บทที่ 2
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ชนิดกาแฟ (coffee) ที่สำคัญทางเศรษฐกิจ คือ สายพันธุ์อะราบิก้า (arabica) และโรบัสต้า (robusta) ซึ่งมีลักษณะการเจริญและได้รสชาติกาแฟที่แตกต่างกัน การผลิตเมล็ดกาแฟมีหลายขั้นตอนและเป็นกระบวนเฉพาะสำหรับผลิตเมล็ดกาแฟเพื่อการบริโภค ซึ่งกระบวนการผลิตนอกเหนือจากจะมีผลต่อคุณภาพเมล็ดกาแฟและเครื่องดื่มกาแฟ เช่น สี กลิ่นรส แล้ว ยังมีผลต่อชนิดและปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และวัสดุเหลือใช้ที่เกิดขึ้นในปริมาณมาก วัสดุเหลือใช้ที่สำคัญจากกระบวนการผลิตเครื่องดื่มกาแฟ คือ กากกาแฟ ซึ่งมีปริมาณมากเป็นไปตามปริมาณการผลิตเครื่องดื่มกาแฟ ในเนื้อหาส่วนนี้จะกล่าวถึงหัวข้อ 1. กาแฟในประเทศไทย 2. ลักษณะของเมล็ดกาแฟ 3. การผลิตเมล็ดกาแฟ 4. องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดกาแฟ 5. กากกาแฟวัสดุเหลือใช้จากการผลิตกาแฟ และ 6. การใช้ประโยชน์จากกากกาแฟ

2.1 กาแฟในประเทศไทย

กาแฟเป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดปานกลาง สูงประมาณ 3-4 เมตร ใบสีเขียวแตกออกจากข้อเป็นคู่ๆ ดอกมีสีขาวบริสุทธิ์ กลิ่นหอมกาแฟ ต้นกาแฟในประเทศไทยเริ่มออกดอกในเดือนตุลาคม–กุมภาพันธ์ และเก็บเกี่ยวได้ในช่วงเดือนพฤศจิกายน-มีนาคม ระยะเวลาตั้งแต่การออกดอกถึงการเก็บเกี่ยวใช้เวลาประมาณ 8-12 เดือน หลังจากปลูกกาแฟได้ 2-3 ปี กาแฟจะเริ่มออกดอกและติดผล ผลของกาแฟ (coffee berry) มีลักษณะค่อนข้างกลม ขณะที่ผลยังอ่อนมีสีเขียว และเมื่อผลแก่จัดจะมีสีแดง ในแต่ละข้อของกิ่งกาแฟติดผลประมาณ 10-60 ผล แต่ละผลมีเมล็ดกาแฟอยู่ 2 เมล็ด (The Refresher Co., Ltd., 2009)

กาแฟที่พบในโลกมีหลากหลายพันธุ์ บางพันธุ์ก็ได้สูญพันธุ์ไปแล้ว แต่พันธุ์ที่ได้รับความนิยมมี 2 พันธุ์ ได้แก่ อะราบิก้า และโรบัสต้า โดยพันธุ์อะราบิก้า จัดเป็นกาแฟแบบดั้งเดิม มีรสชาติดี และเป็นที่นิยมมากที่สุด ส่วนโรบัสต้าเป็นพันธุ์ที่มีปริมาณกาเฟอีนสูง มีรสขมและเปรี้ยว จึงไม่เป็นที่นิยมบริโภคมากนัก โรบัสต้าที่มีคุณภาพดีมักถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมของเอสเพรสโซ่ (espresso) แบบผสม เอสเพรสโซ่มีสองประเภทหลักคือ เอสเพรสโซ่ที่ใช้อะราบิก้าทั้งหมด และเอสเพรสโซ่แบบผสมที่มีอะราบิก้าผสมกับกาแฟชนิดอื่น ๆ ข้อดีของพันธุ์โรบัสต้าคือ สามารถปลูกในพื้นที่ที่ปลูกพันธุ์อะราบิก้าไม่ได้ ซึ่งชื่อโรบัสต้ามาจากรากศัพท์จากคำว่า robust ในภาษาอังกฤษ แปลว่า ทนทาน เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมทำให้กาแฟโรบัสต้ามีราคาถูกกว่า (ไทยมีดี, 2552)

กาแฟอะราบิก้าเป็นกาแฟที่นิยมบริโภคมากที่สุด กาแฟพันธุ์นี้ปลูกและดูแลรักษาค่อนข้างยาก ต้องปลูกในที่สูงและอุณหภูมิเหมาะสมจึงจะได้กาแฟรสดีไม่เพี้ยนไปจากพันธุ์ดั้งเดิม โดยความสูงต้องประมาณ

1,000 เมตรขึ้นไปจากระดับน้ำทะเล และมีความลาดเอียงของพื้นที่ปลูกไม่เกิน 30% อุณหภูมิที่พอเหมาะจะอยู่ที่ 15–25 องศาเซลเซียส และมีความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 60% (The Refresher Co., Ltd., 2009) ประเทศไทยสามารถปลูกกาแฟพันธุ์อะราบิก้าได้ทางภาคเหนือ โดยเฉพาะที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง แม่ฮ่องสอน และตาก กาแฟพันธุ์อะราบิก้าเจริญเติบโตที่บริเวณที่ราบสูงประมาณ 800 ถึง 1, 500 เมตร ที่ความสูงระดับนี้จะมีผลให้กาแฟเจริญเติบโตไปอย่างช้าๆ ทำให้ผลผลิตเมล็ดกาแฟมีรสชาติดี การปลูกกาแฟพันธุ์อะราบิก้าในประเทศไทยยังไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลิตผลต่อปีได้มากนัก ส่วนใหญ่ผู้เพาะปลูกกาแฟอะราบิก้าพันธุ์ไทย คือ เจ้าของไร่รายย่อย เช่น ครอบครัวชาวเขาและชาวบ้าน (ไทยมีดี, 2552) คิดปริมาณการผลิตในปี 2557 เฉพาะในจังหวัดเชียงรายที่เป็นแหล่งสำคัญของประเทศไทยคือ 9,328 ตัน (ประชาชาติธุรกิจออนไลน์, 2558)

กาแฟโรบัสต้า ไร่กาแฟโรบัสต้าส่วนใหญ่อยู่ทางใต้ของประเทศไทย เช่น จังหวัดสุราษฎร์ธานี ชุมพร ระนอง นครศรีธรรมราช พังงา และกระบี่ คิดปริมาณการผลิตประมาณปีละ 80,000 ตัน (The Refresher Co., Ltd., 2009) กาแฟโรบัสต้าเติบโตได้ดีในที่ราบต่ำ ข้อดีของกาแฟพันธุ์นี้คือ ต้นกาแฟโรบัสต้าสามารถเพาะปลูกได้ง่าย มีความทนทานต้านทานโรคสูง สามารถที่จะทนต่ออุณหภูมิและสภาพความชื้นสูง อีกทั้งพันธุ์โรบัสต้ายังให้ผลผลิตเมล็ดกาแฟต่อไร่สูงมากกว่า และผลยังสุกเร็วกว่าเมื่อเทียบกับพันธุ์อะราบิก้า อย่างไรก็ตามเมล็ดกาแฟพันธุ์โรบัสต้ามีคุณภาพต่ำและมีราคาถูกกว่าพันธุ์อะราบิก้า ในประเทศไทยกาแฟโรบัสตาพันธุ์ไทยเป็นชนิดที่มีคุณภาพดีและมีการยอมรับในตลาดต่างประเทศ ตลาดส่งออกหลักคือสหรัฐอเมริกา โซนยุโรป ญี่ปุ่น และสิงคโปร์ ส่วนการบริโภคในประเทศจะแปรรูปเป็นเครื่องดื่มกาแฟกระป๋องหรือกาแฟสำเร็จรูปชนิดผง (ไทยมีดี, 2552; The Refresher Co., Ltd., 2009)

2.2 ลักษณะของเมล็ดกาแฟ

ต้นกาแฟ (coffee tree) จัดอยู่ในสกุล *Rubiaceae* ซึ่งมีมากกว่า 70 สายพันธุ์ อย่างไรก็ตามมีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นที่นำมาใช้ผลิตกาแฟได้แก่ สายพันธุ์ *Coffee arabica* (อะราบิก้า) ซึ่งผลิตกาแฟที่มีคุณภาพดีที่สุด มีสัดส่วนการผลิตคิดเป็นร้อยละ 75 ในการผลิตกาแฟของโลก และสายพันธุ์ *Coffea canephora* (โรบัสต้า) จะมีรสชาติเปรี้ยวมากกว่า มีสัดส่วนการผลิตคิดเป็นร้อยละ 25 ของการผลิตในโลก (Mussatto et al., 2011) ผลกาแฟเป็นผลจากต้นกาแฟประกอบด้วยเมล็ดกาแฟ (coffee bean) 2 เมล็ด เมื่อแยกออกจากกันจะพบว่าด้านที่ประกบกันอยู่หรือด้านในของเมล็ดมีลักษณะแบน และมีร่องของรอยแยกตรงกลางของเมล็ด (center cut) (ภาพที่ 2.1ก) ส่วนอีกด้านหนึ่งของเมล็ดมีความโค้งนูนแบบหลังเต่า เมล็ดกาแฟจะถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกผล (skin or exocarp) มักมีสีแดง บางชนิด/สายพันธุ์มีเปลือกผลสีแดงสดหรือแดงเข้มเลือดหมู บริเวณถัดไปจากเปลือกผลคือ พัพหรือเนื้อผลบางสีใสหรือสีเหลืองอ่อน (pulp or mesocarp) เปลือกบาง

(parchment or endocarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (silver skin, spermoderm or testa) และ เนื้อเมล็ด (endosperm, seed, or bean) ที่มีคัพภะ (embryo) ขนาดเล็กตรงด้านฐานของเมล็ด (ภาพที่ 1ข)

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.1 ผลกาแฟ (ก) ภาพครึ่งผลกาแฟ และ (ข) ภาพตัดขวางของผลกาแฟ

ที่มา: Mussatto et al. (2011) และ www.pinterest.com/pin/42249400876 3726115/

2.3 การผลิตเมล็ดกาแฟ

ภายหลังการปลูกต้นกาแฟแล้วประมาณปีที่ 5 ผลกาแฟที่ได้จึงเริ่มมีการเก็บเกี่ยวและเข้าสู่การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เมล็ดกาแฟคั่วหรือกาแฟสำเร็จรูป โดยเมื่อผลกาแฟสีแดงเปลี่ยนเป็นสีเขียว (green coffee bean) จึงนำเข้าสู่กระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟ โดยเริ่มต้นจากการกำจัดพัพและเปลือกหุ้มเมล็ด (hull) และออกด้วยวิธีแบบแห้ง (dry method) หรือแบบเปียก (wet method) วิธีการแบบแห้งมักใช้กับเมล็ดกาแฟโรบัสต้า ในขณะที่วิธีแบบเปียกมักใช้กับเมล็ดกาแฟอะราบิก้า ซึ่งวิธีการแบบเปียกจะซับซ้อนกว่าวิธีการแบบแห้งและเกี่ยวข้องกับขั้นตอนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์เพื่อให้ได้กลิ่นกาแฟที่หอมยิ่งขึ้น

การคั่วเป็นขั้นตอนที่สำคัญมากในกระบวนการผลิตกาแฟ เนื่องจากมีผลโดยตรงต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส (กลิ่น รส และสี) ในระหว่างการให้ความร้อนนี้มีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีเกิดขึ้น เช่น การเปลี่ยนแปลงสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลเป็นสารประกอบเชิงซ้อนอื่นๆ ด้วยปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) การเกิดกรดอินทรีย์จากปฏิกิริยาไพโรไลซีส (pyrolysis) การเปลี่ยนแปลงสารประกอบซัลเฟอร์ (sulfur) ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน การสลายด้วยความร้อน และ/หรือไฮดรอไลซีส และการเพิ่มขึ้นของปริมาณวานิลิน (vanillin) นอกเหนือจากปฏิกิริยาเหล่านี้แล้ว การเปลี่ยนแปลงทั่วไปของเมล็ดกาแฟจากการคั่วคือ การสูญเสียความชื้น การเปลี่ยนแปลงของสี ปริมาตร มวล รูปร่างเมล็ด pH ความหนาแน่น และสารประกอบให้กลิ่นรส และการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในระหว่างการคั่ว

การทำให้เย็นอย่างรวดเร็วภายหลังการคั่วเพื่อหยุดปฏิกิริยาคายความร้อนและป้องกันระดับการคั่วมากเกินไป จากนั้นจึงนำกาแฟคั่วทำการบดละเอียดด้วยเครื่องบด บรรจุและขนส่งเพื่อจำหน่ายต่อไป

ในกรณีที่ต้องการนำไปใช้ผลิตกาแฟสำเร็จรูป จำเป็นต้องมีขั้นตอนเพิ่มเติมหลังจากขั้นตอนคั่วและบด คือ การสกัด (extraction) ของแข็งที่ละลายได้ (soluble solid) และสารประกอบให้กลิ่นซึ่งให้กลิ่นรสและอะโรมา (aroma) จะถูกสกัดจากเมล็ดกาแฟด้วยน้ำร้อน น้ำร้อนจะมีอุณหภูมิประมาณ 175 องศาเซลเซียสภายใต้สภาวะความความดัน (เพื่อป้องกันของเหลวระเหยกลายเป็นไอ) ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมมีทั้งการสกัดแบบกะ (batch) และแบบต่อเนื่อง เมื่อสกัดสารจากกาแฟบดแล้วจึงทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการระเหย (evaporation) หรือการทำให้เข้มข้นด้วยการแช่เยือกแข็ง (freeze concentration) จากนั้นจึงทำแห้งด้วยวิธีวิธีการระเหิดแห้ง (freeze drying) หรือการแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) โดยวิธีการแรกจะช่วยลดการเปลี่ยนแปลงของสารอะโรมาจากความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าเนื่องจากน้ำจะระเหิดภายในสภาวะสุญญากาศ ในขณะที่วิธีการแห้งแบบพ่นฝอย ตัวอย่างอาหารจะสัมผัสกับลมร้อนที่อุณหภูมิระหว่าง 200-300 องศาเซลเซียส คุณภาพของผลิตภัณฑ์กาแฟสำเร็จรูปจะขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น เมล็ดกาแฟ ระยะเวลาการเก็บ กระบวนการหมัก การคั่ว การสกัด และบรรจุภัณฑ์

2.4 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดกาแฟ

เมล็ดกาแฟมีองค์ประกอบทางเคมีดังตารางที่ 2.1 คาแฟอีน (caffeine) เป็นองค์ประกอบทางเคมีที่คนส่วนใหญ่รู้จักมีปริมาณ 0.8-1.4 และ 1.7-4.0% ในกาแฟอะราบิก้าและโรบัสต้า ตามลำดับ นอกจากนั้นเมล็ดกาแฟสดมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่หลากหลาย เช่น เซลลูโลส (cellulose) แร่ธาตุ (mineral) น้ำตาล (sugar) ไขมัน (lipid) แทนนิน (tannin) และพอลีฟีนอล (polyphenol) แร่ธาตุที่พบ เช่น โพแทสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม โซเดียม เหล็ก แมงกานีส รูบิเดียม สังกะสี ทองแดง สทรอนทินัม และโครเมียม เป็นต้น น้ำตาลที่ตรวจพบ เช่น ซูโครส กลูโคส ฟรุกโทส อะราบิโนส และแมนโนส เป็นต้น ชนิดของกรดอะมิโนที่พบ เช่น อะลานีน อาร์จินีน แอสพาราจีน เป็นต้น นอกจากนั้นเมล็ดกาแฟสดยังพบวิตามินบีรวม ไนอะซิน (niacin or vitamin B3) และกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) ประมาณ 3-5 เท่าของปริมาณคาแฟอีน องค์ประกอบเหล่านี้จะเปลี่ยนแปลงปริมาณได้ตามกระบวนการคั่ว เนื่องจากความร้อนสามารถทำลายหรือเปลี่ยนโครงสร้างสารเหล่านี้ได้ ยกเว้นคาแฟอีนที่เป็นสารที่เสถียรภายใต้อุณหภูมิสูง

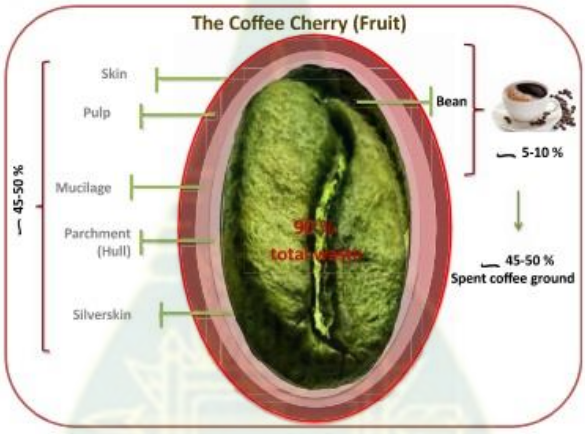
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดกาแฟสดไม่ผ่านการคั่ว

องค์ประกอบ	อะราบิก้า	โรบัสต้า	สารประกอบสำคัญ
สารประกอบไนโตรเจน	11-15		
กรดอะมิโนอิสระ	0.2-0.8		กรดกลูตามิก กรดแอสพาติก แอสพาราจีน
โปรตีน	8.5-12		
คาแฟอีน	0.8-1.4	1.7-4.0	
ไทรโกเนลีน (trigonelline)	0.6-1.2	0.3-0.9	
ลิพิด	15-18	8-12	
ไข	0.2-0.3		
น้ำมัน	7.7-17.7		
แร่ธาตุ	3-5.4		
กรดและฟีนอล			
กรดที่ระเหยได้	0.1		
กรดที่ไม่ระเหย	2-2.9	1.3-2.2	กรดซิตริก กรดมาลิก
กรดคลอโรจีนิ	6.7-9.2	7.1-12.1	โมโน-, ไดคาฟีลิล- และ เฟอรูอิลควินิกแอซิด (mono-, dicaffeoyl-, and feruloylquinic acid)
ลิกนิน	1-3		
คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้	9-12.5	6-11.5	
มอโนแซคคาไรด์	0.2-0.5		กลูโคส ฟรุกโทส อะราบิโนส
โอลิโกแซคคาไรด์	6-9	3-7	ซูโครส ราฟฟิโนส สตาชิโอส
พอลิโกแซคคาไรด์	3-4		
พอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำ	46-53	34-44	
เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)	5-10	3-4	
เซลลูโลส แมนแนน	41-43	32-40	

ที่มา: Mussatto et al. (2011)

2.5 กากกาแฟวัสดุเหลือใช้จากการผลิตกาแฟ

ส่วนต่างๆ ที่เป็นวัสดุเหลือใช้จากผลกาแฟแสดงดังภาพที่ 2.2 ของเหลือใช้ที่สำคัญคือ เยื่อหุ้มเมล็ด และกากกาแฟ (ภาพที่ 2.3) กากกาแฟเป็นของเหลือที่อนุภาคขนาดเล็ก มีความชื้นสูง (ประมาณ 80-85%) มีความเป็นกรด และได้จากกระบวนการสกัดผงกาแฟคั่วด้วยน้ำร้อนหรือไอน้ำในอุตสาหกรรมการทำกาแฟสำเร็จรูปหรือการเตรียมกาแฟสดตามร้านกาแฟ เนื่องจากประมาณ 50% ของการผลิตกาแฟคือการเตรียมสารสกัดจากกาแฟหรือการผลิตกาแฟสำเร็จรูป ดังนั้นกากกาแฟจึงเป็นของเหลือที่มีปริมาณสูงมาก ประมาณการณ์ว่ามีกากกาแฟเหลือประมาณ 6 ล้านตันต่อปี โดยมีการคาดคะเนว่าทุกๆ 1 ตันของเมล็ดกาแฟสดจะได้กากกาแฟประมาณ 650 กิโลกรัม และทุกๆ การผลิต 1 กิโลกรัมของสารสะลายกาแฟจะได้กากกาแฟ 2 กิโลกรัม



ภาพที่ 2.2 ของเหลือทิ้งจากผลกาแฟ

ที่มา: Compos-Vega et al. (2015)

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.3 วัสดุเหลือใช้จากผลกาแฟ (ก) ลักษณะปรากฏของเยื่อหุ้มเมล็ด และ (ข) กากกาแฟ

ที่มา: Mussatto et al. (2011)

2.6 การใช้ประโยชน์จากกากกาแฟ

เนื่องจากกากกาแฟมีสารอินทรีย์ โดยเฉพาะคาแฟอีน แทนนิน และพอลีฟีนอลทำให้จัดเป็นของเหลือทิ้งที่เป็นพิษโดยธรรมชาติ ปัจจุบันจึงมีความพยายามลดความเป็นพิษของกากกาแฟก่อนกำจัดหรือทดลองนำกากกาแฟมาใช้ประโยชน์ เช่น การใช้เชื้อฟังไจ *Penicilium, Neurospora* และ *Mucor* เพื่อปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลออกจากโครงสร้างกากกาแฟเพื่อลดความเป็นพิษของกากกาแฟลง การใช้กากกาแฟเป็นเชื้อเพลิงในอุตสาหกรรมที่ใช้หม้อต้มเนื่องจากกากกาแฟให้พลังงานความร้อนสูงประมาณ 5,000 kcal/kg แต่ปัญหาก็คือการก่อมลพิษทางอากาศ, การใช้กากกาแฟเป็นอาหารสัตว์สำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminant) หมู ไก่ และกระต่าย แต่ข้อจำกัดคือกากกาแฟมีปริมาณของลิกนิน (lignin) สูง (ประมาณ 25%) การใช้กากกาแฟเพื่อผลิตไบโอดีเซล (biodiesel) และการนำกากกาแฟใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มฟังไจ เนื่องจากมีปริมาณโปรตีนและความชื้นสูง Murthy and Naida (2012a) รายงานการใช้กากกาแฟเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการผลิตเอนไซม์ไซลาเนส (xylanase) จากเชื้อ *Penicillium* sp. หรือมีรายงานการใช้กากกาแฟที่ผ่านการย่อยสลายด้วยกรดเพื่อใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Mussatto et al., 2011)

Esquivel and Jiménez (2012) กล่าวว่าการวิจัยโดยส่วนใหญ่ในกากกาแฟจะมุ่งเน้นศึกษาสารที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน เนื่องจากเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และพบปริมาณสูง อนุมูลอิสระ หมายถึงสารซึ่งมีอิเล็กตรอนซึ่งไม่มีคู่อยู่ในวงรอบของอะตอมหรือโมเลกุล อนุมูลอิสระมีผลต่อสุขภาพโดยก่ออันตรายต่อโมเลกุลขนาดใหญ่ในร่างกาย เช่น ไขมัน (โดยเฉพาะสารประกอบลิโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ: LDL) โปรตีน สารพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เซลล์เสื่อมสภาพ เหนี่ยวนำให้เซลล์ปกติเกิดการอักเสบ (inflammation) และเพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคความจำเสื่อมหรืออัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) โรคไขข้ออักเสบ โรคเบาหวาน โรครูมาตอยด์ โรคความแก่ และโรคมะเร็งบางชนิด ในขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชัน คือ สารที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจากอนุมูลอิสระได้ เป็นสารทนต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในเซลล์และพบได้ในธรรมชาติ เช่น สารประกอบฟีนอล สารประกอบไนโตรเจน และแคโรทีนอยด์ (carotenoids) สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบ เช่น การจับอนุมูลอิสระโดยตรง (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของโมเลกุลออกซิเจนที่ไม่มีอนุมูลหรืออิเลคตรอนเดี่ยว (singlet oxygen quenching), การยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระโดยเข้าจับกับโลหะ (metal chelation) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาที่สร้างอนุมูลอิสระ

ชุติมณฑน์ พลอยประดับ และคณะ (2553) ได้ศึกษาปริมาณสารที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในกากกาแฟที่ได้จากร้านกาแฟในจังหวัดเชียงราย ประเทศไทย พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด 0.36-

0.42% (ในรูป % gallic acid) และค่า DPPH เป็น 250 mmol trolox/100 g ซึ่งปริมาณน้อยกว่าปริมาณในเมล็ดกาแฟประมาณ 3 และ 2.3 เท่า ตามลำดับ Xu et al. (2015) ได้ระบุชนิดสารที่พบในสารสกัดจากกากกาแฟ คือ 3-caffeoylquinic acid (CQA), 4-CQA และ 5-CQA สอดคล้องกับรายงานของ Monente et al. (2015) พบ 3-CQA, 4-CQA, 5-CQA, dicaffeoylquinic, caffeic, ferulic, p-coumaric, sinapic และ 4-hydroxybenzoic acids ในสารสกัดจากกากกาแฟ อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานระบุชนิดสารในสารสกัดจากกากกาแฟที่ผ่านวิธีการแปรรูปแล้ว

2.7 การทดสอบฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในเซลล์

การเพาะเลี้ยงเซลล์ หมายถึง การรักษาสภาพการมีชีวิต การเจริญ และพัฒนาการของเซลล์สัตว์ในอาหารเลี้ยงเซลล์ที่เหมาะสม เพื่อใช้ศึกษากระบวนการต่างๆ ของเซลล์ที่ปลอดจากการรบกวนจากปัจจัยต่างๆ ที่เกิดขึ้นในสัตว์ที่มีชีวิต

การทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์ (cell viability) หรือการทดสอบความพิษต่อเซลล์ (cytotoxicity) นิยมใช้ในการคัดเลือก (screening) หรือศึกษาความเป็นพิษของสารเคมีที่สนใจ เช่น ยา และสารสกัดจากธรรมชาติ เป็นต้น หรือใช้ทดสอบความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์หลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิระ หรือ reactive oxygen species (ROS) ขึ้นในเซลล์ แล้วทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่อาจลดการตายของเซลล์เนื่องจากภาวะเครียดจากออกซิเดชันได้ โดยการนำนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (viable cell) หรือ เซลล์ที่ตายไป (dead cell) หรือใช้วิธีการติดตามการทำงานของไมโทคอนเดรียและคำนวณเซลล์ที่มีชีวิตเป็นค่าร้อยละของความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability) ซึ่งวิธีที่นิยมทดสอบ คือ MTT reduction assay

นอกจากค่า % cell viability อาจรายงานผลเป็นค่า half maximal inhibitory concentration (IC50) ได้ โดย IC50 คือ การวัดความสามารถของสารเคมีที่สนใจในการยับยั้งกิจกรรมทางชีวภาพ หรือการทำงานของชีวเคมีภายในเซลล์ ค่า IC50 เป็นค่าการวัดเชิงปริมาณที่บ่งชี้ความเข้มข้นของสารเคมีใดๆ ที่สามารถยับยั้งการทำงานของเซลล์ลงไปร้อยละ 50 ทั้งนี้สามารถใช้รายงานผลทดสอบสารเคมีต่อการมีชีวิตของเซลล์ หรือรายงานผลประสิทธิภาพของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น การวัดปริมาณอนุมูลอิสระภายในเซลล์ที่ไม่มีสารทดสอบ (คิดเป็นร้อยละ 100) สภาวะที่ไม่มีสารทดสอบ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสารทดสอบจะมีผลทำให้ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระจะค่อยๆ ลดลงตามลำดับ จนถึง ณ ความเข้มข้นของสารทดสอบที่ทำให้ปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระวัดได้เหลือร้อยละ 50 (จากค่าเริ่มต้น) ค่าความเข้มข้นนั่นคือ IC50

ในปัจจุบันการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในเซลล์นิยมใช้วิธี 2’-7’dichlorofluorescin diacetate (DCFH-DA) assay หรือ 2’-7’dichlorofluorescein (DCF) assay เนื่องจากเป็นค่าที่ตรวจวัดปริมาณ ROS หรือการเกิดความเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) ภายในเซลล์ได้ โดยสาร DCFH-DA

เป็นสารไม่เรืองแสง (non-fluorescent) และสามารถผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้ ซึ่งเมื่อผ่านเข้าสู่ภายในเซลล์แล้ว DCFH-DA จะถูกย่อยด้วยเอนไซม์เอสเทอเรสภายในเซลล์ (cellular esterase) ได้เป็นสาร DCFH ซึ่งไม่เรืองแสงเช่นเดียวกัน แต่หากภายในเซลล์มีอนุมูลอิสาระ ROS จะทำปฏิกิริยากับ DCFH ได้เป็นสารเรืองแสงที่ตรวจวัดได้ คือ 2’-7’dichlorofluorescein (DCF) ดังนั้นวิธีการนี้จึงเป็นการวัดฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในเซลล์ได้โดยตรง