

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การรายงานผลการวิจัยในส่วนนี้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ **ส่วนที่ 1** ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดลเมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ ประกอบด้วยผลการทดลอง 3 ส่วน ได้แก่ (1) ผลขององค์ประกอบอาหารในอาหารโมเดลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ (2) ผลของการให้ความร้อนต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ และ (3) การระบุชนิดและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล **ส่วนที่ 2** ชีวปริมาณออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ และ **ส่วนที่ 3** ฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

1. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

1.1 ผลขององค์ประกอบอาหารในอาหารโมเดลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ งานวิจัยนี้มีสมมติฐานว่าองค์ประกอบของอาหาร ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมันมีผลต่อการจับกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ได้จากกากกาแฟหยาบ ซึ่งอาจส่งผลต่อการใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของร่างกาย จึงออกแบบการทดลองโดยใช้อาหารโมเดลมาตรฐานที่มีองค์ประกอบของอาหารที่เหมาะสมทั้งโปรตีน คาร์โบไฮเดรต (รวมใยอาหาร) ไขมัน และแร่ธาตุ จากนั้นจึงวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในอาหารโมเดลก่อนและหลังการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์โดยคำนวณค่าเทียบกับกรดแกลลิก (GAE) และกรดคลอโรจีนิก (CGA)

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในอาหารก่อนการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ พบว่าในตัวอย่างอาหารโมเดล (ที่มีโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน หรือขาดองค์ประกอบใดองค์ประกอบหนึ่ง) ที่ไม่เติมสารสกัดหยาบจากกากกาแฟ (SCG) พบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นองค์ประกอบอาหารในอาหารโมเดลไม่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในอาหาร (ตารางที่ 4.1) ขณะที่ในตัวอย่างอาหารโมเดลที่เติม SCG พบว่า โปรตีนผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในอาหารโมเดลมากที่สุด ($p < 0.05$) โดยในอาหารโมเดลที่ไม่เติมโปรตีน (อาหารมีคาร์โบไฮเดรต และไขมัน) พบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง (15.6 mg GAE/g sample และ 10.7 mg CGA/g sample) คาร์โบไฮเดรตมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเช่นเดียวกัน โดยอาหารโมเดลไม่มีคาร์โบไฮเดรต พบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดรองลงมา คือ 10.8 mg GAE/g sample และ 7.4 mg CGA/g sample ในขณะที่ไขมันมีผล

ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุดโดยในอาหารโมเดลที่ไม่เติมไขมัน (มีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต) พบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุดเพียง 5.3 mg GAE/g sample และ 3.6 mg CGA/g sample (ตารางที่ 4.1) แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบทางเคมีอาหาร (โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และไขมัน) มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ละลายได้ในอาหาร โดยเมื่อสารสกัดหยาบจากกากกาแฟละลายหรือผสมในอาหารที่มีโปรตีนจะมีผลลดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ผลรองลงมาคือ คาร์โบไฮเดรต และไขมันเป็นลำดับสุดท้าย เป็นดังนี้ โปรตีน > คาร์โบไฮเดรต > ไขมัน

จากนั้นเมื่อนำอาหารโมเดลผ่านการย่อยในระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของทุกตัวอย่างที่ไม่เติม SCG เพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ย่อยสลายสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ในอาหารให้มีขนาดเล็กลงทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในอาหารหรือถูกจับอยู่กับองค์ประกอบอาหารถูกปลดปล่อยให้เป็นอิสระได้ ทั้งนี้ค่าที่เพิ่มขึ้นนี้จะต่ำกว่าตัวอย่างอาหารโมเดลที่เติม SCG ($p < 0.05$) ตัวอย่างเช่น ภายหลังการย่อยในระบบการย่อยอาหารจำลอง อาหารโมเดล (มีครบ 3 องค์ประกอบ) ไม่เติม SCG มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด คือ 66.3 mg GAE/g sample และ 46.2 mg CGA/g sample เมื่ออาหารโมเดลนั้นเติม SCG พบว่ามีค่า 80.9 mg GAE/g sample และ 58.4 mg CGA/g sample (ตารางที่ 4.1) แสดงให้เห็นว่าผลต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างที่เติมและไม่เติม SCG เป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิกใน SCG

เมื่อตรวจวัดฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดลเมื่อผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์แล้ว พบว่าองค์ประกอบของอาหารมีผลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในค่า ABTS (ตารางที่ 4.1) ซึ่งผลวิจัยที่ได้คล้ายคลึงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างภายหลังการย่อย โดยตัวอย่างอาหารที่ไม่มีไขมันพบค่า ABTS สูงที่สุด ($p < 0.05$) ในขณะที่ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟอื่นๆ (DPPH, FRAP และ ค่าความสามารถจับโลหะ (metal chelating ability)) พบว่าองค์ประกอบของอาหารไม่มีผลต่อการออกฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ทั้งนี้แม้ว่าตัวอย่างอาหารโมเดล (ที่ไม่เติม SCG) ภายหลังย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์จะพบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดปริมาณสูง (อยู่ในช่วง 60.5-83.7 mg GAE/g sample และ 41.4-61.1 mg CGA/g sample) แต่กลับพบค่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันทั้ง ABTS และ metal chelating ability ต่ำ และ DPPH และ FRAP มีค่าต่ำมาก แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ตรวจพบในอาหารโมเดล (ที่ไม่เติม SCG) เป็นสารที่ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันได้เพียงเล็กน้อย

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างอาหารโมเดลที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนก่อนและหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเมื่อผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์

| ตัวอย่าง | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg/g) | | | | ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ | | | |
|-------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|--|------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| | กรดแกลลิก | | กรดคลอโรเจินิก | | ABTS | DPPH | FRAP | Metal chelating |
| | ก่อน | หลัง | ก่อน | หลัง | ($\mu\text{mol Trolox/g}$) | ($\mu\text{mol Trolox/g}$) | ($\mu\text{mol Fe(II)/g}$) | ability ($\mu\text{mol EDTA/g}$) |
| Deionized water (DI) | n.d. | 45.6 \pm 3.0 ^s | n.d. | 32.2 \pm 2.5 ^h | 61.2 \pm 1.2 ^h | 0.1 \pm 0.0 ^c | 0.8 \pm 0.1 ^c | 10.5 \pm 0.6 ^b |
| SCG | 11.3 \pm 0.3 ^c | 68.6 \pm 1.2 ^{d,e} | 7.8 \pm 0.2 ^c | 47.9 \pm 1.0 ^{d,e} | 125.43.4 ^e | 19.2 \pm 1.3 ^b | 94.3 \pm 18.4 ^b | 11.2 \pm 4.1 ^b |
| Food model | 1.6 \pm 0.1 ^s | 66.3 \pm 2.2 ^{e,f} | 0.9 \pm 0.1 ^s | 46.2 \pm 2.0 ^{e,f} | 69.9 \pm 2.1 ^s | 0.4 \pm 0.0 ^c | 1.8 \pm 0.1 ^c | 18.9 \pm 0.4 ^a |
| Food model+SCG | 17.0 \pm 0.4 ^a | 80.9 \pm 2.6 ^b | 11.4 \pm 0.3 ^a | 58.4 \pm 2.2 ^b | 169.5 \pm 2.1 ^b | 26.1 \pm 2.0 ^a | 129.7 \pm 5.9 ^a | 19.3 \pm 2.0 ^a |
| Food model w/o prot | 0.3 \pm 0.1 ^f | 60.5 \pm 1.9 ^f | 0.2 \pm 0.1 ^h | 41.4 \pm 1.6 ^f | 68.9 \pm 0.7 ^s | 0.3 \pm 0.0 ^c | 0.6 \pm 0.0 ^c | 18.6 \pm 0.4 ^a |
| Food model w/o prot+SCG | 15.6 \pm 0.4 ^b | 77.9 \pm 9.1 ^{b,c} | 10.7 \pm 0.3 ^b | 56.4 \pm 7.6 ^{b,c} | 149.9 \pm 2.2 ^d | 25.9 \pm 0.4 ^a | 141.5 \pm 2.5.5 ^a | 13.4 \pm 0.0 ^b |
| Food model w/o carb | 4.6 \pm 0.3 ^f | 64.8 \pm 3.0 ^{e,f} | 2.9 \pm 0.3 ^f | 45.1 \pm 2.5 ^{e,f} | 73.7 \pm 0.7 ^s | 0.3 \pm 0.0 ^c | 0.2 \pm 0.1 ^c | 18.6 \pm 2.2 ^a |
| Food model w/o carb+SCG | 10.8 \pm 0.6 ^d | 73.1 \pm 1.4 ^{c,d} | 7.4 \pm 0.5 ^d | 52.6 \pm 1.2 ^{c,d} | 160.9 \pm 2.6 ^c | 27.5 \pm 1.2 ^a | 154.1 \pm 22.5 ^a | 19.9 \pm 0.8 ^a |
| Food model w/o fat | 1.1 \pm 0.1 ^s | 83.7 \pm 2.4 ^b | 0.7 \pm 0.1 ^s | 61.1 \pm 2.0 ^b | 80.0 \pm 0.5 ^f | 0.4 \pm 0.0 ^c | 0.9 \pm 0.0 ^c | 20.9 \pm 0.2 ^a |
| Food model w/o fat+SCG | 5.3 \pm 0.1 ^e | 103.9 \pm 0.5 ^a | 3.6 \pm 0.1 ^e | 74.9 \pm 0.4 ^a | 191.7 \pm 6.1 ^a | 27.7 \pm 1.5 ^a | 123.5 \pm 12.7 ^a | 21.5 \pm 1.8 ^a |

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน อักษรยกขึ้น (^{a, b, c, ...}) ที่แตกต่างกันในแนวสดมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

n.d. ไม่ได้ตรวจวัด

ก่อน คือ ตัวอย่างก่อนการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์, หลัง คือ ตัวอย่างภายหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์

1.2 ผลของการให้ความร้อนต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ เมื่อศึกษาผลของการให้ความร้อนแก่อาหารโมเดลด้วยวิธีการต้ม (100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) อบ (180 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) นึ่งในหม้อนึ่งแรงดันสูง (121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) พบว่าอาหารโมเดล (มีองค์ประกอบครบทั้ง 3 ชนิด) ไม่เติม SCG เมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ และผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ ให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงขึ้นเมื่อได้รับความร้อนที่สูงขึ้น คือ อบ > นึ่งในหม้อนึ่งแรงดันสูง > ต้ม ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.2)

อาหารโมเดลที่เติม SCG พบค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าอาหารโมเดลที่ไม่เติม SCG แสดงให้ว่าระบบการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์สามารถปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกจากกากกาแฟในอาหารที่ผ่านการให้ความร้อนให้เป็นอิสระได้ โดยการอบมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.2)

เมื่อพิจารณาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของอาหารโมเดลที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยวิธีการต่าง ๆ และผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์แล้ว พบว่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในอาหารโมเดลที่เติมและไม่เติม SCG คือ ABTS (ตารางที่ 4.2) ขณะที่ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันอื่นพบค่าความสามารถกักจับโลหะ (metal chelating ability) ต่ำ และ DPPH และ FRAP มีค่าต่ำมากเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อน (ตารางที่ 4.1 และ ตารางที่ 4.2)

อาหารโมเดลที่เติม SCG และผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์แล้ว พบว่าการให้ความร้อนไม่มีผลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันทั้งค่า DPPH และ FRAP (ตารางที่ 4.2) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านความร้อน (ตารางที่ 4.1) ยกเว้นการพบค่า ABTS เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4.2) ทั้งนี้พบว่าค่า metal chelating ability มีค่าต่ำ ซึ่งพบได้ตัวอย่าง SCG และ DI มีค่าใกล้เคียงกัน คือ 11.2 และ 10.5 $\mu\text{mol EDTA/g}$ ตามลำดับ แสดงว่าค่า metal chelating ability ที่พบนี้ไม่ได้มาจากฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากกากกาแฟ

1.3 การระบุชนิดและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล พบสารสำคัญในตัวอย่างอาหารโมเดลที่ผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ คือ 3-caffeoylquinic acid (3-CQA)+4-caffeoylquinic acid (4-CQA), 5-caffeoylquinic acid (5-CQA) และ caffeine ส่วนสารที่พบในปริมาณน้อยคือ 3,4-dicaffeoylquinic acid (3,4-diCQA), 3,5-dicaffeoylquinic acid (3,5-diCQA), 4,5-dicaffeoylquinic acid (4,5-diCQA) และ caffeic acid (ตารางที่ 4.3) องค์ประกอบของอาหาร (คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน) ไม่มีผลต่อชนิดและปริมาณสารสำคัญ เช่นเดียวกับการให้ความร้อน ยกเว้นวิธีการอบที่พบว่าปริมาณสารสำคัญมีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดลที่ผ่านการให้ความร้อนรูปแบบต่าง ๆ ก่อนและหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ และฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเมื่อผ่านการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์

| ตัวอย่าง | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg/g) | | | | ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์ | | | |
|---------------------------|--------------------------------------|-------------------------------|----------------|-------------------------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | กรดแกลลิก | | กรดคลอโรจีนิก | | ABTS | DPPH | FRAP | Metal chelating |
| | ก่อน | หลัง | ก่อน | หลัง | (μ mol Trolox/g) | (μ mol Trolox/g) | (μ mol Fe(II)/g) | ability (μ mol EDTA/g) |
| Food model/boil | n.d. | 62.8 \pm 0.6 ^e | n.d. | 44.0 \pm 0.5 ^e | 65.7 \pm 2.5 ^e | 0.3 \pm 0.0 ^c | 2.0 \pm 0.1 ^c | 25.2 \pm 2.0 ^a |
| Food model+SCG/boil | 15.4 \pm 0.5 ^a | 79.9 \pm 0.6 ^{b,c} | 10.2 \pm 0.4 | 57.8 \pm 0.5 ^{b,c} | 158.7 \pm 1.9 ^b | 24.8 \pm 2.4 ^b | 143.4 \pm 25.4 ^b | 21.4 \pm 0.8 ^{b,c} |
| Food model/oven | n.d. | 75.4 \pm 3.2 ^{c,d} | n.d. | 54.2 \pm 2.7 ^{c,d} | 147.1 \pm 1.6 ^c | 0.6 \pm 0.0 ^c | 8.9 \pm 0.1 ^c | 11.5 \pm 0.3 ^d |
| Food model+SCG /oven | 12.8 \pm 0.5 ^b | 109.2 \pm 3.9 ^a | 8.3 \pm 0.4 | 78.8 \pm 3.2 ^a | 190.6 \pm 2.4 ^a | 31.1 \pm 0.2 ^a | 210.6 \pm 9.3 ^a | 21.2 \pm 1.9 ^{b,c} |
| Food model/autoclave | n.d. | 69.6 \pm 2.5 ^d | n.d. | 49.0 \pm 2.1 ^{d,e} | 71.9 \pm 2.7 ^d | 0.4 \pm 0.0 ^c | 1.8 \pm 0.0 ^c | 22.4 \pm 2.8 ^{a,b} |
| Food model+SCG /autoclave | 14.7 \pm 1.7 ^{a,b} | 85.9 \pm 6.6 ^b | 9.7 \pm 1.5 | 60.9 \pm 5.5 ^b | 159.8 \pm 2.2 ^b | 26.3 \pm 0.6 ^{a,b} | 133.1 \pm 13.5 ^b | 18.9 \pm 0.6 ^c |

ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน อักษรยกขึ้น (a, b, c, ...) ที่แตกต่างกันในแนวสทมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

n.d. ไม่ได้ตรวจวัด

ก่อน คือ ตัวอย่างก่อนการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์, หลัง คือ ตัวอย่างภายหลังการย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์

ตารางที่ 4.3 การระบุชนิดและปริมาณสารสำคัญของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อย่อยในระบบอาหารจำลองของมนุษย์

| ตัวอย่าง | 3-CQA + 4-CQA (mg/g) | 5-CQA (mg/g) | 3,4-diCQA (μ g/g) | 3,5-diCQA (μ g/g) | 4,5-diCQA (μ g/g) | caffeic acid (μ g/g) | caffeine (mg/g) |
|---------------------------|-------------------------|-----------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|--------------------|
| SCG | 0.494±0.020 | 0.306±0.026 | 30.85±1.42 | 9.63±0.07 | 21.42±3.05 | 14.19±2.75 | 1.034±0.057 |
| Food model+SCG | 0.607±0.012 | 0.340±0.006 | 50.57±2.32 | 20.76±1.90 | 32.03±3.54 | 75.22±3.78 | 0.908±0.021 |
| Food model w/o prot+SCG | 0.602±0.010 | 0.372±0.011 | 42.16±3.92 | 17.65±1.42 | 28.94±0.56 | 64.26±5.75 | 1.033±0.020 |
| Food model w/o carbo+SCG | 0.649±0.008 | 0.367±0.012 | 50.25±1.61 | 19.86±1.25 | 32.80±3.63 | 70.17±4.04 | 0.993±0.002 |
| Food model w/o fat+SCG | 0.592±0.011 | 0.347±0.007 | 50.58±9.29 | 17.25±0.79 | 31.41±0.41 | 55.25±4.36 | 0.947±0.006 |
| Food model+SCG/boil | 0.655±0.015 | 0.357±0.006 | 48.53±0.93 | 18.47±1.57 | 25.27±1.46 | 62.13±2.06 | 0.929±0.003 |
| Food model+SCG /oven | 0.893±0.033 | 0.453±0.013 | 69.33±0.50 | 34.89±7.90 | 51.76±20.62 | 73.82±10.67 | 1.218±0.040 |
| Food model+SCG /autoclave | 0.674±0.018 | 0.368±0.003 | 46.79±4.31 | 19.14±0.17 | 32.91±3.85 | 47.09±4.66 | 0.938±0.007 |

3-CQA, 3-caffeoylquinic acid; 4-CQA, 4-caffeoylquinic acid; 5-CQA, 5-caffeoylquinic acid; 3,4-diCQA, 3,4-dicaffeoylquinic acid; 3,5-diCQA, 3,5-dicaffeoylquinic acid; 4,5-diCQA, 4,5-dicaffeoylquinic acid

2. ชีวปริมาณออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

การวิเคราะห์ชีวปริมาณออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล พบว่าสารสกัดหยาบจากกากกาแฟ (ตัวอย่าง SCG) เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์แล้วสามารถผ่านเยื่อไตอะไลซิส (dialysis membrane) หรือร่างกายดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้ คิดเป็นร้อยละ 29.9 และ 28.9 เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกรดแกลลิกและกรดคลอโรเจนิค ตามลำดับ (ตารางที่ 4.4) ซึ่งส่วนที่เหลือ (ร้อยละ 70.1 และ 71.1 ตามลำดับ) จะคงอยู่ในส่วนของลำไส้ สารที่ผ่านเยื่อไตอะไลซิสเหล่านี้ยังมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (ABTS, DPPH และ FRAP) คิดเป็นร้อยละ 26.0-33.8 (ส่วนฤทธิ์การต้านออกซิเดชันที่เหลือคงอยู่ในลำไส้) (ตารางที่ 4.4) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อเติมสารสกัดหยาบจากกากกาแฟลงในอาหารโมเดล พบว่าไขมันมีผลลดการผ่านเยื่อไตอะไลซิสของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟ โดยเมื่อไม่มีไขมันพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (คำนวณจากกรดแกลลิกและกรดคลอโรเจนิค) และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (ABTS, DPPH และ FRAP) ในส่วนของซีรัมมีค่าสูงที่สุด ($p < 0.05$) ขณะที่การอบมีผลต่อการลดการผ่านเยื่อไตอะไลซิสของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟเช่นกัน โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (คำนวณจากกรดแกลลิกและกรดคลอโรเจนิค) มีค่าต่ำที่สุด ($p < 0.05$) และฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (ABTS, DPPH และ FRAP) ในส่วนของซีรัม (IN) มีค่าต่ำลงเช่นกัน ($p < 0.05$)



ตารางที่ 4.4 ชีวปริมาณออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดลเมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

| ตัวอย่าง | สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ร้อยละ) | | | | | | ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน (ร้อยละ) | | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------|------------------------------------|-------------------------|---------------------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------|
| | กรดแกลลิก | | กรดคลอโรโรเจนิก | | ABTS | | DPPH | | FRAP | | Metal chelating ability | |
| | ลำไส้ | ซีรัม | ลำไส้ | ซีรัม | ลำไส้ | ซีรัม | ลำไส้ | ซีรัม | ลำไส้ | ซีรัม | ลำไส้ | ซีรัม |
| | (OUT) | (IN) | (OUT) | (IN) | (OUT) | (IN) | (OUT) | (IN) | (OUT) | (IN) | (OUT) | (IN) |
| SCG | 70.1±2.9 ^a | 29.9±1.4 ^e | 71.1±3.4 ^a | 28.9±2.0 ^e | 66.2±1.5 ^a | 33.8±0.2 ^e | 72.3±3.4 ^a | 27.7±3.4 ^c | 74.0±2.4 ^a | 26.0±1.8 ^c | 60.6±6.8 ^{a,b} | 39.4±0.8 ^{c,d} |
| Food model+SCG | 56.7±4.5 ^d | 43.3±3.2 ^a | 56.8±5.0 ^d | 43.2±3.5 ^a | 53.7±1.5 ^d | 46.3±1.4 ^a | 65.5±0.6 ^b | 34.5±0.6 ^{a,b} | 62.5±5.2 ^c | 37.5±2.4 ^a | 55.9±3.4 ^b | 44.1±2.5 ^a |
| Food model w/o prot+SCG | 67.6±2.4 ^{a,b} | 32.4±1.9 ^{d,e} | 68.3±2.7 ^{a,b} | 31.7±2.1 ^d | 64.1±1.4 ^{a,b} | 35.9±0.6 ^d | 72.9±1.9 ^a | 27.1±1.9 ^c | 72.5±3.7 ^{a,b} | 27.5±1.7 ^c | 62.8±4.6 ^{a,b} | 37.2±1.8 ^{d,e} |
| Food model w/o carb+SCG | 67.6±5.0 ^{a,b} | 32.4±1.4 ^d | 68.1±5.6 ^{a,b} | 31.9±1.6 ^d | 63.4±2.8 ^{a,b} | 36.6±1.4 ^d | 73.1±1.2 ^a | 26.9±1.2 ^c | 74.5±7.0 ^a | 25.5±3.9 ^c | 64.5±4.8 ^a | 35.5±0.5 ^e |
| Food model w/o fat+SCG | 60.2±3.1 ^{c,d} | 39.8±1.9 ^b | 60.4±3.4 ^{c,d} | 39.6±2.0 ^b | 56.3±1.9 ^{c,d} | 43.7±0.7 ^b | 65.3±0.1 ^b | 34.7±0.1 ^a | 66.1±2.3 ^{b,c} | 33.9±1.6 ^b | 58.7±2.4 ^{a,b} | 41.3±1.0 ^{b,c} |
| Food model+SCG/boil | 60.6±2.8 ^{c,d} | 39.4±2.7 ^b | 60.7±3.0 ^{c,d} | 39.3±3.1 ^b | 57.2±1.3 ^{c,d} | 42.8±0.1 ^b | 66.1±3.0 ^b | 33.9±3.0 ^{a,b} | 65.8±1.0 ^{b,c} | 34.2±0.7 ^b | 58.1±1.1 ^{a,b} | 41.9±1.5 ^{a,b,c} |
| Food model+SCG/oven | 63.8±3.1 ^{b,c} | 36.2±2.1 ^c | 64.1±3.4 ^{b,c} | 35.9±2.3 ^c | 60.1±5.6 ^{b,c} | 39.9±1.2 ^c | 68.8±1.7 ^{a,b} | 31.2±1.7 ^b | 69.1±6.7 ^{a,b,c} | 30.9±1.0 ^c | 63.7±2.3 ^{a,b} | 36.3±0.0 ^e |
| Food model+SCG/autoclave | 56.2±3.4 ^d | 43.8±2.3 ^a | 56.1±3.6 ^d | 43.9±2.4 ^a | 54.3±1.2 ^d | 45.7±0.8 ^a | 66.3±1.2 ^b | 33.7±1.2 ^{a,b} | 62.0±5.9 ^c | 38.0±1.6 ^a | 56.6±3.9 ^b | 43.4±2.0 ^{a,b} |

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน อักษรยกขึ้น (a, b, c, ...) ที่แตกต่างกันในแนวสทมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

ลำไส้ (OUT) คือ ส่วนของตัวอย่างที่ไม่ผ่านเยื่อของถุงไตอะไลซิส (dialysis tubing) หรือมีความหมายว่ายังคงอยู่ภายในลำไส้, ซีรัม (IN) คือ ส่วนของตัวอย่างที่ผ่านเยื่อของถุงไตอะไลซิส หรือมีความหมายว่าถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้

3.ฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

การทดสอบฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในเซลล์ HepG2 และ SHSY-5Y พบว่าสารสกัดจากกากกาแฟ (ตัวอย่าง SCG) มีผลยับยั้งการเจริญหรือมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็ง HepG2 ได้ดีกว่าน้ำปราศจากไอออน (ตัวอย่าง DI) โดยมีค่า IC_{50} ต่ำกว่า ($p < 0.05$) ขณะที่เซลล์ SHSY-5Y พบว่าให้ผลที่ไม่แตกต่างกับตัวอย่าง DI ($p \geq 0.05$) (ตารางที่ 4.5)

เมื่อทดสอบในอาหารโมเดลที่ผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ พบว่าอาหารโมเดลที่ไม่ผ่านความร้อนและไม่เติม SCG ให้ค่า IC_{50} ต่ำที่สุด (IC_{50} 0.045 สำหรับ HepG2 และ IC_{50} 0.042 สำหรับ SHSY-5Y) ($p < 0.05$) ขณะที่ตัวอย่างอาหารโมเดลที่เติม SCG ทั้งที่ให้และไม่ให้ความร้อนพบค่า IC_{50} สูงกว่า ยกเว้นตัวอย่างอาหารโมเดลที่ผ่านการต้มให้ค่า IC_{50} ต่ำไม่แตกต่างจากอาหารโมเดลที่ไม่ผ่านความร้อนและไม่เติม SCG (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์

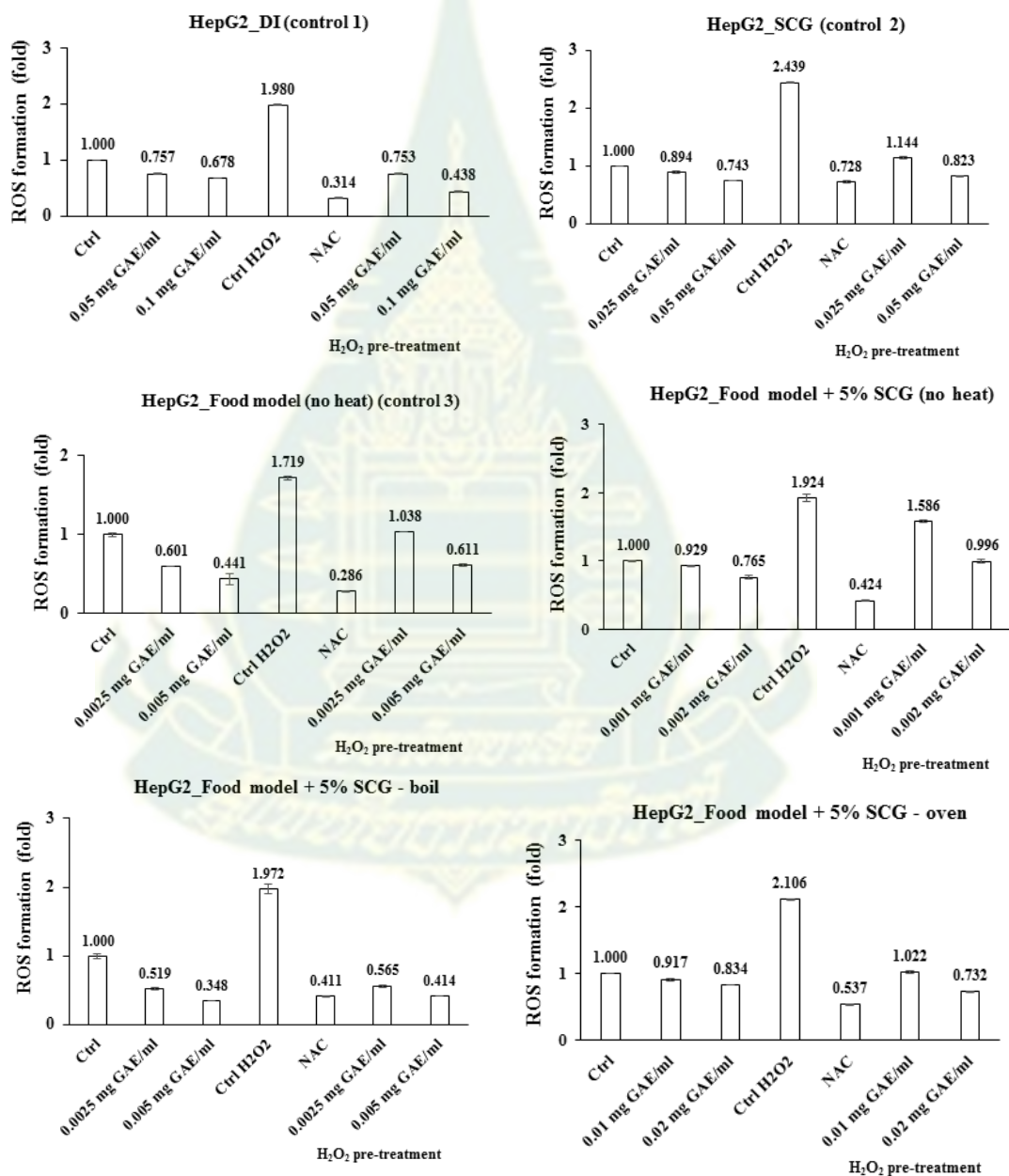
| ตัวอย่าง | half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) : | |
|--------------------------|---|--------------------------|
| | mg gallic acid/ml | |
| | HepG2 | SHSY-5Y |
| Deionized water (DI) | 0.980±0.028 ^a | 0.965±0.024 ^a |
| SCG | 0.700±0.008 ^c | 1.008±0.054 ^a |
| Food model (no heat) | 0.045±0.001 ^e | 0.042±0.000 ^e |
| Food model+SCG (no heat) | 0.078±0.005 ^f | 0.118±0.004 ^d |
| Food model+SCG/boil | 0.074±0.002 ^e | 0.110±0.001 ^d |
| Food model+SCG/oven | 0.154±0.007 ^d | 0.222±0.019 ^c |
| Food model+SCG/autoclave | 0.821±0.017 ^b | 0.888±0.042 ^b |

ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน อักษรยกขึ้น (^{a, b, c, ...}) ที่แตกต่างกันในแนวสทมภ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

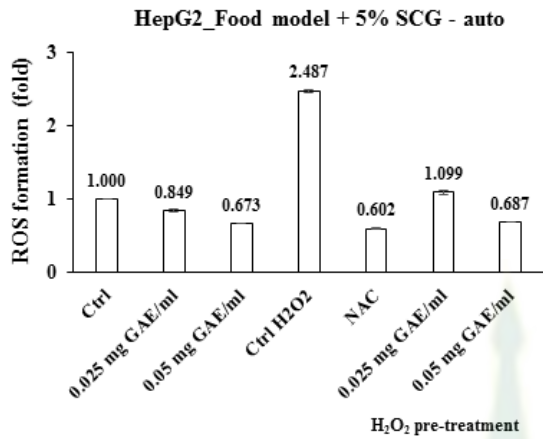
Deionized water (DI) และ SCG เป็นตัวอย่างควบคุม (control) ที่ผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์เช่นเดียวกับตัวอย่างอาหารโมเดล

เมื่อทดสอบการลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์เมื่อเซลล์ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระด้วย H_2O_2 วิเคราะห์ด้วยวิธี DCF assay พบว่า ทั้งตัวอย่าง DI (ตัวอย่างควบคุม) น้ำปราศจากไอออนที่ผ่าน

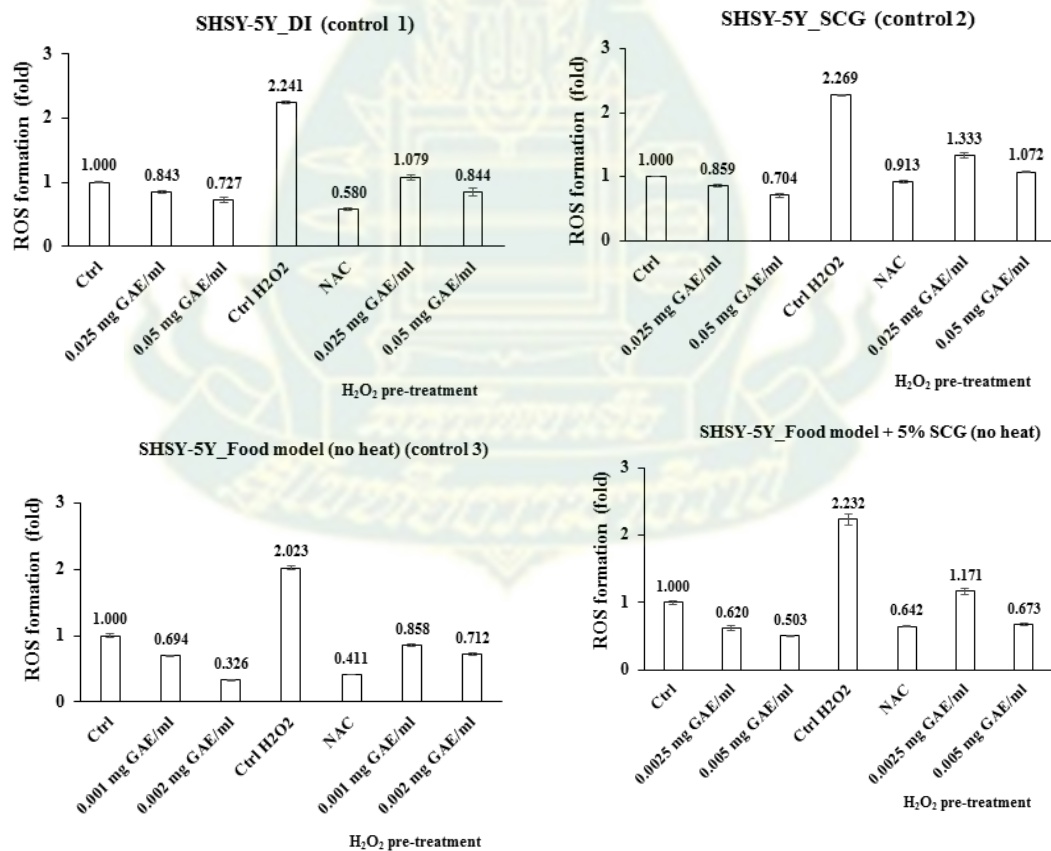
ระบบการย่อยอาหารจำลอง) และสารสกัดจากกากกาแฟ (ตัวอย่าง SCG) มีผลลดอนุมูลอิสระในเซลล์ HepG2 และ SHSY-5Y ได้ (ภาพที่ 4.1 และ 4.2) เมื่อทดสอบในอาหารโมเดลที่ผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ พบว่าทั้งตัวอย่างที่เติมและไม่เติม SCG มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเซลล์ HepG2 และ SHSY-5Y โดยในตัวอย่างอาหารโมเดลที่เติม SCG และไม่ให้ความร้อน (ตัวอย่าง Food model+5% SCG no heat) สามารถลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ HepG2 ได้ดีที่สุด ขณะที่ตัวอย่างอาหารโมเดลที่ไม่เติม SCG (ไม่ให้ความร้อน) (ตัวอย่าง Food model no heat) สามารถลดอนุมูลอิสระภายในเซลล์ SHSY-5Y ได้ดีที่สุด



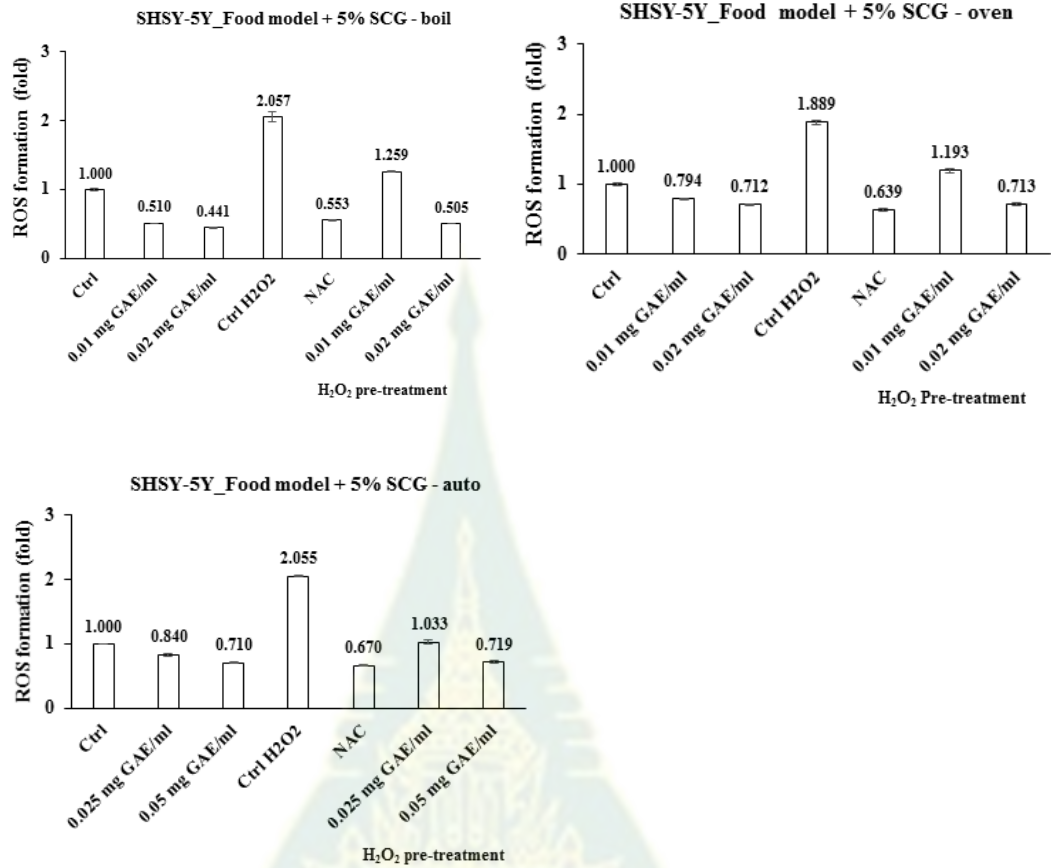
ภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ โดยใช้เซลล์ HepG2 วิเคราะห์ด้วยวิธี DCF assay



ภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากกากกาแฟในอาหารโมเดล เมื่อผ่านระบบการย่อยอาหารจำลองของมนุษย์ โดยใช้เซลล์ SHSY-5Y วิเคราะห์ด้วยวิธี DCF assay