

การประเมินสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์ชีวภาพทางเครื่องสำอาง
จากวัสดุเศษเหลือเมล็ดโกโก้
Assessment of Phenolic Compounds and Cosmetic Bioactivities
from Cocoa Bean Residues

หฤทัยญา บุญรอดกลับ

อีเมล: 6551701282@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง
สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

อีเมล: phanuphong@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินศักยภาพการเป็นสารออกฤทธิ์ทางเครื่องสำอางของวัสดุเศษเหลือเมล็ดโกโก้ ได้แก่ เมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก เมล็ดโกโก้สับ และเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ เปรียบเทียบกับเมล็ดโกโก้ปกติ โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่า สารสกัดเปลือกเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (269.09 ± 1.85 และ 260.87 ± 15.26 mg GA/g extract ตามลำดับ) สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (260.16 ± 13.09 mg QE/g extract) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า เมล็ดโกโก้ปกติมีค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (179.85 ± 1.89 และ 346.58 ± 8.31 mg TE/g extract ตามลำดับ) ในขณะที่สารสกัดเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือกมีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสสูงที่สุดอยู่ที่ 591.394 ± 12.69 a mg kojic acid/g extract ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวัสดุเศษเหลือของเมล็ดโกโก้ โดยเฉพาะเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก มีสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีศักยภาพสูงในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางธรรมชาติที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งการสร้างเมลานิน

คำสำคัญ: วัสดุเศษเหลือ, เมล็ดโกโก้, ฤทธิ์ชีวภาพทางเครื่องสำอาง

Abstract

This study aimed to evaluate potential of cocoa bean residues including, sprouted cocoa beans, flat cocoa beans, and cocoa bean shells as cosmetic active ingredients compared to normal cocoa beans. The extracts were evaluated for total phenolic content, total flavonoid content, antioxidant activity, tyrosinase inhibitory activity, and cell cytotoxicity. The results showed that the bean shell and normal bean extracts exhibited the highest total phenolic contents (269.09 ± 1.85 and 260.87 ± 15.26 mg GAE/g extract, respectively), while the highest total flavonoid content was found in normal bean extract (260.16 ± 13.09 mg QE/g extract). Antioxidant assays via DPPH and FRAP revealed that the normal bean extract had the strongest antioxidant capacity (179.85 ± 1.89 and 346.58 ± 8.31 mg TE/g extract, respectively). The highest tyrosinase inhibitory activity was observed in sprouted cocoa bean extract with minimum inhibitory concentration of 0.100 ± 0.000 mg/ml. This study demonstrated that the cocoa bean residue extract especially the sprouted bean extract possessed wide ranges of cosmetic biological activity and could be utilized as the natural cosmetic ingredients with antioxidant and anti-pigmentation.

Keywords: Cocoa Bean, Residues, Cosmetic Biological Activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

โกโก้ (*Theobroma cacao* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญและเป็นที่ต้องการในตลาดโลก โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมล็ดโกโก้ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตช็อกโกแลต แต่คุณค่าทางชีวภาพของโกโก้ไม่ได้จำกัดอยู่เพียงแค่อุตสาหกรรมอาหารเท่านั้น ไขมันโกโก้และสารสำคัญในเมล็ดโกโก้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย เช่น เป็นส่วนผสมในครีมบำรุงผิวเพื่อป้องกันริ้วรอยและเพิ่มความชุ่มชื้น สารสกัดจากโกโก้ได้รับการยอมรับและจัดเป็นส่วนผสมมาตรฐานในเครื่องสำอาง โดยมีคุณสมบัติหลักเป็น "skin-conditioning agent" และ "antioxidant" ซึ่งทำหน้าที่สำคัญในการปกป้องผิวจากการทำลายของอนุมูลอิสระและลดสัญญาณการเสื่อมสภาพของผิว อาทิ ริ้วรอยและการสร้างเม็ดสีผิวที่ผิดปกติ

ในกระบวนการแปรรูปเมล็ดโกโก้เพื่อผลิตช็อกโกแลต โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มการผลิตแบบพรีเมียมคราฟต์ (Premium Craft) จะมีการคัดเลือกเฉพาะเมล็ดโกโก้ "ปกติ" ที่มีความสมบูรณ์

เท่านั้น ซึ่งหมายถึงเมล็ดที่ไม่ผ่านการงอกและไม่สับ เพื่อรักษามาตรฐานรสชาติของผลิตภัณฑ์ การคัดเลือกที่เข้มงวดดังกล่าวส่งผลให้เกิดวัสดุเศษเหลือในปริมาณมาก ซึ่งได้แก่ เมล็ดโกโก้กอก เมล็ดโกโก้สับ และเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ วัสดุเศษเหลือเหล่านี้มักถูกมองข้ามหรือถูกนำไปใช้ประโยชน์ในระดับต่ำ เช่น การทำปุ๋ยหรืออาหารสัตว์ ทำให้ไม่ก่อให้เกิดรายได้เพิ่มเติม ทั้งที่การวิจัยเบื้องต้นได้ชี้ให้เห็นว่าวัสดุเหล่านี้ยังคงมีสารประกอบฟีนอลิกและองค์ประกอบทางชีวภาพที่มีศักยภาพ

การศึกษาวัสดุเศษเหลือเหล่านี้จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในการเพิ่มมูลค่าให้กับทรัพยากรทาง การเกษตรที่ถูกละเลย โดยตอบโจทย์แนวคิดเศรษฐกิจหมุนเวียนและความยั่งยืน ทั้งเป็นการค้นหา และพัฒนาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใหม่ ๆ สำหรับอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ซึ่งต้องการวัตถุดิบจาก ธรรมชาติที่มีประสิทธิภาพสูงและยั่งยืน การวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการศึกษาเชิงเปรียบเทียบระหว่างวัสดุเศษ เหลือทั้งสามชนิดได้แก่ เมล็ดโกโก้กอก เมล็ดโกโก้สับ และเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ กับเมล็ดโกโก้ปกติ เพื่อประเมินปริมาณสารออกฤทธิ์และฤทธิ์สำคัญทางเครื่องสำอาง ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และการประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

วัตถุดิบโกโก้ทั้งหมด ได้แก่ เมล็ดโกโก้กอก เมล็ดโกโก้สับ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ด โกโก้ปกติ ถูกจัดหามาจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนโกโก้บ้านวัง จังหวัดเพชรบูรณ์ วัสดุเศษเหลือเหล่านี้เป็น ผลพลอยได้ที่เหลือจากการแปรรูปเพื่อผลิตช็อกโกแลต และโดยปกติจะถูกคัดทิ้ง

วัตถุดิบแต่ละชนิดถูกเตรียมโดยผ่านกระบวนการที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สรุปขั้นตอนการเตรียมวัตถุดิบโกโก้แต่ละชนิด

ชนิดวัตถุดิบ	การคัดเลือก/กระบวนการหลัก	สถานะการหมัก	สถานะการคั่ว
เมล็ดโกโก้กอก	กะเทาะฝัก → ตากแห้ง	ไม่หมัก	ไม่คั่ว
เมล็ดโกโก้สับ	หมัก → ตากแห้ง	ผ่านการหมัก	ไม่คั่ว
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	หมัก → ตากแห้ง → คั่ว → แยกส่วนเปลือกหุ้มออก	ผ่านการหมัก	ผ่านการคั่ว
เมล็ดโกโก้ปกติ	กะเทาะฝัก → ตากแห้ง	ไม่หมัก	ไม่คั่ว

สำหรับเมล็ดโกโก้กอกและเมล็ดโกโก้ปกติ จะถูกคัดแยกเมล็ดสดออกจากผลทันที แล้วนำไป ตากแดดเป็นเวลา 7-12 วัน จนมีความชื้นไม่เกิน 7% ส่วนเมล็ดโกโก้สับนั้นเป็นผลจากการคัดทิ้งหลัง กระบวนการหมัก (7-8 วัน) และตากแห้ง ในขณะที่เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้เป็นผลพลอยได้จากขั้นตอน

สุดท้ายของการคั่วและการแยกส่วน หลังจากได้วัตถุดิบแห้งทั้งสี่ชนิดแล้ว จะนำมาบดละเอียดและร่อนก่อนนำไปจัดเก็บเพื่อรอการสกัด

2. การสกัดสารออกฤทธิ์ด้วยวิธี Ultrasonic-Assisted Extraction (UAE)

การสกัดสารออกฤทธิ์ดำเนินการในสองขั้นตอนหลัก :

การสกัดไขมันออก นำวัตถุดิบแห้ง 50 กรัม มาสกัดไขมันออกด้วย Hexane ปริมาณ 150 มิลลิลิตร โดยใช้เครื่องกวนสาร 15 นาที และสกัดต่อด้วยเครื่องสกัดคลื่นความถี่สูง 15 นาที ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง จากนั้นเก็บสารละลายส่วนใสไประเหยแห้งเพื่อวัดผลผลิตไขมัน และนำผงโกโก้ที่สกัดไขมันออกแล้วไปผึ่งให้แห้ง

การสกัดสารสำคัญ นำผงโกโก้ที่สกัดไขมันออกแล้วมาสกัดต่อด้วยเอทานอล 75% ปริมาณ 150 มิลลิลิตร ทำการกวนด้วย Magnetic Stirrer 1 ชั่วโมง ตามด้วยการสกัดด้วย UAE 15 นาที จากนั้นแยกของเหลวด้วยการหมุนเหวี่ยงตกตะกอนที่ 8,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง) นำสารละลายส่วนใสไประเหยแห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เพื่อให้ได้สารสกัดหยาบ

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ชีวภาพ

1) การทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

ทำการวิเคราะห์โดยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ผลลัพธ์แสดงในหน่วย มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GA/g extract)

2) การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

ทำการวิเคราะห์โดยวิธี Aluminium chloride โดยใช้แคทีชินเป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ผลลัพธ์แสดงในหน่วย มิลลิกรัมแคทีชินต่อกรัมสารสกัด (mg CA/g extract)

3) การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

DPPH Radical Scavenging Assay: ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร คำนวณค่าร้อยละการยับยั้ง (%Inhibition) และปริมาณฤทธิ์การยับยั้งในหน่วยมิลลิกรัมโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TE/g extract)

Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP) Assay: ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร หลังจากการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ผลลัพธ์แสดงในหน่วย มิลลิกรัมโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TE/g extract)

4) การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ทำการทดสอบโดยใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น และเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเห็ดบ่มปฏิริยาที่ 37 องศาเซลเซียส และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร ผลลัพธ์ถูกคำนวณเป็นค่า % Inhibition และค่า IC_{50} (ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ได้ 50%) และแสดงในหน่วยมิลลิกรัมกรดโคจิกต่อกรัมสารสกัด (mg Kojic acid/g extract)

ผลการวิจัย

1. ร้อยละผลผลิตสารสกัด

จากการวิจัยพบว่า เมื่อดำเนินการสกัดไขมันจากเมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยว เมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปอกเปลือกแล้วนั้น จะได้ไขมันออกมาเป็นของเหลวสีเหลืองอ่อนและเมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืนจะกลายเป็นไขมันที่แข็งสีเหลืองอ่อน โดยมีค่าร้อยละผลผลิตเท่ากับ $28.65 \pm 0.62\%$, $24.98 \pm 0.82\%$, $26.31 \pm 0.35\%$, $19.36 \pm 0.91\%$ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ร้อยละผลผลิตของการสกัดไขมันโกโก้ของเมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยว เมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยว เมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปอกเปลือก

สารสกัด	ร้อยละผลผลิตของไขมันโกโก้ (% Yield)
เมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยว	$24.98 \pm 0.82\%^a$
เมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยว	$26.31 \pm 0.35\%^b$
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	$19.36 \pm 0.91\%^c$
เมล็ดโกโก้ปอกเปลือก	$28.65 \pm 0.62\%^d$

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

สารสกัดโกโก้มีลักษณะเป็นสารสกัดหยาบสีน้ำตาลเข้ม โดยที่สารสกัดจากเมล็ดโกโก้ปอกเปลือกจะมีค่าผลผลิตเท่ากับ $18.14 \pm 0.44\%$ ซึ่งเป็นค่าที่สูงสุดเมื่อเทียบกับวัตถุดิบอื่น และรองลงมาจะเป็นเมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยวมีค่าเท่ากับ $9.82 \pm 0.44\%$, เมล็ดโกโก้ รสเปรี้ยวมีค่าเท่ากับ $6.63 \pm 0.34\%$ และเปลือกโกโก้มีค่าผลผลิตน้อยที่สุดเท่ากับ $4.33 \pm 0.18\%$ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก เมล็ดโกโก้สับ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปกติ

สารสกัด	ร้อยละผลผลิตของสารสกัดโกโก้ (% Yield)
เมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก	9.82±0.44% ^b
เมล็ดโกโก้สับ	6.63±0.34% ^c
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	4.33±0.18% ^d
เมล็ดโกโก้ปกติ	18.14±0.44% ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

2. ผลการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุดอยู่ที่ 269.09±1.85a และ 260.87±15.26a mg GA/g extract ตามลำดับโดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รองลงมาเป็นเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก และเมล็ดโกโก้สับที่ 185.14±0.63b และ 161.25±2.94c mg GA/g extract ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.4 ซึ่งงานวิจัยของ Utami et al. (2016) รายงานว่าเปลือกโกโก้เป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระและสารฟีนอลิก ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณน้อยกว่างานวิจัยของ Aunillah et al. (2021) ที่สกัดด้วยวิธี ultrasound และเอทานอล ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 306.63±31.4 mg GAE/g sample แต่ยังไม่พบงานวิจัยฉบับไหนที่นำเมล็ดโกโก้สับและเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือกมาทำการทดลอง

ตารางที่ 4 ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก เมล็ดโกโก้สับ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปกติ

สารสกัด	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (mg GA/g extract)
เมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก	185.14±0.63 ^b
เมล็ดโกโก้สับ	161.25±2.94 ^c
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	269.09±1.85 ^a
เมล็ดโกโก้ปกติ	260.87±15.26 ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

3. ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอยู่ที่ 260.16 ± 13.09 mg CA/g extract ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Emelda and Wahyudin (2014) เท่ากับ 272 mg CA/g extract รองลงมาเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้, เมล็ดโกโก้สกัด และเมล็ดโกโก้ดิบ ที่ 215.71 ± 6.25 , 156.86 ± 0.19 และ 41.13 ± 1.35 mg CA/g extract ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติและเปลือกเมล็ดโกโก้มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากกว่างานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกเมล็ดโกโก้สำหรับการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากโกโก้ที่สกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 60 เป็นเวลา 1 ชั่วโมงด้วยเครื่องอัลตราโซนิก มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเนื้อเมล็ดโกโก้และเปลือกเมล็ดโกโก้เท่ากับ 172.00 และ 126.10 มิลลิกรัมสมมูลของเคอซีทินต่อกรัมของชาแห้ง (Chungsiriporn et al., 2023) ส่วนเมล็ดโกโก้สกัดและเมล็ดโกโก้ดิบยังไม่พบงานวิจัยฉบับไหนที่นำมาทำการทดลอง

ตารางที่ 5 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้สกัด เมล็ดโกโก้ดิบ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปกติ

สารสกัด	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (mg CA/g extract)
เมล็ดโกโก้สกัด	156.86 ± 0.19^c
เมล็ดโกโก้ดิบ	41.13 ± 1.35^d
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	215.71 ± 6.25^b
เมล็ดโกโก้ปกติ	260.16 ± 13.09^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

4. ผลการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

1) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ทดสอบด้วยวิธี DPPH

สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติ เมล็ดโกโก้สกัดและเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 179.85 ± 1.89 , 141.24 ± 0.58 และ 107.41 ± 2.67 mg TE/g extract มี % Inhibition อยู่ที่ $84.78 \pm 0.72\%$, $67.94 \pm 0.31\%$ และ $65.69 \pm 2.67\%$ ได้ค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.30 ± 0.29 , 0.37 ± 0.14 และ 0.49 ± 1.10 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดโกโก้ปกติได้ค่าสูงที่สุดและค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น้อยที่สุดในการทดลองนี้คือเมล็ดโกโก้ดิบ ซึ่งมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 42.75 ± 0.12 mg TE/g extract มี % Inhibition อยู่ที่ $53.22 \pm 0.34\%$ ได้ค่า IC_{50} อยู่ที่ 1.19 ± 0.25 mg/ml ดังตารางที่ 6 ซึ่งได้ เมล็ดโกโก้ปกติและเปลือกโกโก้มีค่า % Inhibition

น้อยกว่างานวิจัยของ Aunillah et al.. (2021) ที่ได้ค่าเท่ากับ $87.49 \pm 2.48\%$ สกัดเมล็ดโกโก้ด้วยวิธี ultrasound และเอทานอล และเปลือกโกโก้ มี % inhibition เท่ากับ 86.377% (Pavlović et al., 2021) ส่วนเมล็ดโกโก้สกัดและเมล็ดโกโก้สับยังไม่พบงานวิจัยฉบับไหนที่นำมาทำการทดลอง

ตารางที่ 6 ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH % Inhibition และ IC_{50} ของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้สกัด เมล็ดโกโก้สับ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปกติ

สารสกัด	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (mg TE/g extract)	% Inhibition	IC_{50} (mg/ml)
เมล็ดโกโก้สกัด	141.24 ± 0.58^b	67.94 ± 0.31^b	0.37 ± 0.14^c
เมล็ดโกโก้สับ	42.75 ± 0.12^d	53.22 ± 0.34^d	1.19 ± 0.25^a
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	107.41 ± 2.67^c	65.69 ± 2.67^c	0.49 ± 1.10^b
เมล็ดโกโก้ปกติ	179.85 ± 1.89^a	84.78 ± 0.72^a	0.30 ± 0.29^d
Trolox			0.047 ± 0.40^e

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=3$) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

2) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ศึกษาด้วยวิธี FRAP

สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้สกัด มีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 346.58 ± 8.31 324.20 ± 2.73 และ 255.26 ± 6.00 mg TE/g extract ตามลำดับ ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดโกโก้ปกติได้ค่าสูงที่สุด และค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่น้อยที่สุดในการทดลองนี้เป็นเมล็ดโกโก้สับมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 85.94 ± 2.96 mg TE/g extract ดังตารางที่ 7 ซึ่งเปลือกโกโก้มีค่ามากกว่างานวิจัยของ Botella-Martinez et al (2021) ที่สกัดสารสกัดจากเปลือกโกโก้ที่มีขนาดที่แตกต่างกันซึ่งมีปริมาณ FRAP อยู่ในช่วง 3.84–7.62 mg TE/g extract อีกทั้งเมล็ดโกโก้ยังมีปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP มากกว่างานวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลของฝักโกโก้ที่สายพันธุ์ซึ่งเปรียบเทียบระหว่างเมล็ดโกโก้, เปลือกโกโก้ และฝักโกโก้ ซึ่งปริมาณต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดโกโก้อยู่ในช่วง 23.00–38.43 mg TE/g extract และเปลือกอยู่ในช่วง 59.80–89.33 mg TE/g extract (Abeyasinghe & Kumari, 2012) ส่วนเมล็ดโกโก้สกัดและเมล็ดโกโก้สับยังไม่พบงานวิจัยฉบับไหนที่นำมาทำการทดลอง

ตารางที่ 7 ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้กิ่งอก เมล็ดโกโก้ลิบ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปกติ

สารสกัด	ปริมาณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP (mg TE/g extract)
เมล็ดโกโก้กิ่งอก	255.26±6.00 ^c
เมล็ดโกโก้ลิบ	85.94±2.96 ^d
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	324.20±2.73 ^b
เมล็ดโกโก้ปกติ	346.58±8.31 ^a

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

5. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

สารสกัดเมล็ดโกโก้กิ่งอกมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุดอยู่ที่ 591.394±12.69 mg kojic acid/g extract มีค่า % inhibition อยู่ที่ 84.28±0.057% และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.100±0.000 ส่วนเมล็ดโกโก้ปกติ เมล็ดโกโก้ลิบและเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอยู่ที่ 477.451±0.32 529.415±1.35 และ 567.099±3.60 mg kojic acid/g extract ตามลำดับ มี %inhibition อยู่ที่ 84.28±0.057% 74.89±0.23% และ 82.47±0.69% ตามลำดับ และค่า IC_{50} อยู่ที่ 0.131±0.001 0.114±0.002 และ 0.109±0.001 mg/ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 8 ซึ่งเปลือกโกโก้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากกว่างานวิจัยของ Pattanakitjaroenchai et al. (2025) ที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกโกโก้ที่สกัดด้วยเอทานอลเท่ากับ 4.60 ± 0.20 mg KAE/g sample เนื่องจากในเปลือกโกโก้มีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ยังไม่พบงานวิจัยที่นำเมล็ดโกโก้กิ่งอกและเมล็ดโกโก้ลิบมาทำการทดลอง มีเพียงงานวิจัยของ Abdul Karim et al. (2014) ที่ทดสอบสารสกัดจากฝักโกโก้ (cocoa pod extract) พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้ง tyrosinase ดีกว่า kojic acid

ตารางที่ 8 ปริมาณฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, %Inhibition และ IC₅₀ ของสารสกัดโกโก้ของเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก เมล็ดโกโก้สับ เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ และเมล็ดโกโก้ปอกดี

สารสกัด	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (mg kojic acid/g extract)	%Inhibition	IC ₅₀ (mg/ml)
เมล็ดโกโก้ทั้งเปลือก	591.394±12.69 ^a	85.17±1.83	0.100±0.000 ^c
เมล็ดโกโก้สับ	529.415±1.35 ^c	74.89±0.23	0.114±0.002 ^b
เปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้	567.099±3.60 ^b	82.47±0.69	0.109±0.001 ^b
เมล็ดโกโก้ปอกดี	477.451±0.32 ^d	84.28±0.057	0.131±0.001 ^a

The IC₅₀ value of kojic acid is 0.054±0.0003 mg/ml

หมายเหตุ ค่าที่แสดง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) ตัวอักษรที่เหมือนกันกำกับในแนวคอลัมน์บ่งชี้ว่า ค่าเฉลี่ยที่แสดงไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือกมีศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดีกว่าส่วนอื่น ซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ดโกโก้ที่ทำให้มีการกระตุ้นการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางกลุ่ม อย่างมีประสิทธิภาพได้ดีกว่า สารสกัดจากเมล็ดโกโก้ที่ไม่งอก เมื่อเมล็ดโกโก้เกิดการงอก เมล็ดจะถูกกระตุ้น ส่งผลทำให้เอนไซม์ภายในเมล็ดถูกกระตุ้นและย่อยสลายของสารสำรอง เช่น คาร์โบไฮเดรต, โปรตีน และไขมันเพื่อเป็นพลังงานและสารตั้งต้นสำหรับการเจริญเติบโตของเมล็ด และยังส่งผลให้เกิดการสังเคราะห์สารทุติยภูมิ (secondary metabolites) เช่น (+)-catechin และ (-)-epicatechin ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากที่สุดในโกโก้ ซึ่งสารเหล่านี้มีโครงสร้างที่สามารถเข้าไปจับกับตำแหน่งออกฤทธิ์ของเอนไซม์ได้ ทำให้เกิดการขัดขวางไม่ให้เอนไซม์เข้าไปจับกับสารตั้งต้นได้ จึงสามารถยับยั้งกระบวนการเกิดเม็ดสีเมลานินได้ (Brückel et al., 2024) นอกจากนี้ ค่า IC₅₀ ของสารมาตรฐาน kojic acid เท่ากับ 0.054 ± 0.0003 mg/ml ต่ำกว่าสารสกัดทุกตัว ซึ่งเป็นไปตามลักษณะของสารบริสุทธิ์ที่มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูงกว่า อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาผลการยับยั้งโดยรวม สารสกัดจากเมล็ดโกโก้ทั้งเปลือกยังคงแสดงศักยภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ในระดับสูง และมีแนวโน้มที่จะถูกนำไปพัฒนาเป็น สารสกัดธรรมชาติสำหรับชะลอการเกิดเม็ดสีเมลานิน เพื่อต่อยอดในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง หรือผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในอนาคต

สรุปผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์ร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล 75% พบว่า สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติมีค่าผลผลิตสูงสุดที่ $18.14 \pm 0.44\%$ ซึ่งสูงกว่าเมล็ดโกโก้ ($9.82 \pm 0.44\%$) และเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้ที่ให้ผลผลิตต่ำที่สุด ($4.33 \pm 0.18\%$)

ด้านปริมาณสารสำคัญ พบว่า สารสกัดเปลือกหุ้มเมล็ดโกโก้และเมล็ดโกโก้ปกติมีปริมาณสารฟีนอลิก รวมสูงสุดที่ 269.09 ± 1.85 และ 260.87 ± 15.26 mg GA/g extract ตามลำดับ ในขณะที่เมล็ดโกโก้ ปกติมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอย่างชัดเจนที่ 260.16 ± 13.09 mg QE/g extract

สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยรวม พบว่า สารสกัดเมล็ดโกโก้ปกติแสดง ศักยภาพสูงที่สุดในวิธี DPPH 179.85 ± 1.89 mg TE/g extract และวิธี FRAP 346.58 ± 8.31 mg TE/g extract

โดยสารสกัดจากเมล็ดโกโก้ปกติแสดง ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นกลไกหลักในการ ลดการเกิดเม็ดสีเมลานินได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์อยู่ที่ค่า IC₅₀ 0.100 ± 0.000 mg/ml

รายการอ้างอิง

- Abdul Karim, A., Azlan, A., Ismail, A., Hashim, P., Abd Gani, S. S., Zainudin, B. H., . . . Abdullah, N. A. (2014). Phenolic composition, antioxidant, anti-wrinkles and tyrosinase inhibitory activities of cocoa pod extract. *BMC complementary and alternative medicine*, 14(1), 381.
- Abeyasinghe, D. C., & Kumari, I. P. N. P. (2012). Antioxidant activity and phenolic content of different pod tissues of five selected cocoa hybrid lines. *Journal of Food and Agriculture*, 5(1-2). <https://doi.org/10.4038/jfa.v5i1-2.5177>
- Aunillah, A., Purwanto, E. H., Wardiana, E., & Iflah, T. (2021, July). The effect of fermentation process, extraction methods and solvents on yield, total polyphenol, and antioxidant levels of cocoa beans. In *IOP conference series: earth and environmental science* (Vol. 828, No. 1, p. 012038). IOP Publishing.
- Botella-Martínez, C., Lucas-González, R., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J., & Viuda-Martos, M. (2021). Assessment of chemical composition and antioxidant properties of defatted flours obtained from several edible insects. *Food Science and Technology International*, 27(5), 383-391.

- Brückel, K., Stark, T. D., Dawid, C., & Hofmann, T. (2024). Molecular Changes during Germination of Cocoa Beans, Part 1. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 72(33), 18606-18618. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.4c03523>
- Chungsiriporn, J., Pongyeela, P., & Chairerk, N. (2023). Antioxidant Activity of Cocoa Bean Shells for the Development of Cocoa-Based Tea Products. *Journal of Science and Technology CRRU*, 2(2), 1–9. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/jstcrru/article/view/259545>
- de la Luz Cádiz-Gurrea, M., Fernández de las Nieves, I., Aguilera Saez, L. M., Fernández-Arroyo, S., Legeai-Mallet, L., Bouaziz, M., & Segura-Carretero, A. (2019). Bioactive compounds from *Theobroma cacao*: Effect of isolation and safety evaluation. *Plant Foods for Human Nutrition*, 74(1), 40-46.
- Emelda, A., & Wahyudin, E. (2014). High levels of flavonoids and HPLC profile from purified extract of cocoa bean from West Sulawesi Indonesia. *International Journal of Chem Tech Research*, 6(4), 2363-2367.
- Pattanakitjaroenchai, S., Pitsawong, P., Khat-Udomkiri, (2025). Exploration of cosmetic bioactive compounds from cocoa bean shell using polyol-based microwave-assisted extraction: Cytotoxicity, anti-tyrosinase, and anti-melanogenesis properties. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 10, 100454
- Pavlović, N., Jakovljević, M., Molnar, M., & Jokić, S. (2021). Ultrasound-assisted extraction of active compounds from cocoa bean shell. *Hrana u zdravlju i bolesti: znanstveno-stručni časopis za nutricionizam i dijetetiku*, 10(2), 77-88.
- Utami R.R., Armunanto R., Rahardjo S., Supriyant (2016). Effect of Cocoa Bean (*Theobroma cacao* L.) Fermentation on Phenolic Content, Antioxidant Activity and Functional Group of Cocoa Bean Shell. *Pakistan Journal of Nutrition*, 15(10), 948-953.