

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 กาแฟอาราบิก้า (*Coffea arabica* L.)

กาแฟอาราบิก้า คือ พืชเครื่องดื่มที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของโลกชนิดหนึ่ง การแฟมีลักษณะลำต้นตั้งตรง การเจริญเติบโตจะไม่แตกกิ่งแต่มีใบแตกกิ่งออกตรงข้อตรงข้ามกันเป็นคู่ๆ ต่อมามีเมื่อเจริญเติบโตขึ้นมีการแตกกิ่งออกจากลำต้นในลักษณะที่แยกออกจากกันเป็นคู่ๆ ดอกจะมีสีขาว มีกลิ่นหอมคล้ายดอกมะลิ รูปร่างคล้ายดาวมีก้านสั้นอยู่ร่วมกันเป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่จะออกดอกจากบริเวณข้อของกิ่งกาแฟ โดยลักษณะของใบจะออกตรงข้ออยู่ตรงข้ามเป็นคู่ๆ รูปร่างมีทั้งสีเหลืองผีเสื้า และรูปไข่ แตกต่างกันไปตามชนิดสายพันธุ์ ส่วนปลายใบของกาแฟจะมีคุณลักษณะเรียวแหลม ก้านใบอ่อนสั้น เมล็ดกาแฟมีรูปร่างค่อนข้างกลมรี ความยาวประมาณ 8.5-12.5 มิลลิเมตร ผลกาแฟเมื่อสุกเต็มที่จะนำมาปอกเปลือกและเนื้อทั้งหนึ่งผลมีเมล็ด 2 เมล็ดประกอบกันอยู่ (ประวีณาและสิรานี, 2557) สภาพแวดล้อมที่มีความสำคัญต่อการปลูกกาแฟอาราบิก้า เช่นความสูงของพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการให้คุณภาพกาแฟอาราบิก้าก้านควรจะเป็นพื้นที่สูงตั้งแต่ 1,000 เมตร ขึ้นไปเนื่องจากอากาศเย็นและอุณหภูมิเฉลี่ยที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 18-22 องศาเซลเซียส จะช่วยให้เมล็ดกาแฟเจริญเติบโตและพัฒนาสารอาหารที่พอดเพียงจนได้อายุพร้อมสำหรับการเก็บเกี่ยวที่ 8-9 เดือน นอกจากนี้สภาพดินที่ปลูกกาแฟควรเป็นดินที่สามารถระบายน้ำได้ดีและความเป็นกรด-ด่างดิน (pH) อยู่ระหว่าง 5.0 - 5.5 ปริมาณน้ำฝนควรอยู่ระหว่าง 1,500 - 1,800 มิลลิเมตรต่อปี ความชื้นสัมพัทธ์อยู่ระหว่างร้อยละ 70-80 และความลาดชันของพื้นที่ไม่เกิน 45 องศา เพราะต้องพิจารณาถึงระยะปลูกให้เหมาะสมกับความลาดชัน และการทำงานในสวนที่ง่ายและสะดวกของเกษตรกรด้วย พันธุ์กาแฟอาราบิก้าที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์คัร์ติมอร์ ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคราษฎร์ มีลักษณะต้นเตี้ย ข้อสั้น ให้ผลผลิตสูงและสม่ำเสมอ

2.2 องค์ประกอบของเมล็ดกาแฟดิบ

เมล็ดกาแฟดิบจะไม่มีกลิ่นกาแฟหรือมีจากลินเหมือนเช่น องค์ประกอบต่างๆ ในเมล็ดกาแฟดิบมีความสำคัญต่อการเกิดสารให้กลิ่นในกาแฟ ซึ่งองค์ประกอบของเมล็ดกาแฟที่สำคัญมีดังนี้

- คาเฟอีน (caffeine) คือ พิวรีน (purine) ที่สำคัญในการกาแฟดิบ ละลายน้ำได้น้อยมีรสขมเล็กน้อย ปริมาณคาเฟอีนโดยเฉลี่ยของสายพันธุ์อาราบิก้า คือ ร้อยละ 1.2 ส่วนสายพันธุ์โรบสต้า คือ ร้อยละ 2.2 ในกาแฟ 1 แก้ว (120-150 มิลลิลิตร) มีปริมาณคาเฟอีน 40-160 มิลลิกรัม (Clifford, 1985) ทำให้กระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง เพิ่มอัตราการสูบฉีดโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจ เมื่อผ่านความร้อนปริมาณคาเฟอีนจะลดลงเล็กน้อย (Belitz and Grosch, 1999)

- ไตรโโนนีลีน (trigonelline) ระดับของไตรโโนนีลีนในอาราบิก้าอยู่ที่ร้อยละ 0.6-1.3 ส่วนโรบสต้าอยู่ที่ร้อยละ 0.3-0.9 ปริมาณไตรโโนนีลีนลดลงเมื่อได้รับความร้อน เกิดสารระเหยจำพวกไฟฟิเด็น ไฟโรล และ ไนอะซิน (Clifford, 1985; Illy and Viani, 1996)

- กรดคลอโรเจนิก (chlorogenic acids) พ布ในอาราบิก้าร้อยละ 6-7 และโรบสต้าร้อยละ 10 มีรสขมและเปรี้ยว บรรยายลักษณะคล้าย Tannin มีความสำคัญคือถ่ายตัวเมื่อได้รับความร้อนกลายเป็นฟินอลและ Melanoidins (Belitz and Grosch, 1999)

- กรดอะมิโนและโปรตีน (amino acids and protein) กรดอะมิโนและโปรตีนมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมากเมื่อได้รับความร้อน เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดอะมิโนและโปรตีน ปริมาณของกรดอะมิโนโดยรวมลดลงร้อยละ 30 โดยชนิดที่ลดลงมากได้แก่ อาร์จีนีน กรดแอลสเปติก ซิสเทอิน อีสทีดีน ไลซีน เชอรีน ทรีโอนีน และเมโรโนนีน (Belitz and Grosch, 1999) การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของกรดอะมิโนเกิดเป็นสารระเหยที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน ลำดับของกรดอะมิโนมีอิทธิพลต่อการเกิดสารระเหยในกาแฟ อีกทั้งกรดอะมิโนทำปฏิกิริยา กับน้ำตาลรีดิวส์ เกิดปฏิกิริยาเมลาร์ด เกิดสารระเหย มีการปล่อยก้าชคาร์บอนไดออกไซด์ ส่วนโปรตีนเปลี่ยนโครงสร้างเกิดเป็น Melanoidins (Clifford, 1985)

- คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) คาร์โบไฮเดรตส่วนใหญ่ เช่น เซลลูโลสและโพลีแซ็คcharide ไม่ละลายน้ำ ระหว่างการให้ความร้อนองค์ประกอบของโพลีแซ็คcharide จะถลอกตัวเป็นองค์ประกอบที่เล็กลงและละลายน้ำได้ ซึ่ครอสพ์เป็นอัตราส่วนมากที่สุดในคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โดยพบในอาราบิก้ามากกว่าโรบัสต้า ถลอกตัวได้เกือบสมบูรณ์ระหว่างการให้ความร้อนจากปฏิกิริยาไฟโรไลซ์ของ คาร์โบไฮเดรต และปฏิกิริยาカラメลจะถลอกตัวเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดียวเกิดสารระเหยที่สำคัญคือ ฟูแรน ส่วนคาร์โบไฮเดรตเปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารที่ละลายน้ำได้และ Melanoidins (Belitz and Grosch, 1999)

2.3 องค์ประกอบของสารให้กลิ่นในกาแฟ

เมล็ดกาแฟดิบจะไม่มีกลิ่นกาแฟในตัวเอง การพัฒนาของกลิ่นกาแฟเกิดขึ้นในระหว่างการคั่ว ให้ความร้อนกับเมล็ดกาแฟดิบที่อุณหภูมิ 180-220 องศาเซลเซียส ปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสารให้กลิ่นคือ ปฏิกิริยาเมลาร์ดซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างน้ำตาลรีดิวส์และกรดอะมิโนหรือ เปปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ ทำให้เกิดการรวมตัวของโมเลกุลในโครงเจนและชัลเฟอร์เป็น Heterocyclic compounds เช่น ไฟโรล ไหโอฟิน ออกชาโซลและไหอะโซล ปฏิกิริยาカラเมล ไลเซนซึ่งเกิดการ ไฟโรไลซ์ของโมโน ได ไอโอลิโก และโพลีแซ็คcharide เกิดเป็นสารตัวกลางภายใต้ สภาวะที่สูญเสียน้ำ ทำให้เกิดเป็นสารโมเลกุลซับช้อน คือ สารประกอบカラเมลที่ละลายน้ำได (soluble caramel compounds) และปฏิกิริยาไฟโรไลซ์ ส่วนการเกิดสารอะโรมาติกในกาแฟ เกี่ยวข้องกับปริมาณของกรดอะมิโนอิสระและน้ำตาลรีดิวส์ พบว่า น้ำตาลกูลูโคส ซูโครสและ ฟรุกโตส ถลอกตัวไปร้อยละ 99 ระหว่างการคั่ว (Flament, 2002)

สารให้กลิ่นหอมของกาแฟ จำแนกตามโครงสร้างทางเคมีสารประกอบที่มีโครงสร้างรูปฟูแรนกระจายอยู่ในหลายกลุ่ม ซึ่งฟูแรนและอนุพันธ์ของฟูแรนเป็นกลุ่มที่มีความสำคัญที่สุดของกลิ่นกาแฟ นอกจากนี้จะเป็นสารประกอบคาร์บอนิล และสารประกอบ Heterocyclic เป็นต้นว่า ไฟราเซน ออกชาโซล ไหอะโซล ไหโอฟินและไฟโรล และในกาแฟยังมีสารประกอบที่มีในโครงเจนและสารประกอบที่มีชัลเฟอร์จำนวนมาก สารทั้งหมดที่อยู่ในกลุ่มเหล่านี้ให้กลิ่นสัมผัซึ่งเป็นสิ่งสำคัญมาก ของกลิ่นหอมกาแฟ นอกจากไฟราเซนยังมีสารประกอบที่สำคัญในกาแฟ เช่น Furfuryl mercaptan ให้กลิ่นหอมแรงช่วยให้กาแฟหอม กลิ่นชัลเฟอร์มีในการแพะบริสุทธิ์ในความเข้มข้นสูงจะให้กลิ่นคั่วและกลิ่นรมควันที่ดี สาร trans-2-Nonenal ให้กลิ่นไม้สด (fresh brewed woody) Cyclotene และ

Alkylcyclopentadione จะให้กลิ่นของการเมลแรงหรือกลิ่นน้ำตาลใหม่ Maltol และ 3-Methylbutanal จะให้กลิ่นหอมหวาน (จินตนา, 2535)

2.4 การคั่วกาแฟ

กาแฟเมล็ด หรือ Green beans นั้นต้องผ่านการคั่วเพื่อทำให้เกิดกลิ่นรสและลดปริมาณความชื้นของเมล็ดในขั้นตอนนี้สารประกอบที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำจะระเหยไปพร้อมกับน้ำ ช่วงการคั่วในระยะแรกจะเกิดปฏิกิริยาเมลาร์ดซึ่งกรดอะมิโน เปปไทด์ โนโนแซคคาไรด์ และสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน จะเปลี่ยนเป็นอัลดีไฮด์ คีโตน เอmine พูแรน และ ไฟราเซิน เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 220 องศาเซลเซียส จะเกิดปฏิกิริยาไฟโรไลซิส ทำให้สารแต่ละชนิดแตกตัวเกิดเป็นสารให้กลิ่นและมีการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้น้ำหนักเมล็ดลดลง เราสามารถตรวจสอบระดับการคั่วดูได้จากสีน้ำตาลที่เข้มขึ้นและดูจากน้ำหนักเมล็ดที่ลดลง ดังนี้

- การคั่วระดับต่ำ (light roast) น้ำหนักเมล็ดลดลงร้อยละ 3-5
- การคั่วระดับปานกลาง (medium roast) น้ำหนักเมล็ดลดลงร้อยละ 5-8
- การคั่วระดับมาก (dark roast) น้ำหนักเมล็ดลดลงร้อยละ 8-14

นอกจากนี้ยังมีการคั่วกาแฟแบบฝรั่งเศส (French roast) และอิตาลี (Italian roast) จะมีระดับการคั่วสูงที่สุดโดยที่น้ำหนักเมล็ดลดลงร้อยละ 18 และ 20 ตามลำดับ กาแฟที่ผ่านการคั่วที่นานขึ้นจะมีกลิ่นที่เข้มขึ้นและสามารถถอดกลิ่นที่ไม่ดีลงได้ โดยทั่วไปเมล็ดกาแฟที่มีคุณภาพต่ำและมีกลิ่นที่ไม่ดีต้องผ่านการคั่วที่นานขึ้น

Amorim *et al.* (1977) ศึกษา Polyamine ในกาแฟดิบและกาแฟคั่วสายพันธุ์ราบิก้าการคั่วจะทำให้ Polyamine ที่มีอยู่ในเมล็ดกาแฟถ่ายไปโดยเปลี่ยนไปเป็น Pyrrolidine ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นที่สำคัญในกาแฟ ส่วน Holscher *et al.* (1992) ศึกษาผลของการคั่วกาแฟต่อ Prenyl alcohol ซึ่งพบอยู่ในเมล็ดกาแฟดิบที่ยังไม่ได้ผ่านการคั่วประมาณ 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม การคั่วกาแฟจะทำให้ Prenyl alcohol เปลี่ยนเป็น 3-Methyl-2-butene-1-thiol, 3-Mercapto-3-methyl-butanol, 3-Mercapto-3-methyl butyl formate ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นฉุนของชั้ลเฟอร์ในกาแฟคั่ว

Tressl and Silwar (1981) ศึกษาการแยกสารสารประกอบชั้ลเฟอร์จากกาแฟคั่วพันธุ์ราบิก้าและโรบัสต้า พบร Mercaptans 23 ชนิด Disulfide และ Trisulfide ในกาแฟคั่ว ซึ่งจะให้กลิ่นฉุนของชั้ลเฟอร์ในกาแฟ

นอกจากนี้การคั่วยังทำให้เกิดกลิ่นدينได้โดย Czerny *et al.* (1996) ทำการศึกษาผลของการคั่วที่ทำให้เกิดกลิ่นدينในการกาแฟโรบัสต้าจากอินโดนีเซีย พบว่ากลิ่นدينที่ได้จากการคั่วน้ำจากสารในกลุ่มไฟราเซิน ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสกับอะลาニน ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าการคั่วกาแฟเป็นปัจจัยที่สำคัญที่จะทำให้เกิดสารให้กลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะในกาแฟรวมทั้งกำจัดกลิ่นที่ไม่ดีของกาแฟได้ด้วย

2.5 การชงกาแฟ

ปัจจัยอีกอย่างหนึ่งที่สำคัญต่อกลิ่นของกาแฟ คือ การชงกาแฟ กาแฟที่คั่วแล้วจะมีสารให้กลิ่นมากกว่า 700 ชนิด (Deibler *et al.*, 2004) เวลาที่ใช้ในการชง อุณหภูมิตลอดจนขนาดอนุภาค

ของการแฟกายหลังการบดจะมีผลต่อปริมาณสารให้กลิ่นของกาแฟ โดย Deibler *et al.* (2004) ศึกษาถึงวิธีการซงกาแฟทั้งวิธีซงแบบบรรดเร็วและการซงแบบดึงเดิน การซงแบบบรรดเร็วใช้การลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วร่วมกับการใช้สุญญากาศเพื่อเพิ่มอัตราการไหลของกาแฟ พบว่า การซงแบบบรรดเร็วจะยังคงรักษาปริมาณสารให้กลิ่นไว้ได้ ขณะที่การซงแบบดึงเดินจะมีปริมาณสารให้กลิ่นที่สูญเสียไปมากกว่าในช่วงการซง เนื่องมาจากการซงแบบบรรดเร็วมีการลดอุณหภูมิหลังการซงลงอย่างรวดเร็ว และมีการใช้สุญญากาศในการเพิ่มอัตราการไหลทำให้สามารถรักษาปริมาณของสารให้กลิ่นไว้ได้มากกว่าการซงแบบดึงเดิน ดังนั้นการเลือกวิธีการซงกาแฟจึงมีความสำคัญต่อสารให้กลิ่นในกาแฟ

2.6 กระบวนการเกิดสารประกอบพันธะเชื่อม (conjugated compounds)

ส่วนใหญ่ในอาหารจะเกิดขึ้นจากปฏิกิริยาการเกิดสารสีน้ำตาล (browning reactions) ที่ประกอบไปด้วยหลายปฏิกิริยาที่ซับซ้อนมากทั้งน้ำกับการเกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) (Gökmen and Şenyuva, 2006; Martins *et al.*, 2000; Yaylayan, 1997; Zamora and Hidalgo, 2005) ถึงแม้ว่าจะมีงานวิจัยที่ศึกษาถึงปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลหลายปฏิกิริยา ความสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาต่างๆ ยังไม่เป็นที่ศึกษา กันเท่าที่ควร ปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาที่คาดว่าจะเกิดขึ้นเมื่อสารสกัดกาแฟเขียวถูกกระทุนให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสารประกอบพันธะเชื่อม

1. ปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง Reducing carbohydrates และ Amino compounds ที่ไม่ใช้ออนไนซ์ กระบวนการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวถือได้ว่าเกิดจากปฏิกิริยาเกิน 100 ปฏิกิริยาที่ต้องเนื่องกันจนเกิดมาเป็น Maillard reaction products (MRPs) ถึงมีปริมาณกว่า 1,000 สารประกอบ โดยสามารถแบ่งปฏิกิริยาเมลลาร์ดออกได้เป็น 3 ระยะ ได้แก่ 1) ระยะเริ่มต้นที่เกิดการเชื่อมกันระหว่าง Reducing carbohydrates และ Amino compounds 2) ระยะกลางที่เกิดการเรียงตัวกันและการแตกตัวกันของสาร Amadori compounds เช่น Dehydration, Deamination และ Strecker degradation 3) ระยะสุดท้ายที่เกิดการเชื่อมกันของสารหลายชนิดจนเกิดเป็นสารสีน้ำตาลและสารที่มีกลิ่นเฉพาะตัว ผลกระทบจากการใช้แรงดัน (high pressure) และสนามไฟฟ้าแบบพลัฟฟ์ (pulse electric field) ได้ออกตัวโดย Moreno *et al.* (2003) แสดงให้เห็นว่าที่สภาวะด่างความดันสูงสามารถเร่งการเรียงตัวกันและการแตกตัวกันของสาร Amadori compounds เช่นเดียวกับสนามไฟฟ้าแบบพลัฟฟ์ที่ 30 kV/cm สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดได้ (Guan, Lin, *et al.*, 2010; Guan, Wang, *et al.*, 2010; Sun *et al.*, 2011)

สารตั้งต้นของ (reactant) ปฏิกิริยาเมลลาร์ดคือ Reducing carbohydrates และ Amino compounds เช่น กรดอะมิโน และน้ำตาล โดยระหว่างการเกิดปฏิกิริยาจะมีสารสารมัณฑร์ (intermediate) ที่สำคัญ เช่น 3 - Deoxyosuloses, 3 , 4 - Dideoxyosuloses-- enes, 3 Deoxyhexosulose (DH) และ 3,4-Dideoxyhexosuloses-3-ene (DDH) และเมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะมีสารผลิตภัณฑ์ (product) ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดเรียกว่า Maillard reaction products (MRPs) ที่เกิดขึ้นส่วนใหญ่ได้แก่ N-Fructoselysine (furosine), 5-Hydroxymethylfurfural (HMF), Acrylamide, Heterocyclic amines, Advanced glycation end products (AGEs) และ Melanoidins สารกลุ่มนี้ดังกล่าวมีทั้งข้อดีและข้อเสีย โดยจากการศึกษาของ Aljahdali and

Carbonero (2017) MRP_s ส่งผลเสียต่อร่างการจากเกิด Mutagenicity, Carcinogenicity, Cytotoxicity ที่อาจทำให้เกิด Metabolic diseases ในทางกลับกันสารกลุ่มดังกล่าวก็ยังมีประโยชน์ในด้านการต้านออกซิเดชัน (antioxidant), การต้านเชื้อจุลทรรศ์ (antimicrobial) และการลดความรุนแรงของสภาวะความดันสูง (antihypertensive properties) (Amarowicz, 2009) นอกจากนี้ MRP_s ยังเป็นสารให้กลิ่นสีสำคัญในอาหารอีกด้วย โดยสามารถสรุปลักษณะโดยทั่วไปของ MRP_s หลักได้ดังตารางที่ 2.1

2. Lipid Oxidation เกิดจากการสลายตัวของ Lipids โดยปฏิกิริยา Autoxidation จาก Free radical และ Hydroperoxides ผลลัพธ์จากปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถเกิดการเข้มตัวกันกับสารอื่นเกิดเป็นสารประกอบพันธะเข้มซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่อสี น้ำหนัก เนื้อสัมผัส กลิ่นสี และสารออกฤทธิ์สำคัญของอาหารได้ (Zamora and Hidalgo, 2005)

3. การสลายตัวของกรดคลอโรเจนิก (degradation of chlorogenic acid)

กรดคลอโรเจนิกจะเกิดการเปลี่ยนแปลงจากการของ 1) Epimerization 2) Acyl migration 3) Lactonisation และ 4) Dehydration ซึ่งจากการศึกษาของ Jaiswal *et al.* (2012) กรดคลอโรเจนิกจะถูกเข้มกับสาร Carbohydrates และ Proteins เกิดเป็นสารเฉพาะที่เป็นเอกลักษณ์สำคัญของสารที่เกิดจากคั่วของกาแฟ เช่น Chlorogenic acid acetates , O-phenolic quinoyl และ Shikimoyl esters

ตารางที่ 2.1 สารให้กลิ่นจาก MRP_s (Van Boekel, 2006)

Class of aroma compound	Associated aroma
Pyrazines	Cooked, Roasted, Toasted, Baked cereals
Alkylpyrazines	Nutty, Roasted coffee
Alkylpyridines	Green, Bitter, Astringent, Burnt coffee, Barley, Malt
Acylpyridines	Cracker-like cereal products
Pyrroles	Cereal-like cereals, Coffee
Furans, furanones, pyranones	Sweet, Burnt, Pungent, Caramel-like
Oxazoles	Green, Nutty, Sweet cocoa, Coffee, Meat
Thiofenes	Meaty

2.7 กากกาแฟ (spent coffee ground)

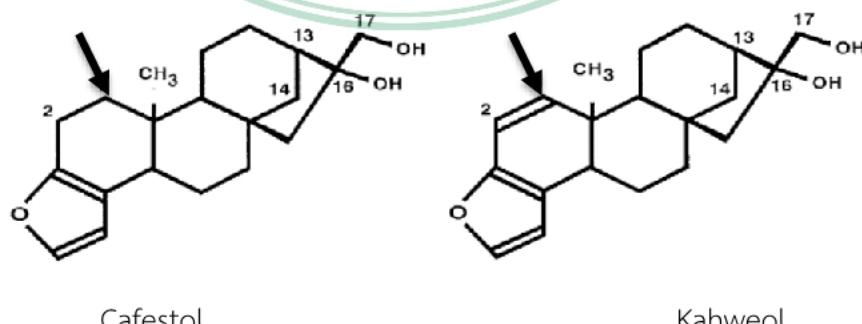
กากกาแฟมีสารสำคัญที่เป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณค่าของกากกาแฟ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตสารประกอบในโครงน้ำที่ไม่ใช่โปรตีน ไขมัน สารประกอบฟีโนอล แร่ธาตุ และกาแฟอีน เป็นต้น

- สารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต โดยปกติในเม็ดกาแฟดิบจะมีสารประกอบในกลุ่มของโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) เป็นหลักถึงประมาณร้อยละ 50 ซึ่งจะอยู่ในกลุ่มของmannans และกาแลคโตแมนแนน (galactomannans) อะราบินโกลาลاكتานส์ (arabinogalactans)

และ เชลลูโลส ซึ่งในกาแฟที่ได้จากการกระบวนการชงกาแฟจะมีสารประกอบที่เป็นน้ำตาลออยู่ค่อนข้างมาก เช่น น้ำตาลmannose (mannose) ร้อยละ 46.8 กาแลคโตส (galactose) ร้อยละ 30.4 กลูโคส (glucose) ร้อยละ 19 และอะราบิโนส (arabinose) ร้อยละ 3.8 (Mussatto *et al.*, 2011) และ Mussatto *et al.* (2012) ยังรายงานอีกว่ากาแฟสามารถใช้ได้ด้วยกรดซัลฟูริก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์ และทำการหมัก Ethanol ด้วยยีสต์ นอกจากนี้ยังพบว่า ในกาแฟที่มีสารmannooligosaccharides (mannooligosaccharides; MOS) ที่ประกอบไปด้วยmannonoïbos (mannobiose) mannonoïtrose (mannotriose) และmannonoïtetrose (mannotetraose) ซึ่ง Takao *et al.* (2006) ได้รายงานว่า เชื้อใบโพดแบคทีเรียในร่างกายมนุษย์สามารถใช้mannonoïbos เป็นอาหารในการเจริญเติบโตได้ ซึ่งจัดว่าเป็นพรีไบโอติกชนิดหนึ่ง

- สารในกลุ่มโปรตีน ในกาแฟที่มีโปรตีนประมาณร้อยละ 8.5-13.6 (Mussatto *et al.*, 2011) โดยพบว่ากรดอะมิโนในกาแฟมีปริมาณที่ใกล้เคียงกับถั่วเหลืองซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนจากธรรมชาติ โดยปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นบางตัวในกาแฟมีสูงกว่าในถั่วเหลือง เช่น ลิวเชิน วาลีน พินิโอล alanine และไอโซลิวเชิน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณ BCCA และ Fisher ratio สูงกว่าในถั่วเหลือง

- น้ำมันกาแฟ (spent coffee oil) ประกอบด้วยไตรอีซิกลีเซอรอล (triacylglycerol) และไดเทอร์พีนส์ (diterpenes) คิดเป็นร้อยละ 78 และ 15 ตามลำดับ (Barbosa *et al.*, 2014) ซึ่งไดเทอร์พีนส์เป็นสารประกอบที่มีประโยชน์ต่อระบบทางชีววิทยา ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลทรรศน์ เช่น *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Salmonella enterica*, และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น ในน้ำมันกาแฟพบไดเทอร์พีนส์ 2 ชนิดหลัก ตามลักษณะโครงสร้างไม่เลกุล คือ คาเฟสตอล (cafestol) และคาหิวออล (kahweol) ซึ่งสารทั้งสองนี้มีโครงสร้างที่แตกต่างกันตรงพันธุ์คุณระหว่างคาร์บอนตัวที่หนึ่งและคาร์บอนตัวที่สอง (ภาพที่ 2.1) โดยคาเฟสตอลจะพบได้ทั่วไปในกาแฟอาราบิก้าและโรบัสต้า ในขณะที่คาหิวออลจะพบในกาแฟอาราบิก้าเป็นส่วนใหญ่ คาเฟสตอลและคาหิวออลสามารถดูดกลืนและทําความยาวคลื่นแทกต่างกัน ได้แก่ 230 และ 290 นาโนเมตร ตามลำดับ (Benassi and Dias, 2015)



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของคาเฟสตอลและคาหิวออล
ที่มา : Cavin *et al.* (2002)

ไดเทอร์พีนส์ (diterpenes) เป็นไฮโดรคาร์บอนที่ประกอบด้วยเทอร์พีน 2 หน่วย และเป็นกลุ่มสารประกอบที่เกิดจากปฏิกิริยาพาโนนิฟิเคชัน (saponification) ของไขมันในกาแฟ พบเฉพาะในพืชตระกูลกาแฟเท่านั้น (Dias et al., 2013) โดยปริมาณไดเทอร์พีนส์จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของกาแฟ โดยไดเทอร์พีนส์ในน้ำมันที่ได้จากการแยกสายพันธุ์ราบีก้าประกอบด้วยคาเฟสตอลและคาห์วีออลคิดเป็นร้อยละ 26 และ 10 ตามลำดับ (Kurzrock and Speer, 2001) คาเฟสตอลและคาห์วีออลจัดเป็นสารประภาก Pentacyclic diterpenes ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่มีไอโซพริน (คาร์บอน 5 อะตอน) เพื่อรวมเป็นโครงสร้างของ Kaurane ที่มีคาร์บอน 20 อะตอน (Oliveira et al., 2014) สารประกอบเหล่านี้จะมีความคงตัวน้อยมากเมื่อนำมาทำเป็นสารบริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามสมบัติทางชีวภาพของสารเหล่านี้ก็ยังมีการศึกษาอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ คาเฟสตอลกับคาห์วีออลที่มีอยู่ในกาแฟยังมีสมบัติในด้านการยับยั้งการอักเสบ (anti-inflammatory) ยับยั้งจุลินทรีย์ (anti-microbial) และยับยั้งการสร้างไบโอดิฟิล์ม (anti-biofilm) อีกด้วย (Ashton et al., 2013) ซึ่งสายพันธุ์ของกาแฟ ระดับการคั่ว และปริมาณของคาเฟอีนที่เหลืออยู่ในกาแฟมีผลต่อการยับยั้งเชื้อ *Streptococcus mutans* โดยการยับยั้งจุลินทรีย์และการยับยั้งการสร้างไบโอดิฟิล์มมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของคาเฟสตอลกับคาห์วีออล (Antonio et al., 2010) ในปีที่ผ่านมาการวิเคราะห์สารไดเทอร์พีนส์ได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยสามารถลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดไบโอดิฟิล์มในช่องปากได้ ซึ่งปริมาณไดเทอร์พีนส์มีความผันแปรตามความแตกต่างของวิธีการในการชงกาแฟ มีการใช้ไดเทอร์พีนส์เป็นตัวแยกสายพันธุ์ของกาแฟในผลิตภัณฑ์เชิงพาณิชย์ และยังมีการให้ความสนใจในการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการกำจัดของสารเคมี (metabolic pathways) ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสังเคราะห์ไดเทอร์พีนส์ในเนื้อเยื่อพืช (Wang et al., 2012) ซึ่งการวิเคราะห์ไดเทอร์พีนส์จะใช้วิธี High performance liquid chromatography (HPLC) ซึ่งเป็นวิธีที่มีความสะดวก มีประสิทธิภาพรวดเร็ว และประหยัดต้นทุน (Silva et al., 2012)

วิธีการสกัดมีความสำคัญต่อคุณภาพและปริมาณของสารไดเทอร์พีนส์ในน้ำมันกาแฟ ซึ่งวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมที่ใช้ในการสกัดกาแฟคือ การสกัดด้วยชุดกลั่นโซห์เลต (soxhlet extraction, SOX) ซึ่งมีการใช้สารละลายน้ำมัน เช่น n-Hexane เป็นตัวทำละลายในการสกัด โดยใช้อุณหภูมิสูง เวลานาน และเป็นวิธีการสกัดที่ง่ายแต่สิ้นเปลืองตัวทำละลาย (ชุตimaและสนธยา, 2555) เนื่องจากหากต้องการสกัดตัวอย่างในปริมาณที่มากขึ้นก็จะต้องใช้ตัวทำละลายมากขึ้น เช่นกัน และการสกัดด้วยวิธีนี้เป็นการใช้ความร้อนจึงอาจทำให้สารสำคัญบางชนิดสลายตัวได้ เช่น สารประกอบฟีนอล กรดคลอโรเจนิก และเทอร์พีน เป็นต้น (Campos-Vega et al., 2015) แต่ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาการสกัดวิธีใหม่ที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นที่นิยม เนื่องจากง่ายต่อการแยกตัวทำละลายออกเมื่อสกัดเสร็จสมบูรณ์คือ การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤตยิ่งยอด (supercritical carbon dioxide extraction, SC-CO₂) ซึ่งเป็นวิธีการสกัดประเภทหนึ่งที่ใช้สกัดสารประเภทยาหรือสารประกอบที่เสื่อมสภาพได้ง่ายด้วยความร้อน ซึ่งการสกัดจะกำหนดสภาวะของคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ในสภาวะของเหลวยิ่งยอด ($T_C = 31.1$ องศาเซลเซียส และ $P_C = 73.8$ บาร์) ด้วยสมบัติของกําชคาร์บอนไดออกไซด์ที่ถูกบีบอัดให้เป็นของเหลวเหมือนน้ำและการไหลเมื่อนอกอากาศ ทำให้สามารถแทรกเข้าไปในเนื้อวัตถุดิบที่ต้องการทำการสกัดได้ (Sahena et al., 2009) โดย

งานวิจัยของ Couto *et al.* (2009) ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากกาเกแฟโดยวิธี SC-CO₂ ที่สภาวะอุณหภูมิและความดันที่แตกต่างกัน ได้แก่ อุณหภูมิ 40-90 องศาเซลเซียส และความดัน 15-30 เมกะปascal เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของปัจจัยในกระบวนการสกัดและองค์ประกอบที่สำคัญของน้ำมัน จากผลการทดลองพบว่า สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความดัน 20 เมกะปascal สามารถสกัดน้ำมันได้มากที่สุดถึงร้อยละ 19.4 หลังจากการสกัดได้ 3 ชั่วโมง และทำการสกัดด้วยวิธี Soxhlet เพื่อเปรียบเทียบปริมาณของน้ำมันที่สกัดได้ ซึ่งสภาวะการสกัดด้วยวิธีนี้คืออุณหภูมิ 69 องศาเซลเซียส และสกัดด้วยสารละลาย n-Hexane พบว่า สามารถสกัดน้ำมันได้ร้อยละ 18.3 ของปริมาณกาเกแฟ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าวิธีการสกัดที่ดีที่สุดและได้รับปริมาณน้ำมันกาเกแฟ (yield) มากที่สุดคือ การสกัดด้วยวิธี SC-CO₂ ในขณะที่ Barbosa *et al.* (2014) ได้ศึกษาเรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดกาเกแฟด้วยวิธี SC-CO₂ โดยเน้นเฉพาะการเพิ่มปริมาณและคุณภาพของสารไดเทอร์พินส์ในน้ำมันกาเกแฟ เช่น Kahweol, Cafestol และ 16-O-Methylcafestol มีปัจจัยที่เกี่ยวข้อง 3 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส ความดัน 14-19 เมกะปascal และการใช้ตัวทำละลายช่วยในการสกัด (cosolvent) คือ เอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-5 จากผลการทดลองพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันกาเกแฟ (yield) มากที่สุดคือ สภาวะการสกัดที่ใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ความดัน 19 เมกะปascal และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 5 ทำให้ได้น้ำมันกาเกแฟร้อยละ 11.97 ของปริมาณกาเกแฟ ส่วนปริมาณของไดเทอร์พินส์ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี SC-CO₂ พบว่า สภาวะการสกัดที่ดีที่สุดอยู่ที่สภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และความดัน 14 เมกะปascal โดยไม่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายช่วยในการสกัด (cosolvent) มีปริมาณไดเทอร์พินส์ในน้ำมันกาเกแฟคิดเป็นร้อยละ 0.10 แต่ที่สภาวะนี้สามารถสกัดน้ำมันกาเกแฟได้เที่ยงร้อยละ 4.61 ของปริมาณกาเกแฟเท่านั้น

นอกจาก 2 วิธีที่กล่าวมาข้างต้น ยังมีอีกวิธีหนึ่งที่น่าจะสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ การสกัดแบบต้มกลัน (hydrodistillation) ซึ่งวิธีนี้เป็นวิธีที่สามารถสกัดน้ำมันที่เป็นสารประเภทไฮโดรคาร์บอนและเทอร์พิน (Djilani and Dicko, 2012) โดยงานวิจัยของ Chun *et al.* (2015) ได้ศึกษาการเปรียบเทียบน้ำมันหอมระ夷ที่ได้จาก *Lonicera macranthoides* ที่ผ่านกระบวนการสกัดที่แตกต่างกัน คือ การสกัดแบบอัลตราซาวนด์ (ultrasound) การสกัดแบบไมโครเวฟ (microwave) การสกัดแบบซอกห์เลต (soxhlet) การสกัดแบบต้มกลัน (hydrodistillation) และการสกัดแบบหมักเย็น (cold maceration) ซึ่งพบว่า การสกัดแบบต้มกลัน (hydrodistillation) เป็นวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากวิธีนี้สามารถสกัดน้ำมันหอมระ夷ประเภท Volatile compounds สารประกอบอะโรมาติก (aromatic) และเทอร์พิน (terpene) ได้มากที่สุดถึงร้อยละ 99.98, 41.86 และ 15.70 ตามลำดับ ซึ่งการสกัดแบบต้มกลันนี้เป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนต่ำ เนื่องจากใช้น้ำในการสกัด สารที่ได้ก็จะมีความบริสุทธิ์และไม่เป็นมลพิษกับสิ่งแวดล้อม

2.8 ไอโซฟลาโวน (isoflavones)

เป็นสารอินทรีย์จำพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoids) พบได้ในพืชหลายชนิดโดยเฉพาะในถั่วเหลืองและอาหารที่ประกอบด้วยถั่วเหลือง เป็นสารที่มีโครงสร้างและบทบาทคล้ายเอสโตรเจน ซึ่งเป็นฮอร์โมนเพศหญิง ซึ่งมีผลในการลดอาการร้อนวูบวาบ เนื่องจากภาวะหมดประจำเดือน และมี

สมบัตในการช่วยป้องกันโรคมะเร็งบางชนิด โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคกระดูกพรุน (Murphy et al., 2002; Messina, 1999) สารไอโซฟลาโนนในถั่วเหลืองและถั่วเหลืองหมัก มีโครงสร้างทางเคมี หลากหลายรูปแบบ โดยมีโครงสร้างหลักแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ โครงสร้างชนิดของไกลโคน (aglycones) ได้แก่ ไดซีอิน (daidzein) เจนิสทีอิน (genistein) และไกลซิทีอิน (glycitein) เป็นต้น และโครงสร้าง แบบกลูโคไซด์ (glucosides) เช่น ไดซิน (daidzin) เจนิสทิน (genistin) และไกลซิติน (glycitin) เป็น ต้น ดังภาพที่ 2.2

Agllycones		R_1	R_2	Compound
	H	H	Daidzein	
	OH	H	Genistein	
	H	OCH ₃	Glycitein	
Glucosides				Compound
	H	H	H	Daidzin
	OH	H	H	Genistin
	H	OCH ₃	H	Glycitin
	H	H	COCH ₃	Acetyl daidzin
	OH	H	COCH ₃	Acetyl genistin
	H	OCH ₃	COCH ₃	Acetyl glycitin
	H	H	COCH ₃ COOH	Malonyl daidzin
	OH	H	COCH ₃ COOH	Malonyl genistin
			COCH ₂ COOH	Malonyl glycitin

ภาพที่ 2.2 ลักษณะโครงสร้างของไอโซฟลาโนนชนิดต่างๆ (Shimoni, 2004)

ลักษณะโครงสร้างหลักของไอโซฟลาโนนประกอบไปด้วยวงแหวนเบนซีน 2 วง เชื่อมด้วยวงแหวน คาร์บอนชนิด Heterocyclic pyrane สำหรับเมตาabolิซึมของไอโซฟลาโนน พบว่า ส่วนของ Glycosidic conjugates ซึ่งเป็นส่วนที่ละลายน้ำได้ดีนั้น จะต้องถูกย่อยด้วยเอนไซม์เพื่อตัดส่วนที่เป็น กลุ่มของน้ำตาลออกไปด้วยเอนไซม์ Glucosidases ในขั้นตอนการถูกดูดซึมไอโซฟลาโนนเข้าสู่ร่างกาย ไดซีอินจะถูกเมtabolize เป็น Isoflavonoides equol, Dihydrodaidzein และ O-Desmethylangolensin ส่วนเจนิสทีอินจะถูกเมtabolize เป็น Dihydrogenistein และ 6-hydroxy-O-desmethylangolensin เนื่องจากไอโซฟลาโนนมีลักษณะคล้ายกับเอสโตรเจน จึง สามารถจับกับ Estrogen receptors จึงเป็นที่รู้จักกันว่า ไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) (Sarkar and Li, 2003)

ปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโนนในผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับตัววัตถุดิบของถั่วเหลือง กระบวนการผลิตการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยถั่วเหลืองที่มีความแตกต่างในแหล่งที่ปลูก พันธุ์ถั่ว เหลืองและช่วงเวลาที่ทำการเพาะปลูกจะส่งผลต่อปริมาณและชนิดของไอโซฟลาโนน (Hoeck et al., 2000) ซึ่งจากการศึกษาพบว่า โครงสร้างชนิดของไกลโคน สามารถถูกดูดซึมผ่านทางระบบทางเดินอาหารใน ร่างกายได้อย่างรวดเร็ว (Setchelle, 2000) และจากการวิเคราะห์ปริมาณไอโซฟลาโนนในอาหาร ที่ผ่านกระบวนการหมัก พบว่า ไดซีอิน เจนิสทีอิน และไกลซิทีอิน ซึ่งมีโครงสร้างชนิดของไกลโคน

มีปริมาณมากขึ้น จึงทำให้โครงสร้างชนิดนี้เป็นไอโซฟลาโวนที่ได้รับความสนใจมากกว่าในโครงสร้างชนิดอื่นๆ

นอกจากนี้ ไอโซฟลาโวนกลูโคไซด์ เป็นชนิดที่พบได้ในเม็ดถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการหมักโดยคิดเป็นร้อยละ 80-95 ของปริมาณไอโซฟลาโวนทั้งหมด แต่เมื่อทำการหมัก พบว่า ปริมาณของกลูโคไซด์จะลดลง และเกิดไอโซเมอร์ชนิดอะไกลโคนเพิ่มมากขึ้น โดยพบว่า ไดซิอินและเจนิสทิอินเป็นไอโซเมอร์ที่พบในปริมาณที่สูง และเป็นสัดส่วนหลักของปริมาณอะไกลโคนทั้งหมด (Anderson and Wolf, 1995)

2.9 บทบาทของไอโซฟลาโวนต่อสุขภาพ

มีงานวิจัยกล่าวว่าสารไอโซฟลาโวนสามารถช่วยลดความเสี่ยงโรคหัวใจเส้นเลือดสมองตีบ ลดความเสี่ยงมะเร็งเต้านมโดยการยับยั้งการทำงานของฮอร์โมนเอสโตรเจนในคน ป้องกันกระดูกพรุน โดยการกระตุ้นการสร้างกระดูกและยับยั้งการสลายของเนื้อกระดูกและลดอาการไม่พึงประสงค์ของหญิงวัยหมดประจำเดือน และลดความเสี่ยงมะเร็งต่อมลูกหมากในผู้ชายวัยสูงอายุ (Murphy *et al.*, 2002; Messina, 1999)

- การป้องกันโรคหัวใจ

หญิงวัยเจริญพันธุ์มีความเสี่ยงต่อโรคหัวใจน้อยกว่าผู้ชาย แต่หลังจากหมดประจำเดือนความเสี่ยงของทั้งสองเพศนั้นในอายุใกล้เคียงกันเท่าๆ กัน (American Heart Association, 1997) การใช้ฮอร์โมนทดแทน (hormone replacement therapy; HRT) จะช่วยให้หญิงวัยสูงอายุควบคุมระดับแอลดีแอลコレสเทโรลและลดความเสี่ยงโรคหลอดเลือดหัวใจได้ และมีงานวิจัยของ Anderson and Wolf (1995) สนับสนุนว่าการบริโภคโปรตีนถั่วเหลืองมีผลในการลดคอเลสเทโรล และยังมีงานวิจัยอื่นพบว่า สารเจนิสทินในถั่วเหลืองเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพหัวใจ (Anthony *et al.*, 1996) ไอโซฟลาโวนมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันจึงป้องกันหลอดเลือดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลดีแอลコレสเทโรล จึงช่วยลดปริมาณคอเลสเทโรล ขณะเดียวกันยังเพิ่มปริมาณเอชดีแอล (high density lipo protein; HDL) ซึ่งเป็นคอเลสเทโรลตัวที่ดี สารไฟโตเอสโตรเจนในถั่วเหลืองยับยั้งปฏิกิริยาไฟโตออกซิเดชันของแอลดีแอลコレสเทโรล ป้องกันการแข็งตัวของเลือดตามผนังหลอดเลือดซึ่งเป็นสาเหตุของโรคหัวใจ นอกจากนี้สารสำคัญในถั่วเหลืองยังช่วยในการทำให้หลอดเลือดยืดหยุ่นด้วย

- ช่วยควบคุมระบบฮอร์โมนในหญิงวัยหมดประจำเดือน

ในช่วงก่อนหมดประจำเดือนผู้หญิงจะมีระดับเอสโตรเจนในเลือดแปรปรวน ซึ่งนอกจากจะเพิ่มความเสี่ยงโรคหัวใจและกระดูกพรุนในผู้หญิง (American Heart Association, 1997) แล้วยังทำให้เกิดอาการร้ายทาง เช่น ร้อนวูบวาบ เหื่องออกกลางคืน นอนไม่หลับ ปวดศีรษะ หรือซ่องคลอต แห้ง สารไฟโตเอสโตรเจนในถั่วเหลืองในรูปไอโซฟลาโวนคือ เจนนิสทินและไดซินมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอ่อนๆ ต่อสัตว์และมนุษย์ (Knight *et al.*, 1996) จึงเป็นที่สนใจต่อนักวิจัยในการมองหาทางเลือกที่จะช่วยลดปัญหาสุขภาพในหญิงวัยหมดประจำเดือน มีงานวิจัยกล่าวว่า การบริโภคไอโซฟลาโวนจากถั่วเหลืองในหญิงก่อนหมดประจำเดือน ช่วยลดการมีประจำเดือนและมีผลด้าน

ฤทธิ์เอสโตรเจน การวิจัยเปรียบเทียบในหญิงวัยทองพบว่าไอโซฟลาโวนในอาหารสามารถเป็นตัวเสริมและต่อต้านฤทธิ์ของเอสโตรเจนได้อย่างอ่อนๆ ขึ้นอยู่กับปริมาณตัวรับเอสโตรเจนในเซลล์

Dalais *et al.* (1998) ศึกษาเกี่ยวกับการใช้ไฟโตเอสโตรเจนจากจมูกถ้วนเหลืองโดยแบ่งกลุ่มผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่มีอาการร้อนวูบวาบ (hot flushes) เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรกให้ได้รับจมูกถ้วนเหลือง และอีกกลุ่มไม่ได้รับจมูกถ้วนเหลือง (กลุ่มควบคุม) พบว่า กลุ่มที่ได้รับจมูกถ้วนเหลืองมีอาการร้อนวูบวาบทายไปร้อยละ 44 แต่ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอาการร้อนวูบวาบทายไปแคร้อยละ 10 เท่านั้น สอดคล้องกับ Han *et al.* (2002) รายงานว่าผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนที่ได้รับไอโซฟลาโวนชนิดแคปซูลปริมาณ 100 มิลลิกรัม ประจำทุกวัน มีอาการร้อนวูบวาบลดลงภายในเวลา 4 เดือน

- โรคกระดูกพรุน

ภาวะกระดูกพรุนพบมากในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน หญิงวัยหมดประจำเดือนที่อายุ 50 ปีขึ้นไปมีความเสี่ยงต่อโรคกระดูกพรุน เนื่องจากขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำให้เนื้อกระดูกลดลงอย่างรวดเร็ว และลดลงเรื่อยๆ ตามอายุ ผู้หญิงบางคนที่ประจำเดือนหมดเร็วกว่าปกติ อาจจะสูญเสียเนื้อกระดูกเร็วขึ้นประมาณร้อยละ 1-3 ต่อปี โดยเฉพาะในช่วงปีแรกของการหมดประจำเดือน และเมื่ออายุมากขึ้นปริมาณการสูญเสียนื้อกระดูกเท่ากับร้อยละ 0.7-1.0 ต่อปี การใช้ฮอร์โมนเอสโตรเจน เป็นวิธีที่ดีที่ให้ผลในการป้องกันการสูญเสียนื้อกระดูกซึ่งทำให้เกิด กระดูกพรุนในหญิง และป้องกันกระดูกสันหลังหัก รวมทั้งในหญิงหลังหมดประจำเดือน จะช่วยลดการสูญเสียนื้อกระดูกประมาณร้อยละ 50 ไอโซฟลาโวนชนิดไดซิอิน มีฤทธิ์คล้ายยาที่ใช้ในการรักษาโรคกระดูกพรุนในหญิงหลังหมดประจำเดือนคือ Ipriflavones ซึ่งจะถูกเมtabolize เป็นไดซิอิน ในร่างกาย และไดซิอิน มีผลช่วยยับยั้งการสร้างของเนื้อกระดูกพรุน

- การป้องกันมะเร็ง

การศึกษาในประชากรชาวເອເຊີຍซึ่งมีการบริโภคผลิตภัณฑ์ถ้วนเหลืองมากกว่าชาวตะวันตกพบว่าหญิงເອເຊີຍเป็นโรคมะเร็งเต้านมน้อยกว่าหญิงชาวตะวันตกถึง 5 เท่า ในทำนองเดียวกันพบว่า ชายชาวເອເຊີຍเป็นมะเร็งในต่อมลูกหมากน้อยกว่าชาวตะวันตก 20 เท่า นักวิจัยเชื่อว่าไอโซฟลาโวนในถ้วนเหลืองอาจจะลดอัตราเสี่ยงการเกิดมะเร็งในต่อมลูกหมาก โดยการแทรกแซงการทำงานของฮอร์โมนเทสโทสเตโรน (testosterone) ในชาย หรืออาจจะยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยการลดปริมาณการผลิตฮอร์โมนเทสโทสเตโรน นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Messina (2007) ได้ศึกษาว่า การบริโภคถ้วนเหลืองช่วยลดความเสี่ยงในการเป็นมะเร็งต่อมໄทรอยด์

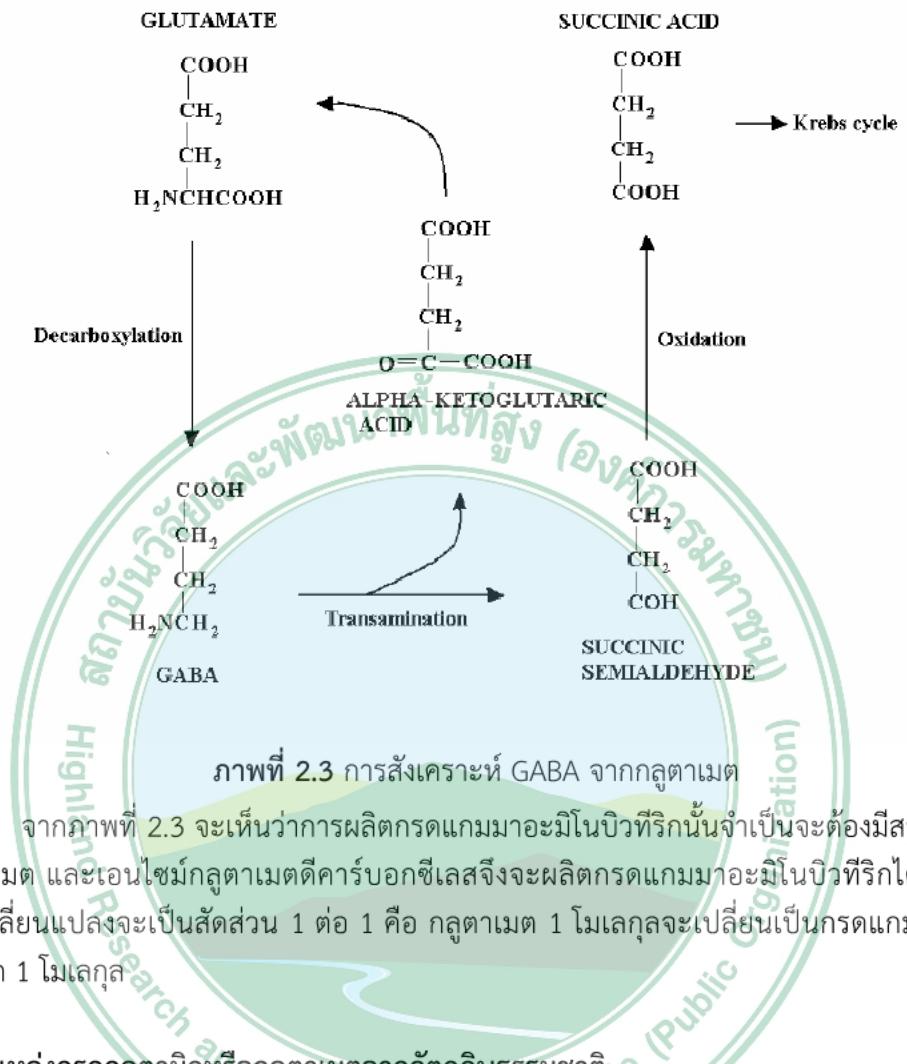
มีการศึกษาถึงความปลอดภัยในการบริโภคไอโซฟลาโวน จะเห็นได้จากผลการทดลองในผู้หญิงที่อยู่ในช่วงวัยเจริญพันธุ์ 28 คน ที่ได้รับไอโซฟลาโวนชนิดอะไอลโคน ที่ความเข้มข้น 45 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 14 วันติดต่อกัน โดยการรับประทานโปรตีนถ้วนเหลืองไม่พบว่ามีผลข้างเคียงอย่างมีนัยสำคัญ (Hargreaves *et al.*, 1999) นอกจากนี้พบว่าในผู้ที่หายจากการป่วยด้วยโรคมะเร็งเต้านมจำนวน 177 คน ที่มีการบริโภคไอโซฟลาโวนจากถ้วนเหลืองชนิดเม็ดที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิกรัมต่อวัน เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ไม่มีผลข้างเคียงต่อการทำงานของระบบต่อมไร้ท่อและเนื้อเยื่อบริเวณต่อมน้ำนมแต่อย่างใด (Quella *et al.*, 2000) และยังมีการศึกษาของ Takehito *et al.* (2002) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตไอโซฟลาโวนชนิดอะไอลโคนจากสารสกัดที่ได้จาก

ผลิตภัณฑ์ถั่วหมักพื้นบ้านเพื่อต่อต้านการสร้างหลอดเลือดฟอยในถุงน้ำคร่า พบร่วมกับโพลีแซ็คคาไรด์ จะมีฤทธิ์ต่อต้านการสร้างหลอดเลือดฟอยได้ดีกว่าการใช้สารสกัดจากถั่วเพียงอย่างเดียวจากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มีไอโซฟลาโนนจึงมีประโยชน์และปลอดภัยต่อผู้บริโภค นอกจากนี้การบริโภคผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองชนิดที่เป็นอะไกล์โคนจะเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลอดเลือดอุดตัน และยังช่วยให้กระดูกแข็งแรงในผู้สูงอายุ อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังไม่มีมาตรฐานปริมาณการบริโภค (dietary reference intakes; DRI) แต่จากการวิจัยของ Setchel and Cassidy (1999) ได้แนะนำว่าควรบริโภคไอโซฟลาโนน 20-50 มิลลิกรัมต่อวัน

2.10 กรดแแกมมาอะมิโนบีวีทริกหรือกาบา (gamma amino butyric acid, GABA)

กรดแแกมมาอะมิโนบีวีทริก (gamma-aminobutyric acid, GABA) เป็นกรดอะมิโนชนิด Non protein โดยมีสูตรโมเลกุลคือ $C_4H_9NO_2$ มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิเท่ากับ 203.7 องศาเซลเซียส กรณีจะมีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลาง นอกจากนี้ ยังถือเป็นสารสื่อประสาทประเภทสารยับยั้ง (inhibitor) โดยทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ส่งผลช่วยลด ความดันโลหิต ช่วยคลายอาการตึงเครียด โรคซึมเศร้า ซึ่งช่วยทำให้สมองเกิดการผ่อนคลายและนอนหลับสบาย (Krnjevic, 1974; Okada et al., 2000) อีกทั้งยังทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ (anterior pituitary) ซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต (HGH) ทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ ทำให้กล้ามเนื้อเกิดความกระชับ และเกิดสารไลโป-โทรปิก (lipotropic) ซึ่งเป็นสารป้องกันการสะสมไขมัน นอกจากนี้ยังสามารถบรรเทาโรคที่เกิดจากความบกพร่องของระบบประสาท เช่นโรคพาร์กินสัน อาการลมชักได้ (Cohen et al., 2002 ; Wong et al., 2003) ด้วยคุณประโยชน์ดังกล่าวทำให้ได้รับความสนใจในหลายสาขาเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งด้านการแพทย์และทางอุตสาหกรรม กรดชนิดนี้พบได้ในรัญพีช ผักผลไม้ และอาหารหมักหอยชนิด เช่น ข้าว ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองพันธุ์เลนทิว ชาเขียว ผลแบล็ค kraasbeoorร์รี่ เปิร์ เทมเป้ เป็นต้น (Kuo et al., 2004)

กรดแแกมมาอะมิโนบีวีทริกหรือสารกาบา (GABA) เป็นกรดอะมิโนที่เกิดจากกระบวนการดีكار์บอคีเลชันของกลูตامे�ต โดยเอ็นไซม์กลูตามे�ตดีكار์บอคีเลส (glutamate decarboxylase; GAD, EC 4.1.1.15) จะเปลี่ยนกลูตามे�ตเป็นกรดแแกมมาอะมิโนบีวีทริกและก้าชาร์บอนไดออกไซด์ การสังเคราะห์กรดแแกมมาอะมิโนบีวีทริกจะเกิดขึ้นภายในไซโตพลาسمิกของเซลล์โดยวัฏจักรเครบส์ของเซลล์ ดังภาพที่ 2.3 (Bown and Shelp, 1997)



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ GABA จากกลูตაเมต

จากภาพที่ 2.3 จะเห็นว่าการผลิตกรดแแกมมาอะมิโนบิวทีริกนั้นจำเป็นจะต้องมีสารตั้งต้นคือ กลูต้าเมต และเออนไซม์กลูต้าเมตดีكار์บอคิลีสจึงจะผลิตกรดแแกมมาอะมิโนบิวทีริกได้ โดยปกติ การเปลี่ยนแปลงจะเป็นสัดส่วน 1 ต่อ 1 คือ กลูต้าเมต 1 มोเลกุลจะเปลี่ยนเป็นกรดแแกมมาอะมิโนบิวทีริก 1 มोเลกุล

2.11 แหล่งกรดกลูตามิกรึอกลูต้าเมตจากวัตถุคิดบธรรมชาติ

กรดกลูตามิค (glutamic acid) หรือเมื่อออยู่ในรูปเกลือจะเรียกว่า กลูตامे�ต (glutamate) จัดเป็นกรดอะมิโนชนิดที่ไม่จำเป็น ร่างกายสามารถสังเคราะห์เองได้ กรดกลูตามิคเป็นกรดอะมิโนชนิดที่พบมากที่สุดในโปรตีนตามธรรมชาติจะอยู่ทั้งในรูปโปรตีนในอาหารและกลูต้าเมตอิสระ เช่น หомหัวใหญ่ หัวผักกาด สาหร่ายทะเล ข้าวและถั่วเหลือง เป็นต้น สำหรับการนำกรดกลูตามิกรึอกลูต้าเมตมาประยุกต์ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตกรดแแกมมาอะมิโนบิวทีริกนั้น เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงจะเป็นสัดส่วน 1 ต่อ 1 ดังนั้นข้อพิจารณาสำคัญจึงขึ้นอยู่กับปริมาณกรดกลูตามิคในวัตถุคิดบที่นำมาใช้

2.12 แหล่งเออนไซม์กลูต้าเมตดีคาร์บอคิลีสจากเชื้อแบคทีเรียแลคติก

เชื้อจุลทรรษท้ายสายน้ำพันธุ์สามารถผลิตเออนไซม์กลูต้าเมตดีคาร์บอคิลีสได้ เช่น *Escherichia coli*, *Aspergillus oryzae* และเชื้อแบคทีเรียแลคติกในกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Lactococcus* เป็นต้น (Rice et al., 1993; Kato et al., 2002; Bertoldi et al., 1999) โดยเฉพาะ

เชื้อจุลทรรศ์กลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่แยกจากอาหารหมักพื้นบ้านมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดแแกมมาอะมิโนบิวทิริกได้สูง เช่น *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus lactis* subs. *Lactis*, *Lactobacillus bravis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* เป็นต้น (Komatsuzaki et al., 2005; Iimure et al., 2009; Tsai et al., 2006; Lu et al., 2008; Kim et al., 2009)

2.13 カテชิน (catechin)

カテชินเป็นพลาโวนอยด์ที่พบมากในยอดใบชาสด และ ชาเขียว เป็นกลุ่ม flavanols หรือ flavan-3-ols (flavanols หรือ flavan-3-ols) flavanols ในชา มีชื่อเรียกเฉพาะว่า カテชิน มีประมาณร้อยละ 75 ของโพลีฟีนอลทั้งหมด カテชินเป็นสารไม่มีสี ละลายน้ำได้ดี ให้รสชาติฝาด カテชินที่พบมากในยอด ใบชาสดและชาเขียวได้แก่ (-)-Epigallocatechin-gallate (EGCG), (-)-Epigallocatechin (EGC), (-)-Epicatechin-gallate (ECG) และ (-)-Epicatechin (EC) โดยカテชินเหล่านี้มีอยู่ประมาณร้อยละ 90 ของカテชินทั้งหมด กลุ่มของカテชินที่พบในปริมาณน้อยลงมา ได้แก่ (+)-Gallocatechin (GC), (+)-Catechin (C) (-)-gallocatechin gallate (GCG) และ (-)-Catechin gallate (CG) (Balentine et al., 1997) カテชินเป็นสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง (Yuan et al., 2011) ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและ โรคหลอดเลือด (Hirano et al., 2002) ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของในโรคเบาหวาน และช่วยลดความอ้วน (Rains et al., 2011) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การบริโภคชาเพื่อให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพนั้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณカテชิน รวมทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์หรือชีวประสิทธิผล (bioavailability) (Mukhtar and Ahmad, 2000) จากการศึกษา Erba et al. (2005) พบว่า การดื่มชาเขียวมีส่วนช่วยลดสภาวะ Oxidative stress และเป็นการป้องกันการเกิดออกซิเดชันในคน เนื่องจากカテชินในชา มีความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species: ROS) จากพอก Superoxide radical, Singlet oxygen, Hydroxyl radical, Peroxyl radical, Nitric oxide, Nitrogen dioxide และ Peroxy nitrite ซึ่งจะช่วยลดการถูกทำลายในเนื้อเยื่อไขมัน โปรตีน และกรดไขมันลีอิคในเซลล์

- การเกิดอีพิเมอร์ไซซ์ชันและการสลายตัวของカテชิน

カテชินมีการจัดเรียงสเตอโริโเคมี (stereochemistry) ใน 2 ลักษณะคือ Epi-form และ Nonepi-form โดยカテชินที่มีโครงสร้างแบบ Epi-form มีการจัดเรียงสเตอโริโเคมีที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของวง C แบบ 2, 3-cis (2R, 3R) ได้แก่ EC, ECG, EGC และ EGCG ส่วนカテชินที่มีโครงสร้างแบบ Nonepi-form มีการจัดเรียงสเตอโริโเคมีคือ ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 และ 3 ของวง C แบบ 2, 3-trans (2S, 3R) ได้แก่ C, CG, GC และ GCG โดยปกติカテชินในชาเขียว ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็นแบบ Epi-form เช่น EC, EGCG, ECG และ EGC (Wang et al., 2008) カテชินเหล่านี้สามารถเกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนเป็นคู่ Nonepi-form C, GCG, CG และ GC ตามลำดับ การเปลี่ยนเป็นคู่ระหว่าง Epi-form และ Nonepi-form นี้เรียกว่า เกิดอีพิเมอร์ไซซ์ชัน ความร้อนในการแปรรูปชาและการแข็ง化ทำให้カテชิน ในกลุ่ม Epi-form เกิดอีพิเมอร์ไซซ์ชันเป็น Nonepi-form (Seto et al., 1997; Wang and Helliwell, 2000) และเกิดการสลายตัวของหมู่ฟังก์ชันในโมเลกุล

มีรายงานวิจัยว่า คาเทชินเกิดอีพิเมอร์เรซันในระหว่างการผลิต การซึ้ง การแปรรูป และระหว่างการเก็บรักษา (Zhu et al., 1997; Chen et al., 2001)

- ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของคาเทชิน

1. ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของคาเทชินในระหว่างการผลิตชาเขียวและเครื่องดื่มชาเขียว โดยคาเทชินมีความคงตัวเมื่อยู่ในสภาพความเป็นกรด-ด่างต่ำกว่า 4.0 และไม่คงตัวเมื่อความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 6.0 นอกจากนี้ยังพบว่าอุณหภูมิสูงในการแปรรูปเร่งให้เกิดอีพิเมอร์เรซันและการสลายตัวของคาเทชิน (Komatsu et al., 1993; Chen et al., 2001; Kumamoto et al., 2001; Su et al., 2003; ธีรพงษ์, 2550) ซึ่งความร้อนทำให้คาเทชินเกิดอีพิเมอร์เรซันที่ตำแหน่ง C-2 ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงจาก Epi-form เป็น Nonepi-form ส่งผลให้ EC, EGC, EGCG, ECG ลดลง และคาเทชินที่เป็นคู่อีพิเมอร์กันมีปริมาณสูงขึ้น (Chen et al., 2001) นอกจากนี้เวลาในการเก็บรักษาที่ยาวนานยังส่งผลสำคัญต่อการเกิดอีพิเมอร์เรซันของคาเทชิน (Wang and Helliwell, 2000)

2. ออกซิเจนและไอออนของโลหะหนัก ความเข้มข้นของออกซิเจนและไอออนของโลหะหนักส่งผลกระทบต่อความคงตัวของคาเทชิน อัตราการเกิดออกซิเดชันของคาเทชินจะเพิ่มสูงขึ้นในสภาพที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนสูง พบว่า ภายใต้สภาพออกซิเจนต่ำที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 7.4 EGCG มีความคงตัวสูง โดยพบว่า มีการสลายตัวเพียงร้อยละ 5 ภายในเวลา 6 ชั่วโมง (Sang et al., 2005) หากทิ้งให้อยู่ในสภาพปกติจะมีการสลายถึงร้อยละ 90 ภายในเวลา 2 ชั่วโมง ไอออนของโลหะหนักสามารถเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับคาเทชินได้ พบว่า Cu^{2+} และ Mn^{2+} ทำให้ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น โดย Cu^{2+} และ Mn^{2+} ทำปฏิกิริยากับ Gallate group ของ EGCG และ ECG ช่วยเพิ่มความสามารถในการจับอนุมูลอิสระ ในขณะที่ Fe^{2+} ทำให้ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระลดลง (Kumamoto et al., 2001)

2.14 กระดาษกาแฟ (coffee parchment)

กระดาษกาแฟหรือเปลือกเมล็ดกาแฟเป็นผังผลลัพธ์ในหรือเปลือกชั้นใน (endocarp) ที่หุ้มเมล็ดกาแฟ ในเชอร์รี่กาแฟ 1 เมล็ด ประกอบด้วยเมล็ดกาแฟ (coffee bean) ร้อยละ 50 และกระดาษกาแฟ (coffee parchment) ร้อยละ 1.2 (Janissen and Huynh, 2018) ปัจจุบันมีแนวโน้มการบริโภคกาแฟเพิ่มสูงขึ้นในทุกๆ ปี ส่งผลให้มีการใช้เมล็ดกาแฟเพิ่มมากขึ้น จึงทำให้ปริมาณของเปลือกเมล็ดกาแฟที่ได้จากการสีทิ้งจากการผลิตมีมากขึ้นด้วย ซึ่งหากปล่อยทิ้งไว้จะกลายเป็นปัญหามลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมและสูญเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัด เนื่องจากสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบในกาแฟมีอยู่เป็นจำนวนมาก ในเปลือกเมล็ดกาแฟประกอบด้วยเซลลูโลส ร้อยละ 40-49 เอมิเซลลูโลส ร้อยละ 25-30 ลิกนิน ร้อยละ 33-35 และถ้า ร้อยละ 0.5-1 (Bekalo and Reinhardt, 2010)

โดยทั่วไปเปลือกเมล็ดกาแฟจะถูกนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเพิ่มน้ำค่าและลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมด้วยวิธีที่หลากหลาย เช่น การนำไปผลิตเป็นเชื้อเพลิงอัดเม็ด และการนำไปผลิตเป็นแก๊สชีวภาพ เป็นต้น (Battista et al., 2016) นอกจากนี้ในอุตสาหกรรมอาหารยังได้มีการนำเปลือก

เมล็ดกาแฟมาใช้ในการสกัดสารเซลลูโลส เยมิเซลลูโลส และคาเฟอีน เพื่อประยุกต์ใช้เป็นสารเสริมในอาหารอีกด้วย

