



โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟอุตสาหกรรม
Chemical Compounds of Industrial Spent Coffee Ground

ชื่อนิสิต	นายสิทธิผล นุชถาวรลักษณ์	เลขประจำตัว	6033099323
ภาควิชา	เคมี		
ปีการศึกษา	2563		

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

องค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟอุตสาหกรรม
Chemical Compound of Industrial Spent Coffee Ground

โดย
นายสิทธิผล นุชถาวรลักษณ์

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2563

โครงการ องค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟ

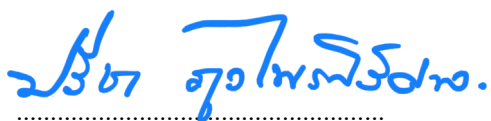
โดย นายสิทธิผล นุชถาวรลักษณ์

ได้รับอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คณะกรรมการสอบโครงการ

1. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ยงศักดิ์ ศรีธนาอนันต์ ประธานกรรมการ
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณศิริ ชิตางกูร กรรมการ
3. ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล อาจารย์ที่ปรึกษา

รายงานฉบับนี้ได้รับความเห็นชอบและอนุมัติโดยหัวหน้าภาควิชาเคมี



(ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล)
อาจารย์ที่ปรึกษา



(รองศาสตราจารย์ ดร.วรวิทย์ โฮแวน)
หัวหน้าภาควิชาเคมี

วันที่ 27 เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2564

ชื่อโครงการ องค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟอุตสาหกรรม
ชื่อนิสิตในโครงการ นายสิทธิผล นุชถาวรลักษณ์ เลขประจำตัว 6033099323
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพริศิตาล
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2563

บทคัดย่อ

กากกาแฟ (SCG) จากอุตสาหกรรมซึ่งถูกกำจัดเป็นขยะประมาณ 8-10 ตันจากการผลิตกาแฟประจำวัน ในการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับ SCG จำเป็นต้องมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณกรดไขมันในขณะที่ยังคงองค์ประกอบทางเคมีส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาสaponification ได้ถูกแยกออกและวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะ SCG ส่วนใหญ่ประกอบด้วยกรด cis-9,12-linoleic (62.41%), กรด palmitic (17.29%) และกรด cis-9-oleic (8%) การแยกในส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาสaponification ที่สามารถแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีทำให้ได้ไตรเทอร์พีนอยด์ที่สำคัญ 3 ชนิดที่เรียกว่า cafestol, dehydrocafestol และ 16-O-methylcafestol ซึ่งมีโครงสร้างตามข้อมูล NMR เมื่อเทียบกับรายงานก่อนหน้านี้

คำสำคัญ: กากกาแฟ, ไตรเทอร์พีนอยด์, ส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาสaponification

Project Title Chemical of Compound Industrial Spent Coffee Ground
Student Name Mr. Sittipon Nuchthaworalak Student ID 6033099323
Advisor Name Professor Dr. Preecha Phuwapraisirisan

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Academic Year 2020

Abstract

Spent coffee ground (SCG) from industrial section is a waste approximately 8-10 metric tons daily discharged from production of canned coffee. To make high value added to SCG, study on chemical components is essentially required. In this research, fatty acid contents were determined while chemical components in non-saponifiable material were isolated and characterized. SCG mainly comprised cis-9,12-linoleic acid (62.41%), palmitic acid (17.29%) and cis-9-oleic acid (8%). Isolation of non-saponifiable material by chromatographic techniques yielded 3 major diterpenoids named cafestol, dehydrocafestol and 16-O-methylcafestol, whose structures were characterized by NMR data compared to previous reports in the literature.

Key word: Spent coffee ground (SCG), Diterpenoids, non-saponifiable material.

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยและรายงานฉบับนี้จะไม่สำเร็จล่วงไปได้ด้วยดี หากไม่ได้รับความกรุณาอย่างสูง ขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือให้คำปรึกษา ถ่ายทอดประสบการณ์ความรู้ต่าง ๆ ตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องในรายงานฉบับนี้

ขอขอบคุณพี่ศิษย์ญาติ วรวัลย์ ที่คอยให้ความรู้ คอยช่วยเหลือ รวมไปถึงถ่ายทอดประสบการณ์ความรู้เทคนิคการทดลองต่าง ๆ รวมไปถึงปรับปรุงข้อบกพร่องในเล่มงานวิจัยนี้ สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณกำลังใจจากเพื่อน ๆ ในภาคเคมีทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจ และขอขอบคุณครอบครัวที่สนับสนุนในทุก ๆ เรื่อง และให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมา ไม่กีดตันในการเรียน ทำให้ผมสำเร็จล่วงในการเรียนและการทำงานวิจัยนี้ไปได้ด้วยดี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญรูป	ช
สารบัญตาราง	ญ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฎ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ลักษณะทางกายภาพของกากกาแฟ	2
1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
บทที่ 2 การทดลองและผลการทดลอง	5
2.1 ตัวอย่าง	5
2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง	5
2.3 สารเคมี	6
2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน	6
2.5 การสกัดกากกาแฟ	9
2.5.1 การเลือกตัวทำละลายสำหรับสกัดจากกากกาแฟในระดับการวิเคราะห์	9
2.5.2 การแยกของสารประกอบไคเทอร์พีนในระดับการวิเคราะห์	13
2.5.3 การแยกบริสุทธิ์ของสารประกอบไคเทอร์พีน	16
บทที่ 3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้	22

3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ Dehydrocafestol	23
3.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ 16-O-methylcafestol	24
3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ cafestol	25
บทที่4 สรุปผลการทดลอง	26
ข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	46
ประวัติผู้วิจัย	47

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1.1 SCG ในการกระบวนต่างๆ	2
รูปที่ 1.2 โครงสร้างของไดเทอร์พีน	3
รูปที่ 1.3 แผนผังแสดงองค์ประกอบที่พบในกากกาแฟ	3
รูปที่ 2.1 ผลการทดสอบบนแผ่น TLC ภายใต้ UV	12
รูปที่ 2.2 ผลการทดสอบบนแผ่น TLC ที่ผ่านการย้อมด้วย anisaldehyde	13
รูปที่ 2.3 แสดงการตั้งปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชัน	13
รูปที่ 2.4 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ก่อนทำปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชัน	14
รูปที่ 2.5 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG หลังทำปฏิกิริยาสaponนิฟิเคชัน	15
รูปที่ 2.6 แสดงผลของ TLC แพรกชั้นตั้งแต่ 2-28	16
รูปที่ 2.7 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกใน แพรกชั้นที่ 2-4	16
รูปที่ 2.8 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกใน แพรกชั้นที่ 5-9	17
รูปที่ 2.9 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกใน แพรกชั้นที่ 10-18	17
รูปที่ 2.10 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกใน แพรกชั้นที่ 19-26	18
รูปที่ 2.11 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกใน แพรกชั้นที่ 27	18
รูปที่ 2.12 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกด้วย เทคนิคเซฟาเด็กซ์ในแพรกชั้นที่ 1	19
รูปที่ 2.13 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ที่ผ่านการแยกด้วย เทคนิคเซฟาเด็กซ์ในแพรกชั้นที่ 2	20
รูปที่ 2.14 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ในแพรกชั้นที่ 2 ที่ ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์จากนั้นแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแพรกชั้น 1	21
รูปที่ 2.15 แสดงโครงสร้างของ dehydrocafestol	21
รูปที่ 2.16 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ในแพรกชั้นที่ 2 ที่ ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์จากนั้นแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแพรกชั้น 3	22

รูปที่ 2.17 แสดงโครงสร้างของ 16-O-methylcafestol	21
รูปที่ 2.18 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของสารสกัดจาก SCG ในแฟรกชันที่ 2 ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์จากนั้นแยกต่อด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟีแฟรกชัน 4	23
รูปที่ 2.19 แสดงโครงสร้างของ cafestol	23
รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของ dehydrocafestol 16-O-methylcafestol cafestol	24
รูปที่ 3.2 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ dehydrocafestol	24
รูปที่ 3.3 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ dehydrocafestol	25
รูปที่ 3.4 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ 16-O-methylcafestol	26
รูปที่ 3.5 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ 16-O-methylcafestol	26
รูปที่ 3.6 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ cafestol	27
รูปที่ 3.7 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ cafestol	27

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของกรดไขมันที่พบจากกากกาแฟโรงงานเบอร์ดีและร้านกาแฟทั่วไป	9
ตารางที่ 2.2 แสดงชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัด SCG	11
ตารางที่ 2.3 แสดงผลของการหาค่า SN	14

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

CDCl_3	deuterated chloroform
^{13}C NMR	carbon nuclear magnetic resonance
^1H NMR	proton nuclear magnetic resonance
HPLC	high performance liquid chromatography
Hz	hertz
MHz	megahertz
NMR	nuclear magnetic resonance
TLC	thin layer chromatography
UV	ultraviolet

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและมูลเหตุจูงใจของโครงการ

กาแฟเป็นหนึ่งในเครื่องดื่มที่นิยมบริโภคกันมากที่สุดในโลกซึ่งในแต่ละปีอุตสาหกรรมการผลิตกาแฟมากกว่า 6 ล้านตันต่อปี[1,2] กาแฟที่ปลูกเพื่อการผลิตเชิงพาณิชย์มี 2 ชนิดหลัก คือ Arabica และ Robusta ซึ่ง Arabica มีสัดส่วนการผลิตอยู่ประมาณ 75 % จากการผลิตกาแฟนั้นจะมีตะกอนของแข็งที่ไม่ละลายน้ำตกค้างอยู่เรียกว่ากากกาแฟซึ่งไม่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์ และถูกกำจัดเป็นขยะมูลฝอยในบางกรณีใช้เป็นปุ๋ยหรือเผาเป็นเชื้อเพลิงซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากกากกาแฟมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เช่น คาเฟอีน, แทนนิน และโพลีฟีนอล รวมถึงกรดไขมันอิสระ[3,4] ดังนั้นจึงต้องการที่จะเพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์ของกากกาแฟที่เหลือจากการผลิตแทนการเผาเป็นเชื้อเพลิง ซึ่งในการบดกาแฟเพื่อชงเครื่องดื่มมีวิธีที่แตกต่างกัน ซึ่งกากกาแฟในอุตสาหกรรมมีขนาดอนุภาคที่ใหญ่กว่ากากกาแฟจากร้านกาแฟทั่วไปจึงน่าจะมียังมีองค์ประกอบทางเคมีในกากกาแฟที่แตกต่างกัน โดยการเปรียบเทียบด้วยกรดไขมันอิสระ ก่อนหน้านี้ มีงานวิจัย[5]ที่ได้ศึกษา Caffeine, Antioxidant, Lipids, Carbohydrates และ Phenolic compound โดยงานวิจัยนี้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในกากกาแฟซึ่งจะเปรียบเทียบองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระในกากกาแฟที่ได้จากร้านทั่วไปและในอุตสาหกรรม ซึ่งคาดว่าน่าจะมียังมีองค์ประกอบที่แตกต่างกันและศึกษาสารกลุ่ม diterpenoid เช่น Cafestol และ Kahweol เนื่องจากเป็นสาร strong antioxidant และมีคุณสมบัติในการจับโลหะ(metal-chelating) เชื่อว่าคุณสมบัติเหล่านี้มีไว้เพื่อป้องกันการทำลายจาก free radical และลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง[6,7]

ขอบเขตของโครงการในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟในอุตสาหกรรม นำกากกาแฟที่ผ่านกระบวนการสกัด ตรวจวัดปริมาณ fatty acid เพื่อประเมินองค์ประกอบในกากกาแฟทั้งจากอุตสาหกรรมและร้านทั่วไปน่าจะมียังมีองค์ประกอบที่เหลือแตกต่างกัน จากนั้นสกัดสารกลุ่ม diterpenoid เช่น Cafestol ซึ่งเคยมีรายงานว่า เป็นสารที่สามารถยับยั้งเซลล์มะเร็ง[6,7]ได้โดยการนำกากกาแฟในอุตสาหกรรมไปสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตจะได้ bioactive compound กลุ่ม diterpenoid และ flavonoid ออกมาจากนั้นนำสาร 2 กลุ่มนี้มาแยกออกจากกัน โดยนำกลุ่ม diterpenoid มาแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีและพิสูจน์โครงสร้างด้วย NMR

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1. เพื่อตรวจวัดปริมาณกรดไขมันอิสระในกากกาแฟอุตสาหกรรมเปรียบเทียบกับกากกาแฟที่ได้จากร้านทั่วไปว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน
2. เพื่อสกัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่ม diterpene จากกากกาแฟอุตสาหกรรม

1.3 ลักษณะทางกายภาพของกากกาแฟ

กากกาแฟมีลักษณะเป็นเศษผงของกาแฟคั่วบดขนาดเล็กกว่า 0.5 mm ที่ผ่านกระบวนการสกัดผ่านน้ำร้อนจากนั้นอบแห้งเนื่องจากความชื้นสูงทำให้เน่าเสีย ดังนั้น SCG ที่ผ่านการขงสควรผ่านกระบวนการอบแห้งเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยใช้วิธีการอบแห้งด้วยเตาอบที่อุณหภูมิ 105 ° C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง SCG ถูกใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย กากกาแฟซึ่งจัดเป็นสารอินทรีย์ที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการแปรรูปกาแฟและร้านกาแฟทั่วไป ซึ่งส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมเพราะปริมาณคาร์บอนซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก หากมีการจัดการที่ไม่ดีอาจกลายเป็นแหล่งสะสมของเชื้อราและแบคทีเรียต่างๆที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ได้[11]



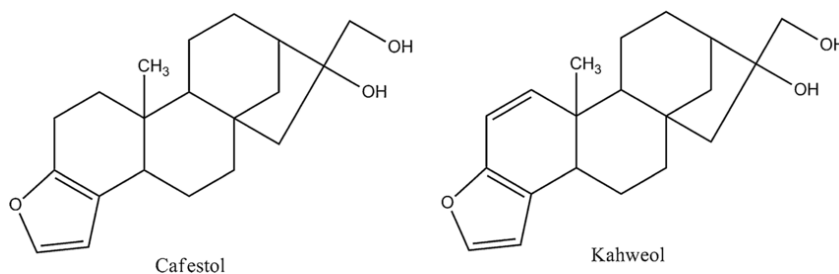
รูปที่ 1.1 SCG ในกระบวนการ: (A) กากกาแฟที่ผ่านการขงสคว (B) กากกาแฟที่ผ่านการอบให้แห้ง (C) กากกาแฟที่ผ่านการกลั่นแล้วหลังจากการสกัดน้ำมัน

ที่มา: (<http://www.coffee4skin.com/wp-content/uploads/2016/02/productb-225x300.jpg>)

1.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการสืบค้นรายงานองค์ประกอบทางเคมีของกากกาแฟพบว่ามียางานที่เกี่ยวข้องกับกากกาแฟจำนวนมาก โดยพบว่าองค์ประกอบทางเคมีจากกากกาแฟไตรกลีเซอไรด์ ไดเทอร์พีน กรดไขมัน สเตอรอล โทโคฟีรอล ฟอสฟาไทด์ ทริปตามีน และองค์ประกอบอื่นๆ เป็นต้น

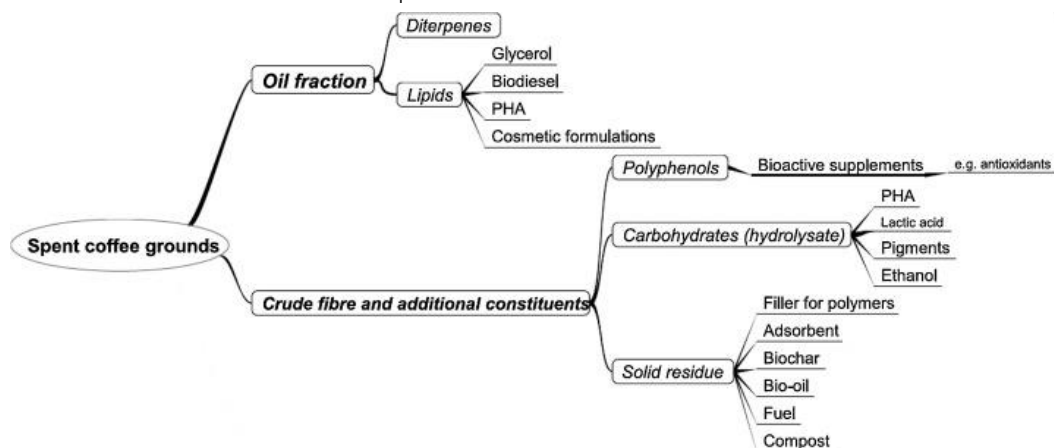
Kölling-Speer และคณะ [8] ได้ทำการศึกษาไขมันในกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์คืออะราบิก้า และโรบัสต้า โดยในงานวิจัยนี้ได้ทำกาแฟมาดเป็นผงจากนั้นสกัดด้วยเฮกเซน-ไดเอทิลอีเทอร์ สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีในกาแฟได้ กรดไขมัน สารประกอบกลุ่มไดเทอร์พีน สเตอรอล โทโคฟีรอล แวกซ์ และสารประกอบอื่นๆ ซึ่งสารประกอบกลุ่มไดเทอร์พีนซึ่งมีโครงสร้าง 2 ลักษณะ คือ Cafestol และ Kahweol ที่เคยได้มีการรายงานไว้มีลักษณะโครงสร้างดังนี้



รูปที่ 1.2 โครงสร้างของ (ซ้าย) Cafestol (ขวา) Kahweol

Oestreich-Janzen และคณะ[9]ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบเคมีของกาแฟทั้ง 2 สายพันธุ์คืออะราบิก้า และโรบัสต้า โดยงานวิจัยศึกษาขณะที่เมล็ดกาแฟดิบ เมล็ดกาแฟสุก และเมล็ดของกาแฟที่ผ่านกระบวนการคั่ว ซึ่งผลการศึกษาพบ คาเฟอีน ไตรโกนีนอลีน คาร์โบไฮเดรต กรดคลอโรเจนิก ไขมัน กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ เมลานอยด์ และแร่ธาตุ ส่วนประกอบหลัก ได้แก่ คาเฟอีน คาร์โบไฮเดรต กรดคลอโรเจนิก ลิปิด สารประกอบไนโตรเจนอื่น ๆ สารระเหย และเมลานอยด์

Adriana Kovalcik และคณะ [10] ได้ทำการประเมินคุณค่าของกากกาแฟที่เหลือจากการผลิตกาแฟสำเร็จรูปและการชงกาแฟ ซึ่งงานนี้ทบทวนองค์ประกอบของ SCG วิธีการที่ใช้ในการแยกสารประกอบแต่ละตัวที่มีอยู่ใน SCG วิธีการใช้ประโยชน์จาก SCG ที่นำเสนอในงานวิจัยก่อนหน้าจนถึงปัจจุบันรวมถึงการใช้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของ SCG ซึ่ง ส่วนประกอบของ SCG ประกอบด้วย 1. ไขมัน (7.9–26.4%) 2 เส้นใย (19.7–22.1%) และ 3 ส่วนประกอบต่างๆ เช่น อัลคาลอยด์โปรตีนเป็นต้น ซึ่งองค์ประกอบที่พบใน SCG สามารถสรุปได้ดังนี้



รูปที่ 1.3 แผนผังแสดงองค์ประกอบที่พบในกากกาแฟ
ที่มา: Campos-Vega et al.,2015, p.30

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบองค์ประกอบของกรดไขมันอิสระทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัว เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของกากกาแฟจากร้านกาแฟทั่วไปและอุตสาหกรรม
2. ทราบสารสกัดกลุ่ม diterpene จากกากกาแฟในอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มมูลค่าของกากกาแฟเชิงพาณิชย์
3. ทำนายผลิตภัณฑ์จากการสกัดกากกาแฟในกลุ่ม diterpene
4. ได้สารประกอบ diterpene ที่ถูกแยกและทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีโครมาโทกราฟีเพื่อไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ
5. เพื่อใช้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนาด้านอื่น ๆ เช่น ด้านการแพทย์ใช้พัฒนายาเพื่อยับยั้งเซลล์มะเร็ง หรือแม้กระทั่งการทำเวชภัณฑ์เครื่องสำอาง

บทที่ 2

การทดลองและผลการทดลอง

2.1 ตัวอย่าง

กากกาแฟจากอุตสาหกรรมที่ใช้ในการทดลองได้มาจากบริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ(ประเทศไทย) จำกัด และกากกาแฟจากร้านกาแฟทั่วไปได้จากร้าน terracotta ตึกแถบนิลละนิธิ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แขวงวังใหม่ เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1. คอลัมน์ (column)
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
3. ขวดก้นกลม (round bottom flask)
4. ปีกเกอร์ (beaker)
5. หลอดทดลอง (test tube)
6. หลอดหยดสาร (dropper)
7. แท่งแก้วคนสาร (glass rod)
8. กระบอกลอย (cylinder)
9. กรวยแก้ว (glass funnel)
10. หลอดคะปิลลารี (capillary tube)
11. กระดาษกรอง (filter paper)
12. ขาตั้งและแคลมป์ (stand & clamp)
13. ไมโครปิเปต (micropipette)
14. แผ่นทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (thin-layer chromatography)
15. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง (analytical balance 4 digit)
16. เครื่องให้ความร้อน (hotplate)
17. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
18. เครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (rotary vacuum evaporation)
19. เครื่องนิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (nuclear magnetic resonance spectrometer: NMR)
20. เครื่องแฟลชคอลัมน์โครมาโทกราฟี (flash chromatography) รุ่น Isolera
21. เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography) รุ่น 6890N ยี่ห้อ Agilent

2.3 สารเคมี

1. ตัวทำละลาย ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลแอซิเตต (ethyl acetate) เมทานอล (methanol) เอทานอล (ethanol) แอซิโตน (acetone) คลอโรฟอร์มดี (CDCl₃) และน้ำ milli Q
2. ซิลิกาเจล เบอร์ 7734 สำหรับคอลัมน์โครมาโทกราฟี (open column chromatography)
3. เซฟาเดกซ์ (Sephadex LH-20)
4. ตัวทำปฏิกิริยา anisaldehyde
5. โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium hydroxide)

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน

นำกากกาแฟ (SCG) จาก 2 แหล่งที่มา นั่นคือจากโรงงานเบอร์ดี (SCG berdy) และร้านกาแฟทั่วไป (SCG coffee shop) ที่ผ่านกระบวนการตากให้แห้งอย่างละ 250 กรัม จากนั้นเติมตัวทำละลาย เอทิลแอซิเตต (ethyl acetate) ในปริมาณ 300 mL แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดให้แบ่งส่วนที่สกัดได้มา ระเหยตัวทำละลาย จากนั้นชั่งสารสกัดจากกากกาแฟ ทั้ง 2 แหล่งที่มาอย่างละ 20 กรัม โดยการเตรียมก่อน วิเคราะห์ด้วย GC-FID จะต้องเตรียมกรดไขมันอิสระในตัวอย่างให้อยู่ในรูป Fatty acid methyl ester เพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค GC-FID ซึ่งเครื่อง Gas chromatography เป็นรุ่น 6820N ที่ประกอบด้วย Flame Ionization Detector ยี่ห้อ Agilent สถานะเครื่องของ GC-FID ดังนี้

Column	: Capillary column, SP TM 2560 Fused silica Capillary Column 100 m x 0.25 mm x 0.20 µm, film thickness, Max Temp. 250 °C
Detector	: Flame Ionization Detector, Temperature: 250 °C
Carrier gas	: Helium (He), Flow rate: 1.1 mL/min
Hydrogen gas	: 35 mL/min
Air	: 280 mL/min
Make up gas(N ₂)	: 40 mL/min
Injection mode	: Split, Split ratio 100:1
Injection temperature	: 260 °C
Injection volume	: 1 µL
Oven temperature	: 140 °C; hold 5 min. Increase 20 °C/min to 240 °C; hold 20 min. Increase 40 °C/min to 250 °C; hold 0.5 min.

ซึ่งมีผลการทดลองตามตารางที่ 2.1 ดังนี้

ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของกรดไขมันที่พบจากกากกาแฟโรงงานเบอร์ดีและร้านกาแฟทั่วไป

ชนิดของกรดไขมัน	สูตรเคมีของกรดไขมัน	SCG coffee shop	SCG berdy
		content (g/100g)	content (g/100g)
saturated fat			
butyric acid (C ₄ H ₈ O ₂)	C4:0	not detected	not detected
caproic acid (C ₆ H ₁₂ O ₂)	C6:0	not detected	not detected
caprylic acid (C ₈ H ₁₆ O ₂)	C8:0	not detected	not detected
capric acid (C ₁₀ H ₂₀ O ₂)	C10:0	not detected	not detected
undecanoic acid (C ₁₁ H ₂₂ O ₂)	C11:0	not detected	not detected
lauric acid (C ₁₂ H ₂₄ O ₂)	C12:0	not detected	not detected
tridecanoic acid (C ₁₃ H ₂₆ O ₂)	C13:0	not detected	not detected
myristic acid (C ₁₄ H ₂₈ O ₂)	C14:0	0.06	0.08
pentadecanoic acid (C ₁₅ H ₃₀ O ₂)	C15:0	0.05	0.06
palmitic acid (C ₁₆ H ₃₂ O ₂)	C16:0	17.2	17.29
heptadecanoic acid (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	C17:0	0.17	0.12
stearic acid (C ₁₈ H ₃₆ O ₂)	C18:0	5.63	5.85
arachidic acid (C ₂₀ H ₄₀ O ₂)	C20:0	2.5	2.67
heneicosanoic acid (C ₂₁ H ₄₂ O ₂)	C21:0	0.17	0.19
behenic acid (C ₂₂ H ₄₄ O ₂)	C22:0	0.74	0.51
tricosanoic acid (C ₂₃ H ₄₆ O ₂)	C23:0	not detected	not detected
lignoceric acid (C ₂₄ H ₄₈ O ₂)	C24:0	0.27	0.27
total of saturated fat	saturated fat	26.79	27.04
monounsaturated fatty acid			
myristoleic acid (C ₁₄ H ₂₆ O ₂)	C14:1	not detected	not detected
cis-10-pentadecenoic acid (C ₁₅ H ₂₈ O ₂)	C15:1n10	not detected	not detected
palmitoleic acid (C ₁₆ H ₃₀ O ₂)	C16:1n7	0.04	0.04
cis-10-heptadecenoic acid (C ₁₇ H ₃₂ O ₂)	C17:1n10	not detected	not detected
trans-9-elaidic acid (C ₁₈ H ₃₄ O ₂)	C18:1n9t	0.03	0.07
cis-9-oleic (C ₁₈ H ₃₄ O ₂)	C18:1n9c	5.08	8
cis-11-eicosenoic acid (C ₂₀ H ₃₈ O ₂)	C20:1n11	0.5	0.62
erucic acid (C ₂₂ H ₄₂ O ₂)	C22:1n9	not detected	not detected
nervonic acid (C ₂₄ H ₄₆ O ₂)	C24:1n9	not detected	0.24

total of monounsaturated fatty acid	monounsatur FA	5.64	8.97
polyunsaturated fatty acid			
trans-L-inolelaidic acid (C ₁₈ O ₃₂ O ₂)	C18:2n6t	0.03	0.03
cis-9,12-linoleic acid (C ₁₈ O ₃₂ O ₂)	C18:2n6c	65.25	62.41
gamma-linolenic acid (C ₁₈ O ₃₀ O ₂)	C18:3n6	0.03	0.01
alpha-linolenic acid (C ₁₈ O ₃₀ O ₂)	C18:3n3	1.98	1.12
cis-11,14-eicosadienoic acid (C ₂₀ H ₃₆ O ₂)	C20:2	0.09	0.1
cis-8,11,14-eicosatrienoic acid (C ₂₀ H ₃₄ O ₂)	C20:3n6	0.03	0.04
cis-11,14,17-eicosatrienoic acid (C ₂₀ H ₃₄ O ₂)	C20:3n3	not detected	not detected
arachidonic acid (C ₂₀ H ₃₂ O ₂)	C20:4n6	0.16	0.15
cis-13,16-docosadienoic acid (C ₂₂ H ₄₀ O ₂)	C22:2	not detected	not detected
cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoic acid (C ₂₀ H ₃₀ O ₂)	C20:5n3	not detected	0.11
4,7,10,13,16,19-docosahexaenoic acid (C ₂₂ H ₃₂ O ₂)	C22:6n3	not detected	0.03
total of polyunsaturated fatty acid	polyunsatur FA	67.57	63.98
total of unsaturated fat (monounsatur and polyunsatur)	unsaturated fat	73.21	72.96

จากผลการทดลองการวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันพบว่าในกากกาแฟของทั้ง 2 แหล่งที่มาพบว่องค์ประกอบหลักๆที่มีในกากกาแฟคือไขมันซึ่งปริมาณของกรดไขมันที่พบนั้นส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว ซึ่งก็คือ cis-9,12-linoleic acid (C18:2n6c) (62.41%) และกรดไขมันอิ่มตัวคือ Palmitic acid (C16:0) (17.29%) ลำดับสุดท้ายที่สามารถพบได้ในกากกาแฟนั้นคือ cis-9-oleic acid (C18:1n9c) (8%) ซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว ปริมาณของกรดไขมันที่พบนั้นจากทั้ง 2 แหล่งที่มา นั้นคือปริมาณที่ไม่แตกต่างกันซึ่งก็มาจากการชงกาแฟผ่านกระบวนการให้แรงดันน้ำอัดผ่านผงกาแฟเหมือนกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณกรดไขมันของทั้ง 2 แหล่งที่มา นั้นคือจากโรงงานเบอร์ดี (SCG berdy) และร้านกาแฟทั่วไป (SCG coffee shop) นั้นจึงทำให้ปริมาณของกรดไขมันมีค่าที่ไม่แตกต่างกัน จากงานวิจัยอื่นๆที่ได้ศึกษาก่อนหน้านี้และผลการทดลองทำให้ทราบถึงองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในกากกาแฟนั้นคือไขมัน และในงานวิจัยนี้ต้องการศึกษาองค์ประกอบอื่นๆต่อไปจึงจำเป็นต้องมีการกำจัดไขมันออกโดยการทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชันซึ่งจะกล่าวรายละเอียดในหัวข้อการสกัดแยกสารประกอบไคโตนต่อไป

2.5 การสกัดกากกาแฟ

2.5.1 การเลือกตัวทำละลายสำหรับสกัดจากกากกาแฟในระดับการวิเคราะห์

ซังกากกาแฟ (SCG) ที่ผ่านกระบวนการตากแห้ง อยาละ 10 กรัมลงในขวดก้นกลมจำนวน 5 ขวด จากนั้นเติมตัวทำละลายดังนี้ ขวดแรกเติมเฮกเซน (hexane) ขวดที่สองเติมไดคลอโรมีเทน (dichloromethane, DCM) ขวดที่สามเติมเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate, EtOAc) ขวดที่สี่เมทานอล (methanol, MeOH) และขวดสุดท้ายอะซิโตน (acetone) ในปริมาณขวดละ 100 mL แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นสารจะแยกเป็น 2 ส่วนคือส่วนที่เป็นส่วนของตัวทำละลายและส่วนที่เป็นกากให้นำส่วนที่เป็นตัวทำละลายไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator จะได้ SCG extract crude สกัดซ้ำ 3 ครั้ง โดยการนำส่วนที่เป็นกากสกัดด้วยการเติมตัวทำละลายแต่ละชนิดเมื่อได้ SCG extract crude ทั้ง 3 ครั้ง จากนั้นนำไปชั่งเพื่อประเมินปริมาณของสารสกัดจาก SCG ที่ใช้ตัวทำละลายสำหรับการสกัดต่างกันพบว่าผลการทดลองได้ตามตารางที่ 2.2 ดังนี้

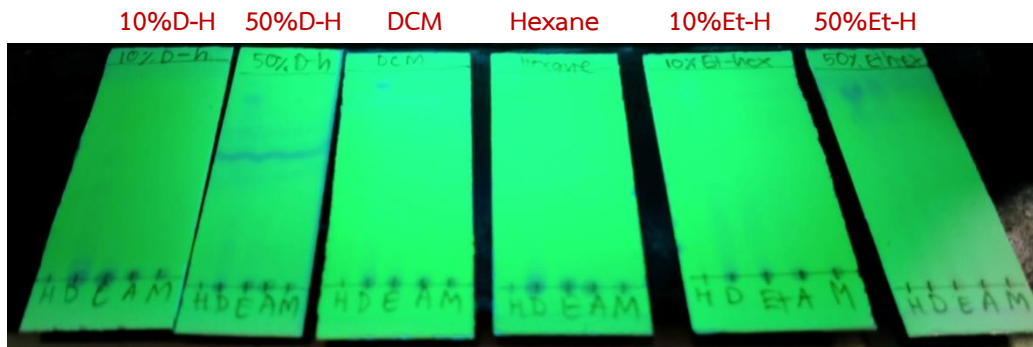
ตารางที่ 2.2 ปริมาณสารสกัด SCG เมื่อใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน

ตัวทำละลาย	ปริมาณของ SCG (กรัม)	ปริมาณของ SCG crude extract (กรัม)	%Yield
Hexane	10.0036	2.26	22.6
DCM	10.0042	2.55	25.5
EtOAc	10.0054	2.62	26.2
Acetone	10.0093	2.69	26.9
MeOH	10.0023	2.37	23.7

จากตารางผลการทดลองหาตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัด SCG เพื่อให้ได้ปริมาณ SCG extract crude ในปริมาณมากคือ อะซิโตน(Acetone) และเอทิลอะซิเตต (Ethylacetate) ซึ่งในงานวิจัยนี้เลือกใช้ตัวทำละลายคือเอทิลอะซิเตต เนื่องจากสารประกอบไคโตนที่พืชนั้นมีความเข้มข้น ซึ่งตัวของเอทิลอะซิเตตนั้นน้อยกว่าอะซิโตนซึ่งสามารถสกัดไคโตนที่มีขั้วต่ำออกจาก SCG extract crude ได้ดีกว่าอะซิโตน อีกทั้งจุดเดือดของเอทิลอะซิเตตสูงกว่าอะซิโตนทำให้การสกัดโดยใช้เอทิลอะซิเตตมีประสิทธิภาพได้มากกว่าอะซิโตน ซึ่งเคยมีงานวิจัยก่อนหน้านี้ใช้เอทิลอะซิเตตในการสกัดสารประกอบไคโตนและสารเคมีในห้องปฏิบัติการมีปริมาณของเอทิลอะซิเตตที่มากกว่าอะซิโตนด้วย[13]

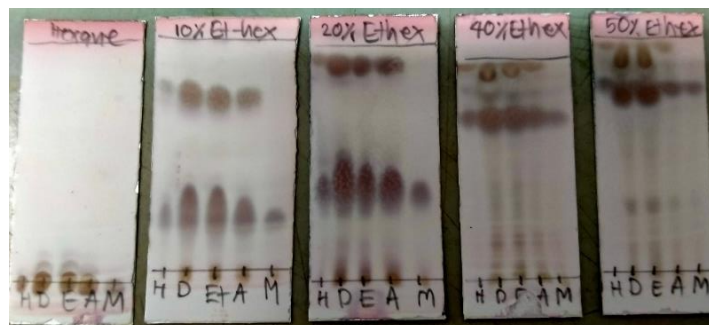
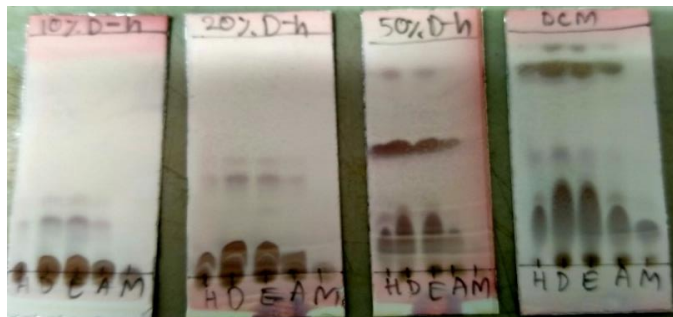
จากนั้นนำสารสกัดจาก SCG ในตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่างกันไปทดสอบด้วย TLC ในระบบตัวทำละลายที่ต่างกันดังนี้ 10% DCM-Hexane, 50%DCM-Hexane, DCM, Hexane, 10%EtOAc-

Hexane, 50%EtOAc-Hexane เพื่อวิเคราะห์หาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับแยกองค์ประกอบใน SCG ซึ่งก็คือสารประกอบไดเทอร์พีน พบว่าได้ผลการทดลองดังนี้



รูปที่ 2.1 ผลของการทดสอบ TLC ที่ระบบตัวทำละลายต่างกัน ภายใต้ UV

จากผลการทดสอบด้วย TLC ภายใต้แสง UV ผลปรากฏว่าองค์ประกอบที่มีอยู่ใน SCG นั้นส่วนใหญ่ไม่มีการดูดกลืนแสง UV เนื่องจากสารสกัดที่ได้จาก SCG นั้นไม่มีหมู่โครโมฟอร์ (chromophore) จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับ anisaldehyde เพื่อเกิดสีของสารที่เกิดปฏิกิริยาบนแผ่น TLC ซึ่งจะได้ผลการทดลองดังนี้



รูปที่ 2.2 ผลของการทดสอบ TLC ที่ระบบตัวทำละลายต่างกันที่ผ่านการย้อมด้วย anisaldehyde

จากผลการย้อมสีแผ่น TLC ของสารสกัด SCG ในตัวละลายที่ใช้สกัดต่างกันพบว่าระบบตัวทำละลายที่ใช้แยกสารประกอบไดเทอร์พีนจากสารสกัด SCG ซึ่งพบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการแยกสารประกอบไดเทอร์พีนบนแผ่น TLC คือ 10%EtOAc-Hexane และ 20%EtOAc-

Hexane ซึ่งเลือกจากระยะที่สารทั้ง 2 องค์กรประกอบแยกออกจากกันมากที่สุด และจากแผ่น TLC ทำให้ทราบได้ว่ามีองค์ประกอบทางเคมีใน SCG 2 องค์กรประกอบคือส่วนที่มีขั้วต่ำและขั้วสูง

ใน SCG ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ปริมาณมากและเป็นตัวรบกวนหลักในการวิเคราะห์ทางองค์ประกอบอื่นๆใน SCG จึงต้องมีการกำจัดไตรกลีเซอไรด์ออกจาก SCG โดยการทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน

ซึ่ง SCG crude extract ประมาณ 0.4 กรัม จากนั้นเติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอลความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ จำนวน 100 mL เพื่อทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน โดยตั้งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงดังรูป



รูปที่ 2.3 แสดงการตั้งปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน

เมื่อครบเวลาที่ใช้ปฏิกิริยาให้หยุดปฏิกิริยาโดยการเติมน้ำกลั่นลงไปซึ่งทดลองซ้ำ 3 รอบ เพื่อคำนวณหาค่า Saponification number (SN, มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ใน 1 กรัมของ SCG) ซึ่งค่า SN ใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ขนาดโมเลกุล หรือน้ำหนักโมเลกุลของ กรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์

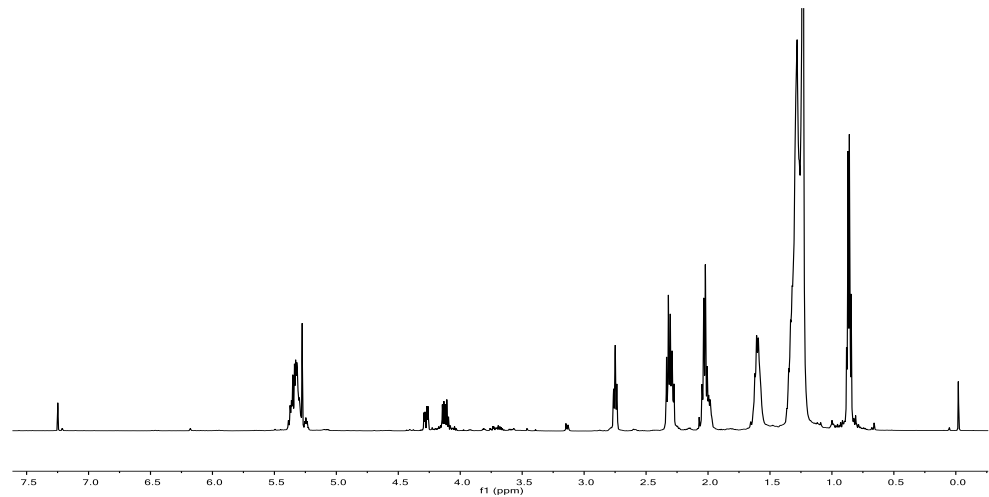
โดยการหาปริมาณโพแทสเซียมที่เติมลงไปทำปฏิกิริยาเพื่อกำจัดไตรกลีเซอไรด์ออกให้ได้มากที่สุดโดยวิธีการไทเทรตกับ HCl 0.5 โมลาร์ ใช้อินดิเคเตอร์เป็นฟีนอล์ฟทาลีนซึ่งได้ผลการทดลองตามตารางดังนี้

ตารางที่ 2.3 แสดงผลหาค่า SN

การทดลองที่	ปริมาณของ SCG crude extract (กรัม)	ปริมาตรของ HCl ของ blank (มิลลิลิตร)	ปริมาตรของ HCl sample (มิลลิลิตร)	ผลต่างของ ปริมาตร HCl blank กับ HCl sample	SN (มิลลิกรัมของ KOH / กรัมของ SCG)	ค่าเฉลี่ยของ SN
1	0.4122	4.87	2.3	2.57	174.57	
2	0.4361	4.87	2.5	2.37	152.17	161.68
3	0.3838	4.87	2.7	2.17	158.31	

จากตารางผลการทดลองจะได้ค่า Saponification number (SN, มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ใน 1 กรัมของ SCG ประมาณ 162 มิลลิกรัมของโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ใน 1 กรัมของ SCG (mg of KOH/1 g of SCG) ซึ่งหมายความว่าจำนวนต้องใช้โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 162 มิลลิกรัมหรือมากกว่าต่อ SCG 1 กรัม เพื่อประเมินกรดไขมันที่เป็นส่วนประกอบในโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ ใน SCG crude extract

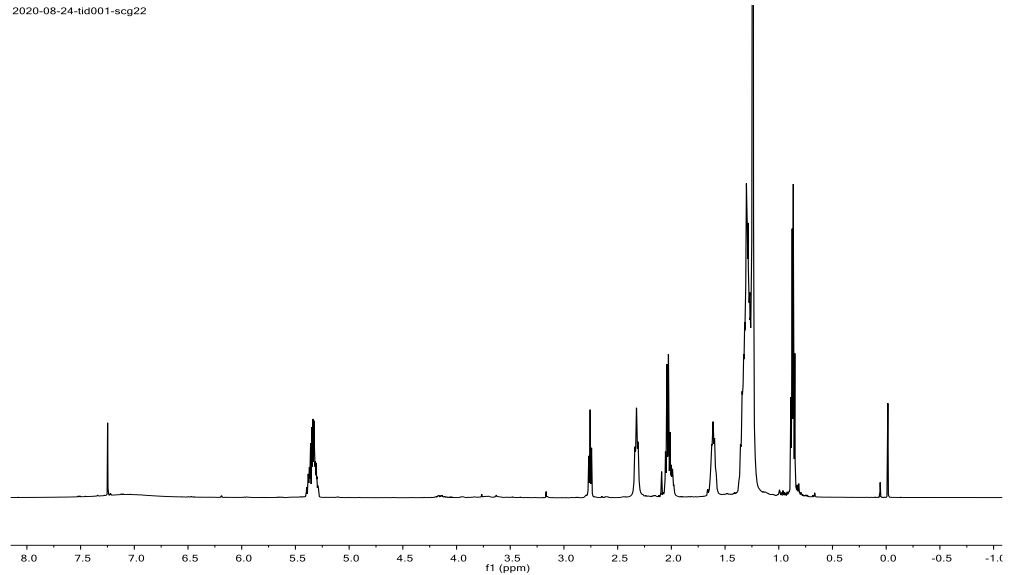
จากนั้นในการทดลองโดยการแบ่ง SCG crude extract 0.11 กรัมใช้ปริมาณโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 20 มิลลิกรัมซึ่งคำนวณอัตราส่วนค่า SN เท่ากับ 162 เพื่อเปรียบเทียบระหว่างก่อนทำปฏิกิริยาและหลังทำปฏิกิริยาโดยสามารถทดสอบผลการทดลอง NMR ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2.4 สเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ก่อนทำปฏิกิริยาสะปอนิฟิเคชัน

จากรูปที่ 2.4 สเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ก่อนทำปฏิกิริยาสะปอนิฟิเคชันพบค่า chemical shift ประมาณ 4.25 พบลักษณะพีคซึ่งเป็นลักษณะพีคของไตรกลีเซอไรด์

2020-08-24-tid001-scg22

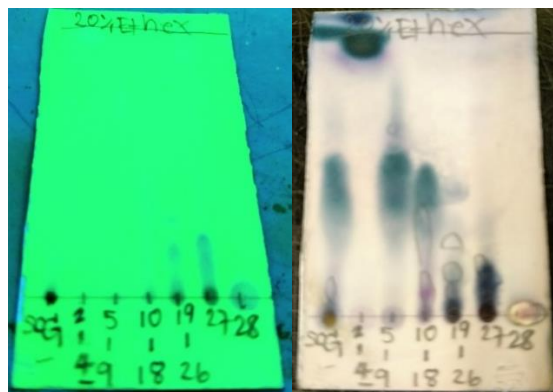


รูปที่ 2.5 สเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract หลังจากทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชัน

จากรูปที่ 2.5 สเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ค่า chemical shift ประมาณ 4.25 ไม่พบลักษณะพีคของไตรกลีเซอไรด์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าจากการทำปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชันสามารถกำจัดในส่วนของไตรกลีเซอไรด์ออกจาก SCG crude extract ซึ่งเป็น major impurity สำหรับการวิเคราะห์หองค์ประกอบอื่นๆ

2.5.2 การแยกของสารประกอบไดเทอร์พีนในระดับการวิเคราะห์

นำสารสกัด SCG 280 มิลลิกรัมมาแยกด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี (silica gel column chromatography) ด้วยระบบ 100% เฮกเซน แล้วค่อยๆ เพิ่มขี้ด้วยเอทิลอะซิเตต เป็น 10% 20% 50% จนมีอัตราส่วน 100% เอทิลอะซิเตต นำสารสกัด SCG ที่ได้จากการแยกโดยใช้เทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีซึ่งแบ่งเป็นแฟรคชัน และนำแฟรคชันแต่ละแฟรคชันมาตรวจสอบด้วยเทคนิค TLC โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสม (20%EtOAc-Hexane) พบว่าสามารถแยกสารสกัดจาก SCG ออกมาได้ 27 แฟรคชันซึ่งสามารถรวมแฟรคชันกันได้ดังนี้

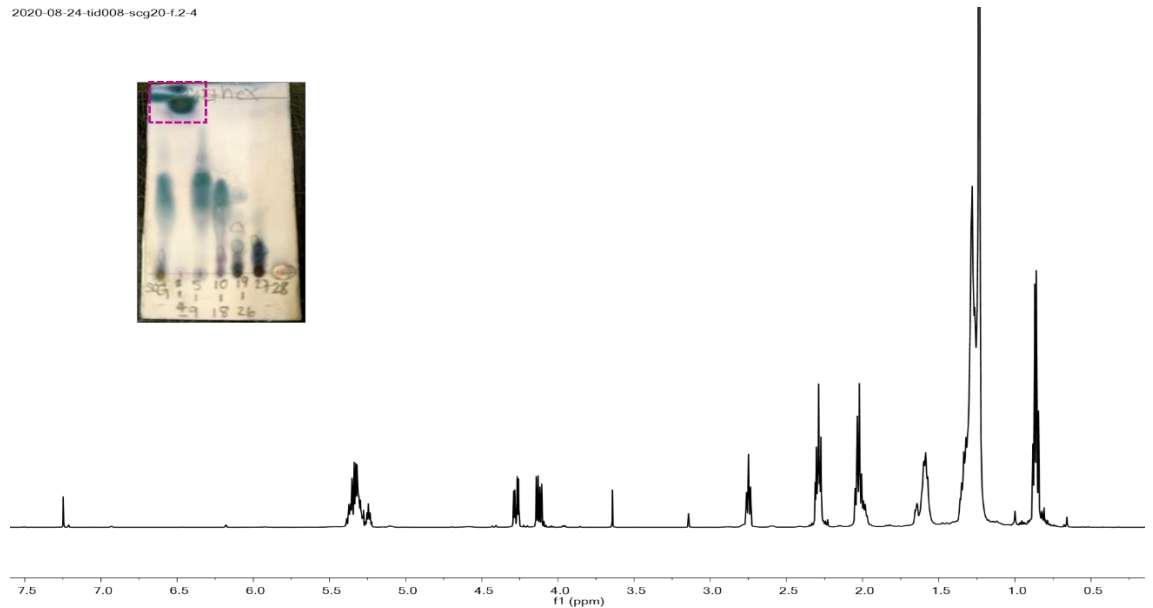


รูปที่ 2.6 แสดงผลของ TLC แฟรคชันตั้งแต่ 2-28

เนื่องจากผลของ TLC profile ของแฟรกชัน 2-4 ให้ผลของ TLC เหมือนกันจึงสามารถรวมกันได้ซึ่งมีปริมาณ 100.5 มิลลิกรัม ต่อมาแฟรกชัน 5-9 สามารถรวมกันได้เช่นเดียวกันมีปริมาณ 135.6 มิลลิกรัม ด้วยผลของ TLC profile ทำให้รวมแฟรกชัน 10-18, แฟรกชัน 19-26 และ แฟรกชัน 27 ในการรวมแต่ละแฟรกชันเข้าด้วยกันทำให้มีปริมาณรวมเป็น 52.2 มิลลิกรัม, 17.3 มิลลิกรัม และ 9.8 มิลลิกรัม ซึ่งแต่ละแฟรกชันมีสีเป็นสีเหลืองลักษณะคล้ายน้ำมัน

จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างของสารด้วยเทคนิค NMR เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของแต่ละแฟรกชัน

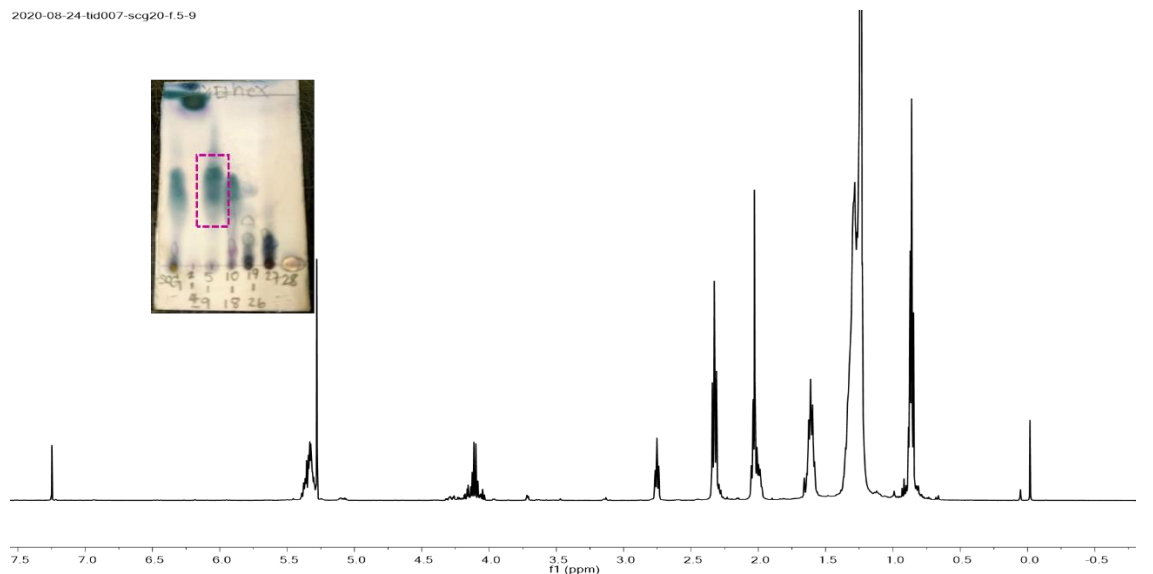
2020-08-24-tid008-scg20-f.2-4



รูปที่ 2.7 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกในแฟรกชันที่ 2-4

จากข้อมูลสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ได้พบว่าแฟรกชัน 2-4 เนื่องจากสเปกตรัมของ NMR ที่ค่า chemical shift ประมาณ 4.25 พบลักษณะของพีคที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ จึงไม่นำแฟรกชันนี้มาวิเคราะห์ต่อ

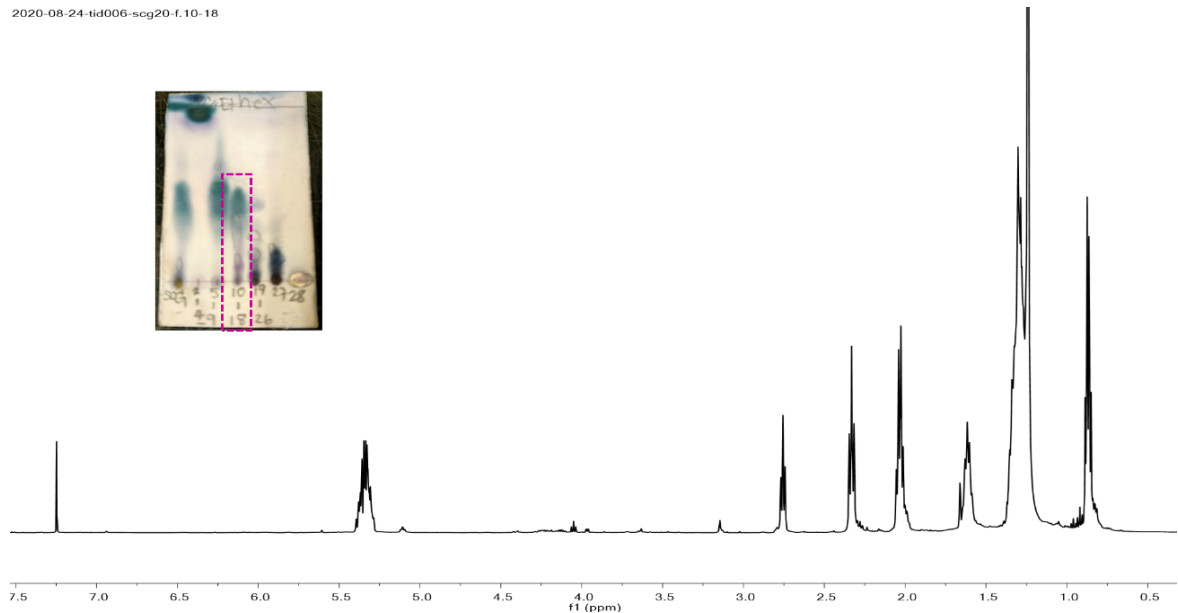
2020-08-24-tid007-scg20-f.5-9



รูปที่ 2.8 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกในแฟรกชันที่ 5-9

จากข้อมูลสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ได้แฟรกชัน 5-9 เป็นกรดไขมันอิสระที่ยังมีสารเจือปนอื่นๆนอยู่บ้าง อีกทั้งยังพบไตรกลีเซอไรด์

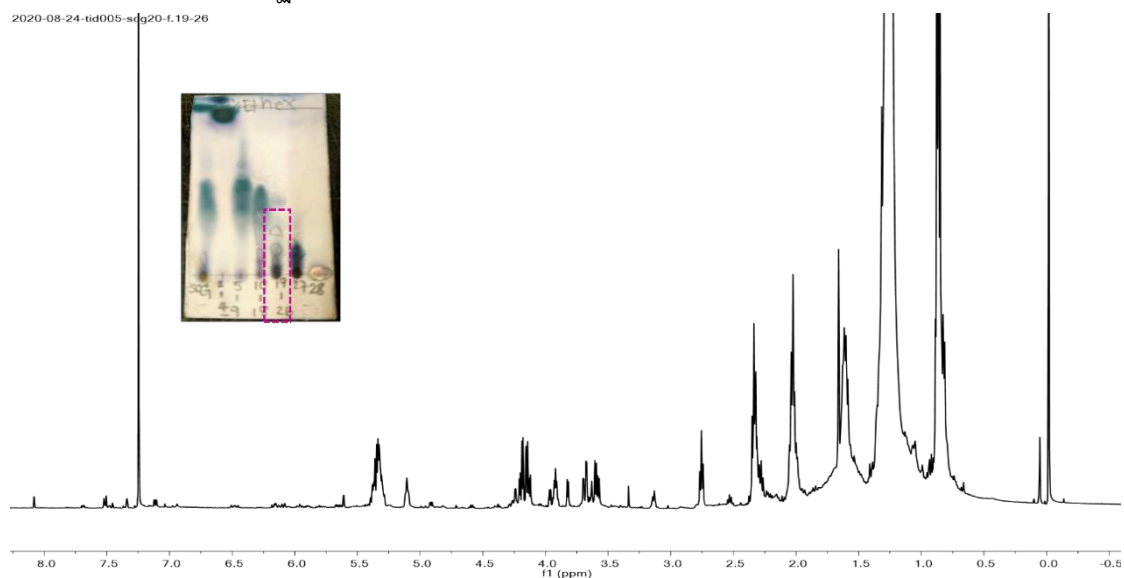
2020-08-24-tid006-scq20-f.10-18



รูปที่ 2.9 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกในแฟรกชันที่ 10-18

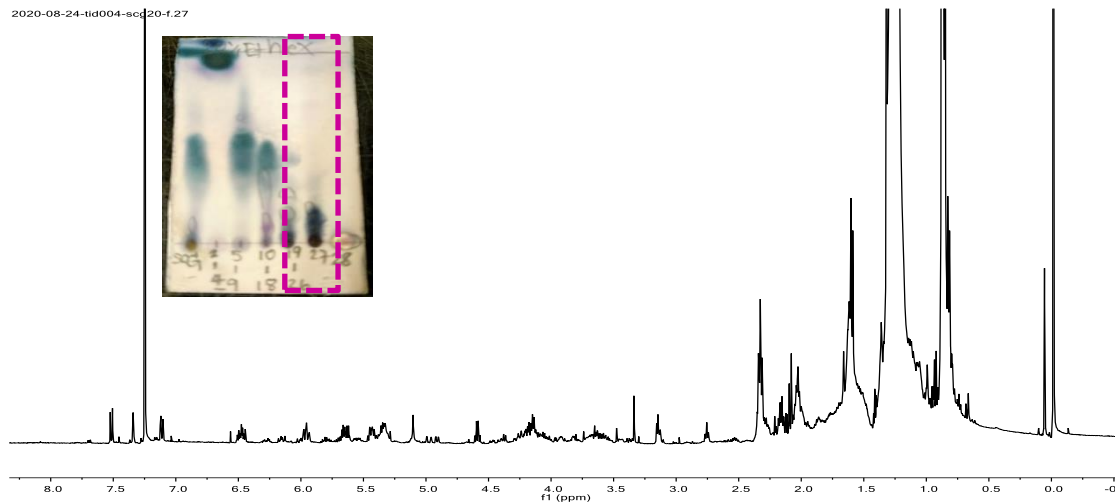
จากข้อมูลสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ได้แฟรกชัน 10-18 เป็นกรดไขมันอิสระที่ไม่ปรากฏพิกของไตรกลีเซอไรด์

2020-08-24-tid005-scq20-f.19-26



รูปที่ 2.10 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกในแฟรกชันที่ 19-26

จากข้อมูลสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ได้แฟรกชัน 19-26 เป็นสารประกอบประเภทฟีนอลิกและสารกลุ่มไคเทอร์พินและยังมีกรดไขมันอิสระเจือปน



รูปที่ 2.11 แสดงผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกในแฟรกชันที่ 27

จากข้อมูลสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ได้แฟรกชัน 27 เป็นสารประกอบประเภทฟีนอลิกและสารกลุ่มไคเทอร์พิน

ซึ่งสามารถสรุปข้อมูลจาก TLC profile และสเปกตรัมจาก NMR ได้ดังนี้

แฟรกชันที่ 1 เกิดจากการนำแฟรกชันที่ 2-4 รวมกันซึ่งข้อมูลจาก TLC และ NMR สามารถสรุปได้ว่าเป็นไตรกลีเซอไรด์

แฟรกชันที่ 2 เกิดจากการนำแฟรกชันที่ 5-18 รวมกันซึ่งข้อมูลจาก TLC และ NMR สามารถสรุปได้ว่าเป็นไตรกลีเซอไรด์และกรดไขมันอิสระ

แฟรกชันที่ 3 เกิดจากการนำแฟรกชันที่ 19-27 รวมกันซึ่งข้อมูลจาก TLC และ NMR สามารถสรุปได้ว่าเป็นสารประกอบประเภทฟีนอลิกและสารกลุ่มไคเทอร์พิน

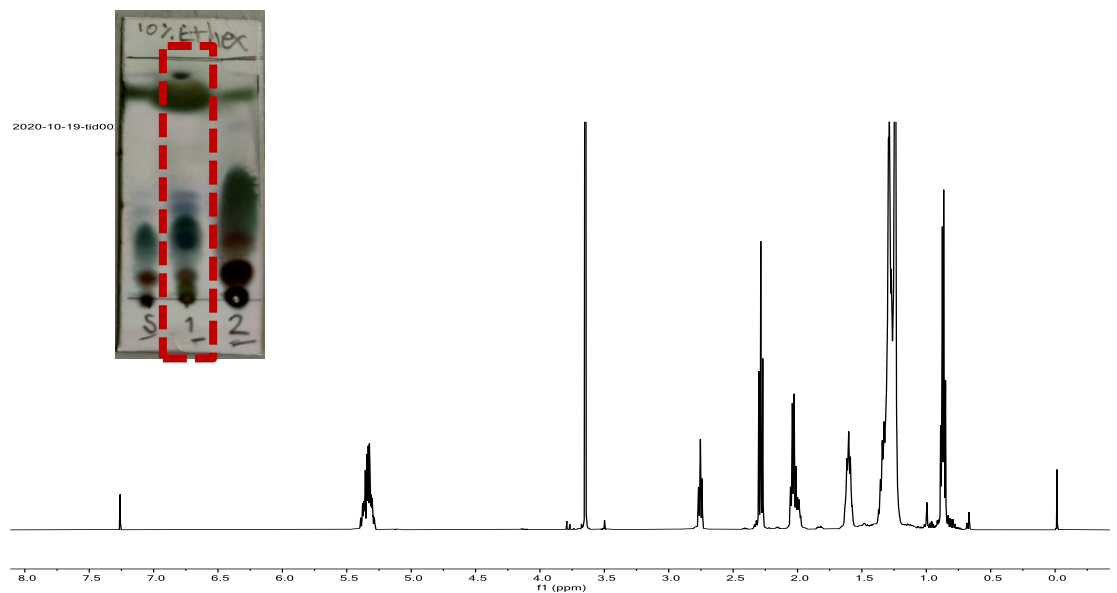
2.5.3 การแยกบริสุทธิ์ของสารประกอบไคเทอร์พิน

นำ SCG 3.455 กิโลกรัมสกัดด้วยเอทิลเอซิเทต 4 ลิตรไว้เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงสารจะแยกออกเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่เป็นสารละลายและส่วนที่เป็นกาก จากนั้นนำส่วนที่เป็นสารละลายมาระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง rotary evaporator ส่วนที่เป็นกากนั้นให้นำมาสกัดซ้ำ จนครบ 3 ครั้ง เมื่อครบ 3 ครั้งแล้วจะได้ SCG crude extract 588.4 กรัม ในการทำการวิเคราะห์องค์ประกอบของ SCG เบื้องต้นพบว่าใน SCG นั้นมีไตรกลีเซอไรด์ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดที่พบใน SCG ดังนั้นจึงต้องมีการกำจัดทิ้งโดยนำ SCG crude extract ที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลเอซิเทตมาทำปฏิกิริยาสaponification เมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดสารละลายจะแยกออกเป็น 2 ส่วนคือส่วนที่เป็นไขซึ่งเป็นส่วนที่ทำ

ปฏิกิริยาและส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาสังเกตได้จากเป็นสารละลาย จากนั้นนำส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยามาทำการแยกในลำดับต่อไป

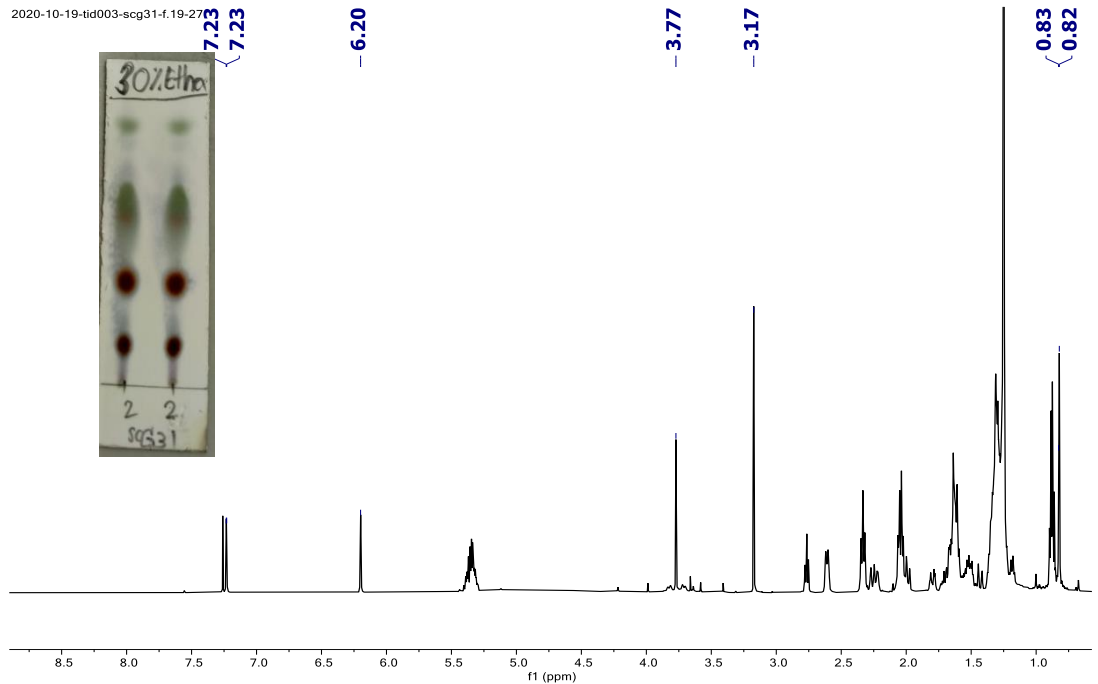
ซึ่งจะ SCG crude extract มาเติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอลเพื่อทำปฏิกิริยาสaponification โดยที่คุมอัตราส่วนค่า SN เท่ากับ 170 มิลลิกรัมของโพแทสเซียม/กรัมของ SCG ซึ่งเมื่อปฏิกิริยาสิ้นสุดลงจะได้สารสกัด SCG ออกมาเป็น 2 ส่วน คือส่วนที่ทำปฏิกิริยาและส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยา ซึ่งจะใช้ในส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยามาทำการแยกและทำให้บริสุทธิ์ เนื่องจากในส่วนนี้มีสารประกอบไตรเทอร์ปีนซึ่งไม่ทำปฏิกิริยาสaponification

จากนั้นแบ่งสารสกัด SCG 100 กรัมที่ได้จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต เติมโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ 8.5 กรัมในเมทานอล 200 มิลลิลิตร (SN=170 มิลลิกรัมของโพแทสเซียม/กรัมของ SCG) จากนั้นตั้งปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนด จากนั้นหยุดปฏิกิริยาและนำส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาซึ่งจากการทดลองจะได้ 70 กรัมมาแยกสารประกอบไตรเทอร์ปีนออกโดยใช้เทคนิคเซฟาเด็กซ์ (Sephadex LH-20 column chromatography) 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทนพบว่าสามารถแยกออกมาได้ 2 แพรกชัน จากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR จากข้อมูลสเปกโทรสโกปีที่ได้ดังนี้



รูปที่ 2.12 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์ ในแฟรกชันที่ 1

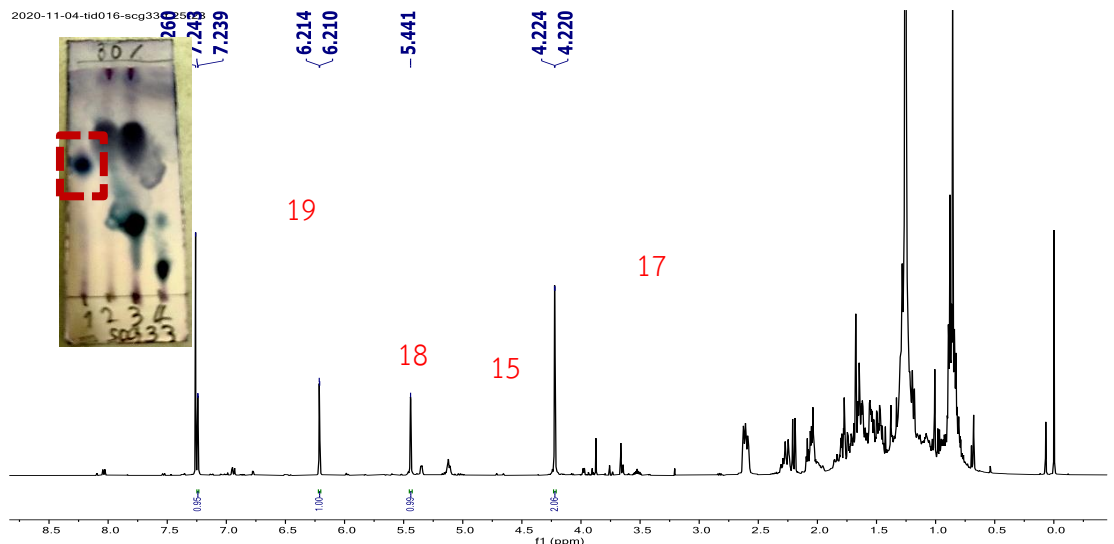
แฟรกชัน 1 ผลของ TLC มีองค์ประกอบทั้งหมด 4 องค์ประกอบหลักๆที่พบบนแผ่น TLC เมื่อพิจารณาแผ่น TLC จากการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์ นั้นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่กว่าจะถูกแยกออกมาก่อนดังนั้นจึงสรุปได้ว่าแฟรกชันนี้แยกกรดไขมันซึ่งมีโมเลกุลใหญ่กว่าสารประกอบไตรเทอร์ปีนออกมาก่อน และข้อมูลจากสเปกตรัม NMR สามารถสรุปได้ว่าแฟรกชันนี้เป็น linoleic acid



รูปที่ 2.13 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์ ในแฟรกชันที่ 2

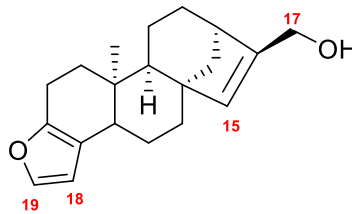
แฟรกชัน 2 จากการพิจารณาแผ่น TLC ซึ่งพบองค์ประกอบ 4 องค์ประกอบและข้อมูลของสเปกตรัม NMR พบว่าเป็นสารกลุ่มไดเทอร์พีนแต่ยังมีกรดไขมันอิสระปะปนอยู่ในปริมาณมากดังนั้นจึงต้องอาศัยการแยกด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี เพื่อกำจัดกรดไขมันอิสระซึ่งสารไม่บริสุทธิ์ออกจากสารกลุ่มไดเทอร์พีนและแยกสารกลุ่มไดเทอร์พีนออกจากกัน

นำสารสกัด SCG ที่ได้จากการแยกด้วยเทคนิค Sephadex LH-20 column chromatography 50% เมทานอล-ไดคลอโรมีเทน 1.4 กรัมมาแยกต่อด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี (silica gel column chromatography) ด้วยระบบ 100% เฮกเซน แล้วค่อยๆ เพิ่มขั้วด้วยเอทิลอะซิเตตจาก 10%-50% ซึ่งจะได้ทั้งหมด 4 แฟรกชันจากนั้นนำไปตรวจสอบโครงสร้างด้วยเทคนิค NMR จากข้อมูลสเปกโทรสโกปีที่ได้สามารถระบุได้ดังนี้



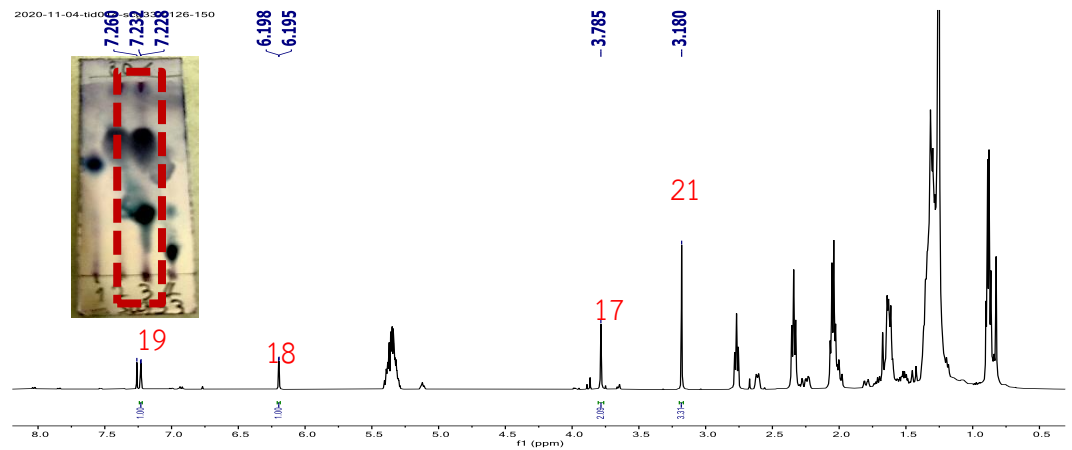
รูปที่ 2.14 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ในแฟรกชันที่ 2 ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซีและแยกต่อด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ในแฟรกชัน 1

แฟรกชัน 1 จาก TLC พบองค์ประกอบ 1 องค์ประกอบ เนื่องจากเป็นสารที่ทราบโครงสร้างอยู่แล้วดังนั้นสามารถเปรียบเทียบโครงสร้างของสารที่ได้จากแฟรกชันนี้ด้วยสเปกตรัม NMR ของงานวิจัยนี้ก่อนหน้ากับสเปกตรัมของ NMR นี้พบว่าเป็นสเปกตรัมของสาร dehydrocafestol ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างดังนี้



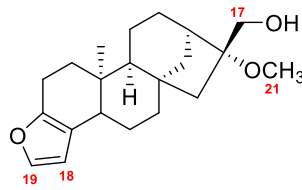
dehydrocafestol

รูปที่ 2.15 แสดงโครงสร้างของ dehydrocafestol



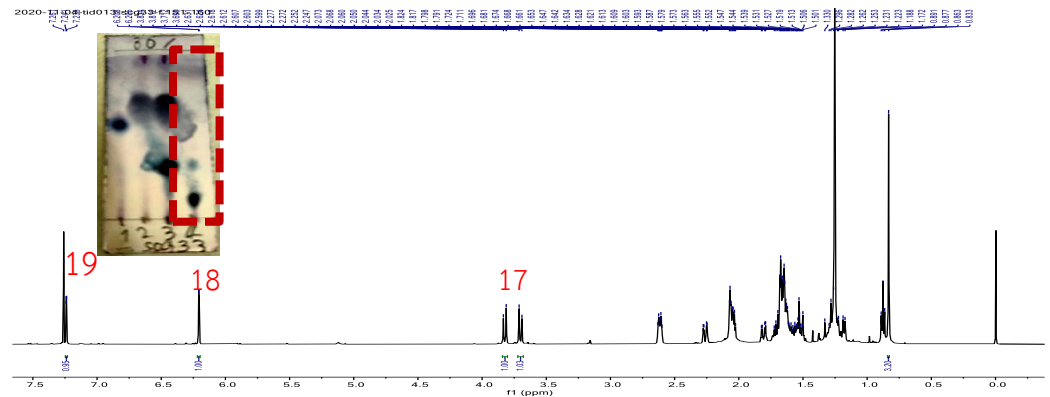
รูปที่ 2.16 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ในแฟรกชันที่ 2 ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซี และแยกต่อด้วยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟีในแฟรกชัน 3

แฟรกชัน 3 จาก TLC พบองค์ประกอบ 2 องค์ประกอบเพราะมีกรดไขมันอิสระเจือปน เนื่องจากเป็นสารที่ทราบโครงสร้างอยู่แล้วดังนั้นสามารถเปรียบเทียบโครงสร้างของสารที่ได้จากแฟรกชันนี้ด้วยสเปกตรัม NMR ของงานวิจัยนี้ก่อนหน้ากับสเปกตรัมของ NMR นี้พบว่าเป็นสเปกตรัมของสาร 16-O-methylcafestol ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างดังนี้



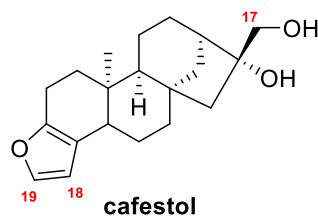
16-O-methylcafestol

รูปที่ 2.17 แสดงโครงสร้างของ 16-O-methylcafestol



รูปที่ 2.18 ผลของ TLC และสเปกตรัม NMR ของ SCG crude extract ในแฟรกชันที่ 2 ที่ผ่านการแยกด้วยเทคนิคเซฟาเด็กซ์ และแยกต่อกับเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี ในแฟรกชัน 4

แฟรกชัน 4 จาก TLC พบองค์ประกอบ 2 องค์ประกอบ เนื่องจากเป็นสารที่ทราบโครงสร้างอยู่แล้วดังนั้นสามารถเปรียบเทียบโครงสร้างของสารที่ได้จากแฟรกชันนี้ด้วยสเปกตรัม NMR ของงานวิจัยนี้ก่อนหน้ากับสเปกตรัมของ NMR นี้พบว่า เป็นสเปกตรัมของสาร cafestol ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างดังนี้



cafestol

รูปที่ 2.19 แสดงโครงสร้างของ cafestol

ซึ่งสาร 3 ตัวนี้เป็นสารประกอบกลุ่มไดเทอร์พีนที่พบใน SCG แต่ทั้งนี้งานวิจัยมีจุดประสงค์ให้สารประกอบไดเทอร์พีนที่แยกได้มีความบริสุทธิ์ที่สูงซึ่งจากข้อมูล NMR ทำให้ทราบว่าสารที่แยกได้นั้นยังไม่มีควมบริสุทธิ์จึงมีวิธีการทำให้สารบริสุทธิ์ขึ้นดังนี้

แฟรกชัน 1 ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคซิลิกาเจลคอลัมน์โครมาโทกราฟี AR grade (silica gel column chromatography) ซึ่งจะได้ dehydrocafestol 283 กรัม และตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค NMR

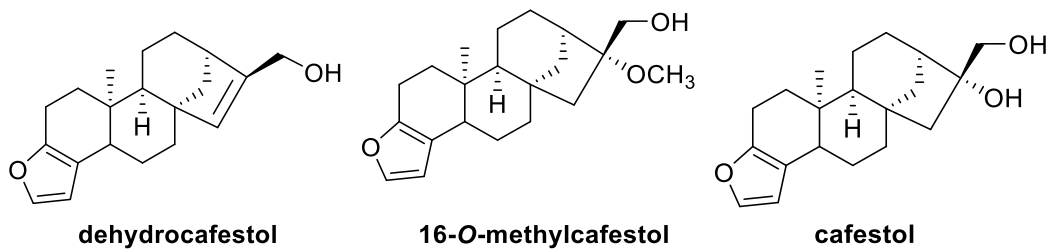
แฟรกชัน 3 ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคการตกผลึก(recrystallization) ซึ่งนำสารที่ได้จากแฟรกชัน 3 มาละลายด้วยเมทานอลใน vial ซึ่งสารจะไม่ละลายในขณะที่สภาวะอุณหภูมิห้อง จากนั้นให้ความร้อนเพื่อให้สารละลายได้มากขึ้นและตั้งทิ้งไว้สารละลายเย็นลงพบว่าสารตกผลึกออกเป็นผลึกสีขาว ซึ่งเป็น 16-O-methlycafestol 453 กรัม จากนั้นตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค NMR

แฟรกชัน 4 ทำให้บริสุทธิ์โดยเทคนิคแฟลชคอลัมน์โครมาโทกราฟี (flash column chromatography) แบบ reversed phase ด้วยระบบตัวทำละลาย 50% เมทานอล-น้ำ จนถึง 100% เมทานอล ด้วยอัตราการไหล (flow rate) 25 มิลลิลิตรต่อนาทีซึ่งจะได้ cafestol 534 กรัม จากนั้นตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค NMR

บทที่ 3

การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างสารบริสุทธิ์ที่แยกได้

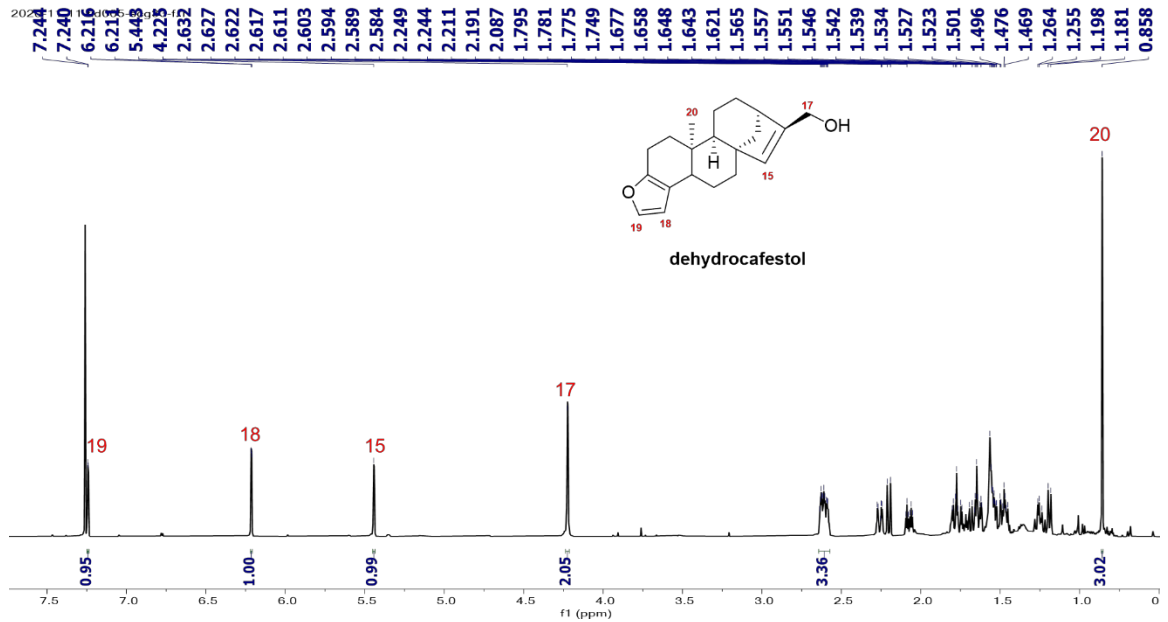
จากการทดลองแยกองค์ประกอบจากกากกาแฟ (SCG) พบว่าสามารถแยกสารประกอบจาก SCG ได้ 3 ชนิด จากการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต สำหรับการพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารใช้วิธีทางสเปกโทรสโกปี ได้แก่ ^1H NMR และ ^{13}C NMR นำข้อมูลที่ได้มาเปรียบเทียบกับสารประกอบที่เคยมีการรายงานก่อนหน้านี้ ซึ่งสารประกอบที่แยกได้จาก SCG มีโครงสร้างเป็น



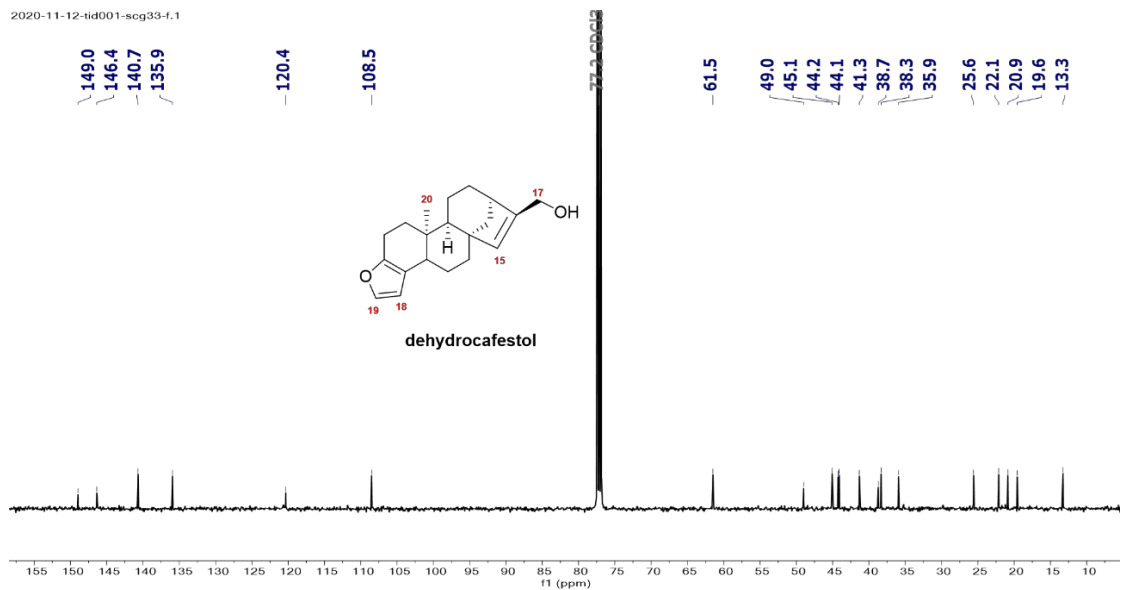
รูปที่ 3.1 แสดงโครงสร้างของ dehydrocafestol 16-O-methylcafestol และcafestol

3.1 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ Dehydrocafestol

จากการทดลองลักษณะของสารที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จากข้อมูลสเปกตรัม รูปที่ 3.2 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) และรูปที่ 3.3 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) เป็นดังนี้ เมื่อเปรียบสเปกตรัมกับข้อมูลก่อนหน้านี้นี้ที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้นี้[12]พบว่าสเปกตรัมมีลักษณะเหมือนกันจึงสรุปได้ว่าเป็น dehydrocafestol



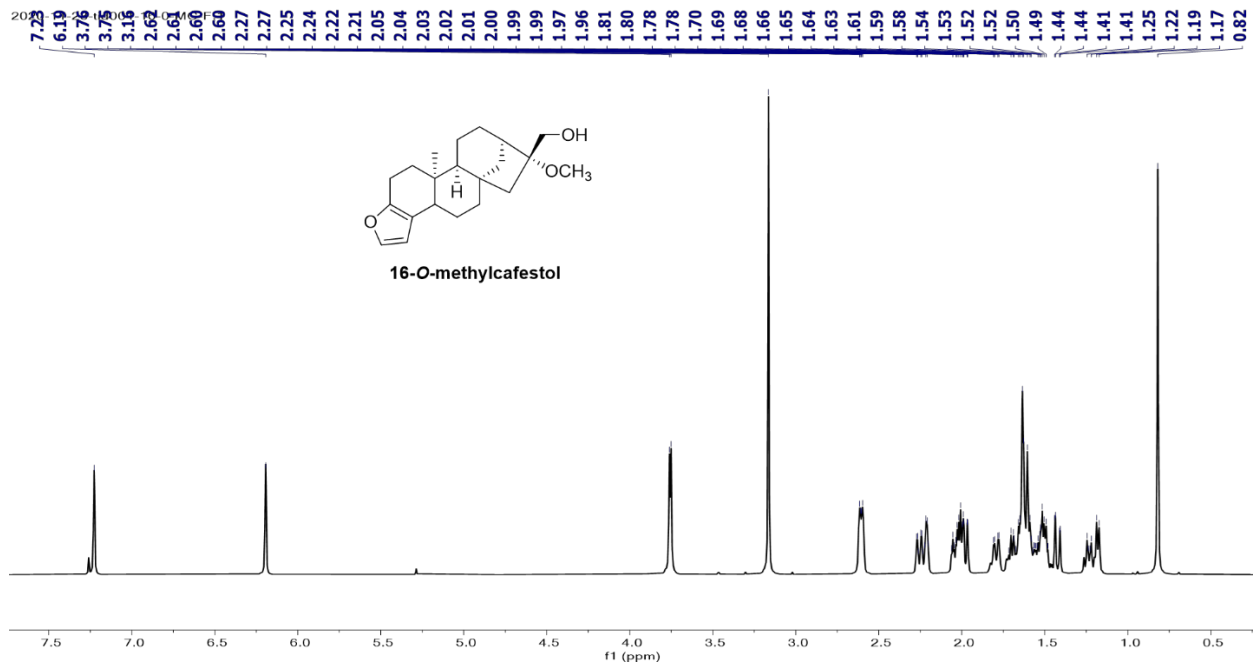
รูปที่ 3.2 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ dehydrocafestol จาก ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) พบข้อมูล chemical shift



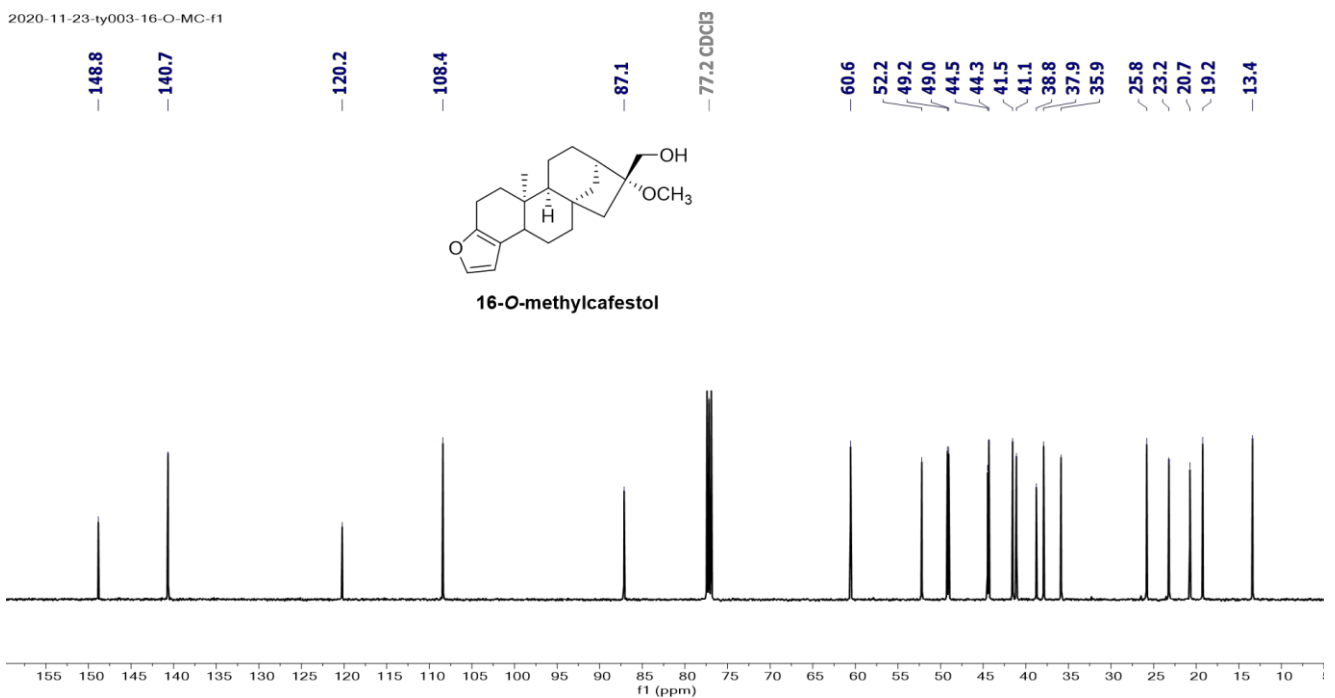
รูปที่ 3.3 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ dehydrocafestol

3.2 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ 16-O-methylcafestol

จากการทดลองลักษณะของสารที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีขาว จากข้อมูลสเปกตรัม รูปที่ 3.4 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) และรูปที่ 3.5 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) เป็นดังนี้ เมื่อเปรียบสเปกตรัมกับข้อมูลก่อนหน้าที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้[12]พบว่าสเปกตรัมมีลักษณะเหมือนกันจึงสรุปได้ว่าเป็น 16-O-methylcafestol



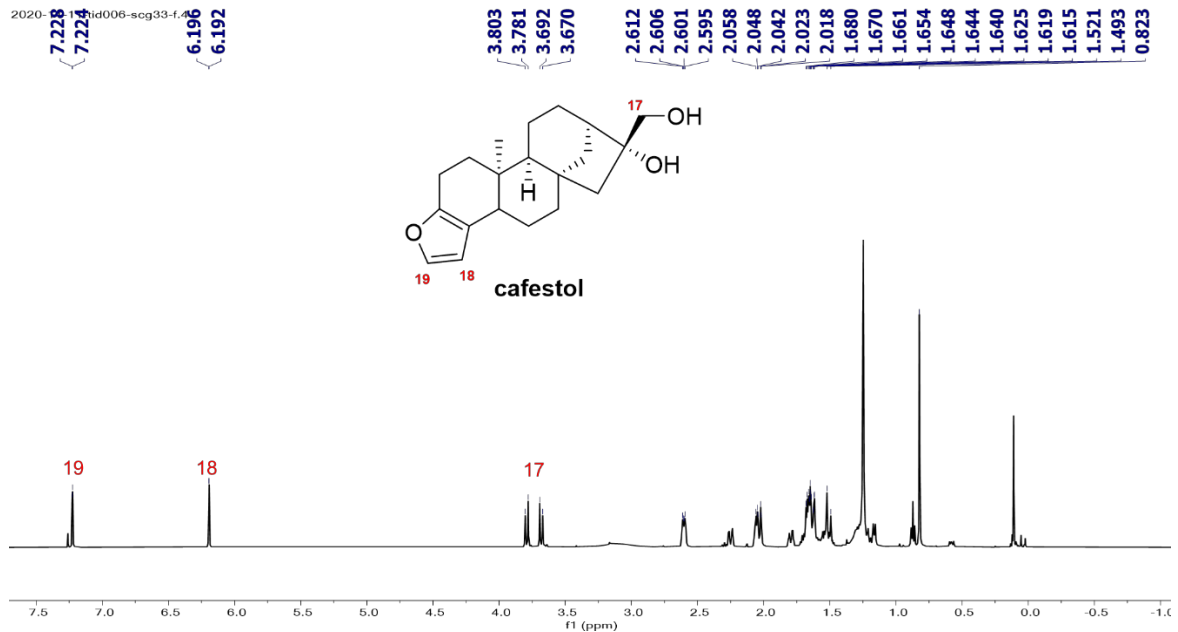
รูปที่ 3.4 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ 16-O-methylcafestol



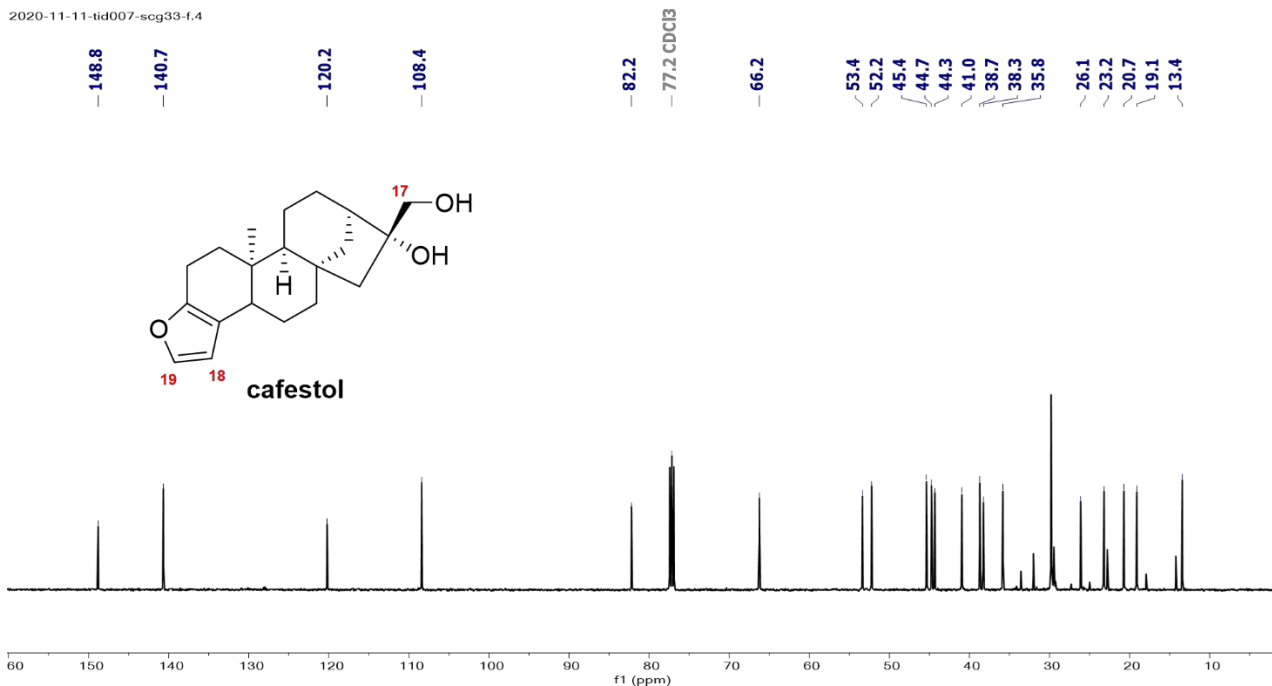
รูปที่ 3.5 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ 16-O-methylcafestol

3.3 การวิเคราะห์สูตรโครงสร้างของสารประกอบ cafestol

จากการทดลองลักษณะของสารที่ได้มีลักษณะเป็นของแข็งสีเหลือง จากข้อมูลสเปกตรัม รูปที่ 3.6 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) และรูปที่ 3.7 ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) เป็นดังนี้ เมื่อเปรียบสเปกตรัมกับข้อมูลก่อนหน้านี้ที่เคยมีรายงานก่อนหน้านี้[12]พบว่าสเปกตรัมมีลักษณะเหมือนกันจึงสรุปได้ว่าเป็น cafestol



รูปที่ 3.6 แสดงสเปกตรัม ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) ของ cafestol

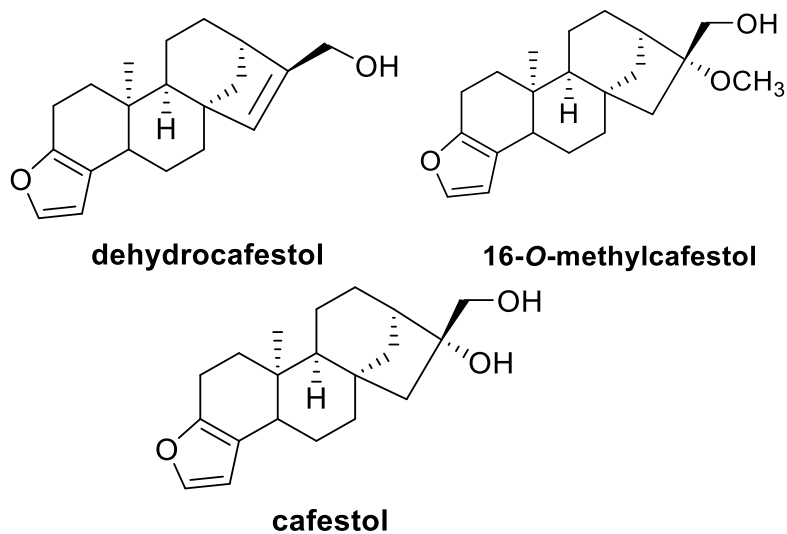


รูปที่ 3.7 แสดงสเปกตรัม ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3) ของ cafestol

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

จากการนำกากกาแฟ (SCG) สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต และนำส่วนที่สกัดมาแยกองค์ประกอบทางเคมี ด้วยวิธีทางโครมาโทกราฟี พบว่า สามารถแยกองค์ประกอบทางเคมีจาก SCG ได้ 3 ชนิด ซึ่งสารประกอบที่แยกได้จาก SCG มีโครงสร้างดังนี้



รูปที่ 4.1 แสดงโครงสร้างของ dehydrocafestol 16-O-methylcafestol และcafestol

นอกจากนี้ก็ยังนำส่วนที่ได้จากการสกัดมาวิเคราะห์กรดไขมันจากทั้งในโรงงานอุตสาหกรรมและร้านกาแฟทั่วไปพบว่าปริมาณของกรดไขมันในกากกาแฟนั้นมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

1. สิ่งสกัดจาก SCG ยังมีสารที่น่าสนใจอยู่มาก ที่สามารถนำไปแยกต่อและพิสูจน์ทราบโครงสร้างของสารประกอบ แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้มีเวลาจำกัด จึงไม่สามารถทำต่อได้
2. สารที่แยกได้บางตัวยังเป็นสารผสมจึงน่าสนใจที่จะทำให้สารเหล่านั้นมีความบริสุทธิ์มากขึ้น โดยนำไปแยกด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีต่าง ๆ ต่อไป
3. สารที่แยกและพิสูจน์ทราบโครงสร้างแล้วนั้น ส่วนมากเป็นสารที่มีการรายงานและทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพก่อนหน้าแล้ว ซึ่งน่าสนใจที่จะนำสารที่แยกได้นำไปทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ

เอกสารอ้างอิง

1. Mussatto, S.I.; Machado, E.M.S.; Martins, S.; Teixeira, J.A. Production, composition, and application of coffee and its industrial residues. *J. Agric. Food Chem.* **2011**, 661-672.
2. Tokimoto, T.; Kawasaki, N.; Nakamura, T.; Akutagawa, J.; Tanada, S. Removal of lead ions in drinking water by coffee grounds as vegetable biomass. *J. Colloid Interface Sci.* **2005**, 281, 56-61.
3. Silva, M.A.; Nebra, S.A.; MachadoSilva, M.J.; Sanchez,C.G.The use of biomass residues in the Brazilian soluble coffee industry. *Biomass Bioenerg.* **1998**, 14, 457-467.
4. Fan, L.; Pandey, A.; Soccol,C.R.Solidstateculturing–anefficient technique to utilize toxic agro-industrial residues. *J. Basic Microbiol.* **2000**, 40 , 177-187.
5. Dai, J.; Mumper, R. J. Plant phenolics extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules. J. Agric. Food Chem.* **2010**, 7313-7352.
6. Feng, R.; Lu, Y.; Bowman, L.; L. Qian; Y. Castranova; V. Ding, M. Inhibition of activator protein-1, NF-kappaB, and MAPKs and induction of phase 2 detoxifying enzyme activity by chlorogenic acid. *J. Biol. Chem.* **2005**, 280, 27888-27895.
7. McCarty.; M. F. A chlorogenic acid-induced increase in GLP-1 production may mediate the impact of heavy coffee consumption on diabetes risk. *Med. Hypotheses*, **2005**, 64, 848-853.
8. K. Speer.; I. Kölling-Speer the lipid fraction of the coffee beanBraz. *J. Plant Physiol.*, 18 **2006**, .201-21
9. S.Oestreich-Janzen Chemistry of Coffee Comprehensive Natural Products II Chemistry and Biology, **2010**,1085-1117
10. RocioCampos-Vega.;GuadalupeLoarca-Piña.;Haydé.;A.Vergara-Castañeda.;B.DaveOomah Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects Trends in Food Science & Technology ,**2015**, 45,24-36
11. Krit Somnuk Picha iEawlex Gumpon Prateepchaikul Optimization of coffee oil extraction from spent coffee grounds using four solvents and prototype-scale extraction using circulation process Agriculture and Natural Resources ,**2017**,51, 181-189
12. Heike Scharnhop.; Peter Winterhalter. Isolation of coffee diterpenes by means of high-speed countercurrent chromatography. *Journal of Food Composition and Analysis.*, 22 ,**2009**, 233-237
13. Alger.;S.LoyaoJr.Serge.; Lorenz.; G.VillasicaPaulo.; Louise.; L.Dela.; PeñaAlchris.; WooGo .Extraction of Lipids from spent coffee grounds with non-polar renewable solvents as alternative. *Industrial Crops and Product.*,119,**2018**,152-161

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ สิทธิผล นุชถาวรลักษณ์ เกิดวันที่ 4 กันยายน 2541 สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย จากจากโรงเรียนพะเยาพิทยาคม หลังจากนั้นเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมี ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2560 ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้ 521 ถ.พหลโยธิน ต.แม่ต้า อ.เมือง จ.พะเยา boom_sittipon@outlook.com