

การศึกษาการตั้งสูตรตำรับโทนเนอร์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
จากสารสกัดเปลือกต้นแก้วมังกร
Study of Toner Formulation with Anti-Oxidant Activity from
Peels of *Hylocereus undatus* Extract

ปัทมา รุจิแสง¹, ศุภภาพิษฐ์ สิงห์ประเสริฐ¹, เพชรพงศ์ เพชรี¹,
นวลศรี นิวัตติวงศ์¹ และ อารีรัตน์ ชื่อดิ¹

Patthaya Rujisawang¹, Suphaphit Singpraseart¹, Petchpong Petcharee¹,
Nuansri Niwattisaiwong¹ and Areerat Suede¹

¹คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย

¹School of Pharmacy, Eastern Asia University

Received: March 26, 2020

Revised: June 21, 2020

Accepted: June 26, 2020

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงคุณภาพ มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการทดสอบเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลและการพัฒนาสูตรตำรับโทนเนอร์จากเปลือกแก้วมังกร โดยการสกัดเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวที่มีสารในกลุ่มเบต้าเลนโดยวิธีการหมักด้วย 70% และ 95% เอทานอล และวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญจากสารสกัดหยาบ เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีพีพีเอช ด้วยเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร จากนั้นจึงนำไปพัฒนาเป็นสูตรตำรับโทนเนอร์และทดสอบความคงตัวด้วยวิธีการแช่แข็งและการละลาย จากการทดสอบพบว่าสารสกัดหยาบ 70% เอทานอล เท่ากับ 11.25% โดยน้ำหนัก ส่วนสารสกัดหยาบ 95% เอทานอล เท่ากับ 5.48% โดยน้ำหนัก ซึ่งพบว่า สารสกัดหยาบ 70% เอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบ 95% เอทานอลที่ความเข้มข้นเดียวกัน และเมื่อนำมาพัฒนาต่อเป็นสูตรตำรับโทนเนอร์และทดสอบความคงตัวจะพบว่า ปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับก่อนทดสอบความคงตัวสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 0.63, 0.64 และ 0.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และหลังจากทดสอบความคงตัวจะมีค่าเฉลี่ยความคงตัวของสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเท่ากับ 0.21, 0.52 และ 0.58 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นสูตรตำรับที่ 3 จึงมีความคงตัวสูงที่สุดและมีความเข้มข้นของสารสำคัญที่ละลายอยู่ใน 70% เอทานอล เท่ากับ 0.55 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ: แก้วมังกรเนื้อขาว, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, สารกลุ่มเบต้าเลน, สูตรตำรับโทนเนอร์

Abstract

This research is a qualitative research. The purpose of the research was studied to compare anti-oxidant activity of ethanol extracts and development of toner formulation from peels of *Hylocereus undatus*. The extraction from peels of white dragon fruit, that have betalain groups by maceration method by using 70% and 95% ethanol, and quantitative analysis of active compounds present in crude extracted were compared to anti-oxidant activity by DPPH assay and UV-VIS spectrophotometer to measure wavelengths at 493 nanometers. After that, development to toner formulation and stability tests by freeze thaw cycles were conducted. The results found that the crude was extracted of 70% ethanol as 11.25% w/w and 95% ethanol crude was extracted as 5.48% w/w. The crude which was extracted of 70% ethanol had anti-oxidant activity more than 95% ethanol than the crude extracted in same concentrations. And, development to toner formulations and stability tests showed active compounds concentration of formulation before stability tests of formula 1, 2 and 3 were 0.63, 0.64 and 0.63 mg/mL while after stability tests of mean in formula 1, 2 and 3 were 0.21, 0.52 and 0.58 mg/mL, respectively. Therefore, the formula 3 had the highest stability and had active compounds concentration in solution of 70% ethanol as 0.55 mg/mL.

Keywords: white dragon fruit, anti-oxidant, betalains, toner formulation



ความนำ

ภาวะการแก่ก่อนวัย (aging) มีสาเหตุหลักเกิดจากกระบวนการไกลเคชัน (Glycation) คือ ปฏิกิริยาของสารที่ก่อให้เกิดหรือเร่งกระบวนการของการชราให้เร็วขึ้น ซึ่งปัจจัยที่ทำให้เกิดความชราหรือความเสื่อมของเซลล์มีหลายประการ แต่ที่สำคัญ ได้แก่ การเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับ การเกิดอนุมูลอิสระ (Free radicals) ที่อาจมาจากมลภาวะต่าง ๆ เช่น ควันรถยนต์ ควันบุหรี่ โลหะหนัก หรือการเกิด Ionizing radiation (UV, X-ray) ซึ่งเป็นปัจจัยภายนอกหรืออาจมาจากปัจจัยภายในร่างกายซึ่งในการดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตที่ใช้ออกซิเจนจะทำให้เกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism) ของเซลล์ต่าง ๆ เช่น Hydroxyl radical--HO[•], Superoxide radical anion--O₂^{•-}, Hydroperoxyl radical--HOO[•], Alkoxyl radical--RO[•] เป็นต้น ทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระ

ที่ไม่เสถียรและส่งผลให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ ยับยั้งการสร้างสายพอลิเมอร์โมเลกุลใหญ่ (เช่น สายดีเอ็นเอ หรือสายโพลีเปปไทด์) รวมทั้งเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีนทั้งในเซลล์และนอกเซลล์ (Tonglim & Suttisansanee, 2016) ซึ่งอนุมูลอิสระเป็นสารที่มีความไวต่อการทำปฏิกิริยาทางเคมีกับสารอื่นสูงมากโดยที่อนุมูลอิสระจะเข้าไปแย่งจับหรือดึงเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลหรืออะตอมสารที่อยู่ข้างเคียงเพื่อให้เกิดความเสถียร ส่วนโมเลกุลที่อยู่ข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนก็จะกลายเป็นอนุมูลอิสระชนิดใหม่ ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นมาใหม่นี้จะสามารถเข้าไปทำปฏิกิริยากับสารโมเลกุลอื่นต่อไปจึงเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) ต่อไปเรื่อย ๆ (Halliwell, 1991) โดยจะส่งผลต่อความเสียหายขององค์ประกอบของเซลล์ภายในร่างกายนำไปสู่การเกิดโรคต่าง ๆ อีกทั้งการเกิดฝ้า (melasma) ซึ่งเป็นภาวะผิดปกติที่พบได้บ่อยที่เกิดจากเซลล์สร้างเม็ดสี (melanocytes) ที่

อยู่ใต้ผิวหนังทำงานมากกว่าปกติจึงเกิดการสร้างเม็ดสีเมลานินเพิ่มมากขึ้นทำให้เกิดรอยโรคเป็นปื้นสีน้ำตาลหรือเทา ซึ่งประเภทของฝ้าสามารถแบ่งออกเป็นหลายชนิดตามลักษณะทางพยาธิวิทยาหรือตามตำแหน่งการกระจายตัวของฝ้า แม้สาเหตุของการเกิดฝ้ายังไม่ทราบแน่ชัดแต่เชื่อว่าเกิดจากหลายปัจจัยร่วมกัน ซึ่งปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญที่สุด คือ แสงแดดมักเกิดทั้งสองข้างของใบหน้าโดยเฉพาะบริเวณที่ถูกแสงแดด ได้แก่ โหนกแก้ม จมูก หน้าผากและคาง ซึ่งรังสีอัลตราไวโอเล็ตจากแสงแดดในช่วงคลื่น UV-A และ UV-B จะก่อให้เกิดกระบวนการ Peroxidation ของไขมันในชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้น ส่งผลไปยังการกระตุ้นเซลล์สร้างเม็ดสีให้สร้างเม็ดสีเมลานินมากขึ้น ส่วนปัจจัยอื่น ๆ ที่อาจเป็นสาเหตุร่วมด้วย ได้แก่ ฮอร์โมน การตั้งครรภ์ พันธุกรรม ภาวะโภชนาการ เครื่องสำอาง และยาบางชนิด ซึ่งฝ้าจัดเป็นโรคผิวหนังอย่างหนึ่งที่อยู่ในกลุ่มความผิดปกติของเซลล์สร้างเม็ดสี อีกทั้งการดูแลรักษายังเป็นเรื่องที่ยากเนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการรักษาใดที่มีประสิทธิภาพชัดเจน (American Academy of Dermatology, 2017) แต่วิธีการชะลอการเกิดริ้วรอย ความเหี่ยวย่นจะเกี่ยวข้องกับสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidants) จะสามารถช่วยชะลอความแก่ได้ด้วยการเข้าไปประจักษ์การทำงานของอนุมูลอิสระ โดยการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุที่สำคัญของการเกิดโรคต่าง ๆ ในร่างกาย ยกตัวอย่าง เช่น การเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของไอออนโลหะในร่างกายก็จัดเป็นปฏิกิริยามีความสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะเหล็ก (Fe^{2+}) และทองแดง (Cu^{2+}) โดยไอออนโลหะซึ่งเปรียบเสมือนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยารีดอกซ์ (Hudson, 1990) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระจะเป็นสารที่ทำหน้าที่ในการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระทำให้โมเลกุลมีความคงตัวหรือเสถียรมากยิ่งขึ้น ซึ่งสารเหล่านี้มีกลไกที่แตกต่างกันออกไป เช่น การดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นการยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือเข้าจับ (chelate) กับเหล็ก (Fe^{2+}) จึงเป็นการป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ โดยสารต้านอนุมูลอิสระแบ่งตามแหล่งที่มาได้เป็น 2 ชนิด คือ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthesis anti-oxidants) ได้แก่ BHA--Butylated hydroxyanisole, Trolox, BHT--Butylated hydroxytoluene ส่วน

สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural anti-oxidants) ได้แก่ Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Gallic acid, Flavonoids, Vanillin อีกทั้งสารต้านอนุมูลอิสระยังแบ่งออกเป็นกลุ่มที่เป็นเอนไซม์ (Enzymatic anti-oxidants) อาทิเช่น Superoxide dismutase, Catalase และ Glutathione peroxidase ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้เป็นเอนไซม์ (Non-Enzymatic anti-oxidants) ยังแบ่งออกได้เป็น Vitamin A, Vitamin C, Vitamin E, Flavonoids, Ubiquinone อีกด้วย ทั้งนี้ สารต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นศาสตร์ที่มุ่งเน้นการป้องกัน และฟื้นฟูภาวะการเสื่อมตามวัย ซึ่งผิวหนังก็เป็นเหมือนอวัยวะที่สะท้อนถึงอายุได้เป็นอย่างดีที่สุดจึงได้มีการพัฒนาและขยายตัวของผลิตภัณฑ์เพื่อรักษาปัญหาผิวเสื่อมโทรม หมองคล้ำ มีริ้วรอย หรือความเหี่ยวย่นตามวัยเพิ่มมากขึ้น (Teng-Umnuay, 2013; Wessagowit, 2014; Nararatwanchai, 2016)

ในปัจจุบันมีงานวิจัยที่ทำการศึกษเกี่ยวกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากสารกลุ่มเบต้าเลน (Betalains) ซึ่งสามารถพบได้ในพืชหลากหลายชนิด ได้แก่ บานไม่รู้โรย เฟื่องฟ้า ปืทุท และแก้วมังกร โดยผู้วิจัยมีความสนใจในการนำแก้วมังกรมาพัฒนาให้อยู่ในรูปของสูตรทารับโทนเนอร์ (Toner) ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Leelapornpisit, 2001; Kosiyajinda, 2002; Stinzling & Carle, 2004) เพื่อใช้ช่วยลดปัญหาในเรื่องริ้วรอย หรือความเหี่ยวย่นที่จะนำไปสู่การแก่ก่อนวัยซึ่งเกิดภาวะเครียดออกซิเดชัน (Oxidative stress) (Tonglim & Suttisansanee, 2016) และยังช่วยป้องกันการเกิดฝ้า โดยแก้วมังกรเนื้อสีขาวเป็นพืชที่สามารถหาได้ง่ายและทีมผู้วิจัยมีแหล่งเพาะปลูกเป็นของตนเอง ส่วนโทนเนอร์ (Toner) จะเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์สำหรับทำความสะอาดผิวหนังก่อนขั้นตอนการล้างหน้า เพื่อช่วยในการกระตุ้นรูขุมขน ช่วยชำระคราบมันและช่วยทำความสะอาดสิ่งตกค้างที่ล้างออกไม่หมดบนใบหน้า โดยจะให้อยู่ในรูปของสารละลายซึ่งผลิตภัณฑ์นี้จะใช้เป็นต้นแบบของผลิตภัณฑ์ที่สามารถนำไปต่อยอดได้หรือเพื่อใช้เป็นส่วนผสมร่วมกับสารสกัดสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติทางยา การรักษา การต้านอนุมูลอิสระหรืออื่น ๆ ในการทำผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพที่ดีมากขึ้นต่อไปในอนาคต

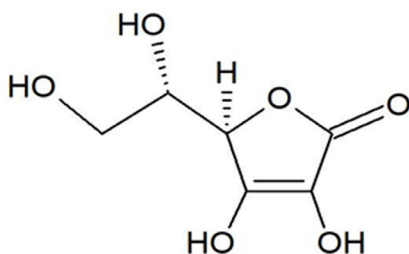
ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของต้นแก้วมังกร

ต้นแก้วมังกรเนื้อขาวมีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Hylocereus undatus* (Haw.) Britton & Rose (White) หรือมีชื่อสามัญ เรียกว่า White Dragon Fruit ส่วนแก้วมังกรเนื้อแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose (Red) หรือมีชื่อสามัญ เรียกว่า Red Dragon Fruit พบอยู่ในวงศ์ Cactaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกากลางและถูกนำเข้ามาในทวีปเอเชียครั้งแรกที่ประเทศเวียดนาม โดยมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ คือ รากเป็นระบบรากฝอยเป็นเส้นขนาดเล็ก ลำต้นคล้ายต้นกระบองเพชรเป็นสามเหลี่ยมแฉกและอวบน้ำ สีเขียวเข้ม ขอบเหลี่ยมมีรอยหยัก ๆ แต่ละรอยหยักจะมีกลุ่มหนาม 2-4 หนาม โดยแก้วมังกรสีแดงจะมีรอยหยักและกลุ่มหนามที่มีระยะห่างกันมากกว่าแก้วมังกรสีขาว ส่วนในสีแดงจะมีรอยหยักและกลุ่มหนามที่มีระยะห่างกันน้อยกว่าหรือหนามถี่กว่าแก้วมังกรสีขาว ลักษณะดอกจะออกเป็นดอกเดี่ยวจัดเป็นดอกสมบูรณ์เพศซึ่งดอกจะเกิดบริเวณหนามโดยดอกจะมีสีขาวคล้ายปากแตรจะบานในเวลา

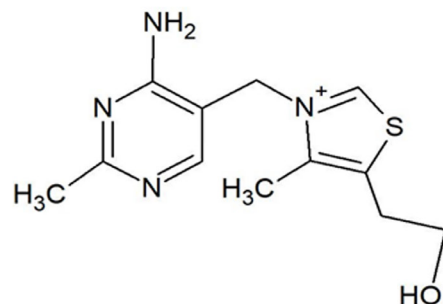
กลางคืน และจะหุบในช่วงเช้า โดยดอกของแก้วมังกรสีขาวจะมีกลีบเลี้ยงดอกสีเหลืองเขียว และในดอกแก้วมังกรสีแดงกลีบเลี้ยงดอกเป็นสีเขียวมีขอบเป็นสีแดง ผลมีลักษณะรูปทรงกลมรีหรือไข่ เปลือกผลมีสีแดงบานเย็นหรือออกชมพู ผิวเปลือกจะคลุมด้วยกลีบเลี้ยงสีเขียวอ่อน เมล็ดในเนื้อผลจะมีขนาดเล็ก ๆ สีดำคล้ายเมล็ดแมงลักแทรกอยู่ระหว่างเนื้อผลเป็นจำนวนมาก (Kosiyajinda, 2002)

องค์ประกอบทางเคมีที่พบในแก้วมังกร

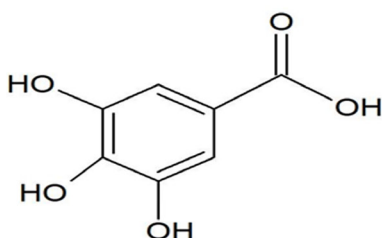
จากการศึกษาวิจัยพบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในแก้วมังกร เช่น Vitamin C (1), Vitamin B1 (2), Gallic acid (3), และ Flavonoids จำพวกกลุ่ม Proanthocyanidins (4) เป็นต้น และมักพบสารในกลุ่ม Betalains ได้แก่ Betalamic acid (5), Indicaxanthin (6), Betanidin (7), Betanin (8), Phyllocactin (9) ดังภาพ 1 (Stinzing & Carle, 2004; Elbandy & Abdelfadeil, 2008; Harivaindaran et al., 2008; Moreno et al., 2008; Wee & Wee, 2011)



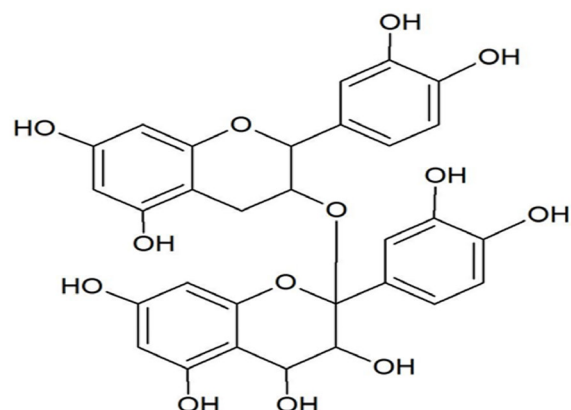
Vitamin C (1)



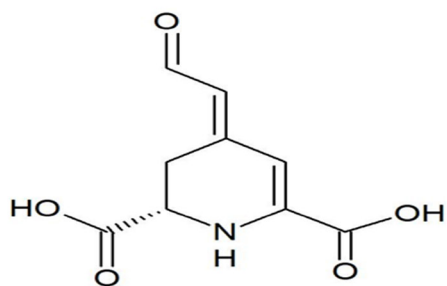
Vitamin B1 (2)



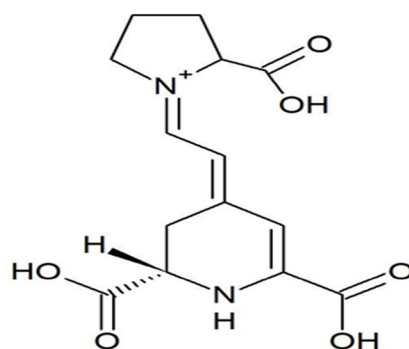
Gallic acid (3)



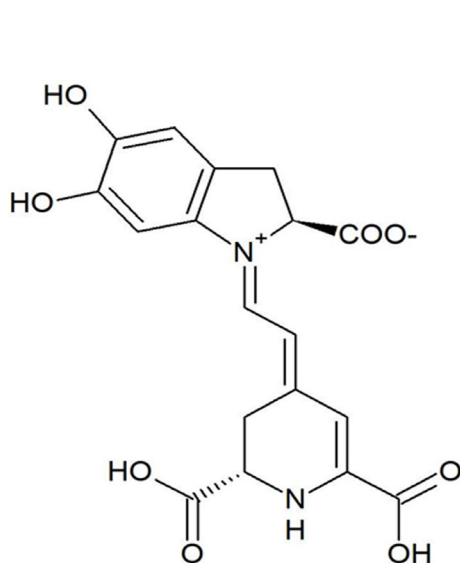
Proanthocyanidins (4)



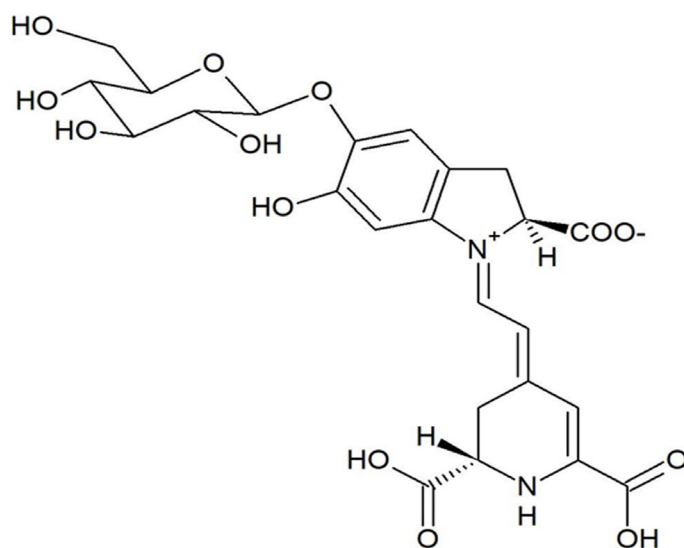
Betalamic acid (5)



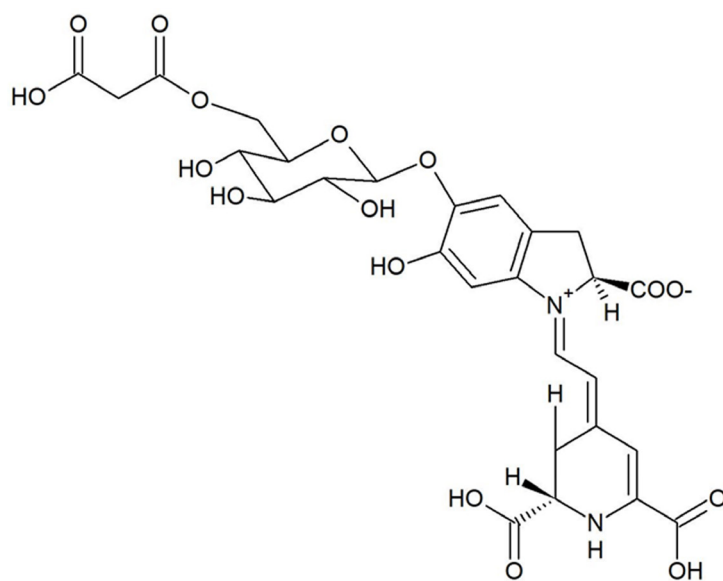
Indicaxanthin (6)



Betanidin (7)



Betanin (8)



Phyllocactin (9)

ภาพ 1 โครงสร้างองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่พบในเปลือกผลแก้วมังกร

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัด 70% และ 95% Ethanol ของเปลือกผลแก้วมังกร
2. เพื่อศึกษาการตั้งสูตรตำรับสูตรตำรับโทนเนอร์ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

แนวคิดทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

สารกลุ่มเบต้าเลน (Betalains) เป็นรงควัตถุธรรมชาติที่พบเฉพาะในพืช Order caryophyllales ได้แก่ ปิทรุทบานไม่รู้รุย เพ็ญฟ้า รวมทั้งแก้วมังกร (Stinzing & Carle, 2004) ซึ่งสารในกลุ่มเบต้าเลน ประกอบด้วยสารให้สี 2 กลุ่มย่อย ได้แก่ เบต้าไซยานิน (Betacyanin) และเบต้าแซนทิน (Betaxanthin) (Elbandy & Abdelfadeil, 2008) เบต้าไซยานินเป็นสารให้สีแดง-ม่วงที่สามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ ในช่วง 535-550 นาโนเมตร โดยเบต้าไซยานินเป็นสารที่พบมากที่สุดถึงประมาณ ร้อยละ 90 ของสารในกลุ่มนี้ ซึ่งสารในกลุ่มเบต้าไซยานินที่สำคัญ ได้แก่ เบตานิโน (Betanin) และเบตานิดิน (Betanidin) แต่จะพบสารเบตานิโนได้เป็นส่วนใหญ่ (Harivaindaran et al., 2008) และเบต้าแซนทินเป็นสารให้สีเหลืองสามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้ ในช่วง 475-480 นาโนเมตร สารกลุ่มเบต้าเลนที่พบในแก้วมังกร คือ เบต้าไซยานินที่เป็นสารสีแดง-ม่วงจะสามารถพบได้ที่ส่วนเนื้อและเปลือกผลของแก้วมังกร เป็นสารสีที่สกัดได้จากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ โดยมีรายงานการวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารกลุ่มเบต้าเลนจากเปลือกแก้วมังกร พบว่าการสกัดด้วย 70% Ethanol สามารถสกัดสารกลุ่มเบต้าเลนได้ปริมาณมากที่สุด และเมื่อนำสารสกัดเปลือกแก้วมังกรที่ pH 2, 4, 6 และ 8 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่าอุณหภูมิความร้อนมีผลต่อความคงตัวของกลุ่มสารเบต้าเลนจากเปลือกแก้วมังกร ซึ่งขึ้นอยู่กับค่า pH เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะทำให้ค่าครึ่งชีวิตของสารกลุ่มเบต้าเลนในสารสกัดมีค่าลดลง แต่ที่ pH 4 จะมีความคงตัวดีที่สุด (Herbach et al., 2006) อีกทั้งยังมีงานวิจัยที่เพิ่มความคงตัวของสารกลุ่มเบต้าเลน

จากแก้วมังกรพบว่า สารต้านอนุมูลอิสระ คือวิตามินซี (Ascorbic acid) ที่ความเข้มข้น 0.1-1% สามารถช่วยรักษาความคงตัวของสารกลุ่มเบต้าเลนจากแก้วมังกรได้ (Chaovanalikit et al., 2010) และมีรายงานการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบของเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าสารสกัดดังกล่าวมีรงควัตถุในกลุ่มเบต้าเลนเป็นองค์ประกอบมีความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน และยังสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นสาเหตุของการเกิด Browning reaction ได้ ซึ่งรงควัตถุกลุ่มนี้จะพบในเปลือกผลมากกว่าในเนื้อผล ในเนื้อและเปลือกผลของแก้วมังกรทั้งสองสายพันธุ์จึงน่าจะเป็นแหล่งวัตถุดิบที่ดีของกลุ่มเบต้าเลนเพื่อทดแทนเบต้าเลนจากหัวบีทที่มีปัญหาเนื่องจากมีกลิ่นไม่พึงประสงค์จากอนุพันธ์ของสารในกลุ่ม Geosmin และ Pyrazine และปริมาณไนเตรดที่มีอยู่สูงซึ่งอาจส่งผลให้เกิดเป็นสารก่อมะเร็งขึ้นได้ (Castellar et al., 2006) ดังนั้นเปลือกและเนื้อของแก้วมังกรจึงเป็นวัตถุดิบที่สามารถนำมาสกัดสารกลุ่มเบต้าเลนเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารทดแทนสารกลุ่มเบต้าเลนจากหัวบีทได้ (Chinmueang et al., 2008) ซึ่งนอกจากเบต้าเลนจะเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว ยังใช้เป็นสารแต่งสีในอาหารรวมถึงเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านมะเร็ง และลดไขมันในเลือดได้อีกด้วย (Strack et al., 2003; Azeredo, 2009; Choo, 2015)

กรอบแนวคิดการวิจัย

การศึกษางานวิจัยนี้มีขอบเขตครอบคลุมเนื้อหาในเรื่องของการสกัดสารสำคัญจากเปลือกผลแก้วมังกร โดยศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลาย และการพัฒนาสูตรตำรับโทนเนอร์แก้วมังกรเพื่อให้ได้สูตรตำรับที่มีความคงตัวของสารกลุ่มเบต้าเลนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และมีความเหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า โดยมีการทดสอบความคงตัว โดยใช้วิธีการ Freeze Thaw Cycle และมีพารามิเตอร์ที่ใช้ในการวัดผลด้านความคงตัว ได้แก่ ลักษณะทางกายภาพ และค่าความเป็นกรดต่าง (pH)

สมมติฐานการวิจัย

การตั้งสูตรตำรับโชนเนอร์แก้วมังกรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีความเหมาะสมในการพัฒนาต่อยอดเพื่อนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหน้า

วิธีดำเนินการวิจัย

การเป็นการวิจัยเชิงทดลองซึ่งมีวิธีวิจัยและการดำเนินการวิจัยต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. ขั้นตอนการสกัดสารสำคัญจากเปลือกผลแก้วมังกร (Rujisawang & Singpraseart, 2018)

1.1 นำผลแก้วมังกรเนื้อขาวจำนวน 10 กิโลกรัม มาล้างทำความสะอาด และทำการแยกส่วนเปลือกผลออกจากเนื้อจากนั้นนำมาหั่นให้มีขนาดเล็กลง

1.2 นำเปลือกผลแก้วมังกรอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24 ชั่วโมงหรือจนเปลือกผลแก้วมังกรแห้ง

1.3 นำเปลือกผลแก้วมังกรไปบดด้วยเครื่องปั่นแล้วชั่งน้ำหนัก

1.4 แบ่งใส่ปิกเกอร์แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก 190 กรัม ชั่งแบ่งเป็น 2 ส่วน ใส่ลงใน Flask 2 ใบ แล้วทำการสกัดด้วยวิธีการหมักโดยจะใช้ตัวทำละลาย 70% กับ 95% Ethanol เริ่มสกัดพร้อมกัน เป็นเวลา 5-7 วัน ทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง

1.5 นำสารสกัดที่กรองได้มาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง Rotary evaporator จนได้เป็นสารสกัดหยาบ

1.6 นำสารสกัดหยาบที่ได้นำมาคำนวณหาค่า %Yield

2. ขั้นตอนการสร้างกราฟมาตรฐานของสารสกัดกลุ่มเบต้าเลนโดยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (รุ่น UV-1800, Shimadzu®)

2.1 เปิดเครื่องแล้วเลือกเมนูไปที่ Spectrum

2.2 ตั้งค่าช่วงในการดูดกลืนแสงที่ 400-600 นาโนเมตร ไว้ก่อนเพื่อหาความยาวคลื่นสูงสุดของสาร

2.3 ใส่ 95% Ethanol ลงใน Cuvette blank ทั้งสองอันวางลงในช่องสำหรับใส่ Cuvette blank ทั้งสอง

อันในเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer เพื่อทำเป็นสารละลาย Blank

2.4 นำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรมาเจือจางกับ 95% Ethanol

2.5 นำมาวัดค่า Absorbance โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

2.6 จดบันทึกค่า Peak และค่าการดูดกลืนแสง ทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (Thammawong & Jaiwut, 2014; Priatni & Pradita, 2015)

3. ขั้นตอนการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวด้วยวิธี DPPH assay

3.1 นำสารสกัดหยาบจากเปลือกแก้วมังกรมาเจือจางตามระดับความเข้มข้นดังนี้ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg/mL ตามลำดับ ของสารสกัดจาก 70% และ 95% Ethanol

3.2 นำสารสกัดหยาบที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 1 mL มาผสมกับ 2 mL ของ 0.1 mM DPPH reagent แล้วผสมให้เข้ากันในหลอดทดลอง

3.3 นำหลอดทดลองไปเก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที

3.4 นำไปวัดค่า Absorbance ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งใช้ 70% Ethanol และ 95% Ethanol เป็น Blank และมี Negative control ที่บรรจุ 2 mL ของ 0.1 mM DPPH และ 1 mL ของสารละลายที่ปราศจากสารสกัดและใช้วิตามินซี เป็น Positive control

3.5 ทำซ้ำจนครบ 3 ครั้ง แล้วหาค่าเฉลี่ย

3.6 นำค่า Absorbance ที่หาค่าเฉลี่ยมาคำนวณหาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตรในการคำนวณดังต่อไปนี้ (Nurliyana, 2010)

$$\% \text{ Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(A_{517 \text{ Control}} - A_{517 \text{ Sample}})}{A_{517 \text{ Sample}}} \right] \times 100 \quad (1)$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

ตาราง 1

สูตรตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

ส่วนประกอบในตำรับ	ปริมาณ (%w/v)			หน้าที่ในตำรับ
	สูตรตำรับ 1	สูตรตำรับ 2	สูตรตำรับ 3	
0.6 mg/mL Peels of dragon fruit extract (70% Ethanol)	0.0006	0.0006	0.0006	Active ingredient
95% Ethanol	8	8	8	Solvent
Propylene glycol	6	5	-	Co-solvent, Preservative
Glycerine	5	5	7	Humectants, Preservative
70% Sorbitol	-	-	3	Humectant, Thickening agent
Sodium lauryl saulfate	0.1	0.1	0.1	Surfactant
Parabence concentration	0.3	0.3	0.3	Preservative
Adjust pH	qs.	qs.	qs.	pH Adjuster
Purified water add to	100	100	100	Vehicle

4. การตั้งสูตรตำรับ การเตรียมและการทดสอบความคงตัวของตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

4.1 ขั้นตอนการเตรียมตำรับโชนเนอร์จากเปลือกผลแก้วมังกร

4.2.1 นำสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% Ethanol ใส่ในบีกเกอร์

4.2.2 จากนั้นเติม Propylene glycol, Glycerine, 70% Sorbitol, 95% Ethanol และ Parabens concentration ลงไปแล้วคนผสมให้เข้ากันโดยใช้ Stirring rod

4.2.3 นำ Sodium lauryl sulfate มาละลายใน ¾ Purified water เติมลงในข้อ 4.2.2

4.2.4 ปรับปริมาตรด้วย Purified water จนครบ 100 mL

4.2.5 ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 4.7-5.7 แล้วบรรจุลงในภาชนะที่เตรียมไว้

4.2.6 นำไปทดสอบความคงตัว ได้แก่ pH, ความใส และวัดค่าการดูดกลืนแสง

4.3 การทดสอบความคงตัวของตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

สำหรับการทดสอบด้านความคงตัวของตำรับ

จะใช้หลักการทดสอบโดยวิธี Freeze Thaw Cycle จะกำหนดการทดสอบในหนึ่งรอบจะประกอบด้วยอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำทั้งหมด 3 รอบ (Leelapornpisit, 2001) โดยมีผลการวัดผลทดลอง ดังนี้

4.3.1 วัดค่าความเป็นกรดต่าง โดยนำไปวัด pH โดยใช้เครื่อง pH meter ทำซ้ำ 3 รอบ

4.3.2 สังเกตลักษณะทางกายภาพ เช่น ความใส, การเปลี่ยนแปลงของสี, กลิ่น และการเกิดก๊าซ

4.3.3 การทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ 493 นาโนเมตร

4.3.4 การทดสอบความคงตัวโดยการหาปริมาณของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

ผลการวิจัย

1. การสกัดสารสำคัญจากเปลือกผลแก้วมังกรจากการสกัดสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรด้วยวิธีการหมัก สามารถสกัดสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร ได้ดังตาราง 2 ต่อไปนี้

ตาราง 2

การเปรียบเทียบค่า % yield ของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

วิธีการสกัด	น้ำหนัก (กรัม)		% yield(w/w)
	เปลือกผลแก้วมังกร	สารสกัดหยาบ	
70% Ethanol Maceration extraction	190.14	21.40	11.25
95% Ethanol Maceration extraction	190.07	10.41	5.48

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารสกัดกลุ่มเบต้าเลนโดยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

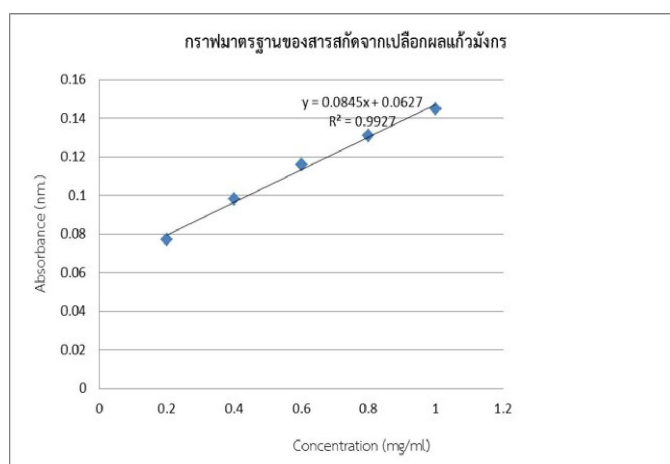
การสร้างกราฟมาตรฐานโดยนำสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรจาก 70% Ethanol มาเจือจางที่ความเข้มข้นดังนี้ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg/mL

ตามลำดับ ซึ่งใช้ตัวทำละลาย 70% Ethanol จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นไปวัดหาค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 493 nm (Thammawong & Jaiwut, 2014; Priatni & Pradita, 2015) แสดงในตาราง 3 และภาพ 2 ดังต่อไปนี้

ตาราง 3

การแสดงค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร

ความเข้มข้น (mg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร			ค่าเฉลี่ย
	1	2	3	
1.00	0.142	0.146	0.148	0.145±0.003
0.8	0.130	0.132	0.130	0.131±0.001
0.6	0.114	0.116	0.117	0.116±0.002
0.4	0.098	0.099	0.097	0.098±0.001
0.2	0.076	0.077	0.077	0.077±0.001



ภาพ 2 การแสดงกราฟมาตรฐานของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร

3. การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกรด้วยวิธี DPPH assay

นำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรมาเจือจางตามระดับความเข้มข้นดังนี้ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg/mL ตามลำดับ ให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 10 mL ของสารสกัดจาก 70% และ 95% Ethanol จากนั้นนำสารสกัดของเปลือกแก้วมังกรที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น 1 mL มา

ผสมกับ 2 mL ของ 0.1 mM DPPH reagent โดยผสมให้เข้ากันในหลอดทดลองพร้อมเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Nurliyana, 2010) ใช้ 70% และ 95% Ethanol เป็น Blank แสดงดังตาราง 4 และ ตาราง 5 ดังต่อไปนี้

ตาราง 4

การแสดงค่าการดูดกลืนแสงของการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกรและวิตามินซี (Ascorbic acid) ด้วยวิธี DPPH assay โดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร (nm.)±SD	ความเข้มข้น (mg/mL)				
	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
70% Ethanol	0.181±0.005	0.287±0.002	0.408±0.003	0.503±0.002	0.557±0.006
95% Ethanol	0.215±0.002	0.414±0.005	0.487±0.005	0.604±0.002	0.735±0.007
ค่าเฉลี่ยการดูดกลืนแสงของวิตามินซี	ความเข้มข้น (mg/mL)				
	0.05	0.025	0.0125	0.00625	0.003125
70% Ethanol	0.130±0.004	0.297±0.001	0.443±0.014	0.569±0.007	0.728±0.004
95% Ethanol	0.167±0.004	0.339±0.002	0.594±0.003	0.678±0.005	0.827±0.015

ตาราง 5

การแสดงค่า % Radical scavenging activity เพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกรและจากวิตามินซี

สารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร	% Radical scavenging activity (mg/mL)				
	1.0	0.8	0.6	0.4	0.2
70% Ethanol	77	64	49	37	30
95% Ethanol	74	50	41	27	12
วิตามินซี	% Radical scavenging activity (mg/mL)				
	0.05	0.025	0.0125	0.00625	0.003125
70% Ethanol	84	63	44	29	9
95% Ethanol	80	59	29	18	1

ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะแสดงถึงความสามารถของการต้านอนุมูลอิสระโดยการคำนวณเป็นค่า % Radical Scavenging Activity ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ Radical Scavenging Activity} = \left[\frac{(A_{517 \text{ Control}} - A_{517 \text{ Sample}})}{A_{517 \text{ Control}}} \right] \times 100 \quad (2)$$

โดย A คือ ค่าการดูดกลืนแสง

4. การทดสอบความคงตัวของตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

หลังจากการเตรียมสูตรตำรับโชนเนอร์และการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร ทั้ง 3 สูตรตำรับ จะพบว่าสารสกัดด้วย 70% Ethanol ให้ผลการทดสอบที่ดีกว่า 95% Ethanol จึงเลือกใช้สารสกัดด้วย 70% Ethanol ที่ความเข้มข้นระดับกลางของสารสกัด 0.6 mg/mL มาทำการทดสอบทางด้านความคงตัวของสารสำคัญที่มีอยู่ในตำรับและทดสอบทางด้านกายภาพของตำรับเพื่อเป็นตัวชี้วัดถึงความคงตัวของตำรับและรวมถึงความเหมาะสมของตำรับที่เตรียมได้โดยทดสอบด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle จะ

กำหนดการทดสอบในหนึ่งรอบจะประกอบด้วย ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงและอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 รอบ (Leelapornpisit, 2001) ซึ่งได้ผลการทดสอบดังต่อไปนี้

4.1 การทดสอบความคงตัวของตำรับโดยวัดความเป็นกรดต่าง

ในการทดสอบความเป็นกรดต่างของตำรับจะต้องควบคุมค่าความเป็นกรดต่างของตำรับให้อยู่ในช่วง pH 4.7-5.7 เนื่องจากเป็นช่วงความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมกับผิวหนังและเพื่อไม่ให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง แสดงในตาราง 6

ตาราง 6

ผลการทดสอบความเป็นกรดต่างของตำรับ

สูตรตำรับ	ค่าความเป็นกรดต่างของตำรับให้อยู่ในช่วง pH 4.7-5.7			
	ค่าเฉลี่ยก่อน Freeze thaw cycle $\pm$ SD (n=3)	ค่าเฉลี่ยหลัง Freeze thaw cycle $\pm$ SD (n=3)		
		ค่าเฉลี่ย Cycle 1	ค่าเฉลี่ย Cycle 2	ค่าเฉลี่ย Cycle 3
1	4.91 $\pm$ 0.04	4.81 $\pm$ 0.03	4.90 $\pm$ 0.03	4.84 $\pm$ 0.08
2	4.92 $\pm$ 0.00	4.88 $\pm$ 0.06	4.86 $\pm$ 0.01	4.82 $\pm$ 0.08
3	4.89 $\pm$ 0.02	4.82 $\pm$ 0.05	4.86 $\pm$ 0.06	4.78 $\pm$ 0.07

4.2 การทดสอบความคงตัวทางด้านกายภาพของตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

ตาราง 7

ผลการทดสอบความคงตัวทางด้านกายภาพของตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

สูตรตำรับ	ก่อน Freeze thaw cycle				หลัง Freeze thaw cycle			
	สี	ความใส	กลิ่น	การเกิดก๊าซ	สี	ความใส	กลิ่น	การเกิดก๊าซ
1	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด
2	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด
3	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด	เหลืองอ่อน	+++	กลิ่นแอลกอฮอล์	ไม่เกิด

หมายเหตุ: (+ มีความใสน้อยมาก, ++ มีความใสน้อย, +++ มีความใสปานกลาง, ++++ มีความใสมาก)

4.3 การทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร เมื่อนำตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 0.6 mg/mL มาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้ เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร

โดยใช้ 70% Ethanol เป็น Blank ซึ่งจะนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของตำรับก่อน Freeze Thaw Cycle และหลังจากก่อน Freeze Thaw Cycle ทั้ง 3 รอบ จะให้ผลการทดสอบดังแสดงในตาราง 8 ดังต่อไปนี้

ตาราง 8

ผลการทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร

สูตรตำรับ	ค่าการดูดกลืนแสงในความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร			
	ค่าเฉลี่ยก่อน Freeze thaw cycle±SD	ค่าเฉลี่ยหลัง Freeze thaw cycle±SD (n=3)		
		ค่าเฉลี่ย Cycle 1	ค่าเฉลี่ย Cycle 2	ค่าเฉลี่ย Cycle 3
1	0.116±0.001	0.091±0.005	0.076±0.004	0.074±0.003
2	0.117±0.001	0.110±0.002	0.106±0.003	0.103±0.003
3	0.116±0.001	0.114±0.001	0.112±0.005	0.110±0.004

4.4 การทดสอบความคงตัวโดยการหาปริมาณของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์

จากการวัดค่าดูดกลืนแสงของตำรับแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญกลุ่มเบต้าเลนินในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่มีความเข้มข้นของ

สารสกัด 0.6 mg/mL โดยนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ในตำรับมาแทนค่าในสมการกราฟมาตรฐาน ดังภาพ 2 คือ $y=0.0845x+0.0627$ จะได้ค่าความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับแสดงในตาราง 9 ดังต่อไปนี้

ตาราง 9

ผลการหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับโชนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

สูตรตำรับ	ปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับ (mg/mL)				
	ก่อน Freeze Thaw Cycle (n=3)	หลัง Freeze thaw cycle			
		Cycle 1 (n=3)	Cycle 2 (n=3)	Cycle 3 (n=3)	ค่าเฉลี่ย
1	0.63	0.33	0.16	0.13	0.21
2	0.64	0.56	0.51	0.48	0.52
3	0.63	0.61	0.58	0.56	0.58

4.5 การทดสอบความคงตัวโดยหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol

จากการวัดค่าดูดกลืนแสงของตำรับแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญละลายอยู่ใน 70% Ethanol

ที่มีความเข้มข้นของสารสกัด 0.6 mg/mL โดยนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาในสมการกราฟมาตรฐาน ดังรูปภาพ 2 คือ $y=0.0845x+0.0627$ ทำเช่นเดียวกับตำรับโทเนอร์จะได้ค่าความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับดังกล่าว 10 ดังต่อไปนี้

ตาราง 10

ผลการหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol

ความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol (mg/mL)			
ก่อน Freeze thaw cycle	Freeze thaw cycle		
	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3
0.63	0.58	0.56	0.55

การสรุปและอภิปรายผล

1. การสกัดสารสำคัญจากเปลือกผลแก้วมังกรในการสกัดสารสำคัญในกลุ่มเบต้าเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวด้วยวิธีการหมักหรือ Maceration extraction โดยนำเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดเพื่อลดขนาด และแบ่งชิ้นมาอย่างละ 190 กรัม นำไปหมักใน 70% และ 95% Ethanol โดยเริ่มทำการสกัดพร้อมกัน เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นจึงนำสารสกัดที่กรองได้มาทำให้เข้มข้นด้วยเครื่อง Rotary evaporator ได้เป็นสารสกัดหยาบ พบว่าสารสกัดด้วย 70% Ethanol ให้ % yield ร้อยละ 11.25 โดยน้ำหนัก และสารสกัดด้วย 95% Ethanol ให้ % yield ร้อยละ 5.48 โดยน้ำหนัก ซึ่งสารสกัดด้วย 70% Ethanol ให้ % yield มากกว่าสารสกัดด้วย 95% Ethanol เท่ากับร้อยละ 5.77 โดยน้ำหนัก ซึ่งวิธีการสกัดที่ดีโดยทั่วไปควรสกัดเอาเบต้าเลนออกมาจากเซลล์ของพืชได้ในปริมาณสูงสุด ให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเบต้าเลนและการปนเปื้อนของสารอื่นน้อยที่สุดและต้องเป็นวิธีการที่ไม่ซับซ้อน ไม่อันตราย มีค่าใช้จ่ายต่ำหรือใช้เวลาสกัดไม่นาน โดยมีรายงานพบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่นิยมมากที่สุด (Phasipol, 2014) ดังนั้นในการวิจัยจึงเลือกใช้การสกัดด้วย 70% และ 95% Ethanol เพื่อให้มีน้ำเป็นส่วนผสมที่แตกต่างกัน มีความปลอดภัยกว่าการใช้ methanol โดย ethanol

สามารถรับประทานได้ ซึ่งมีการศึกษาที่สนับสนุนว่าการเพิ่มอัตราส่วนตัวทำละลายของน้ำมากกว่า 50% จะทำให้การแยกและการกรองสารสกัดยากมากขึ้นและส่งผลกระทบต่อเปอร์เซ็นต์ผลที่ได้ของสารสกัดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (O-Chongpian et al., 2017) อีกทั้งมีรายงานพบว่าการสกัดเบต้าเลนด้วยน้ำจะทำได้ทั้งน้ำเย็นหรือน้ำที่อุณหภูมิห้องจัดเป็นวิธีที่ง่าย มีประสิทธิภาพสูงและมีต้นทุนต่ำ (Phasipol, 2014) ในการสกัดสารสำคัญจากเปลือกผลแก้วมังกร

2. การสร้างกราฟมาตรฐานของสารสกัดกลุ่มเบต้าเลนโดยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

จากภาพ 2 การสร้างกราฟมาตรฐานของสารสกัดกลุ่มเบต้าเลนโดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากในตำรับมาแทนค่าในสมการกราฟมาตรฐาน $y=0.0845x+0.0627$ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณของสารสำคัญในสูตรตำรับ

3. การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกรด้วยวิธี DPPH assay

จากผลการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay (Nurliyana, 2010) ของสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรด้วย 70% และ 95% Ethanol และวิตามินซี ใน 70% และ 95% Ethanol ที่นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วนำค่าการดูดกลืนแสง

ที่วัดได้ไปคำนวณหา % Radical Scavenging Activity เพื่อทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเปลือกผลแก้วมังกร ดังแสดงในตาราง 5 จะพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาว 95% Ethanol และเมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินซีพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% และ 95% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซีใน 70% และ 95% Ethanol ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% และ 95% Ethanol ที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL เปรียบเทียบกับวิตามินซีใน 70% และ 95% Ethanol ที่ความเข้มข้น 0.05 mg/mL ด้วย One-way ANOVA มีค่า p-value น้อยกว่า 0.05 หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 95% Ethanol อาจเป็นเพราะการสกัดสารโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายผสมร่วมกับ 95% Ethanol จะทำให้สกัดได้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มเบต้าเลน ตัวอื่น ๆ รวมถึงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลออกมาได้มากยิ่งขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินซีพบว่าสารสกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร 70% และ 95% Ethanol มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซีใน 70% และ 95% Ethanol ตามลำดับ ถึงแม้ว่าการใช้สารสกัดเปลือกแก้วมังกรเนื้อขาวใส่ในโทนเนอร์จะมีต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิตามินซีก็ตามแต่ก็สามารถใช้เป็นแนวทางหนึ่งของการเลือกใช้สารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหรือใช้เพื่อเสริมฤทธิ์ร่วมกันกับยาหรือสมุนไพรอื่น ๆ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ และเนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวจะให้ผลการทดสอบที่แปรผันไปตามความเข้มข้นของสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกใช้สารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ความเข้มข้นระดับกลาง คือ 0.6 mg/mL เพื่อนำไปทดสอบด้านต่าง ๆ ต่อไป

4. การตั้งสูตรตำรับ การเตรียมและการทดสอบความคงตัวของตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร

จากการเตรียมสูตรตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรทั้ง 3 สูตรตำรับข้างต้นดังตาราง 1 ผล

จากการทดสอบทางด้านความคงตัวของสารสำคัญที่มีอยู่ในตำรับ รวมถึงความเหมาะสมของตำรับที่เตรียมได้โดยทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ทั้ง 3 รอบ (Leelapornpisit, 2001) โดยเปรียบเทียบระหว่างผลการทดลองก่อนการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle กับผลการทดลองหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ซึ่งได้ทำการทดลองผลความคงตัวของสารสำคัญในตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรดังต่อไปนี้

จากการทดสอบความคงตัวของตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกร เมื่อวัดค่าความเป็นกรดต่าง พบว่า ตำรับก่อนการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle กับหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ทั้ง 3 สูตรตำรับ มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง pH 4.7-5.7 ซึ่งเป็นช่วงความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมกับผิวหนังและเพื่อไม่ให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวหนัง ส่วนการทดสอบความคงตัวทางด้านกายภาพของตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรจะพบว่าหลังการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ของตำรับไม่มีการเปลี่ยนแปลงไปลักษณะทางกายภาพไปจากเดิมก่อนการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze thaw cycle

ในการทดสอบความคงตัวของสารสำคัญในตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ความเข้มข้น 0.6 mg/mL ที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol ด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle จำนวน 3 รอบ แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 493 นาโนเมตร เพื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้มาหาปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรเปรียบเทียบกับปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol ทั้งก่อนและหลังจากการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle จะพบว่าปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญในตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรก่อนการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ในสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.63, 0.64 และ 0.63 mg/mL ตามลำดับ ซึ่งหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวรอบที่ 1 พบว่าสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.33, 0.56 และ 0.61 mg/mL ตาม

ลำดับ เมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวรอบที่ 2 พบว่าสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.16, 0.51 และ 0.58 mg/mL ตามลำดับ และเมื่อผ่านการทดสอบความคงตัวรอบที่ 3 พบว่าสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.13, 0.48 และ 0.56 mg/mL ตามลำดับ ซึ่งเมื่อนำค่าความคงตัวของสูตรตำรับที่ 1, 2 และ 3 มาหาค่าเฉลี่ยจะพบว่ามีค่าเท่ากับ 0.21, 0.52 และ 0.58 mg/mL ตามลำดับ และเมื่อนำปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol ก่อนการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 0.63 mg/mL มาเปรียบเทียบกับหลังจากผ่านการทดสอบความคงตัวทั้ง 3 รอบ จะมีความเข้มข้นเท่ากับ 0.58, 0.56 และ 0.55 mg/mL ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นของสารสำคัญจากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่ละลายอยู่ใน 70% Ethanol ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ทั้งหมด 3 รอบ มีความเข้มข้นที่เหลืออยู่เท่ากับ 0.55 mg/mL ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันกับสูตรตำรับที่ 3 เมื่อนำมาหาค่าทางสถิติทั้ง 3 สูตรตำรับ พบว่าสูตรตำรับที่ 1 และ 2 ได้ค่า p-value มีค่าน้อยกว่า 0.05 หมายความว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในสูตรตำรับที่ 2 และ 3 ได้ค่า p-value เท่ากับ 0.110 หมายความว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในสูตรตำรับที่ 1 และ 2 มีความเข้มข้นหลังจากทดสอบความคงตัวเหลืออยู่น้อย

กว่า 90% หรือน้อยกว่า 0.54 mg/mL ของความเข้มข้นที่ใส่ลงไปในตัวรับ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการนำสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรเนื้อขาวที่มีสารในกลุ่มเบต้าเลนซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาพัฒนาเป็นสูตรตำรับโทนเนอร์จะพบว่าในสูตรตำรับที่ 3 ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวด้วยวิธี Freeze Thaw Cycle ทั้งหมด 3 รอบแล้วจะมีความคงตัวมากที่สุดในการพัฒนาเป็นสูตรตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากสารสำคัญบางตัวอาจเกิดการสลายตัวได้ เช่น betanin เกิด hydrolysis เป็น betanidin ซึ่งอาจทำให้ไม่สามารถตรวจสอบได้จากการคำนวณความเข้มข้นด้วยสมการเส้นตรงที่สร้างจากการวัดความยาวคลื่นในช่วง 400-600 nm ดังนั้นอาจต้องใช้วิธีการอื่นเพื่อช่วยในการวิเคราะห์เพิ่มเติม เช่น การใช้เครื่อง HPLC เป็นต้น

ในด้านการทดสอบความคงตัวของตำรับโทนเนอร์จากสารสกัดเปลือกผลแก้วมังกรควรทำการทดสอบความคงตัวตามที่ WHO กำหนดซึ่งเป็นการศึกษาความคงตัวแบบ Long term stability test และ Accelerated test เพื่อให้ได้ความน่าเชื่อถือของการทดสอบด้านความคงตัวของตำรับมากยิ่งขึ้นต่อไป



References

- American Academy of Dermatology. (2017). *Melasma*. Retrieved from <https://www.aad.org>.
- Azeredo, H. M. C. D. (2009). Betalains: Properties, sources, applications, and stability—a review. *International Journal of Food Science & Technology*, 44(12), 2365-2376.
- Castellar, M. R., Obón, J. M., & Fernández-López, J. A. (2006). The isolation and properties of a concentrated Red-Purple Betacyanin food colourant from *Opuntia stricta* fruits. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86, 122-128.
- Chaovanalikit, A., Techacheewapong, P., & Tungcharernkit, P. (2010). Stability of Betacyanin from Pitaya Peel. *Agricultural Science Journal*, 41(Suppl 3/1), 409-412. (in Thai)
- Chinmueang, W., Kijkobchai, P., Suwannatee, H. & Suntornwa, O. (2008). Betalain from two species of Dragon Fruit (*Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*). *Agricultural Science Journal*, 39(Supplement 3), 182-186. (in Thai)

- Choo, W. S. (2015). *Betalains: Application in functional foods. Bioactive Molecules in Food* (pp.1-28). Retrieved from https://link.springer.com/referenceworkentry/10.1007/978-3-319-54528-8_38-2
- Elbandy, M. A., & Abdelfadeil, M. G. (2008). Stability of Betalain pigments from Red Beetroot (*Beta vulgaris*). *Journal of Food Science*, 36, 49–60.
- Halliwell, B. (1991). Drug antioxidant effects. *A basis for drug selection?*. *Drugs*, 42(4), 569-605.
- Harivaindaran, K. V, Rebecca, O. P. S., & Chandran, S. (2008). Study of optimal temperature, pH and stability of Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11(18), 2259-2263.
- Herbach, K. M., Stintzing, F. C., & Carle, R. (2006). Betalain stability and degradation structural and chromatic aspects. *Journal of Food Science*, 71(4), R41-R46.
- Hudson, B. J. (1990). *Food Antioxidants. Elsevier Applied Food Science Series* (pp. 253-307). Retrieved from <https://www.springer.com/gp/book/9789401068246>.
- Kosiyajinda, S. (2001). *Dragon Fruit plant economic and fruit health. Department of Agriculture: Horticulture Research Institute, Horticulture Science Society of Thailand*. Retrieved from <http://puechkaset.com> (in Thai)
- Leelapornpisit, P. (2001). *Cleansing Cosmetics* (Rev. ed). Bangkok: Odian Store. (in Thai)
- Moreno, D. A., Garcia-Viguera, C., Gil, J. I., & Gil-Izquierdo, A. (2008). Betalains in the era of global agri-food science, technology and nutritional health. *Phytochemistry Reviews*, 7(2), 261-280.
- Nararatwanchai, T. (2016). *Anti-aging. School of Anti-Aging and Regenerative Medicine, Mae Fah Luang University*. Retrieved from <http://anti-aging.mfu.ac.th> (in Thai)
- Nurliyana, R., Syed Zahir, I., Suleiman, M., Aisyah, M. R., & Rahim, K. (2010). Antioxidant study of Pulps and Peels of Dragon Fruits: A comparative study. *International Food Research Journal*, 17(2), 367-375.
- O-Chongpian, P., Pimmpa, P. & Jantrawut, P. (2017). Development of Eyes Mask Containing Dragon Fruit peel extract. *Journal of Agriculture*, 33(3), 415-425. (in Thai)
- Phasipol, T. (2014). Betalain: Extraction and Analysis. *KKU Science Journal*. 42(4), 718-729. Retrieved from http://scijournal.kku.ac.th/files/Vol_42_No_4_P_718-729.pdf (in Thai)
- Priatni, S. & Pradita, A. (2015). Stability study of Betacyanin extract from Red Dragon Fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peels. *Procedia Chemistry*, 16, 438-444.
- Rujisawang, P., & Singpraseart, S. (2018). *The development of Toner formulation with Anti-Oxidant activity from peels of Hylocereus undatus extract*. (Doctoral dissertation). Eastern Asia University. Pathum Thani. (in Thai)
- Stinzing, F. C., & Carle, R. (2004). Functional properties of Anthocyanins and Betalains in plants, food and in human nutrition. *Trends in Food Science Technology*, 15, 19-38.
- Strack, D., Vogt, T. & Schliemann, W. (2003). Recent advances in Betalain research. *Phytochemistry*, 62(3), 247-269.

- Thammawong, K. & Jaiwut, P. (2014). *Development of Natural Colorant from Dragon Fruit Peel for cosmetic application*, School of Cosmetic Science, Mae Fah Luang University.
Retrieved from <http://postgrads.mfu.ac.th> (in Thai)
- Teng-Umnuay, P. (2013). *Anti-aging medicine* (Master's thesis). Dhurakij Pundit University, Bangkok.
Retrieved from <http://tlaa.org>. (in Thai)
- Tonglim, J., & Suttisansanee, U. (2016). *Potential anti-aging from tea*, Institute of Nutrition, Mahidol University. Retrieved from <http://www.inmu.mahidol.ac.th> (in Thai)
- Wee, S. C., & Wee, K. Y. (2011). Antioxidant properties of two species of *Hylocereus* fruits. *Advances in Applied Science Research*, 2(3), 418-425.
- Wessagowit, V. (2014). *Wrinkle*. Retrieved from <http://inderm.go.th> (in Thai)

