Published Online: 04 Dec 2020

การสกัดและประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกสับปะรด เหลือทิ้งจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง

Extraction and Antioxidant Activity Evaluation of Pineapple-peel Waste from Canned Pineapple Factory

สริญญา ชวพันธ์

อีเมล์:6151701291@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร.นภัตสร ดิษฐาวุฒิกุล

อีเมล์:naphatsorn.kun.mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

เปลือกสับปะรดเป็นเศษเหลือทิ้งปริมาณมหาศาลจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง ในเปลือกสับปะรดประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญอยู่หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กรดเฟอรูลิก กรดแกลลิก และ คาเทชิน ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีซึ่งน่าจะนำมาประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางชะลอวัยได้ ในการศึกษานี้ต้องการคัดเลือกวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารกลุ่มดังกล่าวจากเปลือกสับปะรด ได้แก่ วิธี เอ บี และซี โดยการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้มาศึกษาสมบัติการละลายและทดสอบความคงตัว

จากการศึกษาพบว่าการสกัดด้วยวิธีซีให้ค่าสูงสุดทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมคิดเป็น 10.61 ± 0.25 มิลลิกรัมสมมูลย์กรดแกลลิกต่อน้ำหนักเปลือกสับปะรดแห้ง 1 กรัมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งการวิเคราะห์ด้วยวิธี ดีพีพีเอช มีค่า ความเข้มข้นที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 3.12 ± 0.07 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และโดยวิธีแฟรพมีค่า 13.90 ± 0.40 ไมโครโมลสมมูลย์เฟอรัสไอออนต่อน้ำหนักเปลือกสับปะรดแห้ง 1 กรัม จากการทดสอบความสามารถในการละลายพบว่าสารสกัดสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทานอล และกลีเซอรีน จากการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งโดยนำสารสกัดไปผ่านความร้อน-ความเย็นเป็นจำนวน 5 รอบ พบว่าสารสกัดมีสีเข้มขึ้นและปริมาณกรดแกลลิกที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การทดสอบความคงตัวต่อสารเคมีในสภาวะกรด ด่าง ออกซิไดซิ่ง และ รีดิวซิ่ง พบว่า สารสกัดมีความคงตัวในทุกสภาวะ ยกเว้นใน

Published Online: 04 Dec 2020

สภาวะที่เป็นด่าง อย่างไรก็ตามก่อนที่จะนำไปใช้จริงในการขึ้นสูตรเครื่องสำอางควรมีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดที่ได้เพื่อทำเป็นฟิงเกอร์พรินท์และเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางรวมถึงการศึกษาความปลอดภัยในการนำมาใช้ในคนและประสิทธิภาพในการชะลอวัยต่อไป

คำสำคัญ: เปลือกสับปะรด, สารประกอบฟีนอลิก, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ของเสียทางการเกษตร

Abstract

Pineapple peels are enormous wastes from canned pineapple factories. They contain several important bioactive phenolic compounds, especially ferulic acid, gallic acid and catechin, which express high antioxidant activities possibly applicable in antiaging cosmetic products. The aim of this study is to evaluate the optimum extraction methods to obtain such phenolic compounds from the pineapple peels which were A, B and C methods in terms of the total phenolic contents and the antioxidant activities. Then, the solubility and stability tests of pineapple-peel extracts were also carried out. It was found that the C method showed the highest total phenolic contents (10.61 ± 0.25 mg gallic acid equivalent/g dried weight) and antioxidant activities both from DPPH assay ($IC_{50} = 3.12 \pm 0.07$ mg/mL) and FRAP method (13.90 ± 0.40 μmol Fe^{2+} equivalent/g dried weight). The solubility test showed that the extract was easily dissolved in ethanol and glycerin. Following the accelerated stability test by 5 heating cooling cycles, the extracts showed significantly increase in color intensity and decrease in amount of gallic acid contents. Also, the chemical stability test in acidic, alkaline, oxidizing and reducing conditions showed that the extract was stable in most conditions except the alkaline condition. However, prior to cosmetic usage, identification and content determination of the obtained phenolic compounds in the extract should be further studied to provide fingerprint and guideline for cosmetic applications, as well as safety evaluation and antiaging efficiency tests.

Keywords: Pineapple Peel, Phenolic Compounds, Antioxidant Activity, Agricultural Wastes

บทนำ (Introduction)

สับปะรดจัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากสามารถสร้างรายได้ให้กับประเทศไทยปีละประมาณ 6,000-8,000 ล้านบาท (ข้อมูลในปี 2561-2562) (กัลชิญา เพชรล้ำ, 2562) โดยมีผลิตภัณฑ์ส่งออกที่สำคัญคือสับปะรดกระป๋องโดยคิดเป็นร้อยละ 50 ของมูลค่าการส่งออก

ผลิตภัณฑ์ผลไม้แปรรูป นอกจากนี้อุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋องยังเป็นอุตสาหกรรมที่เชื่อมโยงภาคการผลิตด้านการเกษตรกับภาคอุตสาหกรรมที่ก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่ม รวมทั้งเป็นแหล่งรองรับผลผลิตของเกษตรกรปีละ 1.80-2.00 ล้านตันของผลผลิตทั้งหมด โดยผลผลิตประมาณร้อยละ 20 ใช้ในการบริโภคสดทั้งภายในประเทศและส่งออกโดยที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 80 จะถูกใช้เพื่อการแปรรูป อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตสับปะรดกระป๋องนั้นจะทำให้เกิดส่วนที่เป็นเศษเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากโดยทั่วไปแล้วคิดเป็นประมาณร้อยละ 50 โดยน้ำหนักเมื่อเทียบกับน้ำหนักสับปะรดสดทั้งลูก โดยเศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตสับปะรดกระป๋องทั้งหมดจะประกอบด้วยส่วน เปลือก แกน ลำต้น ยอด และใบสับปะรด (Ketnawa, Chaiwuth & Rawdkuen, 2012) หากกระบวนการกำจัดเศษเหลือทิ้งเหล่านี้ไม่ถูกต้องหรือไม่มีประสิทธิภาพอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมตามมาได้ ดังนั้นการพัฒนากระบวนการที่ใช้ประโยชน์จากเศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตสับปะรดกระป๋องที่มีปริมาณมากตามข้อมูลที่กล่าวข้างต้นจึงก่อให้เกิดผลดีทั้งในด้านสภาพแวดล้อมและเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเหลือทิ้ง

โดยมีรายงานจากงานวิจัยที่พบว่าในเปลือกสับปะรดมีสารประกอบพอลิฟีนอลที่มีประโยชน์หลายชนิดอาทิเช่น catechin, epicatechin, gallic acid และ ferulic acid (Li et al., 2014) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นองค์ประกอบที่พบอยู่ในผนังเซลล์ของพืชช่วยทำให้ผนังเซลล์ของพืชแข็งแรงและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งช่วยทำหน้าที่ป้องกันไม่ให้สารอนุมูลอิสระก่อตัวขึ้นโดยจะไปยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงสามารถช่วยชะลอวัยให้กับผิวหนังได้ ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะสกัดสารประกอบพอลิฟีนอลจากเปลือกสับปะรดในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) โดยจะทำการเปรียบเทียบวิธีสกัดทั้งหมด 3 วิธี ได้แก่ วิธี A, B และ C จากนั้นจึงนำสารสกัดหยาบดังกล่าวไปทำการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวม (total phenolic content) รวมทั้งทดสอบหาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP เพื่อที่จะทำการคัดเลือกวิธีการสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบความสามารถในการละลายและทดสอบความคงตัวทางกายภาพต่อสารเคมีและอุณหภูมิด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) และความคงตัวทางเคมีต่ออุณหภูมิโดยวิเคราะห์หาปริมาณ gallic acid ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่อยู่ในสารสกัดด้วยเทคนิค UV-visible spectrometry เพื่อหาแนวทางในการนำมาประยุกต์ใช้ในการเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสกัดสารพอลิฟีนอลจากเปลือกสับปะรดที่เป็นเศษเหลือทิ้งที่ได้จากโรงงานทำสับปะรดกระป๋อง

Published Online: 04 Dec 2020

2. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดโดยวิธี DPPH และ FRAP

3. เพื่อทดสอบความสามารถในการละลาย ความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกสับปะรด

ขอบเขตของการศึกษา

นำตัวอย่างเปลือกสับปะรดแห้งสายพันธุ์ปัตตาเวียที่ได้จากโรงงานสับปะรดกระป๋อง มาทำการสกัดด้วยวิธีการสกัด 3 วิธี ได้แก่ A, B และ C จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP นำสารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพดีที่สุดไปทดสอบความสามารถในการละลายในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ และทดสอบความคงตัวทางกายภาพต่อสารเคมีต่าง ๆ ได้แก่ กรด ด่าง oxidizing และ reducing รวมทั้งทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดต่ออุณหภูมิโดยนำสารสกัดไปผ่านสภาวะเร่ง heating & cooling จำนวน 5 รอบ จากนั้นเปรียบเทียบสีของสารสกัดก่อนและหลังการทดสอบด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) และวิเคราะห์หาปริมาณ gallic acid ก่อนและหลังการทดสอบด้วยเทคนิค UV-visible spectrometry

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมตัวอย่างเปลือกสับปะรด

หั่นเปลือกสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr) อบแห้งสายพันธุ์ปัตตาเวียที่ปลูกที่จังหวัดระยอง ประเทศไทย ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท สยามอุตสาหกรรมอาหาร จำกัด (มหาชน) ตำบลนิคมพัฒนา อำเภอนิคมพัฒนา จังหวัดระยอง ประเทศไทย เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1.5 cm × 1.5 cm จากนั้นนำมาแช่น้ำที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แยกน้ำออกด้วยผ้าขาวบางและนำไปอบให้แห้งก่อนนำไปบดให้ละเอียด

2. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพสารสกัดด้วยเทคนิค TLC

จุดสารละลายมาตรฐาน ferulic acid และ gallic acid และจุดสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดได้จากวิธี A, B และ C ด้วยหลอด capillary ลงบนแผ่น TLC ห่างจากขอบด้านล่างประมาณ 1 cm นำวัฏภาคเคลื่อนที่ซึ่งประกอบด้วย hexane : ethyl acetate : acetic acid ที่อัตราส่วน 31 : 14 : 5 ต่อปริมาตร เทลงในภาชนะปิดที่แห้งและปิดฝาไว้ รอจนกระทั่งอิ่มตัวด้วยไอของตัวทำละลาย จากนั้นจุ่มแผ่น TLC ลงในวัฏภาคเคลื่อนที่รอจนกระทั่งตัวทำละลายเคลื่อนที่เกือบถึงขอบบนหรือประมาณ 1 cm แล้วยกออก จากนั้นนำไปส่องด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 nm เพื่อดูตำแหน่งของสารที่

เคลื่อนที่เทียบกับสารมาตรฐาน จากนั้นจึงคำนวณหาค่า R_f ของสารสกัดเทียบกับสารมาตรฐาน ferulic acid และ gallic acid

3. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัด

ทำตามวิธีของสุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ (2015) โดยเตรียมสารละลายสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปิเปตสารสกัดปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 (7 % น้ำหนักต่อปริมาตร) ลงไป 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมโดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

ทำตามวิธีของสุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ (2015) โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เจือจางสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0.5 - 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จำนวน 5 ความเข้มข้น จากนั้นเติมสารตัวอย่างที่แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดทดลองในแต่ละหลอดเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ทำการคำนวณหา %Inhibition และทำการพลอตกราฟระหว่าง %Inhibition กับความเข้มข้นของสารตัวอย่าง เพื่อทำการหาค่า IC_{50} จากกราฟ

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

ทำตามวิธีของสุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ (2015) โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารตัวอย่างที่ได้ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงไปในหลอดทดลองและเติมสารละลาย FRAP ลงไป 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาค่า FRAP โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย $FeSO_4$

6. การทดสอบค่าการละลายด้วยวิธี United States Pharmacopeia (USP)

ดัดแปลงจากวิธีของ กิตติมาภรณ์ ชุมพงศ์ (2557) โดยชั่งสารสกัดหยาบปริมาณ 1 มิลลิกรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง 6 หลอด เติมตัวทำละลาย 6 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น, 95% ethanol, glycerin, laureth-4, propylene glycol และ Tween 20 ลงไปในหลอดทดลองแต่ละหลอดปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าที่ความเร็วต่ำ ที่อุณหภูมิห้อง (30 $\pm$5 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 10นาที จากนั้นเริ่มทำการประเมินสมบัติการละลายของสารสกัดเปลือกสับปะรด หากสารสกัดเปลือกสับปะรดยังละลายได้ให้

เพิ่มปริมาณสารสกัดลงไปทีละ 1 มิลลิกรัม จนกว่าจะไม่ละลาย รายงานผลค่าการละลายตามหน่วยของ USP ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การกำหนดค่าการละลาย (solubility) ตามหน่วยของ USP

Descriptive term	Parts of solvent required for 1 part of solute
Very soluble	< 1
Freely soluble	1 - 10
Soluble	10 - 30
Sparingly soluble	30 – 100
Slightly soluble	100 – 1,000
Very Slightly soluble	1,000 – 10,000
Practically insoluble หรือ insoluble	> 10,000

7. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพของสารสกัดต่อสารเคมี

ดัดแปลงจากวิธีของ ภัทรวดี เอกวรพนธ์ (2557) โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดในเอทานอลที่ความเข้มข้น 1% (w/v) จากนั้นปิเปตสารละลายของสารสกัดปริมาตร 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง 4 หลอด แล้วทำการทดสอบความคงตัวต่อสารเคมีต่าง ๆ ดังนี้ หลอดที่ 1 เติม 10% HCl ลงไป 3 หยด หลอดที่ 2 เติม 10% NaOH ลงไป 3 หยด หลอดที่ 3 เติม 3% H_2O_2 ลงไป 3 หยด และหลอดที่ 4 เติม 0.1% $Na_2S_2O_3$ ลงไป 3 หยด รายงานผลการทดสอบโดยสังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น และตะกอน จากนั้นนำไปวัดค่าสีของสารสกัดทั้งก่อนและหลังทดสอบกับสารเคมีโดยใช้เครื่อง colorimeter

8. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดต่ออุณหภูมิที่สภาวะเร่ง

ดัดแปลงจากวิธีของ ภัทรวดี เอกวรพนธ์ (2557) เตรียมสารละลายของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดในเอทานอลที่ความเข้มข้น 1% (w/v) ปิเปตสารละลายของสารสกัดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในภาชนะที่ปิดสนิท นำไปทำ heating & cooling cycle โดยเริ่มจากนำสารสกัดไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดไปเข้าตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ โดยทำทั้งหมด 5 รอบ เมื่อครบกำหนดเวลาให้สังเกตดูการเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่น และตะกอน จากนั้นนำไปวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (colorimeter) ทั้งก่อนและหลังการทดสอบความคงตัว จากนั้นนำสารสกัดไปวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยเครื่อง pH meter และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ gallic acid ในสารสกัดทั้งก่อนและหลังการทดสอบ

ความคงตัวต่ออุณหภูมิที่สภาวะเร่ง โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณ gallic acid โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน

9. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ผลการศึกษาที่ได้นำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS version 21 โดยเลือกใช้สถิติแบบ sample paired t-test โดยให้ค่าความเชื่อมั่นที่ 95% ($p<0.05$)

ผลวิจัย (Results)

1. ผลร้อยละผลผลิตของการสกัดด้วยวิธีต่าง ๆ

พบว่าลักษณะของสารสกัดที่ได้จากทั้ง 3 วิธีมีลักษณะเป็นของเหลวข้นหนืดสีน้ำตาล โดยสารสกัดที่ได้จากวิธี C มีสีน้ำตาลเข้มที่สุดและหนืดที่สุด รองลงมาคือวิธี B และ A โดยจะมีสีน้ำตาลอ่อนที่สุดและหนืดน้อยที่สุดโดยวิธีที่ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดคือวิธี B โดยร้อยละผลผลิตของการสกัดมีค่า 8.41 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือวิธี C ซึ่งได้ร้อยละผลผลิตของการสกัดมีค่า 6.16 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง และวิธีที่ได้ร้อยละผลผลิตของการสกัดน้อยที่สุดคือวิธี A ซึ่งได้ร้อยละผลผลิตของการสกัดมีค่าเท่ากับ 1.81 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง

2. ผลการวิเคราะห์เชิงคุณภาพสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีต่าง ๆ ด้วยเทคนิค TLC

สารสกัดที่สกัดได้จากวิธี C แยกได้ 3 จุด โดยมี 2 จุดที่มีค่า R_f เท่ากับ 0.30 และ 0.71 ซึ่งใกล้เคียงกับค่า R_f ของสารมาตรฐาน gallic acid (0.33) และ ferulic acid (0.72) นอกจากนี้ยังพบอีก 1 จุด ที่มีค่า R_f ต่ำกว่าสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด ส่วนวิธี A ได้จุดเดียวซึ่งมีค่า R_f = 0.86 ซึ่งไม่ตรงกับค่า R_f ของสารมาตรฐานทั้ง 2 ชนิด และจากการสกัดด้วยวิธี B ไม่พบจุดใด ๆ บนแผ่น TLC เมื่อส่องด้วยแสง UV ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า R_f ของสารมาตรฐานและสารสกัดที่ได้จากวิธีต่าง ๆ

วิธีการสกัด	ค่า R_f ของสารมาตรฐาน		ค่า R_f ของสารสกัด
	Gallic acid	Ferulic acid	
Alkaline hydrolysis	0.33	0.72	0.22, 0.30, 0.71
Soxhlet	0.30	0.77	-
Maceration	0.31	0.73	0.86

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดที่สกัดเปลือกสับปะรดด้วยวิธีต่าง ๆ

สารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดด้วยวิธี C ได้ปริมาณฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ 10.61 ± 0.25 mg gallic acid equivalent (GAE) /g dried weight (DW) รองลงมาเป็นการสกัดโดยใช้วิธี B ได้ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 1.24 ± 0.04 mg GAE/g DW ส่วนวิธีการสกัดที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมน้อยที่สุดคือวิธี A โดยปริมาณฟีนอลิกรวมที่สกัดได้มีค่า 0.06 ± 0.00 mg GAE/g DW ดังแสดงในตารางที่ 3

4. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกสับปะรดด้วยวิธีต่าง ๆ โดยวิธี DPPH

สารสกัดที่สกัดโดยวิธี C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเนื่องจากมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 3.12 ± 0.07 mg/mL โดยสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระรองลงมาคือวิธี A โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 24.64 ± 1.01 mg/mL และสารสกัดที่ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุดคือวิธี B โดยให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 28.15 ± 0.69 mg/mL ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 Total phenolic contents (TPC), IC_{50} และ FRAP ของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

วิธีการสกัด	TPC (mg GAE/gDW)	IC_{50} (mg/mL)	FRAP (μmol Fe^{2+}/gDW)
A	0.06 ± 0.00	24.64 ± 1.01	10.50 ± 0.50
B	1.24 ± 0.04	28.15 ± 0.69	7.20 ± 0.50
C	10.61 ± 0.25	3.12 ± 0.07	13.90 ± 0.40

5. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกสับปะรดด้วยวิธีต่าง ๆ โดยวิธี FRAP

สารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดด้วยวิธี C มีความสามารถในการรีดิวซ์สูงที่สุดจึงให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งมีค่า FRAP เท่ากับ 13.90 ± 0.40 μmol Fe^{2+} equivalent (eq)/g dried weight (DW) รองลงมาคือวิธี A และวิธี B ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10.50 ± 0.50 และ 7.20 ± 0.50 μmol Fe^{2+} eq /g DW ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

6. การทดสอบค่าการละลายสารสกัดเปลือกสับปะรดด้วยวิธี United States Pharmacopeia (USP)

สารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดสามารถละลายได้ใน propylene glycol, glycerin, laureth-4, tween 20, 95% ethanol โดยตัวทำละลายที่สารสกัดละลายได้ดีมาก (very soluble) ตามเกณฑ์ของ USP

คือ 95% ethanol และ glycerin และสามารถละลายได้ดีปานกลาง (freely soluble) ในตัวทำละลาย propylene glycol, laureth-4 และ tween 20 อย่างไรก็ตามสารสกัดไม่สามารถละลายได้ในน้ำ DI

7. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพของสารสกัดเปลือกสับปะรดต่อสารเคมีชนิดต่าง ๆ

สารสกัดไม่คงตัวต่อ 10% NaOH โดยสารสกัดมีสีจางลงและมีตะกอนเกิดขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า L* a* และ b* ก่อนและหลังการทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่าค่า L* เพิ่มขึ้นหมายถึงมีสีจางลง ค่า a* ลดลงหมายถึงมีสีแดงเพิ่มขึ้น และค่า b* เพิ่มขึ้นหมายถึงมีสีเหลืองมากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าสารสกัดมีความคงตัวต่อ 10% HCl, 3% H_2O_2 และ 0.1% $Na_2S_2O_3$ เนื่องจากสังเกตไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของสารสกัด

8. การทดสอบความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดต่ออุณหภูมิที่สภาวะเร่ง

พบว่าค่าสี L* และค่า b* ของสารสกัดหยาบเปลือกสับปะรดหลังทดสอบมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หมายถึงสารสกัดมีสีเข้มขึ้นและมีสีเหลืองลดลง ปริมาณ gallic acid ในสารสกัดเปลือกสับปะรดและค่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) หลังผ่าน heating & cooling 5 รอบ

อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ (Discussion and Suggestion)

งานวิจัยนี้ทดสอบผลของวิธีการสกัดสารประกอบพอลิฟีนอลออกจากเปลือกสับปะรด *Ananas comosus* (L.) Merr. สายพันธุ์ปัตตาเวียที่เป็นเศษเหลือทิ้งที่ได้จากโรงงานสับปะรดกระป๋อง เพื่อนำมาใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จากการทดลองพบว่าสารสกัดจากเปลือกสับปะรดที่สกัดโดยวิธี B ได้ร้อยละผลผลิตของการสกัดสูงที่สุดโดยมีค่า 8.41 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง ซึ่งพบว่าร้อยละผลผลิตที่ได้มีค่าน้อยกว่างานวิจัยของ De Oliveira et al (2009) ที่ทำการสกัดเปลือกสับปะรดแห้งด้วยวิธี soxhlet ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าได้ร้อยละผลผลิตการสกัดเท่ากับ 15.70 เมื่อเทียบกับน้ำหนักแห้ง จากการหาปริมาณฟีนอลิกรวมพบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดโดยวิธี C ให้ค่าสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 10.61 ± 0.25 mg GAE /g DW ซึ่งพบว่าน้อยกว่างานวิจัยของ Alias and Abbas (2017) ซึ่งทำการสกัดเปลือกสับปะรดแห้งด้วยวิธี soxhlet เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยพบว่าได้ปริมาณฟีนอลิกรวมมีค่าเท่ากับ 28.78 mg GAE/g DW จากการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดโดยวิธี C ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดโดยวิธี DPPH โดยให้ค่า IC_{50} ต่ำที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 3.12 ± 0.07 mg/mL โดยให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า ascorbic acid (IC_{50} = 0.145 ± 0.006 mg/mL) และ Trolox (IC_{50} = 0.15 ± 0.01 mg/mL) อยู่ประมาณ 20 เท่า และให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP สูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 13.90 ± 0.40 μmol Fe^{2+} eq /g DW ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการสกัดโดยวิธี C มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูง

ที่สุดในการสกัดทั้ง 3 วิธี จากผลการวิเคราะห์ TLC พบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดโดยวิธี C เท่านั้น ที่พบว่ามี gallic acid และ ferulic acid เป็นองค์ประกอบ ผลการทดสอบการละลายตามเกณฑ์ของ USP ของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดโดยวิธี C พบว่าละลายได้ดีมาก (very soluble) ใน 95% ethanol และ glycerin ละลายได้ดีปานกลาง (freely soluble) ใน propylene glycol, laureth-4 และ tween 20 แต่ไม่ละลายในน้ำกลั่นแม้ว่า gallic acid และ ferulic acid จะสามารถละลายน้ำได้บ้าง แต่การที่สารสกัดไม่สามารถละลายน้ำได้อาจเป็นเพราะในสารสกัดมีองค์ประกอบอื่นที่ไม่มีขั้วปนอยู่ด้วย จึงทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัดลดลง ผลการทดสอบความคงตัวทางกายภาพต่อสารเคมีพบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดได้จากวิธี C มีความคงตัวต่อกรด สารออกซิไดซ์และสารรีดิวซ์เนื่องจากค่า L* a* และ b* มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยหรือไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังการทดสอบแต่พบว่าสารสกัดไม่คงตัวอย่างมากในสภาวะด่าง โดยค่า L* a* และ b* ก่อนและหลังการทดสอบแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีเพียงการทดสอบด้วยสารละลายด่าง NaOH เท่านั้นที่พบว่าสีของสารสกัดจางลงและมีตะกอนเกิดขึ้นทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในสารสกัดมีองค์ประกอบของ gallic acid และ ferulic acid ที่เป็นกรดฟีนอลิกอยู่ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับด่างได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Polewski, Kniat and Slawinska (2002) ได้ทำการศึกษาสเปกโตรสโกปีของ gallic acid ในน้ำโดยพบว่าค่าการดูดกลืนแสงของ gallic acid ที่ค่า pH ที่เป็นด่างมีค่าลดลง ซึ่งเกิดจากกระบวนการ autooxidation ของกรด gallic acid ที่สภาวะนี้ดังนั้นควรระมัดระวังในการนำสารสกัดไปใช้ในสูตรเครื่องสำอางที่ค่อนข้างเป็นด่างและควรมีการศึกษาความคงตัวทางกายภาพและทางเคมีของสารสกัดเปลือกสับปะรดที่ค่า pH ต่าง ๆ เพิ่มเติมนอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดเปลือกสับปะรดที่สกัดจากวิธี C มีความไม่คงตัวทั้งทางกายภาพและทางเคมีต่ออุณหภูมิที่สภาวะเร่ง โดยหลังผ่านกระบวนการ heating & cooling จำนวน 5 รอบพบว่าพบว่าสารสกัดมีสีเข้มขึ้นและมีสีเหลืองลดลง รวมทั้งค่าสี L* และ b* ก่อนและหลังผ่านกระบวนการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รวมทั้งยังพบว่าปริมาณของ gallic acid ที่เป็นองค์ประกอบในสารสกัดเปลือกสับปะรดมีค่าลดลงประมาณ 50% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Cheng et al. (2014) ได้ทำการศึกษาการสลายตัวของกรดฟีนอลิกในน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ โดยพบว่า ferulic acid มีการสลายตัวมากขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นและมีความเสถียรลดลงเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิคงที่เป็นระยะเวลาที่นานขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าค่า pH ของสารสกัดลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังผ่านกระบวนการ heating และ cooling จำนวน 5 รอบจากงานวิจัยของ Cheng et al. (2014) พบว่าการสลายตัวของ phenolic acid ส่วนใหญ่จะเกิดจากกระบวนการ decarboxylation ยกตัวอย่างเช่น ferulic acid เมื่อเกิด decarboxylation จะได้เป็น 2-methoxy-4-vinylphenol ซึ่งควรจะทำให้สารสกัดค่าความเป็นกรดลดลงหรือค่า pH เพิ่มขึ้น แต่กลับพบว่าสารสกัดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นโดยมีค่า pH ลดลง ซึ่งในกรณีนี้อาจเกิดจากการสลายตัวของ

องค์ประกอบชนิดอื่นที่อยู่ในสารสกัดที่ทำให้สารสกัดมีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามหากต้องการนำสารสกัดจากเปลือกสับปะรดไปประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางควรมีการศึกษาและพัฒนาสูตรตำรับ ความปลอดภัยและประสิทธิภาพที่ใช้สารสกัดพอลิฟีนอลจากเปลือกสับปะรดเป็นสารช่วยชะลอความแก่ให้กับผิว และทำการทดสอบกับอาสาสมัครควรมีการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในสารสกัดที่ได้จากเปลือกสับปะรดทั้งหมดโดยวิธีที่เหมาะสมเพื่อศึกษา fingerprint และเป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางต่อไปควรมีการศึกษาคุณสมบัติทางเครื่องสำอางอื่น ๆของสารสกัดเปลือกสับปะรด เช่น คุณสมบัติการใช้เป็นสารยับยั้งการเกิดเม็ดสี (depigmentation) คุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ matrix metallopeptidase (MMPs) ฯลฯ

รายการอ้างอิง

กัลชิญา เพชรล้ำ (2562). *สินค้าผัก ผลไม้กระป๋องและแปรรูป*. สืบค้นเมื่อ 13 ตุลาคม 2563, จาก http://www.ditp.go.th/contents_attach/539767/539767.pdf

กิตติมาภรณ์ ชุมพงศ์. (2557). *การพัฒนาสารสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากสาหร่ายวากาเมะเพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิว*. สืบค้นเมื่อ 24 เมษายน 2563, จาก https://tdc.thailis.or.th/tdc/browse.php?option=show&institute_code=103&bib=1915&doc_type=0&TitleIndex=1

ภัทรวดี เอกวรพนธ์. (2561). *การสกัดพอลิแซ็กคาไรด์จากเห็ดเข็มทองเพื่อใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้นผิว*. สืบค้นเมื่อ 24 เมษายน 2563, จาก https:tdc.thailis.or.th/tdc/browse.php?option=show&institute_code=103&bib=2999&doc_type=0&TitleIndex=1

สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. (2015). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. *Advanced Science*, *15*(1), 106-117.

Alias, N. H. & Abbas, Z. (2017). Microwave-assisted extraction of phenolic compound from pineapple skins: The optimum operating condition and comparison with Soxhlet extraction. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, *21*(3), 690-699.

Cheng, Y., Xu Q., Liu, J., Zhao, C., . . . Zhao, Y. (2014). Decomposition of five phenolic compounds in high temperature water. *J Braz Chem Soc*, *25*(11), 2102-2107.

De Oliveira, A. C., Valentim, I. B., Silva, C. A., Bechara, E. J. H., . . . Goulart, M. O. F. (2009). Total phenolic content and free radical scavenging activities of methanolic extract powders of tropical fruit peels. *Food Chemistry*, *115*, 469-475.

Ketnawa, S., Chaiwuth, P. & Rawdkuen, S. (2012). Pineapple wastes: A potential source for bromelain extraction. *Food Bio-Products Processing*, *90*, 385-391.

Li, T., Shen, P., Liu, W., Liu, C., . . . Chen, J. (2014). Major polyphenolics in pineapple peels and their antioxidant interactions. *International Journal of Food Properties*, *17*, 1805-1817.

Polewski, K., Kniat, S. & Slawinska, D. (2002). Gallic acid, a natural antioxidant, in aqueous and micellar environment; spectroscopic studies. *Current Topics in Biophysics*, *26*(2), 217-227.