บทที่ 1
บทนำ

ในปัจจุบัน กาแฟสดกำลังเป็นที่นิยมบริโภคกันเป็นจำนวนมาก โดยพบว่าในแต่ละปีมีการปลูกกาแฟเพื่อใช้บริโภคในรูปแบบของกาแฟสดถึงปีละประมาณ 500 ตัน (พันธุ์กาแฟ, 2550) ซึ่งจะเห็นได้ว่าเป็นปริมาณที่สูง ดังนั้น จึงนำไปสู่ความน่าสนใจอีกอย่างหนึ่งเกี่ยวกับกาแฟสด นอกจากปริมาณการบริโภคแล้ว นั่นคือ ส่วนที่เหลือใช้จากการทำกาแฟสดหรือกากกาแฟซึ่งเป็นส่วนที่ไม่สามารถนำไปบริโภคได้ โดยจากปริมาณการปลูกกาแฟเพื่อบริโภคในรูปของกาแฟสดทำให้เห็นได้ว่าในแต่ละปีจะมีกากกาแฟสดที่เหลือใช้เป็นปริมาณมาก และยังไม่พบรายงานการศึกษาการนำกากกาแฟไปใช้เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย รวมถึงยังไม่มีการนำไปใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าของกากกาแฟเท่าที่ควร อาจเนื่องมาจาก ยังไม่มีผู้ที่สนใจศึกษาการนำกากกาแฟไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดมูลค่ากันอย่างจริงจัง ดังนั้น หากมีการศึกษาถึงการนำกากกาแฟไปประยุกต์ใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์มากขึ้นแล้ว ย่อมส่งผลให้กากกาแฟที่เหลือใช้มีมูลค่าเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย แต่อย่างไรก็ตาม เป็นที่ทราบกันดีว่ากาแฟมีคาเฟอีนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งคาเฟอีนจัดเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มของแทนนิน ซึ่งแทนนินมี 2 ชนิด คือ คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) และไฮโดรไลซ์แทนนิน (hydrolysable tannins) โดยไฮโดรไลซ์แทนนินเป็นแทนนินชนิดที่สามารถถูกย่อยสลายเป็นโมเลกุลเล็กได้โดยเอนไซม์แทนเนสได้ผลผลิตสุดท้าย คือ กรดแกลลิกและกลูโคส ตัวอย่างของพืชที่พบไฮโดรไลซ์แทนนิน ได้แก่ ใบชา กาแฟ ลำไย มังคุด เป็นต้น (Aryuman และHanmoungjai, 2006; Battestin และ Macedo, 2007; Sabu และคณะ, 2006)

สารต่อต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant) เป็นสารที่มีความสามารถต้านทานต่อ “อนุมูลอิสระ (free radical)” โดยอนุมูลอิสระเกิดได้จากหลากหลายปัจจัย อาทิ การรับประทานอาหารรังสี การติดเชื้อ และสิ่งแวดล้อมที่เป็นมลพิษ ได้แก่ ควันเสียและเขม่าจากเครื่องยนต์ ควันบุหรี่ ยาฆ่าแมลง และควันเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น (พรทิพย์, 2551) ซึ่งอนุมูลอิสระเป็นสารที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคไขข้ออักเสบ โรคหัวใจ โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน โรค atherosclerosis โรคอัมพาต รวมทั้งยังเป็นสารที่ทำให้แก่ก่อนวัยอีกด้วย (Rahman และ Choudhary, 2005; Aqul และคณะ, 2006) ดังนั้น การป้องกันโรคต่างๆ ที่กล่าวมาย่อมต้องอาศัยสารต่อต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารชนิดนี้จะช่วยป้องกันเซลล์ร่างกายจากการทำลายของอนุมูลอิสระโดยไปจับกับอนุมูลอิสระและลดการเกิดปฏิกิริยา ณ จุดตั้งต้นหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่พบในธรรมชาติ เช่น วิตามินอีในน้ำมันพืช กรดแกลลิกใน

ชาเขียว และสารสังเคราะห์ที่อนุญาตให้เติมลงในอาหาร เช่น โพรพิลแกลเลต (propyl gallate) บิวทิเลเตตไฮดรอกซีอะนิโซล (butylated hydroxyanisole, BHA) และ บิวทิเลเตตไฮดรอกซีโทลูอีน (butylatedhydroxytoluene, BHT) เป็นต้น (ไชยโรจน์ และคณะ, 2551; บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง, 2551; พรทิพย์, 2551; Rahman และ Choudhary, 2005)

กรดแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอล ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรมการผลิตยาไตรเมทโธพริม (trimethoprim: TMP) ยาดังกล่าวมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียซึ่งใช้ในการรักษาการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะโดยใช้ร่วมกับยาซัลโฟนาไมด์ (Kar และคณะ, 2000) นอกจากนี้ กรดแกลลิกยังใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตโพรพิลแกลเลท (propyl gallate) ซึ่งใช้เป็นสารกันหืนในไขมันและน้ำมัน (Weetal และ Detar, 1985) รวมถึงกรดแกลลิกเองยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย (Golumbic และ Matttill, 1941) ในปัจจุบันการผลิตกรดแกลลิกใช้วิธีการทางเคมี ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าเสียค่าใช้จ่ายในการผลิตสูงและยังส่งผลให้กรดแกลลิกที่ผลิตโดยวิธีดังกล่าวมีราคาสูงตามไปด้วย ดังนั้น นักวิจัยจึงมีความพยายามนำความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพมาประยุกต์ใช้ในการผลิตกรดแกลลิกเพื่อลดต้นทุนและได้ผลผลิตที่สูง โดยจากหลาย ๆ งานวิจัย พบว่า กรดแกลลิกสามารถผลิตได้จากการย่อยสลายแทนนินโดยเอนไซม์แทนเนส (Lekha และ Lonsane, 1997; Kar และคณะ, 1999; Kar และ Banerjee, 2000)

เอนไซม์แทนเนส (tannase) หรือแทนนินเอซิลไฮโดรเลส (tannin acyl hydrolase) เป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการย่อยสลายไฮโดรไลซ์แทนนินเพื่อให้ได้ผลผลิตสุดท้ายคือกรดแกลลิกและน้ำตาลกลูโคส เอนไซม์ชนิดนี้จะถูกผลิตขึ้นเมื่อมีไฮโดรไลซ์แทนนินปรากฏอยู่ในระบบ (Deschamps และคณะ,1983; Haslam และ Stangroom,1966) เอนไซม์แทนเนสสามารถผลิตได้จากเชื้อจุลินทรีย์พวก แบคทีเรีย ยีสต์ และรา แต่โดยส่วนใหญ่แล้วนิยมผลิตเอนไซม์ดังกล่าวโดยเชื้อราที่มีเส้นใย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ *Aspergillus* ตัวอย่างเช่น *A. niger, A. oryzae* และ *A.awamori* เป็นต้น เนื่องจาก ราสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถผลิตเอนไซม์แทนเนส ได้ดีที่สุด ทั้งโดยการหมักในอาหารเหลว (submerged fermentation; SmF) และโดยการหมักบนอาหารแข็ง (solid-state fermentation; SSF) (Gustavo และคณะ, 2001; Belmares และคณะ, 2004)

ดังนั้น ในงานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่าของกากกาแฟสดที่เหลือใช้โดยนำมาผลิตสารต้านอนุมูลอิสระกรดแกลลิก โดยศึกษากระบวนการและสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระกรดแกลลิก รวมทั้งศึกษาความสามารถในต้านอนุมูลอิสระของกรดแกลลิกที่ผลิตได้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากระบวนการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระกรดแกลลิก
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระกรดแกลลิก
3. เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระกรดแกลลิก

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ Nakhon Sawan Rajabhat University