

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

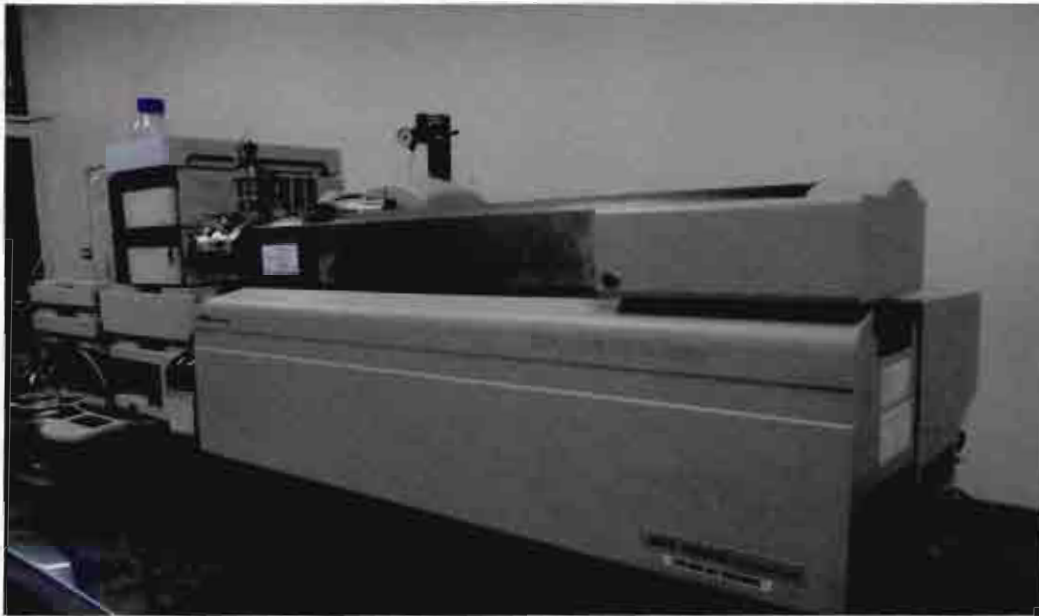
ภาพประกอบ



ภาพ 10 เครื่องโครมาโตกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง  
(High Performance Liquid Chromatography: HPLC)



ภาพ 11 ชุดกรองเมมเบรนเส้นผ่าศูนย์กลาง ขนาด 13 มิลลิเมตร และ 47 มิลลิเมตร  
พร้อมแผ่นกรองชนิด ไนลอน ขนาด 0.5 ไมโครเมตร



ภาพ 12 เครื่องแมสโครมาโตกราฟชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง  
(Mass High Performance Liquid Chromatography: LC-MS/MS)

ภาคผนวก ข

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัด

การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจวัด (Limit of Detection, LOD) และการทดสอบ

ขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (Limit of Quantitative, LOQ)

ในที่นี้ใช้วิธีการคำนวณค่า LOD และ LOQ จากสมการเส้นตรงที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้น กับพื้นที่ใต้พีค ของสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนโดยกำหนดค่า LOD เท่ากับสัญญาณที่ได้เป็น 3 เท่าของสัญญาณรบกวน (noise) กำหนดค่า LOQ เท่ากับสัญญาณที่วัดได้เป็น 10 เท่าของสัญญาณรบกวน (noise) โดยจะแสดงวิธีการหา LOD และ LOQ ของคาเฟอีน ดังนี้

จากกราฟมาตรฐานของคาเฟอีนจะได้สมการ regression ดังนี้

$$y = 59.02680x + 12.86961$$

Correlation coefficient ( $r$ )

$x_i$	$y_i$	$x_i - \bar{x}$	$(x_i - \bar{x})^2$	$y_i - \bar{y}$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})$	
20	1111.91089	-40	1600	-216387	4682321.839	86554.69336	
40	2184.1377	-20	400	-1091.64	1191679.034	21832.81048	
60	3288.34253	0	0	12.56431	157.8617853	0	
80	4360.18896	20	400	1084.411	1175946.644	21688.21472	
100	5434.31104	40	1600	2158.533	465263.918	86341.31264	
$\bar{x}$	60	3275.778					
$\Sigma$	300	16378.89112	0	4000	0	11709369.3	216417.0312

$$\begin{aligned} \text{จากสมการ } r &= \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{[\sum (x_i - \bar{x})^2][\sum (y_i - \bar{y})^2]}} \\ &= 216417.0312 / \sqrt{(4000)(11709369.3)} \\ &= 216417.0312 / 216419.678 \\ &= 0.999987 \end{aligned}$$

$$b(m) = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x}) - (y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

$$\begin{aligned} b(m) &= 216417.0312 / 4000 \\ &= 54.1043 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 a(b) &= \bar{y} - b\bar{x} \\
 &= 3275.778 - (54.1043)(60) \\
 &= 29.52 \\
 y &= bx + a \\
 y &= 54.1043 + 29.52 x
 \end{aligned}$$

$$\text{และ } S_y / x = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 / (n-2)^{1/2}$$

$S_y$  หา  $y_i$  จากการแทนค่า  $x$  ในสมการ  $y = 54.1043 + 13132.63$

$x_i$	$y_i$	$\hat{y}_i$	$y_i - \hat{y}_i$	$ y_i - \hat{y}_i $	$(y_i - \hat{y}_i)^2$
20	1111.91089	111.60776	0.30314	0.30314	0.09189386
40	2184.1377	2193.69276	-9.555056	9.555056	91.29909516
60	3288.34253	3275.77776	1.256477	1.256477	157.8735457
80	4360.18896	4357.86276	2.326204	2.326204	5.41122505
100	5434.31104	5439.94776	-5.636716	5.636716	31.77256726
รวม					286.448327

โดยที่  $x$  = Caffeine Concentration , ppm  
 $y_i$  = Ordinate values of standard concentration  
 $\hat{y}_i$  = Values are the points on the calculated regression line

corresponding to the individual  $x$ -values

จากตารางนำข้อมูลมาคำนวณค่า LOD, LOQ ได้ดังนี้

ค่า LOD คำนวณได้จากสมการ

$$y - y_B = 3S_B \longrightarrow \textcircled{1}$$

โดยที่  $y_B$  = blank signal (คือ  $a$ )

$S_B$  = standard deviations of blank (คือ Error in the slope and intercept of the regression line)

จากกราฟ Linearity จะได้สมการ regression

$$y = b(x) + a \longrightarrow \textcircled{2}$$

แทนค่าจะได้

$$y = 7.1043x + 29.52$$

Error in the slope and intercept of the regression line แสดงได้ตั้งสมการ

$$S_{y/x} = \left\{ \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 / (n-2) \right\}^{1/2} = S_B$$

แทนค่าในสมการ

$$S_{y/x} = \sqrt{2.86.448327 / (5-2)} = 9.77 = S_B$$

$$y_B = a$$

จากสมการ regression line  $a = 9.77$

$$y_B = 9.77$$

คำนวณ LOD จากสมการ  $\longrightarrow$  ①

$$y - y_B = 3S_B \text{ หรือ}$$

$$\begin{aligned} y &= y_B + 3S_B \\ &= 3(9.77 + 29.52) \\ &= 58.83 \end{aligned}$$

หาค่า Concentration ( $x$ ) โดยนำไปแทนค่าในสมการ  $\longrightarrow$  ②

$$\begin{aligned} x &= \frac{y}{b} + a \\ &= \frac{58.83 + 29.52}{54.1043} \end{aligned}$$

ค่า LOD = 1.6 มิลลิกรัม/กิโลกรัม

Limit of Quantitative (LOQ)

ค่า LOQ คำนวณได้จากสมการ

$$y - y_B = 10S_B \text{ หรือ}$$

$$\begin{aligned} y &= y_B + 10S_B \\ &= 10(9.77) + 29.52 \\ &= 127.22 \end{aligned}$$



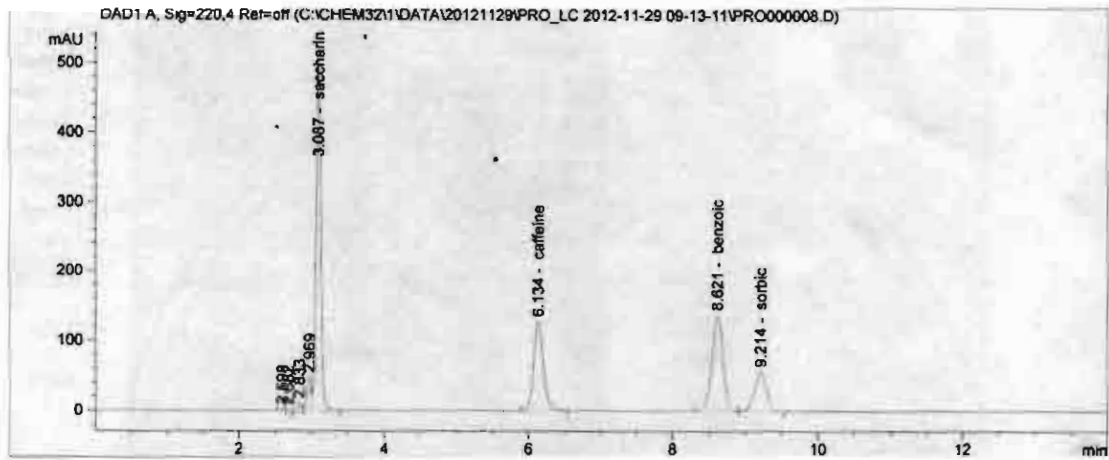
หาค่า Concentration ( $x$ ) จาก  $x = \frac{y}{b} + a$

แทนค่า จะได้  $x = \frac{127.22 + 29.52}{54.1043}$

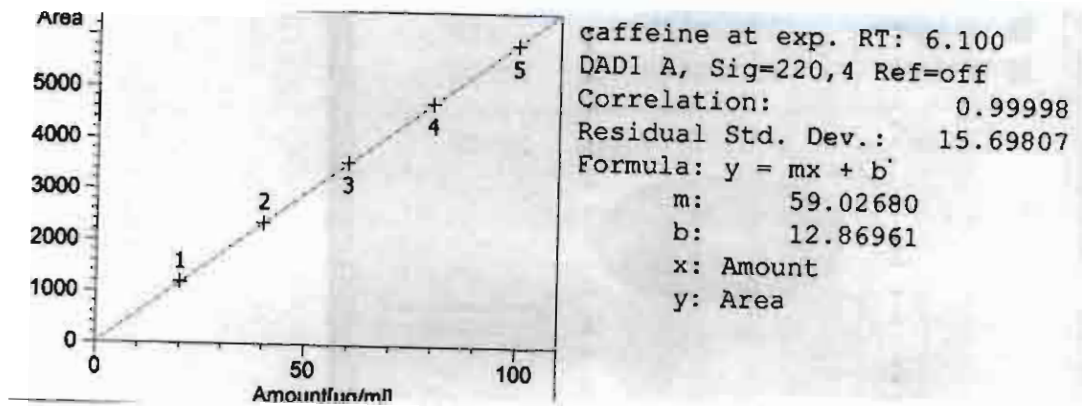
ดังนั้น LOQ = 2.90 มิลลิกรัม/ลิตร

ภาคผนวก ค

โครงการโตแกรมคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก



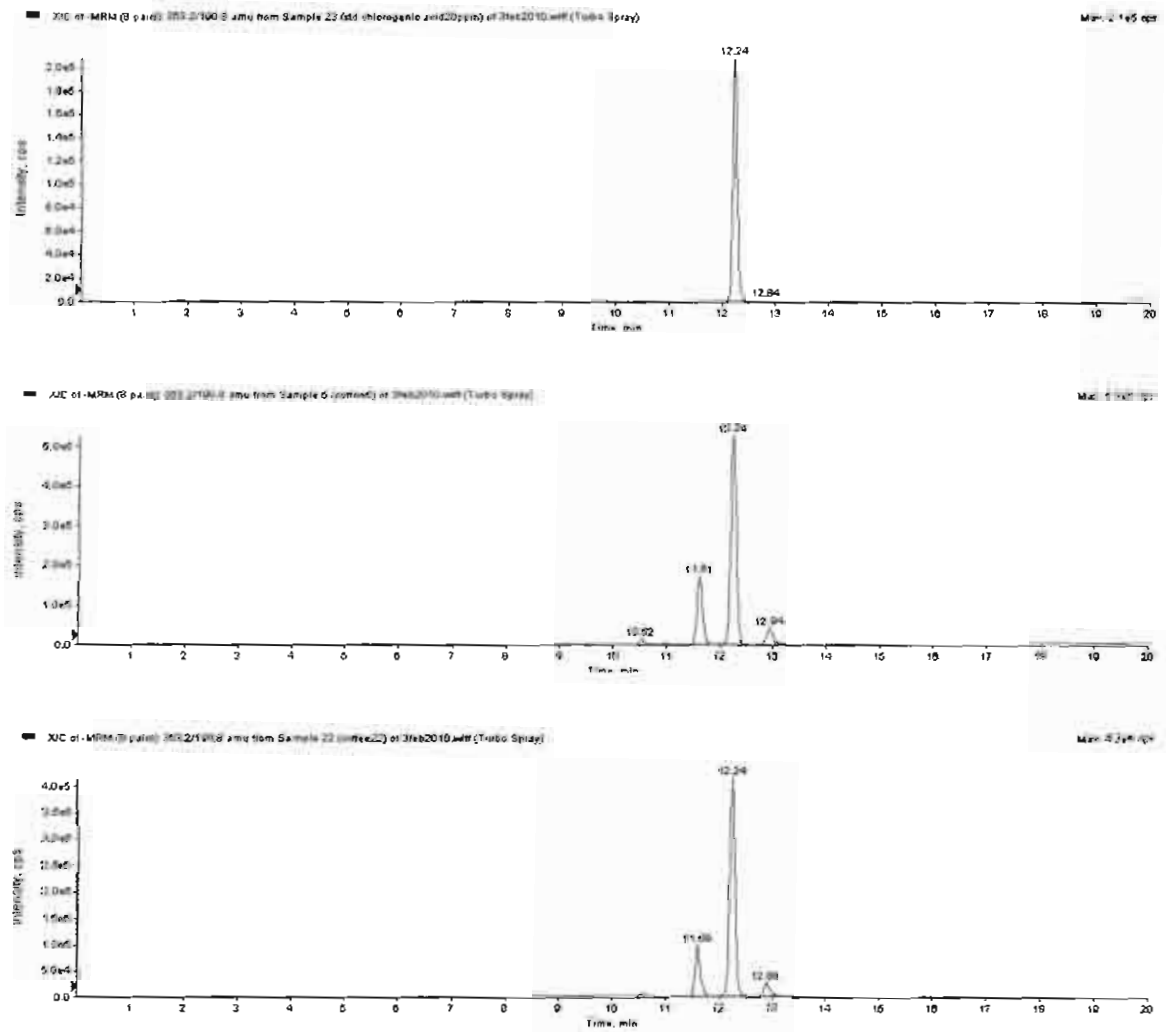
ภาพ 13 โครมาโตแกรม ค่า Retention time ของคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก



ภาพ 14 Standard Curve ของคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ภาคผนวก ง

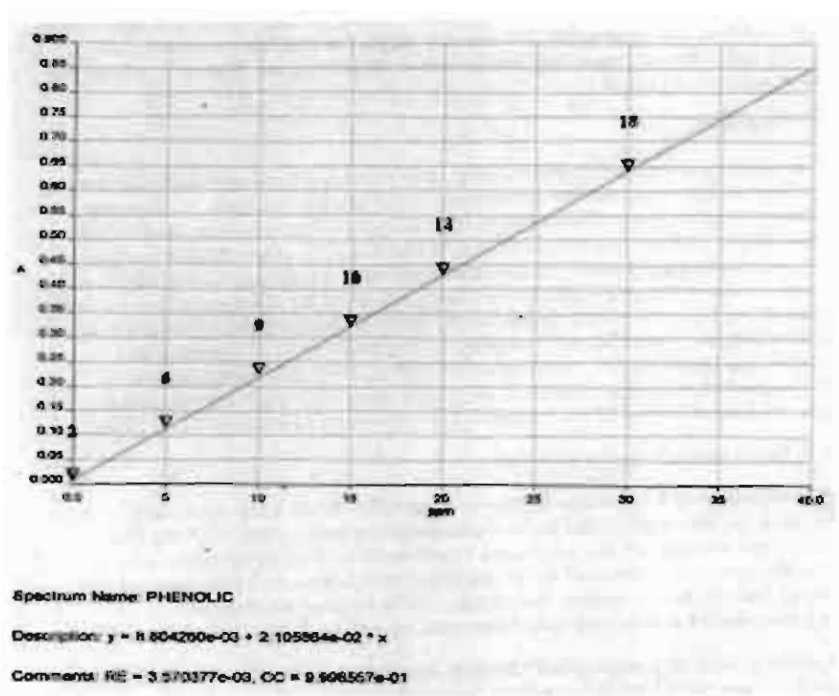
โครมาโตแกรม กรดคลอโรจีนิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก



ภาพ 15 โครมาโตแกรม กรดคลอโรจินิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ภาคผนวก จ

**Standard curve** ของ กรดฟีนอลิก



ภาพ 16 Standard curve ของกรดฟีนอลิก

ภาคผนวก ฉ

ผลงานที่ได้รับการตีพิมพ์





บทความวิจัยฉบับสมบูรณ์  
การนำเสนอผลงานวิจัย แบบบรรยายและโปสเตอร์

รายงานสืบเนื่องจาก

# การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏ ครั้งที่ 2

การวิจัยพัฒนาท้องถิ่นเพื่อแผ่นดินไทย : พัฒนาคุณภาพชีวิตของคนในท้องถิ่น  
The 2<sup>nd</sup> National Academic Congress of Rajabhat University (NACRU II)  
Local Research of Thai Kingdom : Development for Local Life



ISBN 978-974-9802-15-1

มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก

## การศึกษาปริมาณคาเฟอีนและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูป สำหรับควบคุมน้ำหนัก

Evaluation of Caffeine Content and Antioxidant Capacity in Weight Reducing Instant Coffee

วาลีย์ ทองทา<sup>1</sup>, ธวัชชัย ศุภวิทิตพัฒนา<sup>2</sup>  
Walee Thongta, Thawatchai Supavitpatana

### บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณคาเฟอีนและตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก โดยเก็บตัวอย่างจากร้านที่จำหน่ายกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลก จำนวน 28 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาปริมาณสารคาเฟอีนโดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี dialysis นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนแบบ Isocratic ด้วย Column : Prevail C18 (4.6 x 150 mm, 5 µm) สารละลายเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) เป็นสารผสมของ methanol กับ phosphate buffer pH 3.5 อัตราส่วน 40:60 ตรวจวัดด้วยดีเทคเตอร์แบบยูวี (UV Detector) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 220 นาโนเมตร พบว่าปริมาณสารคาเฟอีนในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก ที่ตรวจพบอยู่ในช่วง 4-8 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร และนำมาประเมินฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (diphenylpicrylhydrazyl) assay โดยใช้เครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ผลการประเมินฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองจังหวัดพิษณุโลกพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วงร้อยละ 14-80

คำสำคัญ : กาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก, คาเฟอีน, HPLC, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### บทนำ

กาแฟเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมจากคนทั่วโลกเป็นเวลานานและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป นอกจากนี้กาแฟยังใช้เป็นเครื่องดื่มที่มีการเสิร์ฟระหว่างการประชุม โดยในกาแฟมีคาเฟอีนซึ่งเป็นสารกระตุ้นระบบประสาทส่วนกลาง (อังกฤษ, 2549) โมเลกุลของคาเฟอีนสามารถจับกับตัวรับแอนดีโนซีน (adenosine receptor) ในสมองและยับยั้งการทำงานของแอนดีโนซีนได้ เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารในกลุ่มแซนทีนแอลคาลอยด์ที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับแอนดีโนซีน (andinosine) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดหนึ่งในสมอง ส่งผลให้มีการเพิ่มการทำงานของสารสื่อประสาทโดปามีน (Dopamine) ทำให้เกิดการตื่นตัวและยังพบอีกว่ามีการเพิ่มปริมาณของซีโรโทนิน (Serotonin) ซึ่งมีผลต่ออารมณ์ของผู้บริโภค ทำให้รู้สึกพึงพอใจและมีความสุขมากขึ้น โดยคาเฟอีนมิได้ลดความต้องการนอนหลับของสมองแต่ลดความรู้สึกเหนื่อยล้าของร่างกายลงเท่านั้น (สุพรรณนิการ์, 2551) นอกจากนี้ยังพบว่าคาเฟอีนเมื่อดูดซึมเข้าสู่ร่างกายจะช่วยเผาผลาญสารอาหารในร่างกายโดยคาเฟอีนจะถูกเปลี่ยนสภาพที่ตับจากการทำงานของเอนไซม์ไซโตโครม พี 450 ออกซิเดส (Cytochrome P450 Oxidase) (อังกฤษ, 2549) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะเปลี่ยนคาเฟอีนให้เป็นอนุพันธ์สามชนิดคือ ทีโอฟิลลีน (Theophylline) มีผลทำให้กล้ามเนื้อเรียบที่อยู่ล้อมรอบหลอดเลือดคลายตัวทำให้หลอดเลือดขยายตัวมากขึ้น ทีโอบ्रोมีน (Theobromine) มีผลในการขยายหลอดเลือดและเพิ่มปริมาณของปัสสาวะ พาราแซนทีน (Paraxanthine) มีผลในการสลายไขมันเพิ่มปริมาณของกลีเซอรอลและกรดไขมันในกระแสเลือด นอกจากนี้กาแฟยังมีกรดคลอโรจินิกซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Li H et al., 2005) ซึ่งปัจจุบันประชาชนตื่นตัวในเรื่องการดูแลสุขภาพ การชะลอความแก่ลดรอยเหี่ยวย่นและป้องกันการเกิดโรค เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดแข็งตัว ซึ่งมีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระเข้าทำลายเซลล์เนื้อเยื่อ อนุมูลอิสระอาจเกิดขึ้นเองภายในร่างกาย เช่น จากกระบวนการเผาผลาญอาหาร การหายใจ การออกกำลังกาย หรืออาจได้รับจากภายนอกเข้าสู่ร่างกาย ได้แก่ โลหะหนัก คาร์บอนหรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเล็ต (Ultraviolet) การแผ่รังสี (Radiation) รังสี x-ray ก๊าซจากท่อไอเสียรถยนต์ เป็นต้น โดยธรรมชาติร่างกายจะหาทางป้องกันการเข้าทำลายของอนุมูลอิสระเพื่อปกป้องตัวเองคือ ระบบต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants) แต่อย่างไรก็ตามหากร่างกายได้รับปริมาณอนุมูลอิสระ

<sup>1</sup> นักศึกษาลักศุภศรีวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิษณุโลก  
<sup>2</sup> อาจารย์ที่ปรึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิษณุโลก 65000

มากเกินกว่าที่ระบบต้านอนุมูลอิสระจะสามารถต้านทานได้ อาจเกิดภาวะที่เรียกว่า ความเครียดที่เกิดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) ขึ้นมา ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H ตลอดจนเยื่อหุ้มเซลล์ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์ เป็นสาเหตุของโรคหลายชนิดดังกล่าว (นิทราและกรรณก, 2548)

จากข้อได้เปรียบของกาแฟที่เป็นที่รู้จักและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายตลอดจนข้อดีของคาเฟอีนที่ช่วยสลายไขมันในร่างกายและกรดคลอโรจีนิกซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้ในปัจจุบันมีการผลิตกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักจำหน่ายในเชิงการค้ามากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามปริมาณคาเฟอีนที่ร่างกายได้รับก็มีข้อจำกัดเช่นกัน โดยถ้าได้รับ 50-200 มิลลิกรัมต่อวันจะทำให้ร่างกายกระปรี้กระเปร่าไม่ง่วงนอน หลีกเลี่ยงอาการอ่อนเพลียและสามารถปฏิบัติงานได้อย่างต่อเนื่อง แต่ถ้าได้รับปริมาณมากถึงวันละ 200-500 มิลลิกรัม จะทำให้ปวดศีรษะ กระวนกระวาย มือสั่นและนอนไม่หลับ ผู้ที่มีความไวต่อคาเฟอีนอาจเกิดอาการหัวใจเต้นผิดปกติและใจสั่น นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของคาเฟอีน 5-10 กรัม อาจทำให้ผู้ใหญ่เสียชีวิตและปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนัก 1 กิโลกรัม อาจทำให้เด็กเล็กเสียชีวิตได้ (สุวรรณีและวีระพร, 2541) ฉะนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาปริมาณคาเฟอีนและการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคและเฝ้าระวังการได้รับปริมาณคาเฟอีนเกินขนาด

### อุปกรณ์และวิธีการ

#### ตัวอย่าง

ตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก สุ่มซื้อจากร้านที่จำหน่ายกาแฟปรุงสำเร็จในอำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก รวมทั้งสิ้น 28 ตัวอย่าง

#### เครื่องมือ

เครื่องโครมาโตกราฟีชนิดของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography), Agilent รุ่น 1200 Series USA. ประกอบด้วย Degasser, Quaternary pump, Autosampler, DAD Detector คอลัมน์ : Prevail C<sub>18</sub> (4.6 x 250 มิลลิเมตร, อนุภาค, 5 ไมโครเมตร) (Alltech, USA) เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์, PERKIN ELMER Lambda 2, Germany ความยาวคลื่น 517 nm เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter), Multiseven Mettler Toledo, Switzerland เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance) Sartorius 1801, Germany

#### เครื่องแก้ว

ชุดกรอง mobile phase พร้อมกระดาดกรอง 0.45 ไมโครเมตร ชนิดไนลอน; Cellophane tubing Spectra/Pro<sup>®</sup> membranes MWCO 12,000 -14,000 Spectrum Medical Inc., USA; micropipette ขนาด 100 ไมโครลิตร, 1,000 ไมโครลิตร; syring ขนาด 1 มิลลิลิตร ; syring filter 0.45 ไมโครเมตร ชนิดไนลอน

#### สารเคมี

Methanol: HPLC grade Merck, Germany; Potassium dihydrogen phosphate (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) Merck Germany; Caffeine Fluka, Germany; 2-2 diphenyl-1-piclyhydrazyl (DPPH) Fluka, Germany.

#### การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน

##### วิธีการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

Stock standard solution: โดยชั่งสารมาตรฐานคาเฟอีน 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย Volumetric flask จะได้สารละลายคาเฟอีน ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

##### วิธีเตรียม mobile phase (0.025 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (pH 3.5): methanol = 60:40)

ชั่ง KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> ปริมาณ 3.4023 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH 3.5 ด้วย 5% phosphoric acid แล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร โดยใช้ clarification kits

### วิธีเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จสำหรับควบคุมน้ำหนักให้บริสุทธิ์สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนด้วยวิธี die โดยการตัดแผ่นเซลลูโลสเมมเบรนให้มีความยาว 15-20 เซนติเมตร นำไปแช่ในน้ำมดปลายให้เป็นถุงด้วยเชือกไม่มีสีให้แน่น ตัวอย่างประมาณ 5 กรัม (น้ำหนักแน่นอน) ละลายตัวอย่างด้วยน้ำร้อน 20 มิลลิลิตร ทิ้งให้เย็นถ่ายตัวอย่างใส่ในถุงเซลลูโลสเมมเบรน มัดปากถุงให้แน่น เขย่าให้เข้ากัน นำถุงใส่ Cylinder ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปราศจากไอออนจนถึงขีด 80 มิลลิลิตร ปิดปาก Cylinder ด้วย parafilm ตั้งทิ้งไว้ค้างคืน นำเมมเบรนที่ได้ตัวอย่างทิ้ง เขย่าอีกครั้ง กรองผ่าน membrane filter ขนาด 0.45 ไมครอน เส้นผ่านศูนย์กลาง 13 มิลลิเมตร ด้วย clarification kits ลงในขวด vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นกับกราฟมาตรฐาน

### วิธีวิเคราะห์

การสร้างกราฟมาตรฐาน

เปิด stock standard solution ของคาเฟอีน จำนวน 20,40,60,80 และ 100 ไมโครลิตร ลงใน vial ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 1000 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้น 20,40,60,80,100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นำสารละลายฉีดเข้าเครื่อง HPLC สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกับพื้นที่ใต้พีค (ค่า  $R^2$  ต้องไม่น้อยกว่า 0.999) โดยตั้งสภาวะของเครื่อง HPLC ดังนี้

คอลัมน์ : Prevail  $C_{18}$  (4.6 x 150 mm, 5  $\mu$ m); เฟสเคลื่อนที่ : 0.025M  $KH_2PO_4$  (pH 3.5) : Methanol 60:40

อัตราการไหล (flow rate) : 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิคอลัมน์ : 40 องศาเซลเซียส ปริมาณที่ฉีด : 20 ไมโครลิตร

เครื่องตรวจวัด (detector) : UV 220 นาโนเมตร วิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ รายงานเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ปริมาณคาเฟอีน (มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร) = (ค่าที่อ่านได้จากกราฟมาตรฐาน x dilution) / น้ำหนักตัวอย่าง

### ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

นำสารละลาย 0.1mM DPPH จำนวน 2.9 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดสอบ และนำตัวอย่างสารละลายกาแฟปรุงสำเร็จสำหรับควบคุมน้ำหนัก 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาสมบูรณ นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) และวัดค่าตัวควบคุมที่ใช้สารละลายเมทานอล 0.1 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างละ 3 ครั้ง ประเมินฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละ ค่าที่รายงานเป็นค่าเฉลี่ย  $\pm$  ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยคำนวณได้จากสูตร

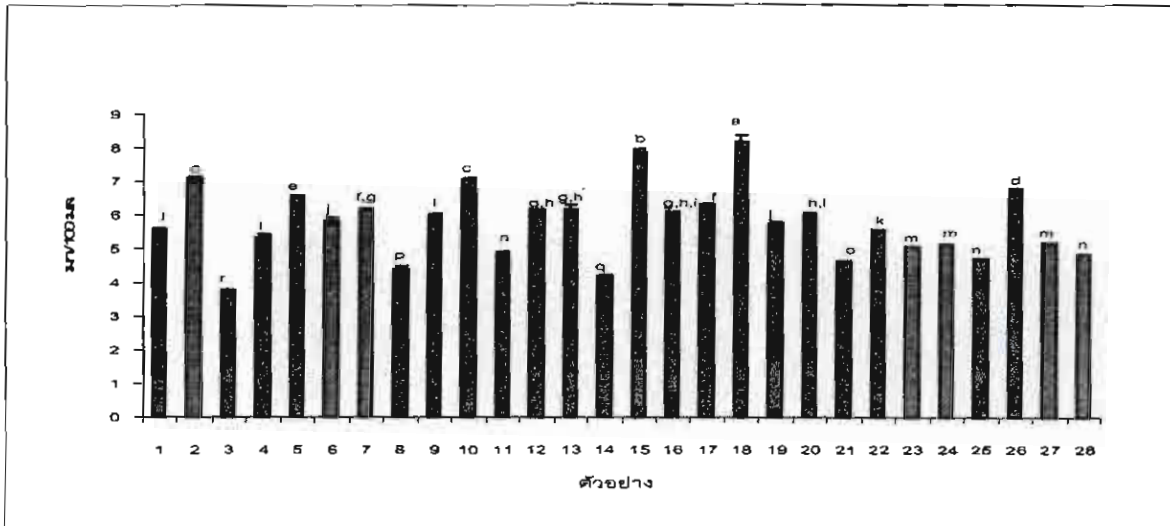
$$\text{ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)} = \frac{(\text{ค่าดูดกลืนแสงตัวควบคุม} - \text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง})}{\text{ค่าดูดกลืนแสงตัวควบคุม}} \times 100$$

### ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

#### 1. การวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีน

จากการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จสำหรับควบคุมน้ำหนัก จำนวน 28 ตัวอย่าง (ยี่ห้อ) พบว่า ปริมาณคาเฟอีนอยู่ในช่วง 4-8 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ( $p < 0.05$ ) มีค่าเฉลี่ย 5.86 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตัวอย่างที่พบปริมาณคาเฟอีนมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 18 รองลงมาคือตัวอย่างที่ 15 2 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณคาเฟอีนเท่ากับ  $8.18 \pm 0.204$  รองลงมาคือ  $7.87 \pm 0.105$   $7.11 \pm 0.074$  และ  $7.09 \pm 0.007$  มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งตัวอย่างที่ 2 และตัวอย่างที่ 10 มีปริมาณคาเฟอีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) และเช่นเดียวกับตัวอย่างที่ 7 12 13 16 และตัวอย่างที่ 20 ก็มีปริมาณคาเฟอีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) เช่นกัน คืออยู่ในช่วง 6.05 - 6.19 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตัวอย่างที่พบคาเฟอีนน้อยที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 3 รองลงมา 14 8 และ 21 ตามลำดับ ปริมาณที่พบคือ  $3.76 \pm 0.018$   $4.18 \pm 0.036$   $4.37 \pm 0.103$  และ  $4.61 \pm 0.029$  มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนตัวอย่างที่ 25 11 28 มีปริมาณคาเฟอีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) ตามลำดับ (ดังแสดงในภาพที่ 1) ซึ่ง วรรณและคณะ (2542) ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพและคุณลักษณะของกาแฟปรุงสำเร็จรูปพร้อมดื่ม 28 ชนิด (ยี่ห้อ) พบว่ามีปริมาณคาเฟอีน 90.42-228.48 มิลลิกรัมต่อ 1 หน่วยภาชนะบรรจุ มีกาแฟปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม 3 ยี่ห้อ มีปริมาณคาเฟอีนมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อ 1 ภาชนะบรรจุ

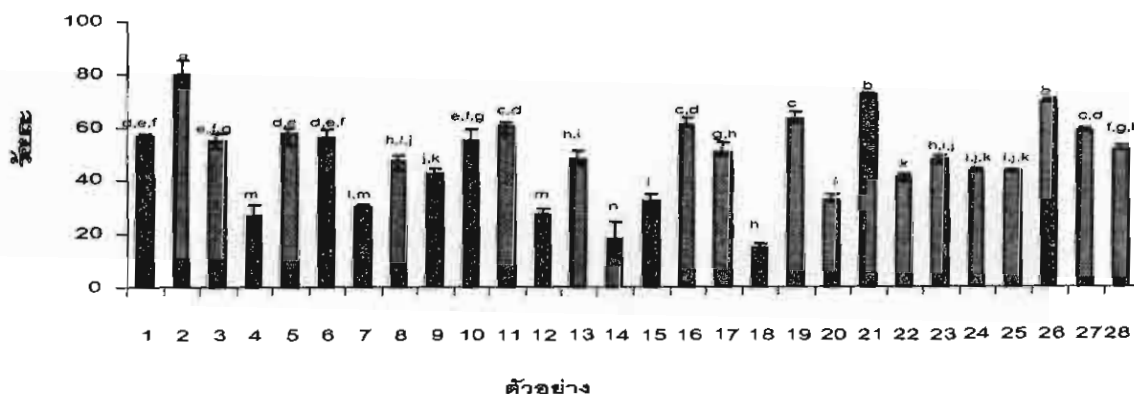




ภาพที่ 1 ปริมาณค่าเฟอในกาแฟปรุงสำเร็จสำหรับควบคุมน้ำหนัก

## 2. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วงร้อยละ 14-80 ( $p < 0.05$ ) และตัวอย่างที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าร้อยละ 50 พบจำนวน 14 ตัวอย่าง จาก 28 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ 2 ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ร้อยละ 79.67 ( $p < 0.05$ ) ซึ่งไม่ระบุส่วนผสม และตัวอย่างที่ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 18 โดยมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 14.88 ซึ่งมีส่วนผสมของกาแฟ แอสปาร์ทาม สารสกัดจากถั่วเหลือง โอลิโกฟรุคโตส วิตามินและเกลือแร่ (ดังแสดงในภาพที่ 2) ตัวอย่างที่ 1 3 5 6 10 11 16 และ 27 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \geq 0.05$ ) เช่นเดียวกับ ตัวอย่างที่ 8 13 17 23 24 25 ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน ( $p \geq 0.05$ )



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จสำหรับควบคุมน้ำหนัก

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณค่าเฟอที่แตกต่างกันนั้นเนื่องจากปริมาณผงกาแฟแต่ละยี่ห้อไม่เท่ากัน ส่วนผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกาแฟสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก มีส่วนผสมที่บรรจุในซองไม่เหมือนกันทุกตัวอย่าง ซึ่งส่วนผสมเหล่านี้อาจมีหรือไม่มีในตัวอย่างหนึ่งก็ได้ เช่น คอลลาเจน โสมสกัด วิตามินและ เกลือแร่ แอล -คาร์นิทีน แอล-กลูตามีน

แอล-อาร์จินีน แอล-ไกลซีน โครเมียม พิคโลสิเนท อะมิโน แอซิด คีเลต สารยาลดความดันโลหิตตัวขาว คอลลาเจน จากปลาทะเล สารสกัดโสม สารสกัดเห็ดหลินจือ สารสกัดจากกระบองเพชร เป็นต้น

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปริมาณคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนัก ตรวจสอบคาเฟอีนในทุกตัวอย่าง เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารที่มีอยู่ตามธรรมชาติของกาแฟ ซึ่งเป็นส่วนผสมหลักของเครื่องดื่มประเภทนี้ ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 197 พ.ศ. 2543 ได้กำหนดปริมาณคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปผสมว่ามีคาเฟอีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.5 ของน้ำหนัก จากภาพที่ 1 จะเห็นได้ว่าปริมาณคาเฟอีนที่มีในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักมีปริมาณคาเฟอีนอยู่ในช่วง 4-8 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ค่าเฉลี่ย 5.86 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ซึ่งในเครื่องดื่มประเภทโคลา กฎหมายกำหนดปริมาณคาเฟอีนมีได้ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ในขณะที่เครื่องดื่มให้พลังงานกำหนดปริมาณคาเฟอีนไม่เกิน 50 มิลลิกรัม/ภาชนะบรรจุ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคาเฟอีนในกาแฟสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักกับเครื่องดื่มให้พลังงาน จึงไม่ควรบริโภคกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักเกินวันละ 2 แก้ว ซึ่งปัจจุบันนอกจากผู้บริโภคหรือผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักหรือควบคุมน้ำหนัก จะได้รับคาเฟอีนจากการดื่มกาแฟแล้ว ยังอาจได้รับการดื่มชา น้ำอัดลม เครื่องดื่มบำรุงกำลัง ดังนั้นโอกาสที่จะได้รับปริมาณคาเฟอีนเกินขนาดจึงเกิดขึ้นได้

การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักพบว่าอยู่ในช่วงร้อยละ 14-80 จะเห็นได้ว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วงกว้างอาจเนื่องมาจากส่วนผสมและอัตราส่วนผสมในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักแต่ละชนิด แต่ละยี่ห้อมีความแตกต่างกันทุกตัวอย่าง ซึ่งผู้ผลิตในเชิงการค้าได้กล่าวอ้าง

### การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

งานวิจัยนี้สามารถเป็นข้อมูลสำหรับผู้ที่ต้องการลดน้ำหนักโดยการบริโภคกาแฟสำเร็จรูปสำหรับควบคุมน้ำหนักได้อย่างได้อย่างปลอดภัย และเป็นข้อมูลในการประกอบการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ดังกล่าว สำหรับเจ้าหน้าที่สาธารณสุขสามารถใช้เป็นข้อมูล เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคและเฝ้าระวังการได้รับปริมาณคาเฟอีนเกินขนาด

### เอกสารอ้างอิง

- นิทรา เนื่องจ้านงค์ และกรรณก อิงคินันท์. (2548. พฤษภาคม-สิงหาคม). การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มหมุนไพรและไวน์ไทย, วารสารอาหารและยา. ปีที่ 12 ฉบับที่ 2
- ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 195 (พ.ศ. 2543). เรื่อง กาแฟ. ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไปเล่มที่ 118, ตอนพิเศษ 6 ง. พระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2522 . (ลงวันที่ 24 มกราคม 2544).
- วรวิมล เจริญศิริ. (2551). เครื่องดื่มผสมคาเฟอีน. (ออนไลน์).  
[http://www.bankokhealth.com/durgs\\_htdoc/durgs\\_health\\_detail.asp?Numbe](http://www.bankokhealth.com/durgs_htdoc/durgs_health_detail.asp?Numbe)
- วรนุช ศรีเจษฎารักษ์ เทพฤทธิ์ ปิตียนต์ เบญจวรรณ พัชรประเสริฐ และจิรพัทธ์ อินทรตุล. (2542 ก.ค.-ธ.ค.) คุณภาพของกาแฟปรุงสำเร็จรูป. วารสารวิจัย มข. 4(2)
- สุพรรณิการ์ กิจสวัสดิ์ไพบูลย์. (2551). คาเฟอีนในเครื่องดื่มโคล่าตัว. (ออนไลน์).  
[http://www.pharmacy.cmu.ac.th/dic/newsletter/newpdf/newsletter10\\_4/caffeine.pdf](http://www.pharmacy.cmu.ac.th/dic/newsletter/newpdf/newsletter10_4/caffeine.pdf)
- สุวรรณี ธีรภาพธรรมกุลและวีระพร แจ่มศรี. (2541,กรกฎาคม - กันยายน). การวิเคราะห์หาปริมาณคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จพร้อมดื่มโดยวิธี HPLC. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 40 (3) : 317-325.
- สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กองควบคุมอาหาร. (2552). (ออนไลน์).  
<http://www.fda.moph.go.th/fda-net/html/ service/news hot/may/coffee.htm>
- อังคณา อัญญมณี. (2549). Caffeine Addition. ภาควิชาจิตเวชศาสตร์คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี (ออนไลน์).  
<http://www.ramamental.com>
- Li H., Liu Y.; Zhang Z.; Liao H.; Nie L.; Yao S. (2005). Separation and purification of chlorogenic acid by molecularly imprinted polymer monolithic stationary phase. Journal of Chromatography A. (1098) : 66-74.



กรมส่งเสริมการศึกษาระดับชาติ  
การวิจัยและพัฒนาท้องถิ่น  
มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธวิทยาลัย

## เกียรติบัตรฉบับนี้ให้ไว้เพื่อแสดงว่า

นางวัลย์ ทองทา

ได้นำเสนอผลงานวิจัยภาคบรรยาย  
การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏ ครั้งที่ ๒

การวิจัยท้องถิ่นเพื่อแผ่นดินไทย : พัฒนาคุณภาพชีวิตของคนในท้องถิ่น  
ระหว่างวันที่ ๑๔ - ๑๗ มกราคม พ.ศ.๒๕๕๔

ให้ไว้ ณ วันที่ ๑๗ มกราคม พ.ศ.๒๕๕๔

(ดร.สว่าง กุพัฒนาวิบูลย์)

อธิการบดีมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ประวัติผู้วิจัย



## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางวาสีย์ ทองทา
วัน เดือน ปีเกิด	7 ธันวาคม 2514
สถานที่เกิด	84 หมู่ 3 ต.วัดโบสถ์ อ.วัดโบสถ์ จ.พิษณุโลก 65160
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	135/57 หมู่ 8 ต.หัวรอ อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000
ตำแหน่ง	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ
สถานที่ทำงาน	ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

### ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2526	ประถมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนวัดโบสถ์ จ.พิษณุโลก
พ.ศ. 2532	มัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนวัดโบสถ์ศึกษา จ.พิษณุโลก
พ.ศ. 2537	วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) วิทยาลัยครูพิบูลสงคราม พิษณุโลก
พ.ศ. 2556	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก