

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 ศึกษาวิธีที่เหมาะสมในการสกัดคาเฟอีน

ศึกษาวิธีการสกัดคาเฟอีน 2 วิธี คือ วิธีไดอะไลซิส และวิธีตกตะกอน จากการศึกษาวิธีการสกัดคาเฟอีน พบว่า คอลัมน์สามารถแยกสารคาเฟอีนออกที่เวลา 6.5 นาที โดยการฉีดสารมาตรฐานคาเฟอีนและศึกษาความเป็นเส้นตรงและพิสัย (Linearity และ Range) ของวิธีไดอะไลซิส มีช่วงการวิเคราะห์ที่มีความเป็นเส้นตรงของคาเฟอีน ในช่วงความเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร $y = (59.02680 x) + 12.86961$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.99998 ค่าความแม่นยำ (%recovery) ของคาเฟอีนมีค่าเท่ากับร้อยละ 95.0 โดยการเติมสารมาตรฐานของคาเฟอีนลงในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ส่วนวิธีการสกัดคาเฟอีนด้วยวิธีตกตะกอนพบว่าคอลัมน์สามารถแยกสารคาเฟอีนออกที่เวลา 6.5 นาที และศึกษาความเป็นเส้นตรงและพิสัย (Linearity และ Range) ของวิธีตกตะกอน มีช่วงการวิเคราะห์ที่มีความเป็นเส้นตรงของคาเฟอีน ในช่วงความเข้มข้น 20-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร $y = (65.04902 x) + (-122.27896)$ มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) เท่ากับ 0.99412 ค่าความแม่นยำ (%recovery) ของคาเฟอีน มีค่าเท่ากับร้อยละ 78.0 โดยการเติมสารมาตรฐานของคาเฟอีนลงในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ดังนั้น ในการวิเคราะห์ต่อไปจึงเลือกวิธีการสกัดคาเฟอีนด้วยวิธีไดอะไลซิส โดยการทดสอบความเที่ยงของวิธีวิเคราะห์ที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ทดสอบ 7 ชั่วโมง 1 วัน พบว่ามีค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของคาเฟอีน เท่ากับ 0.08 และ 0.07 ตามลำดับ ผลการทดสอบระหว่างวันที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 3 วัน วันละ 5 ชั่วโมง พบว่า มีค่าร้อยละสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของ caffeine เท่ากับ 0.24 และ 0.41 ตามลำดับ

ตาราง 4 การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOQ) และขีดจำกัดของการวัดเชิงปริมาณ (LOD) ที่คำนวณได้จากสมการกราฟมาตรฐาน (Standard curve) ของคาเฟอีน

สาร	LOD (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	LOQ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
caffeine	1.63	2.90

ตาราง 5 ผลการทดสอบขีดจำกัดการตรวจพบ (LOD) และขีดจำกัดการตรวจวัดเชิงปริมาณ (LOQ) จากการฉีดทดสอบ

สาร	LOD ($\mu\text{g/ml}$)	LOQ ($\mu\text{g/ml}$)
caffeine	1 (0.95 \pm 0.03)	3 (2.79 \pm 0.01)

การทดสอบความแม่นยำ (Accuracy) ของการวิเคราะห์โดยการเติมสารมาตรฐาน นำตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักมาเติมสารมาตรฐานคาเฟอีนที่มีความเข้มข้น 20 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบได้ความเข้มข้น (Mean \pm SD) ในตัวอย่าง กาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักและร้อยละการกลับคืน (% Recovery) ของตัวอย่าง ดังตาราง 6

ตาราง 6 การคำนวณค่าความแม่นยำของคาเฟอีน

Spiked amount	Mean concentration ($\mu\text{g/ml}$)	% Recovery
Non spiked	107.06	
20 ($\mu\text{g/ml}$)	125.35 \pm 0.49	98.40
60 ($\mu\text{g/ml}$)	159.71 \pm 0.12	93.13

การทดสอบความเที่ยง (Precision) โดยนำตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักตามข้อ 3.4.1 มาทดสอบความเที่ยงโดยเติมสารละลายมาตรฐานคาเฟอีนลงในตัวอย่าง ให้มีความเข้มข้น 20 และ 60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผ่านขั้นตอนวิธีการเตรียมตัวอย่างตามข้อ 3.4.1.1 และ 3.3.1.2 แล้วนำไปตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ทำการวิเคราะห์ 7 ซ้ำภายในหนึ่งวัน (within day precision) และทำการวิเคราะห์ทุกวันเป็นเวลา 5 วัน (between day precision) รายงานผลในรูปของเปอร์เซ็นต์ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (Relative Standard Deviation, %RSD) (ทิพวรรณ นิ่งน้อย, 2549) ดังตาราง 7

ตาราง 7 การคำนวณค่าความเที่ยงของคาเฟอีน

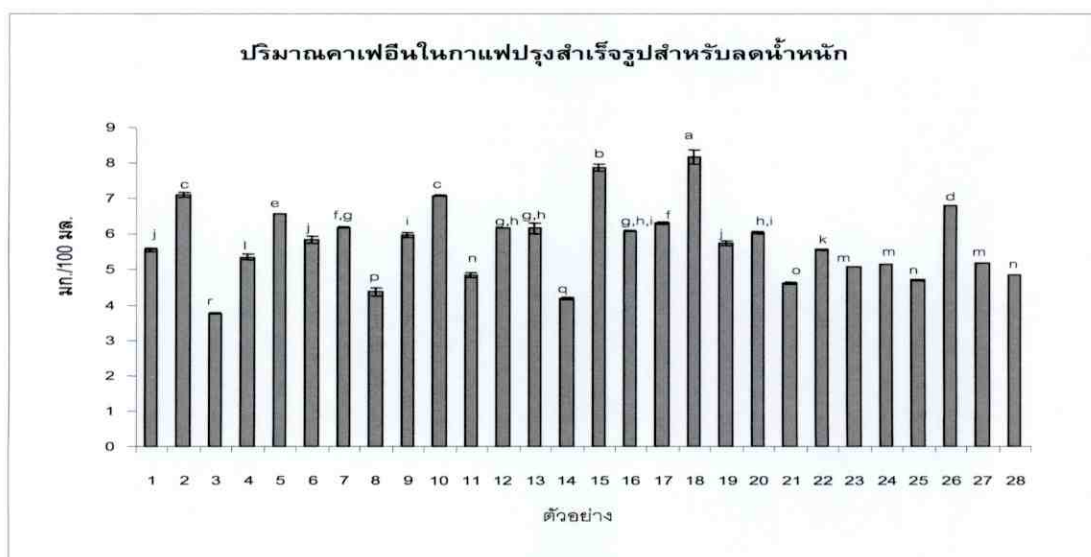
Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Within-day (n=7) Mean \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	%RSD	Between-day (n=3) Mean \pm SD ($\mu\text{g/ml}$)	%RSD
20	20.68 \pm 0.02	0.08	20.19 \pm 0.05	0.24
60	60.39 \pm 0.05	0.07	59.92 \pm 0.43	0.41

4.2 การหาปริมาณคาเฟอีน

ผลการวิเคราะห์ปริมาณคาเฟอีนในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองพิษณุโลก จำนวน 28 ตัวอย่าง ดังตาราง 8 พบว่า ตรวจพบคาเฟอีนทุกตัวอย่าง เนื่องจากคาเฟอีนเป็นสารที่มีอยู่ในธรรมชาติของกาแฟซึ่งเป็นส่วนผสมหลักของเครื่องดื่มประเภทนี้ จะเห็นได้ว่าปริมาณคาเฟอีนที่มีในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักมีปริมาณคาเฟอีนอยู่ในช่วง 4-8 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มีค่าเฉลี่ย 5.86 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ($p < 0.05$) ตัวอย่างที่พบปริมาณคาเฟอีนมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 18 รองลงมา 15 2 และ 10 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณคาเฟอีนที่พบคือ 8.18 \pm 0.204 รองลงมา 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 ($p > 0.05$) ส่วนตัวอย่างที่ 7 13 12 16 และตัวอย่างที่ 20 มีปริมาณคาเฟอีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) คือ อยู่ในช่วง 6.05 - 6.19 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตัวอย่างที่พบคาเฟอีนน้อยที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 3 รองลงมา 14 8 และ 21 ตามลำดับ ปริมาณที่พบคือ 3.66 4.17 4.37 และ 4.61 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนตัวอย่างที่ 25 11 28 มีปริมาณคาเฟอีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) คือ 4.7 \pm 40.003 4.84 \pm 0.074 และ 4.84 \pm 0.004 ตามลำดับ ซึ่ง วรณช ศรีเกษฎารักษ์ และคณะ, 2542 ได้ทำการตรวจสอบคุณภาพและคุณลักษณะของกาแฟปรุงสำเร็จรูปพร้อมดื่ม 28 ชนิด (ยี่ห้อ) พบว่า ปริมาณคาเฟอีนไม่ได้ลดลงตามอายุการเก็บ และพบว่ามีปริมาณคาเฟอีน 90.42-228.48 มิลลิกรัมต่อ 1 หน่วยภาชนะบรรจุ มีกาแฟปรุงสำเร็จพร้อมดื่ม 3 ยี่ห้อ มีปริมาณคาเฟอีนมากกว่า 200 มิลลิกรัมต่อ 1 หน่วยภาชนะบรรจุ

ตาราง 8 ปริมาณคาเฟอีนในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ตัวอย่างที่	ปริมาณคาเฟอีนที่พบ (มก./100 มล.)
1	5.75±0.048 ^j
2	7.11±0.074 ^c
3	3.76±0.018 ^r
4	5.36±0.094 ^l
5	6.57±0.006 ^e
6	5.85±0.089 ^j
7	6.19±0.023 ^{t,g}
8	4.37±0.103 ^p
9	5.99±0.070 ⁱ
10	7.09±0.007 ^c
11	4.84±0.074 ⁿ
12	6.17±0.005 ^{g,h}
13	6.17±0.143 ^{g,h}
14	4.18±0.036 ^q
15	7.87±0.105 ^b
16	6.08±0.016 ^{g,h,i}
17	6.30±0.039 ^f
18	8.18±0.204 ^a
19	5.75±0.064 ^j
20	6.04±0.027 ^{h,i}
21	4.61±0.029 ^o
22	5.57±0.011 ^k
23	5.07±0.001 ^m
24	5.14±0.001 ^m
25	4.7±0.003 ⁿ
26	6.8±0.004 ^d
27	5.18±0.001 ^m
28	4.84±0.004 ⁿ



ภาพ 7 ปริมาณคาเฟอีนที่พบในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

4.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

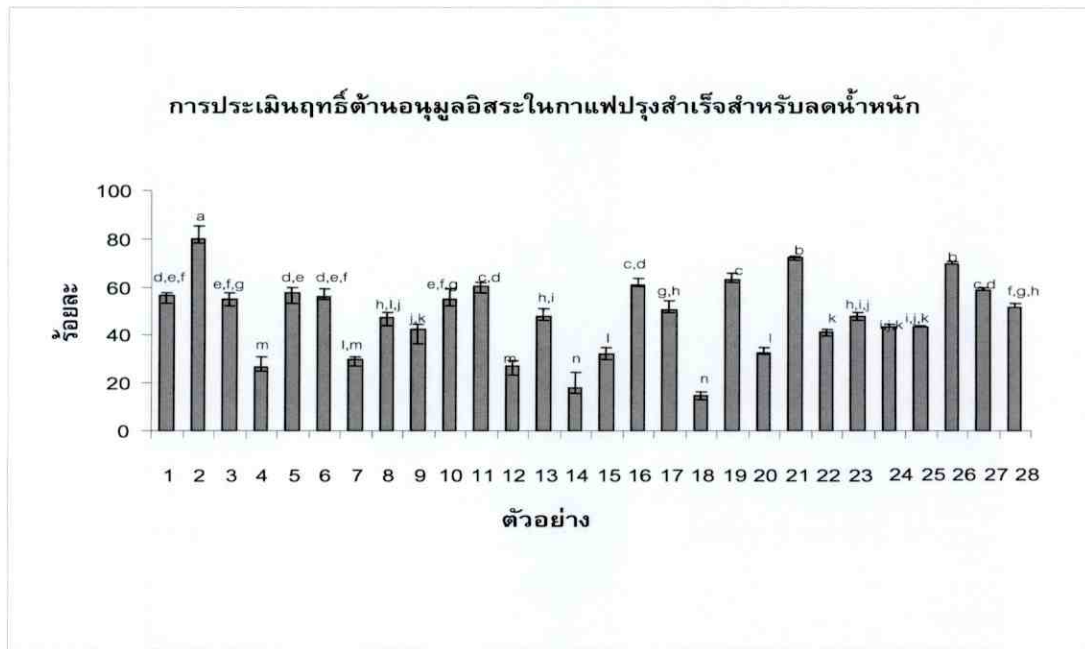
ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักอยู่ในช่วงร้อยละ 14-80 และตัวอย่างที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าร้อยละ 50 จำนวน 14 ตัวอย่าง จาก 28 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่ 2 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ ร้อยละ 79.67 และตัวอย่างที่ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 18 คือร้อยละ 14.88 ตัวอย่างที่ 1 3 5 6 10 11 16 และ 27 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ 56.37 ± 1.01 , 54.66 ± 3.06 , 57.59 ± 2.45 , 56.04 ± 3.16 , 54.81 ± 4.30 ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างที่ 8 13 17 23 24 25 มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) คือ ตามลำดับ ดังตาราง 9

ตาราง 9 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ตัวอย่างที่	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)
1	56.37 ± 1.01 ^{d,e,f}
2	79.67 ± 5.42 ^a
3	54.66 ± 3.06 ^{e,f,g}
4	26.80 ± 4.17 ^m
5	57.59 ± 2.45 ^{d,e}
6	56.04 ± 3.16 ^{d,e,f}

ตาราง 9 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)
7	29.63 \pm 1.49 ^{i,m}
8	47.04 \pm 2.40 ^{h,i,j}
9	42.59 \pm 2.03 ^{j,k}
10	54.81 \pm 4.30 ^{e,f,g}
11	60.57 \pm 1.18 ^{c,d}
12	26.96 \pm 2.51 ^m
13	47.83 \pm 3.12 ^{h,i}
14	18.17 \pm 6.25 ⁿ
15	32.30 \pm 2.53 ^l
16	60.70 \pm 2.75 ^{c,d}
17	50.68 \pm 3.76 ^{g,h}
18	14.88 \pm 1.47 ⁿ
19	63.18 \pm 2.41 ^c
20	32.59 \pm 2.37 ^l
21	72.35 \pm 0.45 ^b
22	41.11 \pm 1.13 ^k
23	47.57 \pm 1.69 ^{h,i,j}
24	43.39 \pm 1.34 ^{i,j,k}
25	43.69 \pm 0.5 ^{i,j,k}
26	69.31 \pm 1.19 ^b
27	58.70 \pm 1.30 ^{c,d}
28	51.80 \pm 1.27 ^{f,g,h}



ภาพ 8 แสดงการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

4.4 ปริมาณกรดคลอโรจีนิก

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดคลอโรจีนิกในตัวอย่างกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักที่จำหน่ายในเขตอำเภอเมืองพิษณุโลกจำนวน 28 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณกรดคลอโรจีนิกที่พบในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักอยู่ในช่วง 424-1208 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตัวอย่างที่พบกรดคลอโรจีนิกมากที่สุดคือ ตัวอย่างที่ 2 1 4 มีค่า 1208.19, 1183.23 และ 941.58 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ตัวอย่างที่พบน้อยคือ 13 20 17 มีค่า 424.31, 439.51, 441.35 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ ดังตาราง 10

ตาราง 10 ปริมาณกรดคลอโรจีนิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ตัวอย่างที่	กรดคลอโรจีนิก(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (5-o-caffeoylquinic acid)
1	1183.23
2	1208.19
3	816.59
4	941.58
5	878.94

ตาราง 10 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	กรดคลอโรจีนิก(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (5-o-caffeoylquinic acid)
6	886.52
7	738.34
8	700.63
9	843.87
10	726.97
11	710.44
12	661.21
13	424.31
14	470.90
15	850.61
16	748.94
17	441.35
18	635.02
19	746.79
20	439.51
21	780.86
22	738.28
23	644.03
24	755.91
25	703.24
26	637.77
27	783.90
28	635.72

4.5 ปริมาณกรดฟีนอลิก

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก จำนวน 28 ตัวอย่าง พบว่า ปริมาณกรดฟีนอลิกที่พบในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนักอยู่ในช่วง 1918 -3839 gGA/Kg ตัวอย่างที่มีปริมาณกรดฟีนอลิกมากที่สุดคือตัวอย่างที่ 2 มีค่า 3839.02 ± 11.73 gGA/Kg รองลงมาคือตัวอย่างที่ 15 และ 9 ซึ่งมีค่า 3529.43 ± 18.53 และ

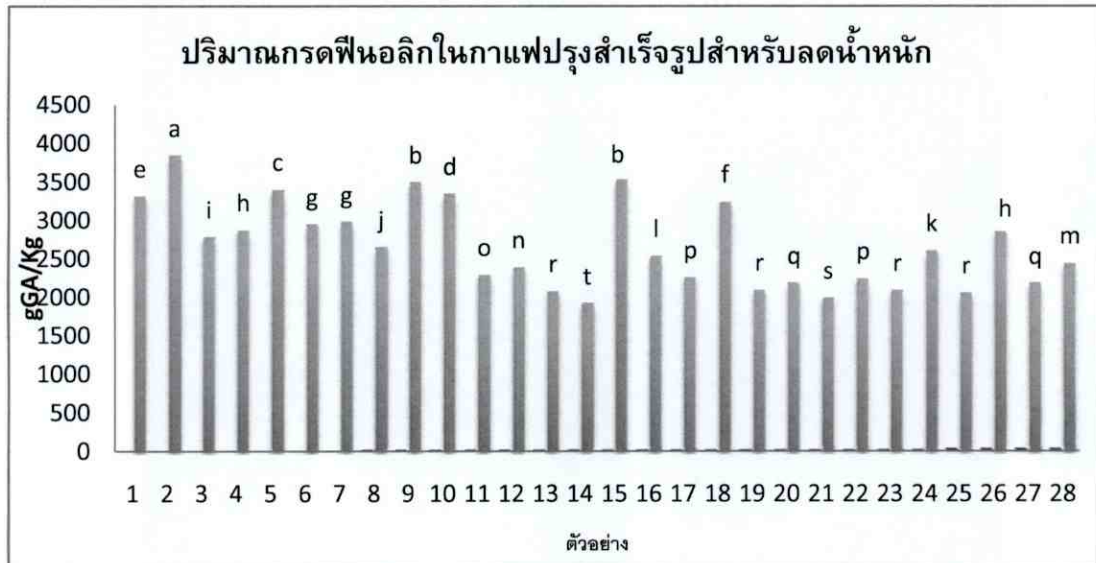
3491.02±25.18 gGA/Kg ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างที่พบ
น้อยคือ ตัวอย่างที่ 14 และ 21 มีค่า 1918.22±18.58 gGA/Kg และ 1990.84±32.51 gGA/Kg
ตามลำดับ ดังตาราง 11

ตาราง 11 ปริมาณกรดฟีนอลิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก

ตัวอย่างที่	สารฟีนอลิกทั้งหมด (กรัม gallic acid ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง:(gGA/Kg)
1	3315.15±10.92 ^e
2	3839.02±11.73 ^a
3	2781.49±26.73 ⁱ
4	2873.59±33.39 ^h
5	3400.75±26.83 ^c
6	2947.67±6.65 ^g
7	2975.20±16.70 ^g
8	2650.25±25.60 ^j
9	3491.02±25.18 ^b
10	3343.50±16.59 ^d
11	2292.46±21.13
12	2390.96±24.73 ⁿ
13	2079.37±8.88 ^r
14	1918.22±18.58 ^t
15	3529.43±18.53 ^b
16	2532.36±27.43 ^l
17	2258.26±15.34 ^p
18	3239.51±16.31 ^f
19	2093.63±9.82 ^r
20	2184.45±23.26 ^q
21	1990.84±32.51 ^s
22	2244.91±24.43 ^p
23	2090.52±24.32 ^r

ตาราง 11 (ต่อ)

ตัวอย่างที่	สารฟีนอลิกทั้งหมด (กรัม gallic acid ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง:(gGA/Kg)
24	2604.34±18.97 ^k
25	2056.87±29.96 ^r
26	2852.92±24.03 ^h
27	2180.89±17.89 ^q
28	2443.09±19.46 ^m



ภาพ 9 ปริมาณกรดฟีนอลิกในกาแฟปรุงสำเร็จรูปสำหรับลดน้ำหนัก