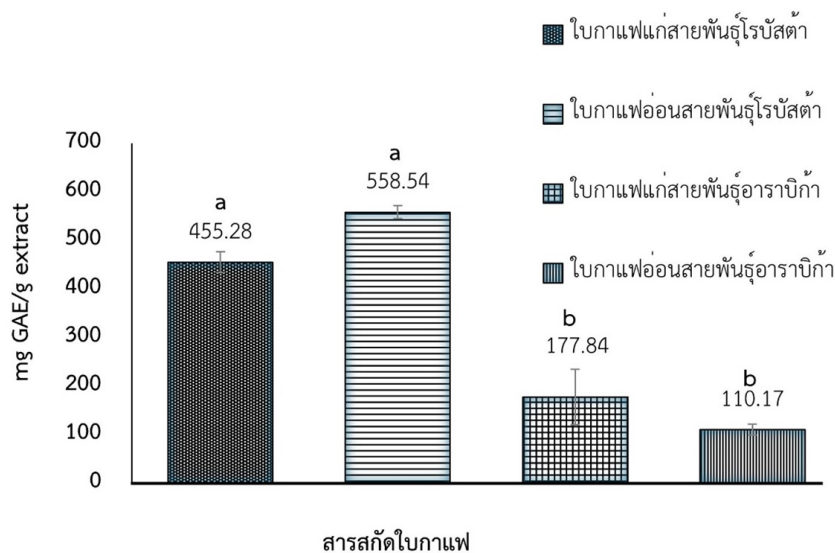
ร้อยละผลผลิตจากสารสกัดหยาบของใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่สกัดด้วยเอทานอลมากที่สุด รองลงมา คือ ร้อยละผลผลิตจากสารสกัดหยาบของใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่สกัดด้วยอะซิโตน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ [20] พบว่า ใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าที่สกัดด้วยเอทานอล มีปริมาณร้อยละผลผลิต เท่ากับ 24.40

2. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี DPPH assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการหาความสามารถในการยับยั้งกระบวนการเกิดอนุมูลอิสระ เพื่อหาความเข้มข้นของตัวอย่างที่ร้อยละ 50 ที่สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน จากการทดลอง พบว่า ใบกาแฟแก่สายพันธุ์โรบัสต้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด เท่ากับ 11.397 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แตกต่างกับสารสกัดใบกาแฟแก่และอ่อนของสายพันธุ์อาราบิก้า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$ และยังพบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารมาตรฐานบีเอชที ดังแสดงภาพที่ 2 จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้ [21] พบว่า ใบกาแฟแก่สารพันธุ์โรบัสต้าที่สกัดด้วยเมทานอล สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เนื่องจากในใบแก่ของกาแฟสารพันธุ์โรบัสต้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูง และยังพบความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเมทานอลจากใบกาแฟ จะเห็นได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกมีส่วนช่วยอย่างมีนัยสำคัญต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ [22] รายงานความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 3: กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าดูดกลืนแสงของกรดแกลลิกหลังทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Fiocalteu



ภาพที่ 4: แผนภูมิแสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดใบกาแฟ, Data express as mean $\pm$ SEM ($n = 3$) ตัวเลขที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

3. ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดจากใบแก่กาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี Folin-Ciocateu Colorimetic

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดจากใบแก่กาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ใบอ่อนกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ใบแก่กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และใบอ่อนกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า ด้วยวิธี Folin-Ciocateu Colorimetic และคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตัวอย่างเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่า สารสกัดจากใบอ่อนกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 558.54 มิลลิกรัม สมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด แตกต่างกับสารสกัดใบกาแฟแก่และอ่อนของสายพันธุ์อาราบิก้า อย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติที่ $p \pm 0.05$ ดังแสดงภาพที่ 4 เนื่องจากสารสกัดใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีสีของสารสกัดที่เข้มกว่าสารสกัดใบกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า และกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้าเป็นสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณคาเฟอีนอยู่ 2.2% ส่วนของสายพันธุ์อาราบิก้ามีอยู่ 1.2% [23] และสารประกอบฟีนอลิกรวมบริเวณใบอ่อน และใบแก่ในแต่ละสายพันธุ์มีสีของสารสกัดที่ใกล้เคียงกันสารประกอบฟีนอลิกรวมในบริเวณใบอ่อน และใบแก่จึงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ [24] แม้น้ำหนักของสารสกัดจากใบอ่อนและใบแก่ของกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้าจะมากกว่าสายพันธุ์โรบัสต้า แต่จากผลการทดลอง พบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบแก่ของกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีประสิทธิภาพสูงสุดที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 11.397 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าในใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น สารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอลคาลอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัย [25] ก่อนหน้านี้ พบว่า ใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง เมื่อวิเคราะห์ทางพิษเคมี พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า ประกอบด้วยแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ เทอร์ปีนอยด์ และฟีนอลิก

สรุปผลการวิจัย

ปริมาณสารสกัดหยาบด้วยเอทานอล 65% ของใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ในส่วนของใบแก่และใบอ่อน พบว่า ใบแก่และใบอ่อนของกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณสารสกัดหยาบที่แตกต่างกัน ปริมาณผลผลิตสารสกัดหยาบที่สูงที่สุด คือ ใบแก่ของสายพันธุ์อาราบิก้า มีค่าเท่ากับร้อยละ 13.23 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ ด้วยวิธี DPPH โดยใช้บีเอชที เป็นสารมาตรฐาน พบว่า ใบแก่ของสายพันธุ์โรบัสต้า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ 11.397 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดของใบกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณแตกต่างกัน พบว่า ใบอ่อนของกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้า มีสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 558.54 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้นใบกาแฟสายพันธุ์โรบัสต้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ได้ เช่น ผงชาสกัดพร้อมดื่ม สบู่จากธรรมชาติ หรือเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ สาขาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร สำหรับการในคำแนะนำ และอนุเคราะห์อุปกรณ์และเครื่องมือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ภักดี มนะเวศ. (2560). ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อกาแฟที่ใช้บรรจุภัณฑ์ที่เป็นมิตร ต่อสิ่งแวดล้อม. วารสารรัชต์ภาคย์, 11(24), 86-100.
- [2] Clifford, M. N., Johnston, K. L., Knight, S., & Kuhnert, N. (2003). Hierarchical scheme for LC-MSn identification of chlorogenic acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2900–2911.
- [3] อักษร เสกธีระ และพัฒน์พันธุ์ โพชนันต์. (2537). ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของกาแฟ. คู่มือการปลูกและผลิตกาแฟ อาราบิก้าบนที่สูง. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- [4] กรมวิชาการเกษตร. (2560, 28 สิงหาคม 2560). ประกาศกรมวิชาการเกษตร เรื่อง คำขอให้ออกหนังสือรับรองพันธุ์พืชขึ้นทะเบียน ตามพระราชบัญญัติพันธุ์พืช พ.ศ. 2518. https://www.doa.go.th/pvp/wp-content/uploads/2019/11/AnnoDOA_Public138.pdf
- [5] Clifford, M.N. (2000). Chlorogenic acids and other cinnamates: nature, occurrence, dietary burden, absorption and metabolism. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(1), 1033-1042.
- [6] Oestreich-Janzen, S. (2013). Chemistry of coffee. *Molecular sciences and chemical engineering*, 1-28.
- [7] Kabir, F., Katayama, S., Tanji, N., & Nakamura, S. (2014). Antimicrobial effects of chlorogenic acid and related compounds. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 57(3), 359-365.
- [8] ฉันทนา ปาปัดดา. (2566). การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกาแฟและดอกกาแฟอาราบิก้าของวิสาหกิจชุมชนน้ำหนาวอาราบิก้า จังหวัดเพชรบูรณ์. วารสารวิชาการรับใช้สังคม มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา, 7(2). 51-62.
- [9] พัทธชัย ปิ่นนาค, ธัญญ์นรี จิณะไชย, สุพิชญา เกษร และอาลิตา มาคุณ. (2563). ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกกาแฟเชอร์รี่และดอกกาแฟในระบบวนเกษตรของจังหวัดอุตรดิตถ์. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์, 1(1), 61-70.
- [10] Nguyen, T. M. T., Cho, E. J., Song, Y., Oh, 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*, 299(1), 1-8.
- [11] เกดริน. (2556, 30 สิงหาคม). ชุมทรัพย์จากต้นกาแฟ. โพสต์ทูเดย์. <https://www.posttoday.com/lifestyle/243855>
- [12] Ratanamarno, S., & Surbkar, S. (2017). Caffeine and catechins in fresh coffee leaf (*Coffea arabica*) and coffee leaf tea. *Maejo International Journal of Science and Technology*, 11(03), 211-218.

- [13] บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. (2556). อนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21(3), 277-278.
- [14] Pokorny, J., Yanishlieva, N., & Gordon, M. H. (Eds.). (2001). Antioxidants in food: practical applications. CRC press.
- [15] Yim, H. S., Chye, F. Y., Rao, V., Low, J. Y., Matanjun, P., How, S. E., & Ho, C. W. (2013). Optimization of extraction time and temperature on antioxidant activity of Schizophyllum commune aqueous extract using response surface methodology. Journal of Food Science and Technology, 50(1), 275-283.
- [16] พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนูปนนท์. (2561). Phenolic compounds /สารประกอบฟีนอล. ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหาร. <https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/>
- [17] Firuzi, O., Miri, R., Asadollahi, M., Eslami, S., & Jassbi, A. R. (2013). Cytotoxic, antioxidant and antimicrobial activities and phenolic contents of eleven Salvia species from Iran. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 12(4), 801-810.
- [18] Kamath, S. D., Arunkumar, D., Avinash, N. G., & Samshuddin, S. (2015). Determination of total phenolic content and total antioxidant activity in locally consumed food stuffs in Moodbidri, Karnataka, India. Advances in Applied Science Research, 6(6), 99-102.
- [19] Delaroza, F., Rakocevic, M., Malta, G. B., Bruns, R. E., & Scarminio, I. S. (2014). Spectroscopic and chromatographic fingerprint analysis of composition variations in Coffea arabica leaves subject to different light conditions and plant phenophases. Journal of the Brazilian Chemical Society, 25(1), 1929-1938.
- [20] Hasanaha, M., & Hilmaa, P. S. (2016). Antioxidant activity of extract and fractions from Coffee arabica L. leaves by DPPH radical scavenging method. Scientific Journal of PPI-UKM, 3(4), 162-165.
- [21] Kristiningrum, N., Cahyanti, Y. N., & Wulandari, L. (2017). Determination of total phenolic content and antioxidant activity in methanolic extract of Robusta and Arabica coffee leaves. UNEJ e-Proceeding, 1(1), 96-99.
- [22] Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E., & Vivanco, J.M. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian Ocimum accessions. Food Chemistry, 83(1), 547-550.
- [23] ชุขณา เมฆโหรา. (2558). กาแฟเพื่อสุขภาพ. อาหาร, 45(4), 15-21.
- [24] เยาวดี รุ่งเรือง และ สุพิชญา จันทะชุม. (2552). กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดคลอโรฟิลล์ด้วยเอทานอลจากผักเหมียง. เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47: สาขาอุตสาหกรรม

เกษตร. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47. (น. 314-321). สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

- [25] Kurang, R. Y., & Kamengon, R. Y. (2021). Phytochemical and antioxidant activities of Robusta coffee leaves extracts from Alor Island, East Nusa Tenggara. In AIP Conference Proceedings, 2349(1). 1-6.