

การผลิตไวน์เพื่อสุขภาพที่อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจาก เปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์อราบิก้า Producing Healthy Wines rich in antioxidants from coffee cherry peels Arabica cultivars

พัทธนันท์ นาถพิณี^{1*} และ อัจฉรา ไชยองค์การ²

^{1,2}สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

E-mail: ^{1*}patthanant_n@tistr.or.th, ²anchara@tistr.or.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อผลิตไวน์สุขภาพที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์อราบิก้า โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้เป็นสารฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ ปริมาณเปลือกกาแฟเชอร์รี่สด หรือแห้ง ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตไวน์ ได้แก่ ชนิด และปริมาณของยีสต์ที่ใช้ และร้อยละปริมาณเปลือกกาแฟต่อน้ำหมัก เป็นต้น ผลการวิจัยพบว่า การผลิตไวน์สุขภาพจากเปลือกกาแฟเชอร์รี่ ในอัตราส่วนเปลือกกาแฟแห้ง ที่ 50 กรัมต่อน้ำหมัก 3 ลิตร หรือ ร้อยละ 1.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หมักด้วยยีสต์ สำเร็จรูปสำหรับผลิตขนมปังหวานที่อัตราส่วนยีสต์ 20 กรัมต่อน้ำหมัก 3 ลิตร ที่มีความหวานอยู่ที่ 20 องศาบริกซ์ ภายใต้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิห้อง ระยะเวลาในการหมัก 5-14 วัน พบว่า การผลิตไวน์สุขภาพที่มีสารต้านอนุมูลอิสระในรูปสารฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH และ FRAP ของเปลือกกาแฟเชอร์รี่แห้งมีมากกว่าเปลือกกาแฟสด และได้ร้อยละแอลกอฮอล์ที่ 15 สารฟีนอลิก 33.56 ± 0.35 มก.กรดแกลลิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH เป็น 11.88 ± 0.04 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ร้อยละ 32.42 ± 0.15 และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP เป็น 7.55 ± 0.02 มก.สมมูลเพอร์สซัลเฟตต่อกรัมเปลือกกาแฟ

คำสำคัญ: ไวน์สุขภาพ เปลือกกาแฟเชอร์รี่ สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

* Corresponding author, e-mail: patthanant_n@tistr.or.th

Abstract

This investigation aims to produce a healthy wine with antioxidants from cherry coffee peel Arabica cultivars that antioxidants obtained are phenolic compounds with high antioxidant activity. Factors affecting the amount of antioxidants include the amount of fresh or dried cherry coffee peels. Factors affecting wine production include the type and amount of yeast used as well as the proportion between cherry coffee peel and fermented water etc. The research showed that producing healthy wine from coffee cherry peels at a ratio of dried coffee peels of 50 g per 3 L of fermented solution or 1.7% by weight per volume. Fermented inoculum with instant yeast for producing sweet bread at a ratio of 20 g of yeast per 3 L of fermentation with a sweetness of 20 °Brix under fermentation conditions at room temperature. The fermentation period was 5-14 days. It was found that the production of healthy wines containing antioxidants in the form of phenolic compounds with antioxidant activity in the form of DPPH and FRAP of dried coffee cherry peels was greater than fresh coffee cherry peels. The healthy wines obtained 15% of alcohol content, phenolic compound 33.56 ± 0.35 mg gallic acid/g coffee peel, and antioxidant activity in the form of DPPH as 11.88 ± 0.04 mg. ascorbic acid/g coffee peel. The antioxidant activity was $32.42 \pm 0.15\%$ and the antioxidant activity in the form of FRAP was 7.55 ± 0.02 mg FeSO_4 /g coffee peel.

Keywords: healthy wine, cherry coffee peel, antioxidants, phenolic compound, antioxidant activity

1. ที่มาและความสำคัญ

การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เป็นกระบวนการหมักแบบใช้อากาศ (ใช้อากาศที่มีอยู่ในภาชนะหรือใช้อากาศด้วยเครื่องเติมอากาศ) และใช้หัวเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสไปเป็นแอลกอฮอล์ ยีสต์ที่นิยมใช้ในการหมักเอทานอล คือ *Saccharomyces ellipsoideus* หรือ *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces diastaticus* และ *Saccharomyces carlsbergensis* เป็นต้น โดยมีสภาวะในการหมักที่อุณหภูมิ 25-30 °ซ ซึ่งสามารถผลิตเอทานอลได้สูงถึง 75 กรัมต่อลิตร ที่ pH 5.5 [1] ในการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์ หมักเตรียมหัวเชื้อยีสต์สด โดยให้มีปริมาณ OD_{50} อย่างน้อย 0.5 หรือมีปริมาณหัวเชื้อยีสต์อยู่ที่ 10^8 - 10^9 CFU/ml เป็นอย่างน้อย

ยีสต์ที่ใช้สำหรับหมักแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* และมีอีกหลายสายพันธุ์ หัวเชื้อยีสต์อาจใช้ในรูปแบบยีสต์สดบนวุ้นเลี้ยงหรือใช้หัวเชื้อผงสำเร็จรูปหรือยีสต์ผงก็ได้ ในการผลิตไวน์ในทางอุตสาหกรรมจะนิยมใช้ยีสต์ผงเพราะสะดวก ใช้ง่าย ราคาไม่แพง เก็บไว้นานได้เป็นปี มีประสิทธิภาพในการหมักดี และมีคุณภาพค่อนข้างคงที่ ในการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ ถ้าเป็นเชื้อยีสต์สดต้องเพาะเลี้ยง และนำไปขยายในน้ำหมัก โดยเลี้ยงในน้ำหมักขนาด 1-5% ของขนาดที่ต้องการขยายปริมาตร และควรเลี้ยงกล้าเชื้อให้มีอายุในช่วง 1-2 วัน ส่วนยีสต์ผงหรือยีสต์สำเร็จรูป อาจจะต้องกระตุ้นในน้ำหมักหรือน้ำอุ่นประมาณ 40 องศาเซลเซียสก่อน [2]

ภาคเหนือตอนบนมักนิยมปลูกกาแฟสายพันธุ์อราบิก้าและโรบัสต้า เนื่องจากกาแฟจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งในประเทศไทย โดยกาแฟสายพันธุ์อราบิก้าเป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากในแถบภาคเหนือตอนบน โดยเฉพาะพื้นที่ราบสูง เพราะมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมสำหรับการปลูกกาแฟ เนื้อผลกาแฟประกอบด้วย เนื้อผลเชอรี่ ร้อยละ 55 กะลากาแฟ ร้อยละ 29 [3] และอีกร้อยละ 16 เป็นเมล็ดกาแฟ จากคุณสมบัติของเนื้อผลเชอรี่อุดมไปด้วยสารสำคัญต่าง ๆ ได้แก่ คาโรโบไฮเดรต โปรตีน แอนโธไซยานิน แทนนิน โพลีฟีนอล และคาเฟอีน เป็นต้น [4] เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีแล้ว พบว่า เนื้อผลเชอรี่ประกอบด้วย แทนนิน ร้อยละ 1.80-5.56 กรดคลอโรจีนิค ร้อยละ 2.6 สารกลุ่มเพคติก ร้อยละ 6.5 น้ำตาลรีดิทส์ ร้อยละ 12.4 น้ำตาลที่ยังไม่รีดิทส์ ร้อยละ 2.0 คาเฟอีน ร้อยละ 1.3 และกรดคาเฟอิก ร้อยละ 1.6 และยังพบสารประกอบในกลุ่มฟีนอลและกลุ่มฟลาโวนอยด์สูง โดยเฉพาะแอนโทไซยานินซึ่งพบมากในเนื้อผลกาแฟสุกหรือเนื้อผลเชอรี่ที่เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ [5] จากการที่เนื้อผลเชอรี่สามารถเกิดการย่อยสลายแล้วได้กรดอินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงว่าสามารถนำเนื้อผลเชอรี่มาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักให้เป็นไวน์เพื่อสุขภาพได้ ซึ่งช่วยเพิ่มคุณค่าให้กับเนื้อผลเชอรี่ได้เป็นอย่างมาก เนื่องจากสารสำคัญที่มีอยู่มีสารสำคัญที่ช่วยในระบบย่อยอาหาร ลดการดูดไขมันในร่างกาย โดยเฉพาะบริเวณลำไส้และตับ และยังมีสารแอนติออกซิเจนที่ช่วยลดการอักเสบของเซลล์ได้อีกด้วย [6] ช่วยควบคุมน้ำหนัก ช่วยลดความอยากอาหาร [7] เป็นต้น

สารสกัดจากเปลือกกาแฟเชอรี่ มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง จัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในรูปของ (Oxygen radical antioxidant capacity, ORAC) มากกว่าวิตามินอีถึง 15,000 เท่า [3] สารฟีนอลิกทั้งหมดประกอบไปด้วยกรดคลอโรจีนิค และเอพิกาทะชิน อยู่สูงถึงร้อยละ 42.2 และ 21.6 ตามลำดับ โดยเอพิกาทะชินมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีประโยชน์ในการช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็ง [8] โรคหัวใจหรือหลอดเลือด [9] ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด [10] และช่วยลดไขมัน ควบคุมความอ้วน [11] สารสำคัญที่มีอยู่ในเปลือกกาแฟสามารถสกัดออกมาได้ และจากการที่เนื้อผลเชอรี่สามารถเกิดการย่อยสลายแล้วได้กรดอินทรีย์เกิดขึ้น แสดงว่าสามารถนำเนื้อผลเชอรี่มาเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพได้ โดยนำมาเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมักให้เป็นไวน์เพื่อสุขภาพได้

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตไวน์สุขภาพที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกกาแฟเชอรี่พันธุ์อราบิก้า โดยที่สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้เป็นสารฟีนอลิก ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยศึกษาหาปัจจัยในการผลิต ได้แก่ ปริมาณเปลือกกาแฟที่ใช้ในการหมัก ชนิดและปริมาณหัวเชื้อยีสต์ เพื่อให้ได้แนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกกาแฟเชอรี่เป็นผลิตภัณฑ์ไวน์เพื่อสุขภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการจำหน่ายเชิงพาณิชย์ต่อไป

2. วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาสภาวะการผลิตไวน์สุขภาพที่มีสารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงจากเปลือกกาแฟเชอรี่

3. ทฤษฎี และงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ตามทฤษฎีการหมักแอลกอฮอล์ จากน้ำตาลกลูโคส 1 กรัม จะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 0.51 กรัม แต่ในทางปฏิบัติในห้องปฏิบัติการ การหมักกลูโคส 1 กรัม จะให้แอลกอฮอล์ประมาณ 0.45 กรัม หรือร้อยละ 90 ของทางทฤษฎี เนื่องจากทางชีวภาพพลังงานส่วนหนึ่งจะถูกนำไปสร้างเซลล์ของจุลชีพ นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อประสิทธิภาพของการหมักด้วย ซึ่งพบว่าเมื่อปริมาณแอลกอฮอล์สูงขึ้นถึง 40 กรัมต่อลิตร จะส่งผลให้เกิดการยับยั้งการเพิ่มปริมาณจุลชีพ และถ้าเพิ่มสูงขึ้นถึง 120 กรัมต่อลิตร จะไม่เหมาะต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียอยู่ที่ร้อยละ 8-12 [12]

อนุมูลอิสระ เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการต่าง ๆ ภายในเซลล์ เช่น กระบวนการสร้างพลังงาน (ATP) และการเจริญเติบโตของเซลล์ รวมทั้งการได้รับสารพิษจากสิ่งแวดล้อม เช่น สารเคมี รังสีแสงอาทิตย์ หรือยาบางชนิด เป็นต้น ส่วนใหญ่สารอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร มีความไวสูง มีหลายองค์ประกอบ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ (O_2^-) จะทำให้เกิดการขาดออกซิเจน ไฮดรอกซิล ($OH^\cdot$) มีฤทธิ์ทำลาย DNA และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) มีฤทธิ์ที่แรงสุด เพราะสามารถแตกตัวได้ทั้งซูเปอร์ออกไซด์และไฮดรอกซิล ซึ่งเรียกรวมกันว่าเป็นสารกลุ่ม ROS (Reactive oxygen species) หมายถึง สารที่มีองค์ประกอบของออกซิเจน ซึ่งเมื่อถูกกระตุ้นแล้วจะเกิดอนุมูลอิสระขึ้น [13]

สารอนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุลต่าง ๆ ภายในร่างกายได้ ทำให้โครงสร้างของเซลล์หรือการทำงานของเซลล์และเนื้อเยื่อถูกทำลายหรือเปลี่ยนไป โดยเฉพาะ DNA ทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกายเร็วขึ้น และก่อให้เกิดโรคร้ายแรงได้ ได้แก่ หลอดเลือดตีบ หัวใจวาย เบาหวาน หรือมะเร็ง เป็นต้น หากในร่างกายมีสารอนุมูลอิสระมากเกินไป ร่างกายจะอยู่ในสภาวะเครียดหรือเกิดการออกซิเดชันขึ้น (Oxidative stress) ซึ่งทำให้เกิดการทำลายไขมัน โปรตีน และสารพันธุกรรมภายในร่างกายได้ [14]

จากการวิเคราะห์สารฟีนอลิกทั้งหมดในเปลือกกาแฟเชอร์รี่ พบว่า มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในช่วง 0.39-2.83 มิลลิกรัมกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ซึ่งสามารถแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งในรูปของ DPPH และ FRAP ซึ่งพบว่า เมื่อนำสารสกัดมาทดสอบความเป็นฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แล้วพบว่า มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH ได้ดี โดยสามารถต้านทานได้มากกว่าทั้ง IC_{50} และ IC_{100} เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ 143 และ 285 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อมล. ตามลำดับ [15] นอกจากนี้ยังพบว่าสารฟีนอลิกที่วิเคราะห์ได้ 9.23 ± 0.22 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่ด้วยวิธี DPPH radical scavenging ที่ IC_{50} เป็น 0.17 ± 0.03 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อมล. [16] ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมีมากขึ้น เมื่อสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณคาเทชินทั้งหมดในรูปของเอพิغالโลคาเทชิน แกลเลต (epigallocatechin gallate) ด้วย ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเดียวกันกับสารฟีนอลิก ซึ่งสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่มีปริมาณคาเทชินทั้งหมดเป็น 21.13 ± 6.3 มก. สมมูลของเอพิغالโลคาเทชินแกลเลตต่อกรัมเปลือกกาแฟ ซึ่งมีผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่ามากขึ้น และมีฟลาโวนอยด์ที่ 0.11 ± 0.04 มก.สมมูลของเคอร์เซตินต่อกรัมเปลือกกาแฟ [16]

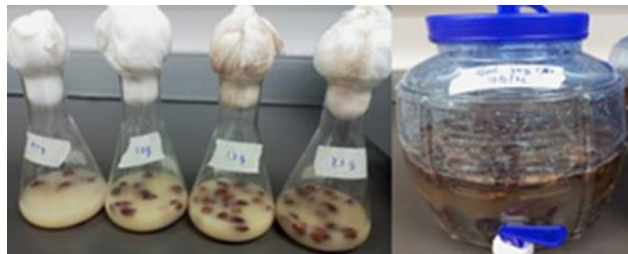
4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1 การศึกษาสภาวะการหมักแอลกอฮอล์เอทานอล

4.1.1 ศึกษาปริมาณร้อยละเปลือกกาแฟเขียวในการหมักแอลกอฮอล์ ได้แก่ 0.5, 1.2, 1.7 และ 3.4

4.1.2 ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยหัวเชื้อยีสต์สด *Saccharomyces cerevisiae* ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5019 และยีสต์แห้งสำเร็จรูปผลิตขนมปังหวาน

4.1.3 ศึกษาปริมาณของหัวเชื้อยีสต์สำเร็จรูปผลิตขนมปังหวาน ในสัดส่วน 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัมใน 3 ลิตร เติมเปลือกกาแฟเขียวตามปริมาณที่กำหนด ด้วยหัวเชื้อยีสต์ตามปริมาณที่กำหนดไว้ในน้ำหมักที่มีความหวาน 20 องศาบริกซ์ เติมสารอาหารไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ (KMS) ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 1 การหมักแอลกอฮอล์ ในระดับขนาดต่าง ๆ

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu colorimetric ดัดแปลงจากวิธีการของ [17]

เตรียมสารละลายกรดแกลลิก ที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มก./มล. เตรียมสารละลายทดสอบ โดยใช้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO_3) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณ 2 มล. เติมสารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 0.1 มล. เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติม Folin-Ciocalteu reagent 0.1 มล. ทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้ดังรูปที่ 2. แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการตรวจวัดกรดแกลลิก



ก. เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

ข. สีการทดสอบ phenolic, DPPH, FRAP

รุ่น Fluostar Omega, BMG Labtech

รูปที่ 2 การทดสอบสารฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP

4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (DPPH radical scavenging assay) ดัดแปลงจากวิธีการของ [18]

เตรียมสารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0.1 มิลลิโมล โดยชั่งน้ำหนัก 0.004 กรัม ละลายในเอทานอลร้อยละ 95 100 มล. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 125, 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำไปเจือจางตามความเข้มข้นที่กำหนดไว้ ปิเปตสารละลาย DPPH 2.9 มล. เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล. เขย่าและทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้ดังรูปที่ 2. แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการตรวจวัดกรดแอสคอร์บิก

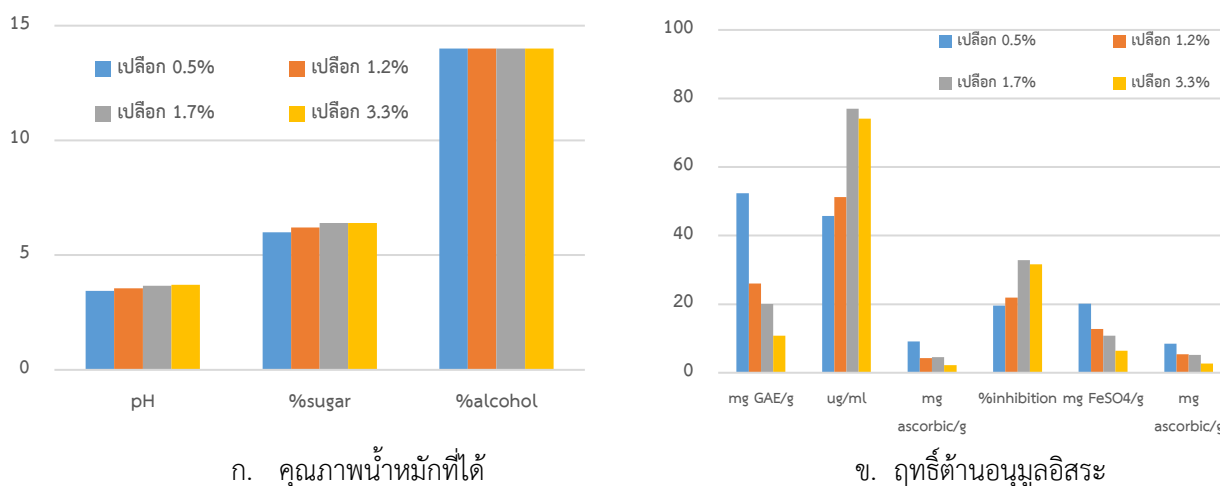
4.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ดัดแปลงจากวิธีการของ [19]

เตรียมสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3 เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยมีส่วนประกอบ 3 ส่วน ส่วนที่ 1 ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.054 กรัม ละลายในน้ำ 10 มล. ส่วนที่ 2 ชั่ง TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine) 0.031 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ หรือ 0.04 โมลาร์ 10 มล. ส่วนที่ 3 สารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่พีเอช 3 100 มล. เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัส ที่ความเข้มข้น 100, 200, 400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมล โดยเจือจางจากสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัส 20 มิลลิโมล ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมล เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 25, 50, 100, 125, 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรปิเปตสารละลาย FRAP 0.95 มล. เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารละลายตัวอย่าง 0.05 มล. เขย่าและทิ้งไว้ในที่มืด 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร สีของสารวิเคราะห์แสดงได้ดังรูปที่ 2. แล้วนำไปสร้างเส้นกราฟมาตรฐานจากการตรวจวัดสารมาตรฐานเฟอร์รัส

5. ผลและวิจารณ์

5.1 ศึกษาปริมาณร้อยละเปลือกกาแฟเชอร์รี่ในการหมักแอลกอฮอล์ ได้แก่ 0.5, 1.2, 1.7 และ 3.4

จากรูปที่ 3ก. พบว่า ปริมาณเปลือกกาแฟที่เพิ่มขึ้น ไม่มีผลให้น้ำตาลที่เหลือ และแอลกอฮอล์ที่ได้มีค่าแตกต่างกัน ปริมาณแอลกอฮอล์ที่หมักได้ มีร้อยละ 14 โดยมีน้ำตาลเหลืออยู่ 6 ± 0.2 องศาบริกซ์ ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นอยู่ที่ 20 องศาบริกซ์เท่ากัน และปริมาณยีสต์ที่ใช้มีปริมาณเท่ากันที่ 1 กรัม จึงทำให้มีประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์เท่ากัน จากรูปที่ 3ข. พบว่า สารฟีนอลิกมีค่าลดลง เมื่อปริมาณเปลือกกาแฟเพิ่มมากขึ้น ถึงแม้ว่าปริมาณฟีนอลิกในหน่วยมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณเปลือกกาแฟเพิ่มขึ้นก็ตาม แต่อัตราการเพิ่มขึ้นไม่มีความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง จึงทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่อน้ำหนักเปลือกกาแฟลดลง โดยมีค่าเป็น 52.36 ± 0.02 , 26.04 ± 0.01 , 20.02 ± 0.02 และ 10.77 ± 0.02 มก.กรดแกลลิกต่อกรัมเปลือกกาแฟตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดนั้น ขึ้นกับความเข้มข้นของเอทานอล โดยจะมีค่าคงที่ค่าหนึ่งในการสกัดสารฟีนอลิกให้ได้ปริมาณสูงสุด โดยปริมาณฟีนอลิกจะเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้น และมีค่าสูงสุดที่ความเข้มข้นค่าหนึ่งและจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้น ในทำนองเดียวกันเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้นด้วย แต่เนื่องจากสารฟีนอลิกถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย ทำให้เมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดมากขึ้นจะมีผลให้ปริมาณฟีนอลิกลดลงได้ [20]



ก. คุณภาพน้ำหมักที่ได้

ข.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

รูปที่ 3. ผลการหมักแอลกอฮอล์จากการหมักด้วยเปลือกกาแฟปริมาณต่างๆ

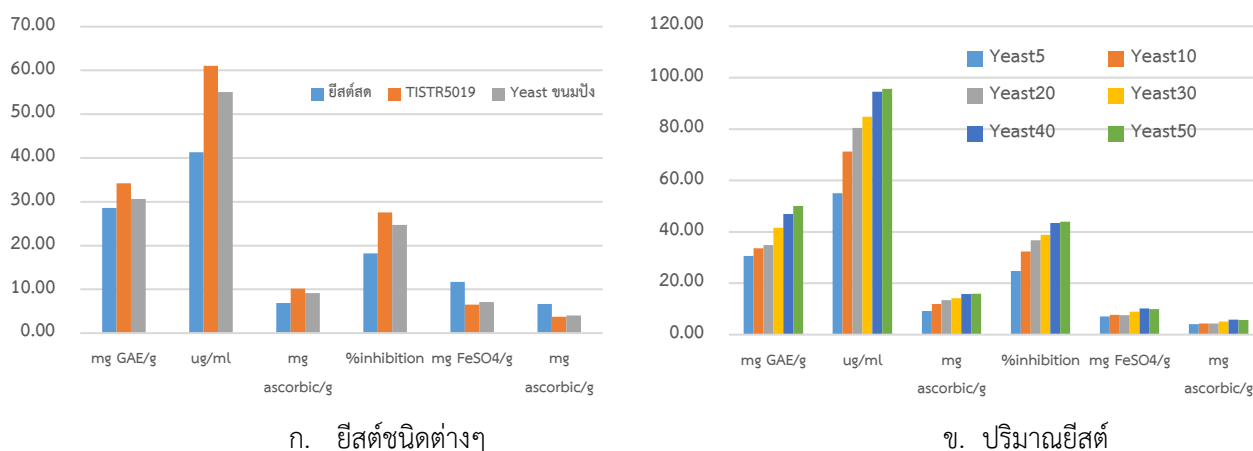
สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH และ FRAP มีค่าลดลง เมื่อปริมาณเปลือกกาแฟเพิ่มขึ้น เนื่องจากปริมาณสารฟีนอลิกที่ลดลง โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH เป็น 9.15 ± 0.10 , 4.27 ± 0.02 , 4.53 ± 0.01 และ 2.25 ± 0.01 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ แต่พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูงสุดที่ปริมาณร้อยละเปลือกกาแฟที่ 1.7 โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด คือ ร้อยละ 32.82 ± 0.25 ส่วนที่ปริมาณร้อยละเปลือกกาแฟที่ 0.5, 1.2 และ 3.4 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เป็นร้อยละ 19.62 ± 0.12 , 21.95 ± 0.20 และ 31.60 ± 0.15 ตามลำดับ ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP พบว่ามีค่าลดลงเมื่อปริมาณเปลือกกาแฟเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยมีค่าเป็น 20.15 ± 0.12 , 12.72 ± 0.20 , 10.83 ± 0.15 และ 6.38 ± 0.14 มก.สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP และ DPPH ในรูปของกรดแอสคอร์บิกมีใกล้เคียงกัน แต่ FRAP มีค่ามากกว่า DPPH เล็กน้อย โดยมีค่าเป็น 8.51 ± 0.02 , 5.37 ± 0.02 , 5.23 ± 0.02 และ 2.70 ± 0.02 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ

สรุปได้ว่าปริมาณเปลือกกาแฟเพิ่มขึ้นมีผลให้สารฟีนอลิกในน้ำหมักเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีความสัมพันธ์กันแบบเส้นตรง จึงทำให้สัดส่วนสารฟีนอลิกต่อเปลือกกาแฟมีค่าลดลง นอกจากนี้พบว่า เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มมากขึ้น มีผลให้ปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้นแล้วอาจจะส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ ขึ้นกับโครงสร้างของสารฟีนอลิกที่มีอยู่ในพืชแต่ละชนิด โดยเฉพาะสารฟีนอลิกที่มีความเป็นขั้วสูง จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย [21] แต่ในเปลือกกาแฟพบว่าเมื่อสารฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้น มีสารที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น แต่ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ อาจจะไม่เพิ่มขึ้นตามไปด้วย

5.2 ศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยหัวเชื้อยีสต์สด *Saccharomyces cerevisiae* ยีสต์สายพันธุ์ TISTR 5019 และยีสต์แห้งสำเร็จรูปผลิตขนมปังหวาน

ยีสต์ที่ใช้สำหรับหมักแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่เป็นยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* และมีอีกหลายสายพันธุ์ น้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 14 วัน ยีสต์ขนมปังเหลือน้อยที่สุดที่ 6 องศาบริกซ์ รองลงมาคือ TISTR 5019 ที่ 7 องศาบริกซ์ และยีสต์สดที่ 9 องศาบริกซ์ แสดงว่ายีสต์ขนมปังมีประสิทธิภาพในการหมักแอลกอฮอล์มากที่สุด เนื่องจากเกิดขึ้นได้เร็วและใช้น้ำตาลได้มากที่สุด แอลกอฮอล์ที่ได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก

และเริ่มคงที่ โดยที่ยีสต์ขนมปังได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด รองลงมาคือ TISTR 5019 และยีสต์สด ซึ่งร้อยละแอลกอฮอล์ที่ได้ เป็น 14, 13 และ 11 ตามลำดับ รายละเอียดผลของการหมัก แสดงได้ดังรูปที่ 4ก. และ ข.



รูปที่ 4 ผลการหมักแอลกอฮอล์จากการหมักด้วยยีสต์

จากรูปที่ 4ก. ยีสต์ TISTR 5019 ให้สารฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือ ยีสต์ขนมปังและยีสต์สด ตามลำดับ โดยมีสารฟีนอลิกเป็น 34.24 ± 0.10 , 30.66 ± 0.12 และ 28.62 ± 0.13 มก.กรดกลลิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH เป็น 10.17 ± 0.15 , 9.18 ± 0.12 และ 6.88 ± 0.20 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละ 27.55 ± 0.15 , 24.73 ± 0.22 และ 18.20 ± 0.17 ตามลำดับ ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจะมีมากขึ้น เมื่อสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้น [16] แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP พบว่า ยีสต์สดมีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ ยีสต์ขนมปังและยีสต์ TISTR 5019 ตามลำดับ โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็น 11.74 ± 0.11 , 7.12 ± 0.12 และ 6.52 ± 0.16 มก.สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ หรือ เทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิก 6.66 ± 0.06 , 4.04 ± 0.04 และ 3.70 ± 0.02 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ

5.3 ศึกษาปริมาณของหัวเชื้อยีสต์สำเร็จรูปผลิตขนมปังหวาน ในสัดส่วน 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัม

เมื่อปริมาณหัวเชื้อยีสต์ขนมปังเพิ่มมากขึ้น จาก 5, 10, 20, 30, 40 และ 50 กรัม น้ำตาลที่เหลือมีค่าเท่ากันที่ 6 องศาบริกซ์ โดยปริมาณหัวเชื้อยีสต์ขนมปังตั้งแต่ 10 กรัมขึ้นไปจะได้ร้อยละแอลกอฮอล์ที่ 15 ทั้งหมด ภายใน 14 วัน ยกเว้นที่ 5 กรัม จะได้ร้อยละแอลกอฮอล์เพียง 14 เท่านั้น สำหรับปริมาณฟีนอลิก พบว่ามีค่าเพิ่มมากขึ้น เมื่อปริมาณหัวเชื้อยีสต์ขนมปังเพิ่มขึ้น ซึ่งมีค่าเป็น 30.66 ± 0.26 , 33.56 ± 0.35 , 34.92 ± 0.19 , 41.59 ± 0.15 , 46.94 ± 0.12 และ 50.07 ± 0.17 มก.กรดกลลิกต่อกรัมเปลือกกาแฟเชอรี่ แสดงว่ายีสต์สามารถสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกกาแฟเชอรี่ได้มากขึ้น จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณยีสต์ขนมปังเพิ่มขึ้น ซึ่งมีผลให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH และ FRAP เพิ่มมากขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งในรูปของ DPPH มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณยีสต์ขนมปังเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเป็น 9.18 ± 0.02 , 11.88 ± 0.04 , 13.41 ± 0.02 , 14.14 ± 0.01 , 15.76 ± 0.02 และ 15.94 ± 0.02 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าเป็นร้อยละ 24.73 ± 0.20 , 32.42 ± 0.15 , 36.77 ± 0.27 , 38.82 ± 0.23 , 43.44 ± 0.15 และ 43.95 ± 0.19 ตามลำดับ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณยีสต์خمบ่มเพิ่มขึ้น โดยมีค่าเป็น 7.12 ± 0.02 , 7.55 ± 0.02 , 7.70 ± 0.03 , 8.90 ± 0.01 , 9.99 ± 0.02 และ 10.25 ± 0.01 มก.สมมูลเฟอรรัสซัลเฟตต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ หรือมีค่าเทียบเท่ากับกรดแอสคอร์บิกที่ 4.0 ± 0.1 , 4.3 ± 0.1 , 4.4 ± 0.1 , 5.0 ± 0.2 , 5.7 ± 0.2 และ 5.8 ± 0.2 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ตามลำดับ แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ DPPH มีค่ามากกว่า FRAP แสดงว่าสารสำคัญจากเปลือกกาแฟเขียว หรือสารฟีนอลิก มีกลไกออกฤทธิ์ที่มีประสิทธิภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระได้ดี โดยมีกลไกออกฤทธิ์แบบแลกเปลี่ยนไฮโดรเจน (hydrogen) ได้ดีกว่าที่จะออกฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน หรือให้อิเลคตรอน [22] ทั้งนี้เนื่องจากสารสำคัญที่มีกลไกต้านการออกซิเดชันถูกทำลายไปเนื่องจากอุณหภูมิจากการสกัดที่อุณหภูมิสูง [23]

6. สรุปผล

จากการวิจัยนี้ สามารถสรุปได้ว่าเปลือกกาแฟเขียวสามารถนำมาผลิตไวน์เพื่อสุขภาพที่มีสารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่สูงได้ ซึ่งสภาวะในการผลิตไวน์ ขึ้นกับปริมาณเปลือกกาแฟที่ใช้ ชนิดและปริมาณของหัวเชื้อยีสต์ โดยเปลือกกาแฟเขียวที่เหมาะสมอยู่ที่ ร้อยละ 1.7 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร หรือ 50 กรัมใน 3 ลิตร โดยใช้หัวเชื้อยีสต์ผงสำเร็จรูปในการผลิตขนมปังหวาน ที่มีความเหมาะสมในการใช้เป็นหัวเชื้อหมักแอลกอฮอล์ในระดับโรงงานนำทาง เนื่องจากได้ร้อยละแอลกอฮอล์สูงสุด องค์ประกอบของยีสต์แห้งสำเร็จรูป ส่วนใหญ่เป็นยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่มีส่วนประกอบถึงร้อยละ 98.85 โดยใช้ที่ปริมาณ 20 กรัมต่อ 3 ลิตร ซึ่งน้ำหมักมีความหวาน 20 องศาบริกซ์ เติมสารอาหารไดเอมโมเนียมฟอสเฟตที่ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟด์ที่ร้อยละ 0.2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิห้องในช่วง $27-33^{\circ}\text{C}$ ระยะเวลาในการหมัก 7-14 วัน คุณภาพไวน์เพื่อสุขภาพที่ได้ มีร้อยละแอลกอฮอล์ที่ 15 น้ำตาลเหลืออยู่ 6 องศาบริกซ์ ปริมาณสารฟีนอลิก 33.56 ± 0.35 มก.กรดแกลลิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูป DPPH เป็น 11.88 ± 0.04 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 32.42 ± 0.15 และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ FRAP เป็น 7.55 ± 0.02 มก.สมมูลเฟอรรัสซัลเฟตต่อกรัมเปลือกกาแฟ หรือเทียบเท่า 4.3 ± 0.1 มก.กรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเปลือกกาแฟ

7. กิตติกรรมประกาศ (ถ้ามี)

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

8. เอกสารอ้างอิง

- [1] [1] Panchal, C.J. and Tavares, F.C.A. (1990). Yeast strain selection for fuel ethanol production. In C.J. Panchal (ed.), Yeast Strain Selection. pp. 225-243. New York: Marcel Dekker Inc.
- [2] วรณดี มหรรณพกุล ขนิษฐา อินทร์ประสิทธิ์ ปิติ กาลิยานันท์ และปัญญาชัย มงคลชาติ. (2555). การผลิตเครื่องดื่มไซเดอร์กล้วย. วารสารผลงานวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ. 1(7), 142-157.

- [3] ชุตติมณฑน์ พลอยประดับ พุทธพร เจียมศุภกิตต์ และนิรมล ปัญญาบุญกุล. (2553).ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของส่วนต่าง ๆ ของผลกาแฟอาราบิก้า และเปลือกกาแฟ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 41(3/1), 577-580.
- [4] ไพโรจน์ วิริยจารี. (2550). การพัฒนา กาแฟพันธุ์อาราบิก้าจากผลพลอยได้ของกระบวนการแปรรูปกาแฟ ระยะที่ 1: การผลิตเมล็ดกาแฟดิบด้วยเทคโนโลยีทางเอนไซม์. ภาควิชาเทคโนโลยีการพัฒนามลิตภัณฑ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. รายงานการวิจัย. Resolve_DOI=10.14457/CMU.res.2016.2
- [5] Liu, J., Gen, J., Yu, Y., Zhu, S., Yin, L. and Cheng, Y. (2016). Effect of laboratory-scale decoction on the antioxidative activity of Zhenjiang Aromatic Vinegar: Th contribution of melanoidins. J. Funct. Foods. 21, 75-86.
- [6] Hillkoff. (2564). COC #1 cider of coffee. [Online] Search from: <https://hillkoff.org/coc-1-cider-of-coffee>
- [7] Ostman, E., Granfeldt., Y., Persson, L. and Bjorck, I. (2005). Vinegar supplementation lowers glucose and insulin responses and increases satiety after a bread meal in healthy subjects. Eur. J. Clin. Nutr. 59(9), 983-988.
- [8] Nguyen, T.M.T., Cho, E.J., Oh, T., Song, C.H., Funada, R. and Bae, H.J. (2019). Use of coffee flower as a novel resource for the production of bioactive compounds, melanoidins, and bio-sugars. Food Chem. No. 299: Article ID 125120.
- [9] Hirano, R., Sasamoto, W., Matsumoto, A., Itakura, H., Igarashi, O. and Kondo, K. (2001). Antioxidant ability of various flavonoids against DPPH radicals and LDL oxidation. J Nutr Sci Vitaminol 47(5), 357-362.
- [10] Kao, Y. H., Chang, H. H., Lee, M. J. and Chen, C. L. (2006). Tea, obesity, and diabetes. Mol. Nutr. Food Res. 50(2), 188-210.
- [11] Rains, T. M., Agarwal, S. and Maki, K. C. (2011). Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. J Nutr Biochem. 22(1), 1-7.
- [12] วราวุฒิ ครุสง. (2538). จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. โอ เอส พริ้นติ้งเฮาส์. กรุงเทพมหานคร. 147-150.
- [13] สิตา ทิศาดลติก และ เอื้อมพร รัตนสิงห์. (2562). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากมะตาด. วารสารวิจัยและพัฒนาโลยลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 14(3), 104-116.
- [14] อชิตา จารุโชติกมล ปวีตรา พูลบุตร คะนิงนิตย์ คาภากุล วราภรณ์ ยุบลพาส ภูริตา นาสิงบุตร กนกนุช จันทะคาม อาภาภิชย์ บัวเขียว เกสราภรณ์ งามญาติ และฐิติพร พลศรี. (2562). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนฟักข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 27(3), 473-484.

- [15] พัทธนันท์ นาถพินิจ, อัจฉรา ไชยองค์การ และสิรินทิพย์ ยะกับ. (2566). ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกาแฟเชอร์รี่พันธุ์อราบิก้า. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี. 11(2), 83-99.
- [16] พัทธชัย ปิ่นนาค, ธัญญ์นรี จิณะไชย, สุพิชญา เกษร และ อาลิตา มาคุณ. (2563). ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกกาแฟเชอร์รี่และดอกกาแฟ ในระบบวนเกษตรของจังหวัดอุดรดิตถ์. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์. 1, 61-70.
- [17] Pekal A., & Pyrzyńska K. (2004). Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. Food analysis. 7, 1776-1782.
- [18] Thomas, J.B., (2012). A Comparative study of the Antioxidant activity (DPPH), Total flavonoid, Total Tannin, Total polyphenol levels in plant extracts of the Annona muricata, Ribes nigrum and Manilkara zapota. International Journal of Scientific and Research Publications. 6(9), 490-494.
- [19] Yang, J., Chen, J.F., Zhao, Y.Y. and Mao, L.C. (2010). Effects of drying processes on the antioxidant properties in sweet potatoes. Agricultural Sciences in China. 9(10), 1522–1529.
- [20] กาญจนา นาคประสม, จตุรภัทร วาฤทธิ์, อุมพร อุประ, หยาตฝน ทนงการกิจ และนักรบ นาคประสม. (2560). สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรวมจากดอกบัวหลวง โดยใช้เทคนิคสกัดด้วยไมโครเวฟ. วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 45(2), 328-342.
- [21] ธเนศวร นวลใย และเบญจมาศ ไชยลาภ. (2564). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของส่วนแยกย่อยจากเปลือกลำต้นของกรวยป่า. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 13(26), 38-47.
- [22] สมหมาย ปัตตาลี. (2551). การศึกษาคุณภาพของน้ำหมักชีวภาพที่ผลิตจากผลมะพลอด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.
- [23] Hamama, A.A. and Nawar, W.W. (1991). Thermal decomposition of some phenolic antioxidants. J. Agric. Food Chem. 39(6), 1063–1069.