



การศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดมะเเฒ่าและกรดเฟอร์ูลิก

STUDY OF STABILITY OF EMULSION CONTAINING
MAMAO EXTRACT AND FERULIC ACID

พุดชา ศีลา

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

การศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดมะเเฒ่าและกรดเฟอร์ูลิก

STUDY OF STABILITY OF EMULSION CONTAINING

MAMAO EXTRACT AND FERULIC ACID

พุดชา ศิลา

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



หน้าอนุมัติการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

การค้นคว้าอิสระเรื่อง การศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดมะเเฒ่าและกรดเฟอร์ูลิก
Study of Stability of Emulsion Containing Mamao Extract and
Ferulic Acid

ผู้ประพันธ์ พุฒชา ศิลา

คณะกรรมการสอบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลพิสุทธิ์ ตันตาปกุล

ประธานกรรมการ

อาจารย์ ดร.ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ์

กรรมการ

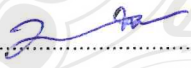
อาจารย์ ดร.ธำพรณ์ ตรีอุดม

กรรมการ

อาจารย์ ดร.นภัตสร ดิษฐาวุฒิกุล

กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา


.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(อาจารย์ ดร.ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ์)

คณบดี


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี รังสิจิตรประภา)

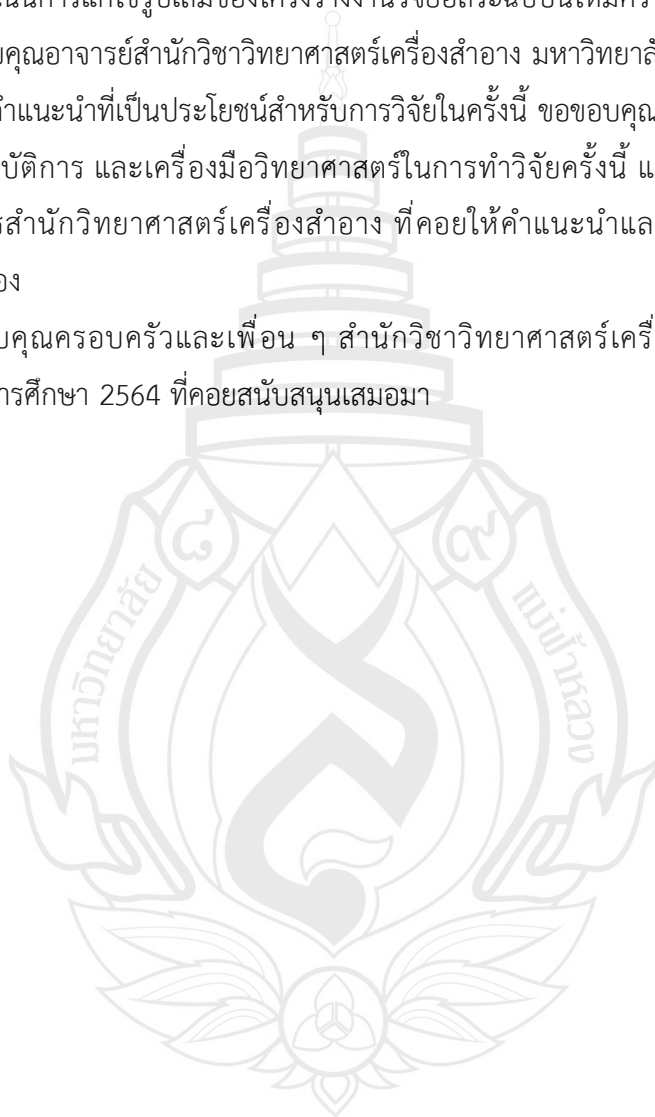
กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีขอขอบคุณ อาจารย์ ดร.ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ช่วยให้คำแนะนำ ความรู้ที่เป็นประโยชน์ในการทำวิจัย รวมถึงการแก้ไขปัญหาระหว่างการทดลอง และดำเนินการแก้ไขรูปแบบของโครงงานวิจัยอิสระฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณอาจารย์สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ และคำแนะนำที่เป็นประโยชน์สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวงสำหรับห้องปฏิบัติการ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์ในการทำวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง ที่คอยให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในการปฏิบัติการทดลอง

ขอขอบคุณครอบครัวและเพื่อน ๆ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ปีการศึกษา 2564 ที่คอยสนับสนุนเสมอมา

พุฒชา ศีลา



ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	การศึกษาความคงตัวของอิมัลชันที่มีสารสกัดมะเมาและกรดเฟอรูลิก
ผู้ประพันธ์	พุ่มชา ศิลา
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ถวณันท์ ศรีพิสุทธิ

บทคัดย่อ

สารสกัดจากพืชพรรณธรรมชาติกำลังได้รับความนิยมในหมู่ผู้บริโภคที่ใส่ใจสุขภาพ เนื่องจากมีองค์ประกอบที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและเป็นประโยชน์ต่อผิวหนัง งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการเพิ่มมูลค่าของ *Antidesma bunius* หรือ “มะเมา” ซึ่งเป็นผลไม้พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความคงตัวของสูตรอิมัลชันน้ำมันในน้ำ (O/W) ที่มีสารสกัดจากผลมะเมาและกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบ ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากผล มะเมา มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ $7.60 \pm 0.82\%$ มีค่าแอนโทไซยานินเท่ากับ 81.21 ± 0.01 mg/L โดยสารสกัดสามารถละลายได้ดีในน้ำ เอทานอล 95% และโพรพิลีนไกลคอล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ประเมินโดยใช้วิธี DPPH assay มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.23 ± 0.01 mg/ml สารสกัดผลมะเมาที่ผ่านกระบวนการโคพิกเมนต์ร่วมกับกรดเฟอรูลิกยังมีความคงตัวสูงสุดภายใต้สภาวะต่อมาได้มีการพัฒนาสูตรอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W) ที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากผลมะเมาที่โคพิกเมนต์ด้วยกรดเฟอรูลิก และนำไปประเมินความคงตัวทางกายภาพ และเคมี พบว่าสูตรอิมัลชันมีความคงตัวดีในหลายด้าน เช่น ไม่เกิดของแยกชั้นของสูตรในขณะทำการทดลอง มีความเปลี่ยนแปลงของค่า pH การเปลี่ยนแปลงของสีและความหนืดในระดับที่ต่ำ เนื้อสัมผัสและกลิ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดจากมะเมาในการพัฒนาเป็นส่วนผสมสำคัญในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและมีความคงตัวสูง

คำสำคัญ: มะเมา, แอนโทไซยานิน, การต้านอนุมูลอิสระ, ความคงตัว

Independent Study Title	Study of Stability of Emulsion Containing Mamao Extract and Ferulic Acid
Author	Puttacha Sila
Degree	Master of Science (Cosmetic Science)
Advisor	Tawanun Sripisut, Ph. D.

ABSTRACT

Natural plant extracts are gaining popularity among health-conscious consumers due to their antioxidant properties and benefits for the skin. This study focuses on enhancing the value of *Antidesma bunius*, commonly known as “MaMao” a native fruit of northeastern Thailand, by investigating the anthocyanin content, antioxidant activity, and stability of an oil-in-water (O/W) emulsion containing Ma Mao fruit extract and ferulic acid. The results showed that the extract yield was $7.60 \pm 0.82\%$, with an anthocyanin content of 81.21 ± 0.01 mg/L. The extract exhibited good solubility in water, 95% ethanol, and propylene glycol. Antioxidant activity assessed using the DPPH assay revealed an IC_{50} value of 0.23 ± 0.01 mg/mL. The Ma Mao fruit extract, when co-pigmented with ferulic acid, demonstrated high stability under specific conditions. Subsequently, an oil-in-water (O/W) emulsion formulation containing the co-pigmented Ma Mao fruit extract was developed and evaluated for its physical and chemical stability. The emulsion was found to be stable, with no phase separation during the testing period and minimal changes in pH, color, and viscosity. The texture and fragrance remained unchanged. These findings indicate the potential of Ma Mao extract as a key ingredient in natural cosmetic products with antioxidant properties and high stability.

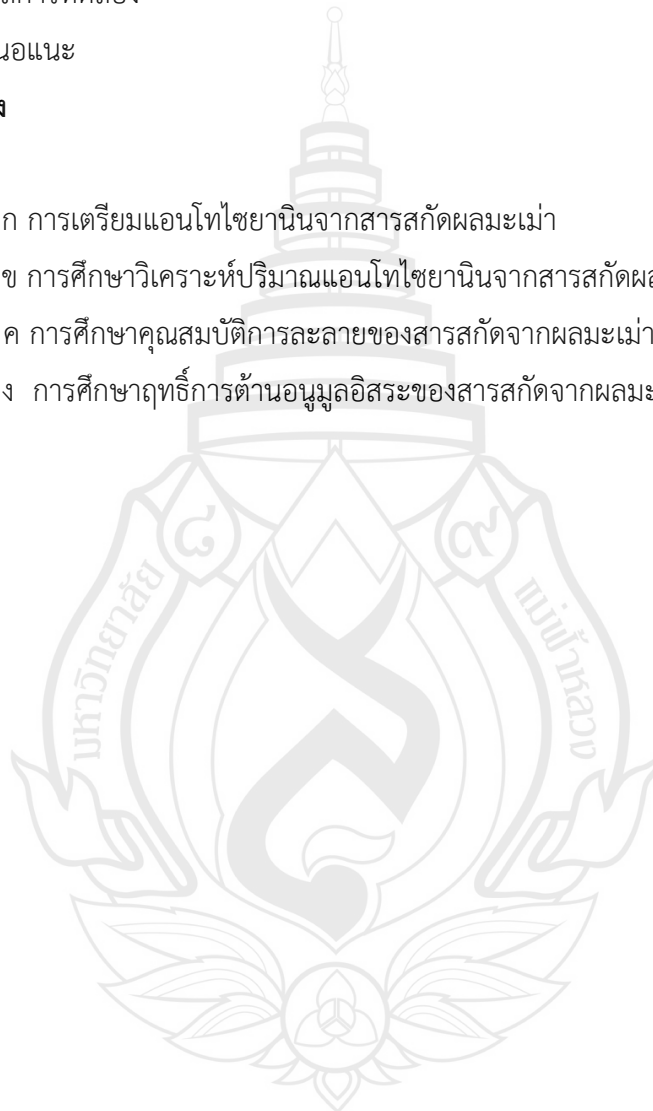
Keywords: Mamao, Anthocyanins, Antioxidant Activity, Stability

สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 กรอบแนวคิดทางทฤษฎี	4
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	11
3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	15
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์	15
3.2 วัสดุดิบและสารเคมี	15
3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	16
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	23
4.1 การเตรียมตัวอย่างผลมะเเฒ่า	23
4.2 ร้อยละของสารสกัดแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า	23
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า	24
4.4 คุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	25
4.5 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	25
4.6 ผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	26
4.7 ความคงตัวของสูตรครีมอิมัลชัน O/W ที่มีสารสกัดจากผลมะเเฒ่า และกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบ	29
4.8 ทดสอบชนิดของสูตรครีมอิมัลชัน O/W ที่มีสารสกัดจากผลมะเเฒ่า และกรดเฟอรูลิกเป็นองค์ประกอบ	31

สารบัญ

บทที่	หน้า
5 สรุปผลการทดลอง	33
5.1 สรุปผลการทดลอง	33
5.2 ข้อเสนอแนะ	34
รายการอ้างอิง	35
ภาคผนวก	38
ภาคผนวก ก การเตรียมแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า	38
ภาคผนวก ข การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า	40
ภาคผนวก ค การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	41
ภาคผนวก ง การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	42



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
3.1 สูตรอิมัลชัน O/W ในการทดสอบความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า	20
4.1 แสดงคุณสมบัติการละลายของสารสกัดผลมะเเฒ่าด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน	25
4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของสารสกัดที่ได้จากผลมะเเฒ่าก่อนและหลังการทดสอบ	27
4.3 การศึกษาความคงตัวและลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน O/W ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่สภาวะร้อน-เย็น	30



สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ลักษณะผลสุกของมะเเฒ่า	4
2.2 แสดงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน	5
2.3 แสดงภาพอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกตรัมของแอนโทไซยานินจากหัวแรดิช (Radish) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 และ 4.5	6
2.4 แสดงสารละลายของแอนโทไซยานินจากมันเทศม่วงที่ระดับพีเอชต่าง ๆ	7
2.5 แสดงโครงสร้างแอนโทไซยานินที่ pH ต่าง ๆ	8
2.6 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Self-association	9
2.7 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Intermolecular Copigmentation	9
2.8 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Intranmolecular Copigmentation	10
2.9 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Metal Complexation	11
4.1 ลักษณะของผลมะเเฒ่า	23
4.2 แสดงสีของสารสกัดมะเเฒ่าในสภาวะแวดล้อมที่พีเอชบัฟเฟอร์ 1.00 และ 4.50 ก่อนนำไปวัดหาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH Differential ที่ความยาวคลื่น 520 - 700 นาโนเมตร	24
4.3 การศึกษาการคำนวณค่าเฉลี่ยของ IC_{50} จากการวัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร	26
4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีการ Scan UV-Visible Spectrophotometer ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ของก่อนเริ่มการทดสอบ	28
4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีการ Scan UV-Visible Spectrophotometer ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ของสารหลังทำการทดสอบ	28

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
4.6 แสดงค่าพีเอชที่แตกต่างกันในสภาวะกรด-เบส ส่งผลต่อสีที่แสดงออกของสารสกัดจากผลมะเมาะก่อนการทดสอบและหลังการทดสอบ	29
4.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในสูตรอิมัลชัน O/W	30
4.8 ภาพการทดสอบชนิดของอิมัลชันด้วยตัวทำลายที่ต่างชนิดกัน Dilution Test (การเจือจาง)	32



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

สารประกอบที่ให้สีในพืชหรือที่เรียกว่า “เม็ดสี” เป็นองค์ประกอบที่มีความสำคัญทั้งในด้านโครงสร้าง สี สัน และคุณสมบัติทางชีวภาพ ซึ่งมีการศึกษาอย่างกว้างขวางโดยนักวิทยาศาสตร์และนักชีววิทยามาอย่างยาวนาน โดยเน้นศึกษาทั้งในแง่ของคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และกลไกการสังเคราะห์เม็ดสี แอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ได้จากกรดฟีนอลิก-ลานิน เป็นเม็ดสีที่มีคุณสมบัติละลายในน้ำได้ดี และแสดงออกในเฉดสีต่าง ๆ เช่น แดง ม่วง น้ำเงิน และส้ม พบได้อย่างแพร่หลายในอาณาจักรพืช โดยเฉพาะในผลไม้ ผัก และพืชที่มีสีเข้ม เช่น ตระกูลเบอร์รี่ องุ่น ลูกเกด และพืชเขตร้อนบางชนิด (Tanaka et al., 2008)

แอนโทไซยานินไม่เพียงแต่มีบทบาทในการให้สีแก่พืช แต่ยังมีคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญ เช่นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ และป้องกันโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจ เบาหวาน และชะลอความเสื่อมของเซลล์ (Hock et al., 2017) นอกจากนี้ยังมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นสารให้สีธรรมชาติในอาหาร เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการประยุกต์ในสูตรบำรุงผิว เช่น ที่มุ่งเน้นความชุ่มชื้นชะลอริ้วรอย (Mythileeswari et al., 2024)

มะเมี (Antidesma bunius) เป็นผลไม้พื้นเมืองของไทยที่จัดอยู่ในตระกูลเบอร์รี่ ที่มีลักษณะเด่นคือผลสุกมีสีม่วงเข้มหรือเกือบดำ ซึ่งเป็นสัญญาณของการมีแอนโทไซยานินในปริมาณสูง โดยมีรายงานว่าแอนโทไซยานินในผลมะเมีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับผลไม้ในกลุ่มเบอร์รี่จากต่างประเทศ เช่น แบล็กเคอร์แรนต์ (วิไลศรี ลิ้มปวยอม และคณะ, ม.ป.ป.) นอกจากนี้มะเมียังมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี เช่น วิตามินบี1 และกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย

อย่างไรก็ตาม แอนโทไซยานินมีความไม่เสถียรต่อปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น แสง ความร้อน ค่า pH ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีและประสิทธิภาพทางชีวภาพ วิธีหนึ่งในการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินโดยไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์ คือ การสร้างสารประกอบเชิงซ้อนกับสารโคพิกเมนต์ (Copigment) โดยเฉพาะในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวและความเข้มของสีได้ (เหมือนขวัญ กนก, 2556)

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินจากผลมะเมีและนำมาพัฒนาเป็นครีมอิมัลชันชนิด O/W (Oil-in-Water) ซึ่งมีลักษณะเป็นเนื้อสัมผัสเนียนนุ่ม ไม่เหนียวเหนอะหนะ

เหมาะกับผิวธรรมดาถึงผิวมัน พร้อมทั้งศึกษาการใช้ กรดเฟอร์ุลิก (Ferulic acid) เป็นสารเสริมความคงตัวของแอนโทไซยานินในอัตราส่วนสารสกัดมะเขือต่อกรดเฟอร์ุลิก 1:5 เพื่อประเมินความคงตัวและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติที่มีศักยภาพเชิงพาณิชย์ ตลอดจนช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตรไทย โดยเฉพาะกลุ่มผู้ปลูกมะเขือในภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีความพร้อมในการผลิตวัตถุดิบชนิดนี้ในระดับชุมชน

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดจากผลมะเขือ
- 1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเขือ
- 1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพและความคงตัวของครีมในสูตรอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) ที่มีสารสกัดจากผลมะเขือและกรดเฟอร์ุลิกเป็นส่วนประกอบ

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเขือ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่ได้จากกระบวนการสกัด และประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากผลมะเขือโดยใช้วิธี DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) assay ภายหลังการประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดจากผลมะเขือจะถูกนำมาพัฒนาเป็นครีมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion) โดยมีกรดเฟอร์ุลิก (Ferulic acid) เป็นส่วนประกอบร่วม เพื่อเสริมประสิทธิภาพและเพิ่มความคงตัวของสารสำคัญในสูตรผลิตภัณฑ์ จากนั้นจะทำการศึกษาคูณลักษณะทางกายภาพของครีมที่ได้พัฒนา ได้แก่ ค่า pH กลิ่น สี ลักษณะผลิตภัณฑ์ และความหนืด เพื่อประเมินความเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ทราบปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเมาะ

1.4.2 ทราบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผลมะเมาะโดยใช้ DPPH assay

1.4.3 เปรียบเทียบประสิทธิภาพด้านเสถียรของสูตรครีมอิมัลชันที่มีสารสกัดจากผลมะเมาะเป็นองค์ประกอบ โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรที่ไม่มีและมีการเติมกรดเพอรูลิก เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดธรรมชาติ



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1 กรอบแนวคิดและทฤษฎี

2.1.1 มะเเฒ่า

มะเเฒ่า ชื่อทางวิทยาศาสตร์นามว่า *Antidesma punctulatum* Miq. (ชื่อพ้องวิทยาศาสตร์ *Antidesma bunius* var. *thwaitesianum* (Müll.Arg.) Trimen, *Antidesma thwaitesianum* Müll.Arg.) จัดอยู่ในวงศ์มะขามป้อม (PHYLLANTHACEAE) พืชในตระกูลมะเเฒ่ามีอยู่ด้วยกันทั้งหมด 170 ชนิด และกระจายอยู่ในเขตร้อนของเอเชีย แอฟริกา ออสเตรเลีย หมู่เกาะอินโดนีเซีย และเกาะต่าง ๆ ในมหาสมุทรแปซิฟิก แต่จะมีอยู่เพียง 5 สายพันธุ์เท่านั้นที่พบได้มากในประเทศไทย ต้นมะเเฒ่าเป็นไม้ยืนต้นที่มีอายุยืนยาว แตกกิ่งก้านมาก กิ่งแขนงแตกเป็นพุ่มทรงกลม สูงประมาณ 5-10 เมตร มักขึ้นตามป่าเบญจพรรณ ป่าดิบแล้ง หรือตามหัวไร่ปลายนาทั่วทุกภาคของประเทศไทยใบมะเเฒ่าเป็นใบเดี่ยว สีเขียวสด ผิวใบเรียบเป็นมันทั้งสองด้านดอกมะเเฒ่า ดอกมีขนาดเล็กสีขาวอมเหลือง ออกดอกเป็นช่อยาวตามปลายกิ่งและซอกใบ ช่อดอกคล้ายพริกไทยผลมะเเฒ่า ลักษณะของผลเป็นทรงกลม ผลมีขนาดเล็กและเป็นพวง ผลดิบมีสีเขียวอ่อนหรือสีเขียวเข้ม มีรสเปรี้ยว แต่เมื่อสุกจะเปลี่ยนเป็นสีแดงและม่วงดำในที่สุด



ที่มา สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร (2563)

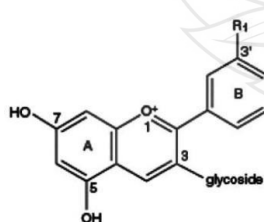
ภาพที่ 2.1 ลักษณะผลสุกของมะเเฒ่า

2.1.2 สีจากธรรมชาติ

สีธรรมชาติ คือ สารสีหรือรงควัตถุที่ได้จากวัตถุดิบจากแหล่งธรรมชาติเช่น พืช สัตว์และแร่ธาตุต่าง ๆ ซึ่งเกิดขึ้นมาจากการบวนการตามธรรมชาติ โดยกลุ่มของสารสีหลักที่พบในพืชส่วนใหญ่จะเป็นแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) และฟีโอไฟติน (Pheophytin) แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ซึ่งสีธรรมชาติมีบทบาทเกี่ยวข้องกับวิถีการดำรงชีวิตของมนุษย์มายาวนานนับตั้งแต่สมัยโบราณ มนุษย์ได้เรียนรู้ที่จะนำสีจากวัสดุธรรมชาติมาใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ เช่น ทาสีตามร่างกาย สีของภาชนะเครื่องปั้นดินเผา ย้อมสิ่งทอ เครื่องใช้ เครื่องนุ่งห่ม ภาพวาดฝาผนัง และเป็นส่วนประกอบในพิธีกรรมต่าง ๆ ตามความเชื่อของแต่ละท้องถิ่น สีธรรมชาติที่มีการใช้ในอดีตนั้นมักจะได้มาจาก พืช สัตว์ และแร่ธาตุต่าง ๆ โดยมีพัฒนาการสืบทอดกันมาจนถึงปัจจุบัน ตัวอย่างเช่น การใช้สีในการ ประกอบอาหาร และขนม การย้อมสิ่งทอ เครื่องนุ่งห่ม การย้อมเครื่องมือ เครื่องใช้ในครัวเรือน เช่น เครื่องมือดักจับสัตว์น้ำ การใช้เขม่าหรือควันไฟรมเครื่องจักรสานให้เกิดสีและเสริมความทนทาน (บุญเสริม วัฒนกิจ, 2559)

2.1.3 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จัดเป็นสารรงควัตถุจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) สามารถพบได้ในส่วนต่าง ๆ ของพืช มีอิทธิพลต่อการแสดงสีของพืช โดยสารแอนโทไซยานิน สีที่ได้จะให้สีแดง สีชมพู สีม่วง และสีน้ำเงิน มีคุณสมบัติการละลายน้ำที่ดีในตัวทำละลายที่มีขั้ว การสังเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจะให้ปริมาณที่มากคือในผลที่มีความสุกเต็มที่ แอนโทไซยานินที่พบได้บ่อยที่สุดมี 6 ชนิด คือ เพลาโกนินิดิน (Pelargonidin) ไซยานิดิน (Cyanidin) เดลฟินิดิน (Delphinidin) พีโอนิดิน (Peonidin) เพทูนิดิน (Petunidin) และมอลวิดิดิน (Malvidin) (ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล, 2558)



Anthocyanidins	ตำแหน่ง R1	ตำแหน่ง R2
Pelargonidin	H	H
Cyanidin	H	OH
Delphinidin	OH	OH
Peonidin	OCH ₃	H
Petunidin	OCH ₃	OH
Malvidin	OCH ₃	OCH ₃

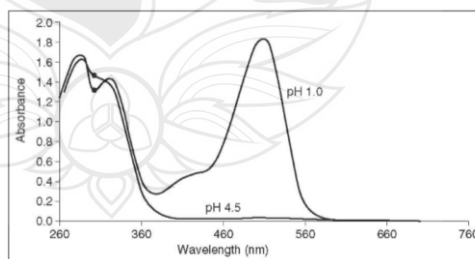
ทิมา อรุษา เขาวนลิขิต (2554)

ภาพที่ 2.2 แสดงโครงสร้างของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินที่สกัดได้จากพืชสามารถเกิดการสลายตัวได้ประกอบด้วยปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-เบส ซึ่งสีของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไปตามสภาพความเป็นกรด-เบส โดยที่มีสีน้ำเงินในสภาวะที่เป็นเบส ($\text{pH} > 7$) มีสีม่วงในสภาวะที่เป็นกลาง ($\text{pH} = 7$) และมีสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 7$) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสลายตัวของแอนโทไซยานินอีกคือความเข้มข้นของวิตามินซี ออสไจน โคโรสโตรัง ความเข้มข้นของรงควัตถุกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid) และน้ำตาล ปริมาณของแอนโทไซยานินลดลงเมื่อเก็บไว้นาน และเมื่อยิ่งเพิ่มอุณหภูมิจะส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงอย่างรวดเร็ว (พีรยา พิพัฒนามงคล, 2559)

2.1.4 การวิเคราะห์การหาปริมาณและชนิดของแอนโทไซยานิน

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสามารถทำได้หลากหลายวิธี อาทิเช่น ค่าการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่นหนึ่ง และวิธีพีเอชดิฟเฟอเรนเชียล (pH differential) ในการวัดค่าการดูดกลืนแสง สารสกัดถูกนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นสูงสุด ซึ่งสำหรับแอนโทไซยานินความยาวคลื่นสูงสุดที่ถูกดูดกลืนจะอยู่ในช่วง 490-550 นาโนเมตร ซึ่งจะห่างจากสารฟีนอลิกอื่น ๆ ที่สามารถดูดกลืนได้ในช่วง 260-320 นาโนเมตร ทำให้สามารถวัดแอนโทไซยานินแยกจากสารฟีนอลิก แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ สารพวกเมลานอยดิน (Melanoidin) และสารอื่น ๆ ที่ได้จากการสลายตัวของแอนโทไซยานิน (Anthocyanin degradation products) สามารถดูดกลืนแสงในช่วงเดียวกับแอนโทไซยานินทำให้ค่าที่วัดได้ไม่ถูกต้อง ดังนั้นวิธี พีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล จึงได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อแก้ข้อบกพร่องในจุดนี้และปัจจุบันเป็นวิธีการวัดปริมาณแอนโทไซยานินที่ได้รับความนิยมมากที่สุด วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียลเป็นวิธีที่พัฒนาจากการที่โครงสร้างของแอนโทไซยานิน เปลี่ยนแปลงไปได้ตามการเปลี่ยนแปลงค่า pH ทำให้การดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินเปลี่ยนไป (อรุษา เชาวนลิขิต, 2554)



ที่มา อรุษา เชาวนลิขิต (2554)

ภาพที่ 2.3 แสดงภาพอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกตรัมของแอนโทไซยานินจากหัวแรดิช (Radish) ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 และ 4.5

เมื่อนำสารสกัดแอนโทไซยานินจากหัวแรดิช (Radish) โดยไปปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 1.00 และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นระหว่าง 260-700 นาโนเมตร พบว่า แอนโทไซยานินดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น ระหว่าง 460-560 นาโนเมตร และเมื่อปรับ pH ให้เป็น 4.50 การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นดังกล่าวหายไป เนื่องจากที่ pH 1.00 โครงสร้างของ แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปออกโซเนียม (Oxonium form) ซึ่งมีสี และที่ pH 4.50 โครงสร้างของ แอนโทไซยานินจะอยู่ในรูปเฮมิกิทัอล (Hemiketal form) ซึ่งไม่มีสี ในขณะที่ถ้าในตัวอย่างมีสารอื่น ๆ ที่ดูดกลืนแสงช่วงเดียวกับแอนโทไซยานิน เมื่อเปลี่ยน pH เป็น 4.50 ค่าการดูดกลืนแสงของสารอื่น ๆ จะเท่าเดิมในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินจะหายไป ดังนั้นการวัดด้วยวิธีนี้จะต้องวัด ค่าการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานินที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่ pH 1.00 และ 4.50 นำมาหักลบกัน เพื่อกำจัดการดูดกลืน แสงจากสารอื่น ๆ ที่ไม่ใช่แอนโทไซยานิน และการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความ ยาวคลื่น 700 นาโนเมตร เพื่อหักลบค่าความขุ่นที่อาจเกิดขึ้น เพื่อให้ผลที่ได้ มีความถูกต้องและ แม่นยำมากขึ้น ดังสมการ

$$A = (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH } 4.5}$$

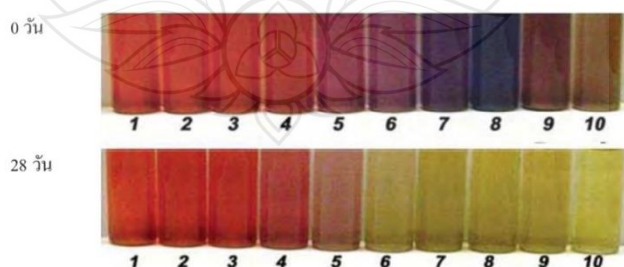
$$\text{Total Anthocyanin Content} = (A \times Mw \times \text{Dilution Factor} \times 100) / (V)$$

โดยที่ ; Mw = 449.2 g mol⁻¹, V = 29,600 M cm, Dilution factor = 1

2.1.5 ปัจจัยที่ส่งผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน

2.1.5.1 พีเอช

แอนโทไซยานินมีความคงตัวในสารละลายที่มีพีเอชต่ำมากกว่าในสารละลายที่มีพีเอชสูง โดยทั่วไปแอนโทไซยานินมีสีที่หลากหลายตามระดับของค่าพีเอช การเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารละลายแอนโทไซยานินโดยทั่วไปแล้วจะแสดงออกในเฉดสีแดงในสารละลายพีเอชช่วง 1-3 และแสดงออกในเฉดสีม่วง สีนํ้าเงิน ในสารละลายเบส



ที่มา เหมือนขวัญ กงนอก (2558)

ภาพที่ 2.4 แสดงสารละลายของแอนโทไซยานินจากมันเทศม่วงที่ระดับพีเอชต่าง ๆ

2.1.5.2 อุณหภูมิ

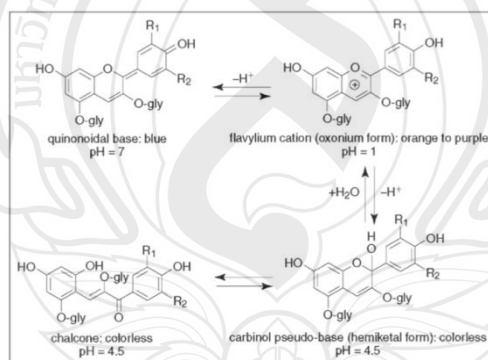
อุณหภูมิเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินทำให้อัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นระหว่างที่อุณหภูมิสูงขึ้น การเพิ่มระดับอุณหภูมิส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิตของแอนโทไซยานินนั้นมีค่าลดลง และการสลายตัวของแอนโทไซยานินในสารละลายที่มีค่าพีเอชที่แตกต่างกันจะมีอัตราการสลายตัวที่ความร้อนแตกต่างกัน

2.1.5.3 แสง

แสงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน โดยแสงมีสองลักษณะที่แตกต่างกัน คือ แสงเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืชและแสงยังช่วยเร่งอัตราการสลายตัวของแอนโทไซยานิน โดยที่แสงมีบทบาทในการกระตุ้นไอออนบวกทำให้เกิดการออกซิเดชัน ดังนั้นการเพิ่มความเข้มแสงหรือการสัมผัสแสงของแอนโทไซยานินส่งผลต่ออัตราการลดลงของแอนโทไซยานิน

2.1.5.4 เอนไซม์

การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์จะช่วยเพิ่มความคงตัวหรือเสถียรภาพของแอนโทไซยานิน เอนไซม์ที่มีบทบาทที่สามารถทำลายแอนโทไซยานินได้ก็คือ Glycosidases ซึ่งจะทำลายพันธะโคเวเลนต์ระหว่าง Glycosyl residual และอะไกลโคนของแอนโทไซยานิน (เหมือนขวัญ กองนอก, 2556)



ที่มา อรุษา เซาวนลิขิต (2554)

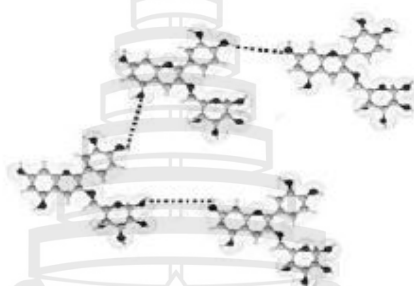
ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างแอนโทไซยานินที่ pH ต่าง ๆ

2.1.6 ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน

การเพิ่มความคงตัวให้แก่สารแอนโทไซยานิน ต้องอาศัยปฏิกิริยาโคพิกเมนต์ (Copolymerization) วิธีการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินด้วยวิธีการพิกเมนต์ มี 4 แบบ

2.1.6.1 Self-association

การเกิดโคพิกเมนต์แบบ Self-association เป็นการเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินโดยอาศัยปฏิกิริยาโคพิกเมนต์ขึ้น ด้วยการรวมตัวกันของโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินกับโมเลกุลของสารแอนโทไซยานิน ส่งผลให้การละลายของแอนโทไซยานินมีสีที่เข้มขึ้นหรือดีขึ้น การละลายตัวมีความช้าเมื่อเทียบกับสารแอนโทไซยานินที่ไม่ได้มีการโคพิกเมนต์ขึ้น สำหรับการเกิดกลไกการเกิดนั้นพบว่าโมเลกุลของ แอนโทไซยานินจะเกิดการจับหรือยึดกันด้วยพันธะ non-covalent การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโทไซยานิน (Complexes Of Anthocyanins) จะเกิดขึ้นโดยการซ้อนกันของโมเลกุลในแนวตั้ง (Vertical Stacking)

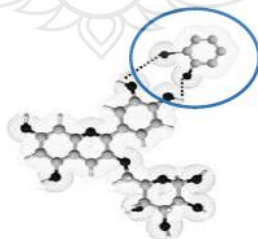


ที่มา เหมือนขวัญ กนกนอก (2556)

ภาพที่ 2.6 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Self-association

2.1.6.2 Intermolecular Copigmentation

การเกิดโคพิกเมนต์แบบ Intermolecular Copigmentation เป็นการเกิดระหว่าง การรวมตัวกันระหว่างโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินกับโมเลกุลของสารโคพิกเมนต์ซึ่งเป็นโมเลกุลที่ไม่มีสี โดยจะเกิดการจับตัวกันเป็นสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินกับโมเลกุลของสารโคพิกเมนต์ชนิดที่เป็น Non-Covalent การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างแอนโทไซยานินกับสารโคพิกเมนต์จะช่วยป้องกันการเกิด hydration กับน้ำของแอนโทไซยานินส่งผลให้แอนโทไซยานินมีความคงตัวมากขึ้น



ที่มา เหมือนขวัญ กนกนอก (2556)

ภาพที่ 2.7 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์ขึ้นแอนโทไซยานินด้วยวิธี Intermolecular Copigmentation

2.1.6.3 Intranmolecular Copigment

การเกิดโคพิกเมนต์แบบ Intranmolecular Copigment เป็นการเกิดขึ้นจากการรวมตัวกันระหว่างโมเลกุลของสารแอนโทไซยานินกับโมเลกุลของสารโคพิกเมนต์ที่เกิดการ Covalent acylation แอนโทไซยานินสามารถเพิ่มความคงตัวของสีได้โดย Acyl Group การเข้าจับบริเวณที่เป็นประจุบวกบนโมเลกุลของแอนโทไซยานิน ซึ่งสามารถเพิ่มความคงตัวของสี การเกิดปฏิกิริยาเป็นการจับกันและการสร้างพันธะโมเลกุลของแอนโทไซยานิน



ที่มา เหมือนขวัญ กงนอก (2556)

ภาพที่ 2.8 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์แบบแอนโทไซยานินด้วยวิธี Intranmolecular Copigmentation

2.1.6.4 Metal Complexation

การเกิดโคพิกเมนต์แบบ Metal Complexation เป็นการใช้โลหะในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานิน แต่เป็นวิธีที่ไม่ได้รับความนิยมมาก เนื่องจากอาจจะเกิดการตกค้างหรือปนเปื้อนของโลหะในผลิตภัณฑ์ได้ซึ่งเกิดจากการเข้าจับกันของไอออนโลหะ และ Flavylium Cation ได้เป็นสารประกอบ Flavylium Salt ไอออนของโลหะที่นำมาใช้ในการรักษาความคงตัวของแอนโทไซยานินด้วยวิธี Metal Complexation ได้แก่ ดีบุก (Sn), ทองแดง (Cu), เหล็ก (Fe), อลูมิเนียม (Al), แมกนีเซียม (Mg) และโพแทสเซียม (K) โดย จะใช้วิธี Metal Complexation ได้ในแอนโทไซยานินที่มี Hydroxyl Group มากกว่า 1 หมู่ใน Phenyl (เหมือนขวัญ กงนอก, 2556)



ที่มา เหมือนขวัญ กงนอก (2556)

ภาพที่ 2.9 แสดงกลไกการเกิดโคพิกเมนต์แอนโทไซยานินด้วยวิธี Metal Complexation

2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในปี 2017 รายงานว่า โครงสร้างโพลีฟีนอลของแอนโทไซยานินส่งผลต่อความสามารถในการละลาย โดยเฉพาะไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ซึ่งละลายน้ำได้ดีเนื่องจากมีน้ำตาลเชื่อมต่อกับวงแหวน C ทำให้สารมีความเสถียรในน้ำ ตัวทำละลายที่นิยมใช้ ได้แก่ น้ำ เอทานอล และอะซิโตน (Hock et al., 2017)

ในปี 2021 การศึกษาเกี่ยวกับสารแอนโทไซยานินเป็นเม็ดสีจากธรรมชาติที่ใช้ในอุตสาหกรรมเนื่องจากผลิตเม็ดสีได้หลากหลาย มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ แต่มีข้อเสียเปรียบหลัก นั่นคือ มีความเสถียรต่ำ ดังนั้นความเสถียรของแอนโทไซยานินจึงได้รับอิทธิพลหลายปัจจัย เช่น ค่าพีเอช แสง อุณหภูมิ การสร้างสีร่วม ซัลไฟต์ กรดแอสคอร์บิก ออกซิเจน และเอนไซม์ เป็นต้น (Bianca et al., 2021)

รายงานว่แอนโทไซยานินเป็นสารให้สีที่พบในธรรมชาติแบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ คือนอนอะซิลเลตเตด แอนโทไซยานิน (Non acylated anthocyanin) และอะซิลเลตเตด แอนโทไซยานิน (Acylated anthocyanin) โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ประกอบด้วย แอนโทไซยานิดิน น้ำตาล และ/หรือ กรด ตัวทำละลายที่ใช้ใน การสกัดแอนโทไซยานิน ได้แก่ น้ำ เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน วิธีการสกัดด้วยตัวดูดซับของแข็ง (Solid Phase Extraction) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการทำให้แอนโทไซยานินบริสุทธิ์ การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน สามารถแบ่งเป็น 2 แบบ คือ การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เช่น วิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-Differential) ด้วยสเปกโตรมิเตอร์ และการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานิน โดยใช้เครื่อง โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography) การย่อยด้วยกรด และการย่อยด้วยด่างหรือการใช้แมสสเปกโตรมิเตอร์เป็นเทคนิคที่ใช้ร่วมกับเครื่อง HPLC เพื่อการวิเคราะห์ แอนโทไซยานินที่ไม่ทราบชนิด (อรุษา เขาวนลิขิต, 2554)

ผลของสีและสายพันธุ์ของหมากเฒ่าต่อสมบัติทางกายภาพ เคมีและสารเชิงสุขภาพ สกัดหมากเฒ่าด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol จากศึกษาผลหมากเฒ่าที่มีความแตกต่างกันด้านสี และสายพันธุ์ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณสารสำคัญ เชิงสุขภาพ ได้แก่ ประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระวัดโดยวิธี (DPPH และ ABTS) ปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด มีปริมาณสูง เมื่อผลหมากเฒ่าสุกมีสีม่วงดำ ส่วนสายพันธุ์ของผล หมากเฒ่าที่มีปริมาณสารสำคัญเชิงสุขภาพสูงสุด คือ สายพันธุ์ฟ้าประทาน จากงานวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบถึง สมบัติของวัตถุดิบผลหมากเฒ่าสุก เพื่อใช้ในการ คัดเลือกวัตถุดิบ นำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ที่มี คุณภาพเพื่อสุขภาพต่อไป (จิรายุ มุสิก และอัมพร แซ่เอียว, 2556)

การหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมะเฒ่า ในการหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเฒ่า โดยสเปกโทรฟลูออโรโฟโตเมทรีภายใต้สภาวะที่เหมาะสมนั้น จะใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 340 นาโนเมตร และความยาวคลื่นยาวแสง 450 นาโนเมตร สำหรับตัวอย่างน้ำเฒ่าที่เจือจาง 100 เท่า ขณะที่ใช้ความยาวคลื่นกระตุ้น 390 นาโนเมตร และความยาวคลื่น 460 นาโนเมตร สำหรับสารละลายเพลารโกนิน ไดศึกษาผลของค่าพีเอช (pH 1-11) ของสารละลายน้ำเฒ่าที่มีต่อ ความเข้มแสงฟลูออเรสเซนซ์เช่นกัน พบว่า ให้ความเข้มแสงสูงสุดเมื่อใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 6 กราฟมาตรฐานของสารละลายเพลารโกนินในช่วงความเข้มข้น 2.0-10.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สมการเส้นตรงคือ $y = 66.076x + 121.33$ และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.9906 ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด 0.93 มิลลิกรัมต่อลิตรและขีดจำกัดต่ำสุดของการหาปริมาณ 3.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร้อยละการคืนกลับของวิธีอยู่ในช่วง 79.65-90.45 จากนั้นจึงประยุกต์ใช้หาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเฒ่าจากแหล่งผลิตต่างกัน 5 ชนิด พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 305.60-347.13 มิลลิกรัมต่อลิตรได้แก่ น้ำเฒ่าหลวงภูพาน (347.13+14.67 mg/L) น้ำเฒ่าไทรทอง (341.10+22.99 mg/L) น้ำเฒ่าช้างพลึงสอง (321.43+26.54 mg/L) น้ำเฒ่าโคกศรีสุพรรณ (336.77+12.82 mg/L) และน้ำเฒ่าจากชัยภูมิ (305.60+29.58 mg/L) (ศศิธร อุดชาชน และ ศักดิ์สิทธิ์ จันทรไทย, 2558)

และในปีเดียวกัน เหมือนขวัญ กงนอก (2556) ก็ได้ทำการศึกษาแอนโทไซยานินเป็นสารที่มีความไม่คงตัวต่อปัจจัยด้านพีเอชและอุณหภูมิมีกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา การศึกษาการใช้วิธีการโคพิกเมนเทนซ์เพื่อเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากกระเจี๊ยบแดงและดอกอัญชัน เพื่อปรับปรุงความคงตัวของสารสกัดแอนโทไซยานินจากกระเจี๊ยบแดงโดยใช้สารฟีนอลิก (Phenolic) บริสุทธิ์ (กรดคาเฟอิก กรดแกลลิก และกรดเฟอร์ูลิก)

ในปี 2558 ชนนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล (2558) ได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) รวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ โดยการเตรียมสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่ด้วยกรดไฮโดรคลอริก 1 % ใน เอ-ทานอล 95 % ได้ร้อยละผลผลิต คือ 7.67 ± 0.5 ของน้ำหนักผลสด สารสกัดที่ได้มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว สีแดงเข้ม มีความเป็นกรด-เบส

เท่ากับ 4.82 ± 0.05 มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 115.74 ± 6.01 มิลลิกรัมไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตรของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่

พริยา พัฒนามงคล (2559) ได้ศึกษางานวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สเปรย์เปลี่ยนสีที่มีส่วนผสมของสารสกัดมะเขือสุกกระยะสุดท้าย ที่มีสีแดงจนถึงสีดำ ด้วยวิธีการหมักแช่ โดยการสกัดมะเขือสุกแช่ด้วยตัวทำละลาย 95% เอทานอลผสมกับกรดไฮโดรคลอริก 1% เพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ได้สารสกัดมะเขือเป็นสีดำแดงที่มีปริมาณผลผลิต $6.48 \pm 0.05\%$ ปริมาณแอนโทไซยานินรวม 0.65 ± 0.11 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร แอนโทไซยานินเป็นสารรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (Water-soluble pigment) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนไปตามสภาพความเป็นกรด-เบส โดยที่มีสีน้ำเงินในสภาวะที่เป็นเบส ($\text{pH} > 7$) มีสีม่วงในสภาวะที่เป็นกลาง ($\text{pH} = 7$) และมีสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด ($\text{pH} < 7$) ในการสกัดแอนโทไซยานินสามารถใช้ตัวทำละลายได้หลายชนิด เช่น เมทานอล (Methanol), แอซีโตน (Acetone) เอทานอล (Ethanol) และน้ำ (Water) โดยในการสกัดเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ให้สารสกัดมากที่สุด แต่เนื่องจากเมทานอลมีความเป็นพิษ จึงใช้เอทานอลในการสกัดเนื่องจากมีความเหมาะสมสำหรับการใช้กับอาหาร

ศุภธิดา พิมพ์สินธ์ และคณะ (2561) ได้ศึกษาและทำการประเมินค่าสีและรงควัตถุและกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกไม้ที่รับประทานได้กลุ่มสีแดงชมพูของไทย โดยการศึกษาที่มีการศึกษาดอกไม้จำนวน 3 รูปแบบ คือ ดอกไม้สด ดอกไม้ที่ทำการอบแห้ง และดอกไม้ที่ทำการบดผง พบว่า การอบแห้งทำให้ค่าความเป็นสีแดง (a^*) ปริมาณเบต้าไซยานิน (Betacyanin) แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic) ทั้งหมดและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของดอกไม้อบแห้งและผงดอกไม้มีค่าการลดลงเมื่อเทียบกับดอกไม้สด เนื่องจากการอบแห้งความร้อนจากการอบแห้งมีผลทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงลักษณะผิวหน้าของดอกไม้ การอบแห้งด้วยลมร้อนจะทำให้ความร้อนเกิดการถ่ายเทไปยังผิวของดอกไม้ทำให้น้ำในดอกไม้เกิดการระเหย จึงทำให้ดอกไม้เกิดการหดตัวและเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี

และ ประไพพิศ อินเสน (2561) ผลมะม่วงสุกจะมีสาร แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ซึ่งเป็นสารที่มีสีม่วงแดงถึงม่วงเข้ม สารในกลุ่มแอนโทไซยานิน ได้แก่ Cyanidin-3-sophoroside, Delphinin-3-sambubioside และ Pelargonidin-3-malonyl glucoside สารกลุ่มนี้มีฤทธิ์ต้านการตายแบบอะพอพโทซิส (anti-apoptosis), ด้านการอักเสบของเอพิทีเรียลเซลล์ ด้านอนุมูลอิสระยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคไซด์ จากรายงานพบว่า Delphinidin-3-sambubioside-5-rhamnoside และ Delphinidin ในมะม่วงสามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้

การศึกษาผลของสารสกัดฟีนอลิก (Phenolic) จากเมล็ดมะเขือเป็นสารโคพิกเมนต์ต่อความเป็นกรดเป็นด่าง สารสกัดแอนโทไซยานินทำปฏิกิริยาโคพิกเมนต์กับสารสกัดฟีนอลิกโดยอัตราส่วนโมลาร์ของแอนโทไซยานินต่อสารโคพิกเมนต์คือ 1:10 (ควบคุม) , 1:15 , 1:10 และ 1:15

ในสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 3, 5 และ 7 โดยให้ความร้อนที่ 70, 80 และ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที (ณิกุล เทียนไทย และคณะ, 2562)

และในปีเดียวกัน ปริญญช ศรีนิลทา (2562) พัฒนาลิปปาล์มที่มีส่วนผสมของสารโกจิเบอร์รี่ (Goji berry) โดยการเตรียมสารสกัดโกจิเบอร์รี่ ด้วยทำตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดคือ 95% เอทานอล (Ethanol), เมทานอล (Methanol) และน้ำ (Water) ปราศจากไอออน ในการทดลองนำสารสกัดโกจิเบอร์รี่ต่อตัวทำละลาย 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตร ทำการเขย่าด้วยเครื่องเขย่าเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แรงในการเขย่าเท่ากับ 150 rpm และกรองกากออก จากนั้นทำไประเหยด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน

ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหมากเฒ่าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในสัตว์ปีก หมากเฒ่ามีผลที่สูงเป็นสีม่วงแดงเข้ม ซึ่งเป็นสีของสารรงควัตถุ (Anthocyanin) มีกรดอะมิโน (Amino Acid) ที่ร่างกายต้องการจำนวนมาก อีกทั้งยังมีแคลเซียม เหล็ก สังกะสีและวิตามินต่าง ๆ ที่ช่วยต้านอนุมูลอิสระเป็นอย่างดี (สุขุมารณ์ ศรีเฟด็จ และอรรณพ ศรีโสภา, 2564)



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Metter Toledo, Thailand)
- 3.1.2 เครื่อง Water Bath (Mettmert, Germany)
- 3.1.3 เครื่องปั่นผสมพีชตัวอย่าง รุ่น HR2115 (Philips)
- 3.1.4 เครื่อง Filter Suction
- 3.1.5 เครื่อง Vortex Mixer รุ่น G560E (Scientific Industries, USA)
- 3.1.6 เครื่อง Hot Air Oven (Mettmert, Germany)
- 3.1.7 เครื่อง Uv-Vis Spectrophotometer (thermos Fisher Scientific, USA)
- 3.1.8 เครื่องวัดพีเอช รุ่น SP2100 (Suntex, Malaysia)
- 3.1.9 เครื่อง Hot Plate (Labtech, USA)
- 3.1.10 เครื่องดูดจ่ายสารละลาย Micropipette
- 3.1.11 เครื่องวัดสี Colorimeter
- 3.1.12 เครื่องระเหยสารแบบหมุน Rotary Evaporator
- 3.1.13 เครื่องวัดความหนืด Viscometer
- 3.1.14 เครื่องปั่นเหวี่ยง Centrifuge รุ่น Model 3591 (Thermo Electron corporation, USA)

3.2 วัตถุดิบและสารเคมี

- 3.2.1 Ethanol 95% (INCI : Alcohol)
- 3.2.2 DPPH 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (Sigma, USA)
- 3.2.3 KCl (INCI : Potassium Chloride)
- 3.2.4 CH₃COONA (INCI : Sodium Acetate)
- 3.2.5 CONC. HCl (INCI : Hydrochloric Acid)

3.2.6 DI Water (INCI : Water (Aqua))

3.2.7 Propylene Glycol

3.2.8 Ascorbic Acid

3.2.9 Ferulic Acid

3.2.10 Triethanolamine (TEA 99%)

3.2.11 Aristoflex AVC (INCI : Ammonium Acryloyldimethyltaurate/VP Copolymer)

3.2.12 Glycerin

3.2.13 Isopropyl Myristate

3.2.14 Shea Butter (INCI : Butyrospermum Parkii (Shea) Butter)

3.2.15 Glyceryl Stearate (and) PEG-100 Stearate

3.2.16 Cetearyl Alcohol

3.2.17 Vitamin E (INCI : Tocopherol)

3.2.18 Liquid germall plus (INCI : Propylene Glycol (and) Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butylcarbamate)

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.3.1 เตรียมตัวอย่างผลมะเมี

เก็บตัวอย่างผลมะเมีจากจังหวัดสกลนคร เดือนกันยายน 2565 จากนั้นนำมาล้างทำความสะอาด เลือกเฉพาะผลที่สุกก่อน (ลักษณะของผลจะมีสีม่วงอมแดงและแดง) นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิติดลบ 20 องศาเซลเซียส

3.3.2 เตรียมแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเมี

นำผลมะเมีที่ได้นำไปแช่ที่อุณหภูมิติดลบ 20 องศาเซลเซียส ออกมาแช่น้ำและทำการคัดเลือกเฉพาะผลสีม่วงอมแดง-แดง นำไปตากจนกว่าจะแห้ง จากนั้นนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่น เมื่อปั่นจนละเอียด นำไปหมักด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol (สุขุมารณ์ ศรีเผด็จ และอรรถพล ศรีโสภา, 2564) ในอัตราส่วน 20:1 (ตัวทำละลายต่อพืชโดยปริมาณต่อน้ำหนัก) (ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล, 2558) โดยน้ำหนักของมะเมีที่ได้นำมา คือ 12.50 กรัมหมักแช่ด้วย 95% Ethanol 250.00 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาและวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 120 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำไปกรองด้วยอุปกรณ์การกรอง และนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) ทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้นนำสารสกัดจากผลมะเมีไปเก็บในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อ

นำไปใช้ในขั้นตอนถัดไป โดยปริมาณร้อยละของผลผลิต (yield) ของแอนโทไซยานินจากผลมะเมาะคำนวณได้จากสมการนี้

$$\text{Yield (\%)} = \frac{\text{Crude anthocyanin weight (g)}}{\text{Raw material weight (g)}} \times 100$$

3.3.3 การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเมาะ

ทดสอบโดยใช้วิธี pH Differential ดัดแปลงวิธีของ Wrolsted (1976) โดยการนำสารละลายสารสกัดมะเมาะ จำนวน 11 มิลลิกรัม ละลายในน้ำปริมาตร 1.1 มิลลิลิตร (นำไปเจือจาง 10 เท่า) ผสมให้สารเข้ากันด้วยเครื่อง Vortex จนมีความเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรและ 700 นาโนเมตร การแสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมของแอนโทไซยานินรวมต่อลิตรของสารละลาย ทำการวัดอย่างน้อย 3 ครั้งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย (ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล, 2558)

3.1.3.1 วิธีการเตรียมบัฟเฟอร์ที่ pH 1.00 และ pH 4.50

1. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 1.00 เตรียมได้โดย นำ CH_3COONa น้ำหนัก 2.72 กรัม นำไปปรับปริมาณด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชด้วยการเติม conc. HCl จนได้พีเอชที่ต้องการ

2. สารละลายบัฟเฟอร์ที่ pH 4.50 เตรียมได้โดย นำ CH_3COONa น้ำหนัก 2.72 กรัม นำไปปรับปริมาณด้วยน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร แล้วปรับพีเอชด้วยการเติม conc. HCl จนได้พีเอชที่ต้องการ

จากนั้นนำไปเขย่าผสมด้วยเครื่อง Vortex จนสารละลายเข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Visible ที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำเพื่อนำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาขั้นตอนถัดไป ดังสมการ

$$\text{Total Anthocyanin } \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \frac{A \times M \times \text{DF} \times 1000}{\epsilon \times l}$$

กำหนดให้ค่าต่างๆในสมการดังต่อไปนี้

A = (Absorbance ที่ pH 1.00) - (Absorbance ที่ pH 4.50)

หรือ $(A_{520} - A_{700})_{\text{pH}1.00} - (A_{520} - A_{700})_{\text{pH}4.50}$

MW = น้ำหนักโมเลกุลของแอนโทไซยานิน

DF = Dillution Factor (ค่าการเจือจาง)

- ϵ = ค่าการดูดกลืนแสงจำเพาะของ Cyanidin-3-Glucoside (26,900 L/mol*cm)
- l = ความยาวของ cuvette (โดยทั่วไปเท่ากับ 1 cm)

3.3.4 การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า

การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า จากงานวิจัยจะละลายได้ดีใน น้ำ เอทานอล และอะซีโตน (Hock et al., 2017) วิธีการทดลองการนำสารสกัดจากผลมะเเฒ่าในปริมาณ เท่ากันไปละลายในตัวทำละลายในปริมาณที่เท่ากัน เพื่อเปรียบเทียบคุณสมบัติการละลาย โดยตัวทำ ละลายที่ได้ทำการศึกษา คือ Water, 95% Ethanol และ PG (propylene Glycol) ทำการ เปรียบเทียบการละลายของสารสกัดจากผลมะเเฒ่าด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

3.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ดัดแปลงจากวิธีการของ (Williams et al., 1995) คือ วิธีการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl assay) คืออนุมูลอิสระดีฟิฟิเอซ (DPPH) เป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัวและมีสีม่วงเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านออกซิเดชันที่ละลายด้วยเอทานอล จะ ทำให้สีม่วงจางลงกลายเป็นสีเหลือง ซึ่งสามารถทดสอบได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง UV-Vis Spectrophotometer ทำการเตรียมสารละลายดีฟิฟิเอซ ทำการชั่งดีฟิฟิเอซน้ำหนัก 0.0079 กรัม เติมสารละลาย 95% Ethanol ปริมาณ 80 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปรับปริมาตรใน ขวดปรับปริมาตรให้มีปริมาณ 100 มิลลิลิตร และทำการเตรียมสารละลายกรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid) ซึ่งกรดแอสคอร์บิกจำนวน 2 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 8 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันแล้วนำไป ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรให้มีปริมาณ 10 มิลลิลิตร เตรียมสารสกัดจากผลมะเเฒ่าให้มีความ เข้มข้นอยู่ในช่วง 0.10-0.40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เตรียมสารสกัดจากมะเเฒ่าน้ำหนัก 20 มิลลิกรัม ละลายด้วย 95% Ethanol ปรับปริมาณจนได้ 10 มิลลิลิตร สารสกัดจากผลมะเเฒ่าที่เตรียมมีความ เข้มข้นเท่ากับ 2 mg/mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว คลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งดังสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \times 100$$

กำหนดให้ A_{control} คือ การดูดกลืนแสงในกลุ่มควบคุม และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงใน กลุ่มตัวอย่างของสารสกัดที่นำมาศึกษา สร้างกราฟเปอร์เซ็นต์การยับยั้งและความเข้มข้นของสาร อนุมูลอิสระ เพื่อหาค่า 50% Inhibition หรือค่า IC_{50}

3.3.6 การศึกษาผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมี

การศึกษาผลของค่าพีเอชที่แตกต่างกันที่ส่งผลต่อค่าความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมี เนื่องจากในสารสกัดจากผลมะเมีมีแอนโทไซยานินเป็นองค์ประกอบซึ่งมีคุณสมบัติการเปลี่ยนสีตามค่าพีเอช (Bianca et al., 2021) การศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินส่งผลต่อความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมี เนื่องจากแอนโทไซยานินมีคุณสมบัติการเปลี่ยนสีตามค่าพีเอชด้วยวิธีการ Scan UV-Visible Spectrophotometer หรือ Scan UV ที่ช่วงความยาวคลื่น 200 ถึง 700 นาโนเมตร หรือเรียกว่า full scan เป็นวิธีที่นิยมเพื่อให้ดูการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินภายใต้สภาวะกรด-เบส โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา คือ DI water โดยการเตรียม

3.3.6.1 สารตัวอย่างที่ 1 คือ สารสกัดจากผลมะเมีปริมาณ 20.00 มิลลิกรัมนำไปละลายในน้ำปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรจนได้ 10.00 มิลลิลิตร

3.3.6.2 สารตัวอย่างที่ 2 คือ สารสกัดจากผลมะเมีปริมาณ 20.00 มิลลิกรัมนำไปละลายในน้ำปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรจนได้ 10.00 มิลลิลิตร นำมาปรับค่า pH ด้วย Triethanolamine (TEA 99%) จนได้พีเอชเท่ากับ 6.50

3.3.6.3 ตัวอย่างที่ 3 สารสกัดจากผลมะเมีปริมาณ 20.00 มิลลิกรัมละลายในน้ำ ที่ได้ทำการโคพิกเมนต์ด้วยกรดเพอรูลิกในอัตราส่วน 1:5 (สารสกัดจากผลมะเมี : กรดเพอรูลิก) ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตรจนได้ 10.00 มิลลิลิตร นำมาปรับค่า pH ด้วย Triethanolamine (TEA 99%) จนได้พีเอชเท่ากับ 6.50

นำไปตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำมาเปรียบเทียบความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมี เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของสีในวันที่ 1 และวันที่ 15 โดยทำการเก็บรักษาไว้ในที่มืด ทำการวัดค่าการเปลี่ยนแปลงด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter

3.3.7 การศึกษาค่าความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมีในสูตรอิมัลชันที่มีกรดเพอรูลิกเป็นองค์ประกอบ

การศึกษาค่าความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมีในสูตรอิมัลชันที่มีกรดเพอรูลิกเป็นองค์ประกอบ ทำการทดสอบด้วยสูตรอิมัลชัน O/W ทั้ง 3 แบบ แบบที่ 1 คือ สูตรอิมัลชัน O/W แบบที่ 2 คือ สูตรอิมัลชัน O/W และสารสกัดจากผลมะเมีคำนวณมาจากการศึกษาที่ 3.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และแบบที่ 3 สูตรอิมัลชัน O/W กับสารสกัดจากผลมะเมีที่คำนวณมาจากการศึกษาที่ 3.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับกรดเพอรูลิก (ปริมาณคำนวณการทฤษฎีการโคพิกเมนต์สารสกัดจากผลมะเมีกับกรดเพอรูลิก) ทำการทดลอง 2 ข้างปรับพีเอชให้อยู่ที่ pH 6.50 จากนั้นนำไปทดสอบค่าความคงตัวของสารที่เพื่อเร่งประเมินอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิร้อน-เย็นสลับกันเป็นจำนวน 6 ครั้ง

ตารางที่ 3.1 สูตรอิมัลชัน O/W ในการทดสอบความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมี

Part	Ingredients	%W/W		
		FB	FM	F-MF
A	Water	q.s to 100	q.s to 100	q.s to 100
	Aristoflex AVC	0.50	0.50	0.50
	Glycerin	8.00	8.00	8.00
B	Isopropy Myristatel	10.00	10.00	10.00
	Shea butter	5.00	5.00	5.00
	Glyceryl Stearate (and) PEG-100 Stearate	5.00	5.00	5.00
	Ceteary Alcohol	3.00	3.00	3.00
C	Water	-	10.00	10.00
	Mamao extract	-	0.0230	0.0230
	Ferulic Acid	-	-	0.0040
D	Vitamin E	0.10	0.10	0.10
E	Liquid germall plus (INCI : Propylene Glycol (and) Diazolidinyl Urea (and) Iodopropynyl Butycarbomate	1.00	1.00	1.00

หมายเหตุ FB คือ สูตรอิมัลชัน O/W มาตรฐาน ,FM สูตรอิมัลชัน O/W มาตรฐานและมี ส่วนประกอบของสารสกัดจากผลมะเมี และ F-MF สูตรอิมัลชัน O/W มาตรฐานมี ส่วนประกอบของสารสกัดจากผลมะเมีและกรดเฟอรูลิก

ขั้นตอนในการเตรียมสูตรอิมัลชันน้ำมันในน้ำ

1. ผสมซังสารใน Part A ในบีกเกอร์ที่ (1) ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่ 70 ถึง 75 องศา
2. ผสมซังสารใน Part B ในบีกเกอร์ที่ (2) ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่ 70 ถึง 75 องศา
3. เทสารจากบีกเกอร์ (1) Part A และบีกเกอร์ (2) Part B คนจนสารเข้ากันและเย็นลงมีอุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศา
4. เติมสารใน Part C ลงไปคนให้เข้ากัน
5. เติมสารใน Part E ลงไปคนให้เข้ากัน
6. เติมสารใน Part D ลงไปคนให้เข้ากัน
7. ทำการปรับพีเอชของครีมอิมัลชันให้มีค่าเท่ากับพีเอช 6.50

pH มีผลต่อความเสถียรภาพของอิมัลชัน และค่า pH 6–7 เป็นช่วงที่เหมาะสมมากต่อทั้งระบบอิมัลชันและ active ingredients (Aulton, 1997) ผลิตภัณฑ์ที่มี pH ใกล้เคียงกับผิว (ไม่เกิน 6.5) เป็นมิตรกับจุลินทรีย์ผิวและป้องกันการติดเชื้อ ผิวหนังของมนุษย์มีค่า pH ตามธรรมชาติอยู่ที่ประมาณ 4.5 – 6.0 เพื่อความปลอดภัยและลดการระคายเคือง โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ที่ทำเป็นบริเวณกว้างหรือใช้ในระยะเวลา บางสารออกฤทธิ์ เช่น วิตามินซี (ในรูป Ascorbic acid), กรดเฟอรูลิก (Ferulic acid) มีความเสถียรในช่วง pH ที่ไม่เป็นกรดหรือด่างเกินไป

จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ตัวอย่างไปทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เพื่อประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์เบื้องต้นว่ามีการแยกชั้นเกิดขึ้นหรือไม่ จากนั้นนำไปศึกษาวิเคราะห์ในค่าคงตัวของสี ความหนืด และลักษณะทางกายภาพ

3.3.8 การทดสอบการยืนยันผลอิมัลชันว่าเป็นสูตรอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsion)

นำครีมอิมัลชันที่ได้จากข้อ 3.3.7 ในปริมาณ 2.00 กรัม นำไปละลายด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันในปริมาตร 5.00 มิลลิลิตร เพื่อดูการละลายของครีมอิมัลชันว่าละลายในตัวทำละลายใด โดยตัวทำละลายที่ใช้ คือ น้ำ และ mineral oil (Vishal et al., 2018)

3.3.9 การรวบรวมข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของชุดการทดลองโดยใช้ DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ชุดการทดลองที่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อ $P \leq 0.05$ รายงานผลด้วยค่าเฉลี่ย standard Deviation และวิเคราะห์ Independent t-test



บทที่ 4

ผลการทดลองและการวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมตัวอย่างผลมะเเฒ่า

คัดเลือกผลมะเเฒ่าที่สุกและมีสีแดงเข้มไปถึงสีม่วงดั่งภาพประกอบ (ภาพที่ 4.1) จากนั้นนำไปล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง และนำไปไว้ในที่เย็น 4 องศาเซลเซียล



ภาพที่ 4.1 ลักษณะของผลมะเเฒ่า

4.2 ร้อยละแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า

จากการทดสอบแอนโทไซยานินที่ได้จากผลมะเเฒ่าด้วยการหาร้อยละของแอนโทไซยานินที่ได้จากการสกัดผลมะเเฒ่า ได้ปริมาณร้อยละผลผลิต (%Yield) เท่ากับ 7.60 ± 0.82 เปรียบเทียบการสกัดจากวิธีที่อ้างอิง (ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล, 2558) พบว่า การสกัดด้วย 95% Ethanol เหมาะสำหรับการสกัดแอนโทไซยานินที่มีความเข้มข้นสูง (Enriched anthocyanin) เมื่อเปรียบเทียบการสกัดด้วยทำละลายที่เท่ากันพบว่า ได้ร้อยละการผลิตที่ใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 7.67 ± 0.50 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบ

กับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่ได้มีการสกัดแอนโทไซยานินด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างกัน พบว่าหากต้องการสกัดแอนโทไซยานินจากผลมะเมีให้มียลของแอนโทไซยานินที่มากขึ้น ความเข้มข้นของตัวทำละลายจะอยู่ที่ 60-75 % (กมลวรรณ จงจิตต์ และคณะ, 2560) ซึ่งในขั้นตอนลำดับถัดไปมีการนำสารสกัดจากผลมะเมีไปพัฒนาในสูตรครีมอิมัลชันน้ำมันในน้ำ การสกัดด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงจะได้สารสกัดจากผลมะเมีที่เข้มข้นสูงลดความเสี่ยงในการเจริญของจุลินทรีย์ (สุขุมภรณ์ ศรีเพ็ญ และอรรณพ ศรีโสภา, 2564)

4.3 การวิเคราะห์ปริมาณของแอนโทไซยานินสารสกัดจากผลมะเมี

จากการทดสอบการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH Differential พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินของผลมะเมีมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 81.21 ± 0.01 mg/L เมื่อวัดในสภาวะแวดล้อมที่พีเอชบัฟเฟอร์ 1.00 และ 4.50 (ภาพที่ 4.2) ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ถึง 700 นาโนเมตร จากงานวิจัยก่อนหน้านี้ได้นำมาเป็นแนวทางในการทำวิจัย (จิรายุ มุสิก และอัมพร แซ่เอียว, 2556) มีการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินจำนวน 4 สายพันธุ์ มีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 13.70 ± 0.12 ถึง 74.53 ± 0.45 mg/L ซึ่งเมื่อเทียบกับงานวิจัยที่ได้กล่าวมาในการสกัดมะเมีด้วยตัวทำละลาย 95% Ethanol พบว่าในการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดที่ได้เตรียมมามีค่าที่ดีกว่างานวิจัยที่ได้กล่าวมาข้างต้น



ภาพที่ 4.2 แสดงสีของสารสกัดจากผลมะเมีในสภาวะแวดล้อมที่พีเอชบัฟเฟอร์ 1.00 และ 4.50 ก่อนนำไปวัดหาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH Differential ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ถึง 700 นาโนเมตร

4.4 ศึกษาคุณสมบัติการละลายสารสกัดจากผลมะเมี

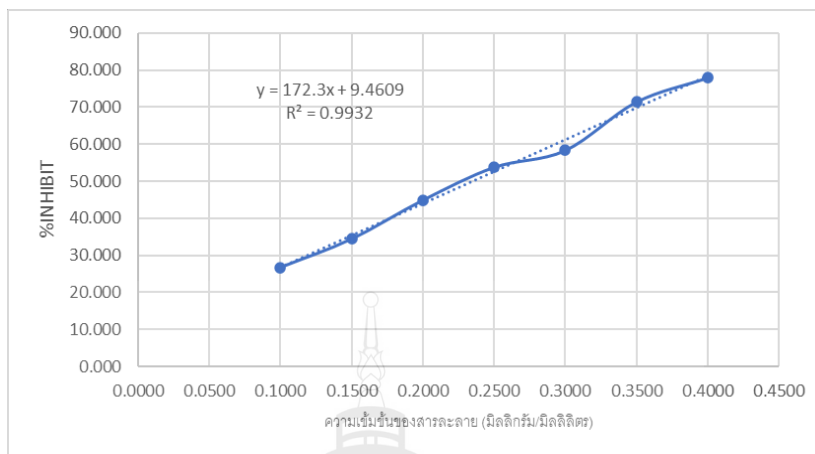
จากการทดสอบการศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเมีพบว่าสารสกัดผลมะเมีสามารถละลายได้ดีในน้ำและ 95% Ethanol (ตารางที่ 4.1) การศึกษาของ (Hock et al., 2017) แอนโทไซยานินเป็นเม็ดสีที่ละลายในน้ำ แอนโทไซยานินเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) และหมู่ที่เป็นน้ำตาลในโครงสร้าง จึงทำให้มีขั้วที่สูงมาก สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูงซึ่งก็คือน้ำและเอทานอล

ตารางที่ 4.1 แสดงคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเมีด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน

ตัวทำละลายที่นำมาทดสอบ	การละลาย	
	ละลายทันที	ละลายเมื่อผ่านไป 30 นาที
Water	/	
95% Ethanol	/	
Propylene glycol		/

4.5 ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเมี

จากการทดสอบการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH การศึกษาจากสารสกัดที่ได้จากผลมะเมี พบว่า จากผลการศึกษาจากสารสกัดจากผลมะเมีมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ $52.55 \pm 1.54\%$ ซึ่งจากค่าที่ได้เมื่อเทียบกับจากงานวิจัยก่อนหน้า (จารุวรรณ ดรเถื่อน และคณะ, 2561) เทียบที่ความเข้มข้นของตัวทำละลายสารสกัดจากผลมะเมีเท่ากัน ซึ่งงานวิจัยเป็นการศึกษาผลมะเมีจำนวน 5 สายพันธุ์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 13.15 ± 0.56 - $53.18 \pm 1.04\%$ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจึงมีค่าใกล้เคียงกัน และมีค่า IC_{50} มีค่าเท่ากับ 0.23 ± 0.01 mg/ml (ภาพที่ 4.3) ซึ่งเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่การสกัดมะเมีด้วย 95% เอทานอลพบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 36.71 ± 0.93 mg/ml เนื่องจากอัตราส่วนในการสกัดและวิธีการในการทดลองแตกต่างกัน แต่พบว่ามะเมีที่ทดสอบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่างานวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น



ภาพที่ 4.3 การศึกษาการคำนวณค่าเฉลี่ยของ IC_{50} จากการวัดการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

4.6 ผลของพีเอชที่มีต่อความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเเฒ่า

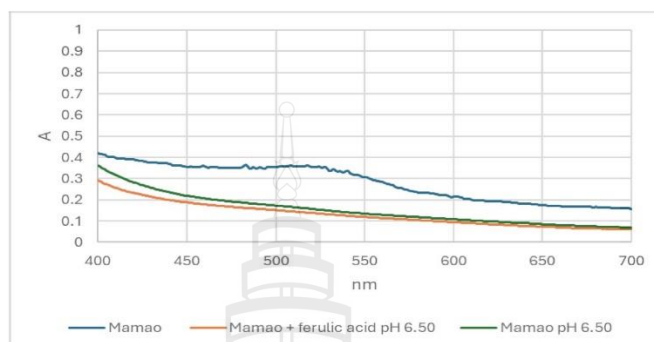
จากตารางที่ 4.3 แสดงผลการศึกษาความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเเฒ่าก่อนและหลังการทดสอบ ด้วยการนำสารละลายตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากผลมะเเฒ่าปริมาณ 20 มิลลิกรัมละลายในน้ำ 10 มิลลิตรที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร วัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่อง pH meter และ และวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter และจากการทดลองการค่าความคงตัวของสารสกัดในผลมะเเฒ่าด้วยวิธีการ UV-Visible Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตร (ปิ่นวดี ตรีตรง, 2562) พบว่า หลังจากการทดลอง 15 วัน วัดค่าของการดูดกลืนแสงและค่าพีเอช ของสารสกัดที่ทำการโคพิกเมนต์มีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยกว่าสารสกัดจากผลมะเเฒ่าที่ไม่ได้ผ่านการโคพิกเมนต์

ตารางที่ 4.2 ผลการศึกษาความคงตัวของสารสกัดที่ได้จากผลมะเมีก่อนและหลังการทดสอบ

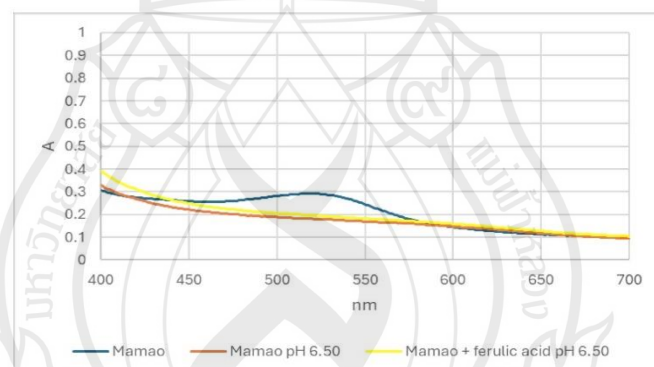
ลักษณะทางกายภาพ	สารสกัดจากผลมะเมี		สรสกัดจากผลมะเมีผ่าน การปรับพีเอชเป็น 6.50		สารสกัดจากผลมะเมีที่ทำ การโคพิกเมนต์ด้วยกรด เพอรูลิกผ่านการปรับพีเอช เป็น 6.50		
	ก่อนการ ทดสอบ	หลังการ ทดสอบ	ก่อนการ ทดสอบ	หลังการ ทดสอบ	ก่อนการ ทดสอบ	หลังการ ทดสอบ	
สี	L*	44.29±0.01	45.57±0.01	54.18±0.01	47.16±0.01	53.46±0.01	47.26±0.01
	a*	12.36±0.01	10.30±0.01	2.12±0.01	3.09±0.01	2.02±0.03	2.82±0.01
	b*	0.48±0.01	0.84±0.00	2.11±0.55	4.82±0.02	3.17±0.03	6.22±0.01
	pH	3.20±0.01	3.13±0.01	6.50±0.00	6.16±0.02	6.50±0.00	6.53±0.02
	ΔpH	-0.07±0.01		-0.34±0.01		0.03±0.01	
	517 nm	0.2920	0.3621	0.1816	0.1403	0.1976	0.1641
	ΔAbs	0.07		-0.04		-0.03	

การทดสอบการเปลี่ยนแปลงด้วยวิธีการ UV-Visible Spectrophotometer หรือ Scan UV ที่ช่วงความยาวคลื่น 200-700 นาโนเมตรก่อนและหลังทำการทดสอบ (ภาพที่ 4.4 และภาพที่ 4.5) พบว่าค่าของการเริ่มทำการทดสอบและหลังการทดสอบ รวมถึงลักษณะของสีที่ปรากฏ (ภาพที่ 4.6) มีการเปลี่ยนแปลงที่สามารถสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า การทดสอบพบการดูดกลืนแสงที่ 500-600 นาโนเมตรของสารสกัดจากผลมะเมีและพบค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบลักษณะผลที่เกิดขึ้นของสารสกัดจากผลมะเมีทั้ง 3 แบบดังนี้ ระหว่างสารสกัดจากผลมะเมีที่ไม่ผ่านการปรับ pH กับสารสกัดจากผลมะเมีที่ผ่านการปรับ pH สารสกัดจากผลมะเมีในสภาพที่เป็นกรด จะมีความเสถียรที่มากกว่าสารสกัดจากผลมะเมีที่สภาพค่าความเป็นกลาง ซึ่ง pH ที่แตกต่างกันของสารสกัดจากผลมะเมีส่งผลกับสีที่แสดงออกมา (ภาพที่ 4.6) ในส่วนของสารสกัดจากผลมะเมีที่ผ่านการปรับ pH กับสารสกัดจากผลมะเมีที่ผ่านการโคพิกเมนต์ด้วยกรดเพอรูลิกและผ่านการปรับ

pH พบว่าในช่วงความยาวคลื่น 200-300 นาโนเมตรจะเกิดพีคของกรดเฟอร์ูลิกเกิดขึ้น ซึ่งแสดงว่าในการเติมกรดเฟอร์ูลิกเข้าไปมีการเกิดปฏิกิริยาร่วมกันกับสารสกัดจากผลมะเมา



ภาพที่ 4.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีการ Scan UV-Visible Spectrophotometer ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ของก่อนเริ่มการทดสอบ



ภาพที่ 4.5 แสดงค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธีการ Scan UV-Visible Spectrophotometer ช่วงความยาวคลื่น 400-700 นาโนเมตร ของสารหลังทำการทดสอบ



ก่อนการ
ทดสอบ



หลังการ
ทดสอบ

ภาพที่ 4.6 แสดงค่าพีเอชที่ต่างกันในสภาวะกรด-เบสส่งผลต่อสีที่แสดงออกของสารสกัดจากผลมะเมาะก่อนการทดสอบและหลังการทดสอบ

4.7 ศึกษาความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมาะในสูตรอิมัลชัน O/W ที่มีกรดเพอรูลิกเป็นองค์ประกอบ

จากการทดสอบค่าความคงตัวของสารสกัดจากผลมะเมาะ ทำการทดสอบด้วยสูตรอิมัลชัน O/W ทั้ง 3 แบบ (ภาพที่ 4.7) ผลทดสอบ (ตารางที่ 4.4) แบบที่ 1 คือ FB สูตรอิมัลชัน O/W แบบที่ 2 คือ FM สูตรอิมัลชัน O/W และสารสกัดจากผลมะเมาะที่คำนวณมาจากการศึกษาที่ 3.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และแบบที่ 3 คือ F-MF สูตรอิมัลชัน O/W และสารสกัดจากผลมะเมาะที่คำนวณมาจากการศึกษาที่ 3.3.5 การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่มีกรดเพอรูลิก (ปริมาณคำนวณการทฤษฎีการโคพิกเมนต์สารสกัดจากผลมะเมาะกับกรดเพอรูลิก) ปรับพีเอชให้อยู่ที่ pH 6.50 นำไปปั่นเหวี่ยง (centrifugation test) ที่ 3000 rpm เป็นเวลา 30 นาทีเพื่อดูว่าเสถียรภาพของอิมัลชันไม่เกิดการแยกชั้น วัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี Colorimeter ในตัวอย่างทั้ง 3 แบบ และวัดค่าความหนืดของผลิตภัณฑ์ด้วยเครื่อง เครื่องวัดความหนืด Viscometer และทดสอบทางด้านกายภาพในด้านต่างๆ หลังจากนั้นเก็บตัวอย่างไว้ในสภาวะร้อนสลับเย็นจำนวน 6 รอบเพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงเบื้องต้น



สูตร FB

สูตร FM

สูตร F-FM

ภาพที่ 4.7 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในสูตรอิมัลชัน O/W

ตารางที่ 4.3 การศึกษาความคงตัวและลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน O/W ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่สภาวะร้อน-เย็น

		FB		FM		F-MF	
ลักษณะทางกายภาพ		ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ
สี	L*	75.99±1.54	76.52±0.23	81.63±2.89	82.68±1.25	83.86±1.34	82.18±0.04
	a*	-0.23±0.04	-0.21±0.02	-0.41±0.05	-0.37±0.06	-0.21±0.02	-0.51±0.03
	b*	-1.75±0.04	-1.10±0.38	-1.77±0.41	-0.65±0.15	-1.55±0.38	-1.19±0.79
pH		6.50±0.00	5.07±0.04	6.50±0.00	4.99±0.02	6.50±0.00	6.02±0.02
ΔpH		1.43 ±0.02		1.51±0.01		0.48±0.01	
ความหนืด		6421±10.86	6372±17.79	6452±13.10	6362±8.21	6422±10.10	6408±5.23
		cP	cP	cP	cP	cP	cP
ลักษณะสี		สีขาว	สีขาว	สีขาว	สีขาว	สีขาว	สีขาว

ตารางที่ 4.3 การศึกษาความคงตัวและลักษณะทางกายภาพของอิมัลชัน O/W ก่อนและหลังการทดสอบความคงตัวที่สภาวะร้อน-เย็น (ต่อ)

ลักษณะทางกายภาพ	FB		FM		F-MF	
	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ	ก่อนการทดสอบ	หลังการทดสอบ
กลิ่น	กลิ่นธรรมชาติ	กลิ่นธรรมชาติ	กลิ่นธรรมชาติ	กลิ่นธรรมชาติ	กลิ่นธรรมชาติ	กลิ่นธรรมชาติ
การแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น	ไม่พบการแยกชั้น

ในการทดสอบไม่พบการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์อิมัลชันทั้ง 3 แบบ ด้วยการปั่นเหวี่ยง จากค่าในตารางที่ 4.4 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชหลังทำการทดสอบ กรดเพอริลิกที่สามารถช่วยเพิ่มความเสถียรให้กับสารสกัดจากผลมะเมีได้

4.8 การยืนยันผลอิมัลชันว่าเป็นสูตรอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W Emulsion)

จากการทดสอบเพื่อยืนยันชนิดของครีมอิมัลชันด้วยวิธีการนำตัวอย่างไปทดสอบด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน Dilution Test (การเจือจาง) เติมน้ำและน้ำมันลงในอิมัลชันเล็กน้อย แล้วเขย่าเบาๆ พบว่าอิมัลชันสามารถละลายได้ดีในน้ำ จึงสามารถยืนยันได้ว่าอิมัลชันที่ได้เป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ



ภาพที่ 4.8 ภาพการทดสอบชนิดของอิมัลชันด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน Dilution Test
(การเจือจาง)



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

สารสกัดจากผลมะเมาะถูกเตรียมโดยการหมักผลมะเมาะสดกับตัวทำละลายเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 20:1 (v/w) เป็นเวลา 120 นาทีในที่มืด จากนั้นทำการระเหยตัวทำละลายออกจนหมด ได้สารสกัดในปริมาณร้อยละผลผลิตเท่ากับ $7.60 \pm 0.82\%$ การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH Differential พบว่า มีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 81.21 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อลิตร การทดสอบความสามารถในการละลายของสารสกัดจากผลมะเมาะในตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำ, เอทานอล 95% และโพรพิลีนไกลคอล พบว่าสารสกัดจากผลมะเมาะสามารถละลายได้ในทุกตัวทำละลาย โดยน้ำและเอทานอลให้การละลายได้รวดเร็วกว่าตัวทำละลายอื่น การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH พบค่า IC_{50} เท่ากับ 0.23 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งชี้บ่งถึงศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระในระดับดี การศึกษาความคงตัวของแอนโทไซยานินสภาวะค่า pH ต่าง ๆ พบว่าแอนโทไซยานินมีความเสถียรสูงในสภาวะกรด และมีแนวโน้มลดลงเมื่อค่า pH สูงขึ้น การโคพิกเมนต์ร่วมกับกรดเพอรูติกในอัตราส่วน 1:5 ช่วยเพิ่มความเสถียรของแอนโทไซยานินในสภาวะ pH 6.5

ในส่วนของการพัฒนาครีมอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W) ที่มีส่วนสารสกัดจากผลมะเมาะเป็นองค์ประกอบ พบว่าสูตรที่มีการโคพิกเมนต์ด้วยกรดเพอรูติกมีค่าพีเอชที่เสถียรที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงของสีต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับสูตรควบคุมอื่น ๆ นอกจากนี้ การทดสอบความคงตัวทางกายภาพเบื้องต้นของด้วยการปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 30 นาที ไม่พบการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์ แสดงถึงเสถียรภาพของระบบอิมัลชันที่พัฒนาขึ้นอย่างเหมาะสมและมีศักยภาพสำหรับการพัฒนาต่อในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากธรรมชาติ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรวางแผนการเก็บตัวอย่างล่วงหน้า เนื่องจากผลมะเมาะเป็นผลไม้ตามฤดูกาล และควรคัดเลือกผลที่มีความสุกสม่ำเสมอ ตั้งแต่สีแดงเข้มจนถึงสีม่วง

5.2.2 ควรดำเนินการทดสอบความปลอดภัยและประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัคร หากมีการวิจัยต่อไปในอนาคต

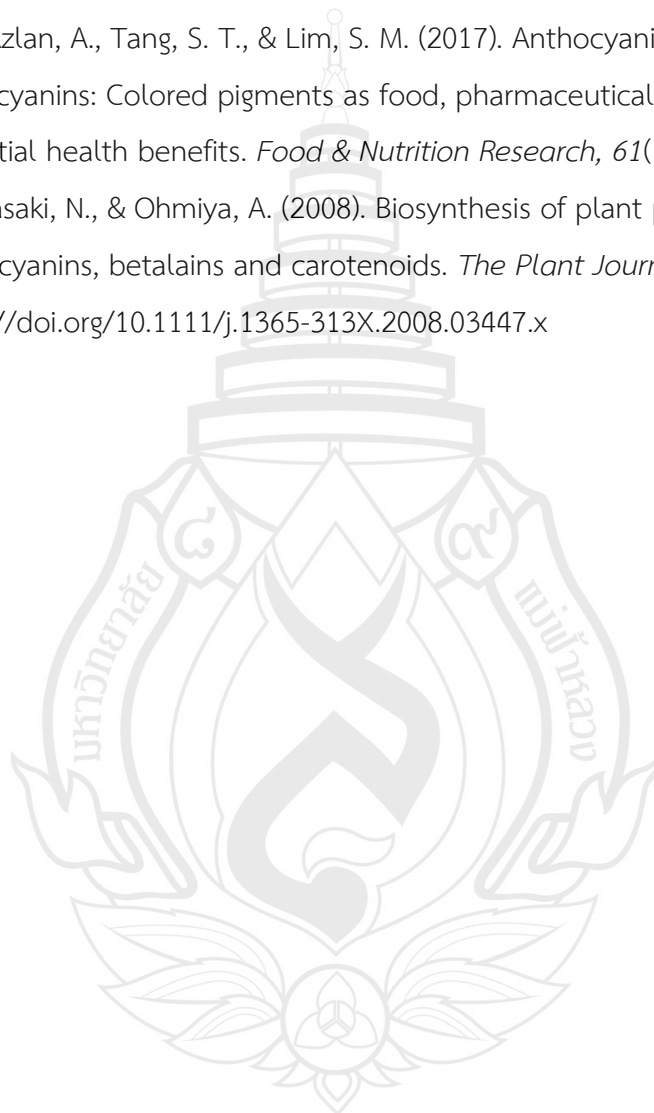


รายการอ้างอิง

- กมลวรรณ จงจิตต์, จารุวรรณ ดรเถื่อน, จตุพร ประทุมเทศ, ปาริฉัตร แก้วคำจันทร์, และ
 ประกายรัตน์ กาลสุข. (2560). การวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระสารประกอบ
 ฟีนอลิกทั้งหมดและการตั้งตำรับครีมบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดหมากเฒ่า. *วารสาร
 เภสัชศาสตร์อีสาน*, 23(ฉบับพิเศษ), 209-218.
- จารุวรรณ ดรเถื่อน, อัมพร ภูศรีฐาน และพิเชษฐ เทบ่ารุ่ง. (2561). การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้าน
 อนุมูลอิสระและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในผลเฒ่า (*Antidesma* sp.). *แก่นเกษตร*, 46
 (ฉบับพิเศษ 1), 363-368.
- จิรายุ มุสิกกา และอัมพร แซ่เอียว. (2556). ผลของสีและสายพันธุ์ของผลหมากเฒ่าต่อสมบัติทาง
 กายภาพ เคมี และสารเชิงสุขภาพ (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต).
 มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 392-400.
- ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล. (2558). การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินรวมและฤทธิ์ต้าน
 อนุมูลอิสระของสารสกัดมะม่วงหาวมะนาวโห่. (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตร
 มหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ณิซกุล เทียนไทย, จตุรภัทร วาฤทธิ์, นักรบ นาคประสม และกาญจนา นาคประสม. (2562).
 การเพิ่มความคงตัวของแอนโทไซยานินจากกระชายดำโดยใช้วิธีโคฟิเคเมนเทน.
วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 28(10), 1834-1844.
<https://doi.org/10.14456/tstj.2020.146>
- บุญเสริม วัฒนกิจ. (2559). สามบททางธรรมชาติ: รหัสคุณภาพธรรมชาติ โดยการบูรณาการภูมิ
 ปัญญาท้องถิ่นและเทคโนโลยีสะอาดสู่การสร้างสรรค์ทางศิลปศึกษา (วิทยานิพนธ์ปริญญา
 ศิลปศาสตรมหาบัณฑิต). มหาลัษณบูรพา.
- ประไพพิศ อินเสน. (2561). การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รี่ไทย. *วารสาร
 วิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเซีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 12(2), 69-82
- ปริญญ ชรีนินทา. (2562). การพัฒนาลิปบาล์มที่มีสารสกัดโกจิเบอร์รี่ (การค้นคว้าอิสระปริญญา
 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- ปิ่นวดี ตริตตรง. (2562). การพัฒนาแฮร์คุซันที่มีส่วนผสมของสารสกัดมะขามป้อม (การค้นคว้าอิสระ
 ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- พริยา พิพัฒนามงคล. (2559). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสีที่มีส่วนผสมของสารมะเกี๋ยง.
 (การค้นคว้าอิสระปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

- วิไลศรี ลิ้มปวยอม, อัญชลี ชาวนา และพรทิพย์ เพ็งจันทร์. (ม.ป.ป.). *การพัฒนาเทคโนโลยีการแปรรูปมะม่วงเพื่อสร้างผลิตภัณฑ์ให้เป็นสินค้าเฉพาะถิ่น*. สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร, กรมวิชาการเกษตร. สืบค้นจาก <https://www.doa.go.th>
- ศุภจิตา พิมพิสนธ์, ปาริสุทธิ์ เฉลิมชัยวัฒน์ และทัศนีย์ ถิ่นสุวรรณ. (2561). การประเมินค่าสีรงควัตถุ และกิจกรรมสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกไม้รับประทานได้กลุ่มสีแดงชมพูของไทยและการประยุกต์ใช้ในซอร์เบตน้ำมันมะพร้าว. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. 28(3). 429-442. <https://doi.org/10.14456/tstj.2020.35>
- ศศิธร อุดชาชน และศักดิ์สิทธิ์ จันทร์ไทย. (2558). การหาปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำเมาโดยสเปกโตรฟลูออโรโฟโตเมทรี. *วารสารงานวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น*. 15(2). 39-46.
- สุขุมารณ์ ศรีเผด็จ และอรรถพล ศรีโสภะ. (2564). ประสิทธิภาพสารสกัดหามา (Antidesma spp.) ในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในสัตว์ปีก. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี(วท.)*, 29(5), 828-837. <https://doi.org/10.14456/tstj.2021.70>
- เหมือนขวัญ กนกนอก. (2556) *การใช้วิธีโคพิกเมนต์เทชั่นเพื่อเพิ่มความคงตัวของรงควัตถุจากกระเจี๊ยบแดงและอัญชัน* (วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, 3(6), 26–33.
- Aulton, G. (1997). Functions of emulsifiers in formulations. *International Journal of Cosmetic Science*, 19(4), 287–303.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Enaru, B., Dretcanu, G., Pop, T. D., Stanila, A., & Diaconeasa, Z. (2021). Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. *Antioxidants*, 10(10), 1967. <https://doi.org/10.3390/antiox10121967>
- Lad, V., Suryawanshi, C., Jadhav, N., Wagh, V., Sinnhal, A., Bhoi, G., & Shastri, V. (2018). Formulation and evaluation of vanishing herbal cream of crude drugs. *Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05(05), 4121–4128. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1253707>

- Lakshmikanthan, M., Muthu, S., Krishnan, K., Altemimi, A. B., Haider, N. N., Govindan, L., & Francis, Y. M. (2024). A comprehensive review on anthocyanin-rich foods: Insights into extraction medicinal potential, and sustainable applications. *Journal of Agriculture and Food Research*, 17, 101245.
<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2024.101245>
- Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779.
- Tanaka, Y., Sasaki, N., & Ohmiya, A. (2008). Biosynthesis of plant pigments: Anthocyanins, betalains and carotenoids. *The Plant Journal*, 54(4), 733–749.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03447.x>



ภาคผนวก ก

การเตรียมแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเมี

ตารางที่ ก1 ผลจากการทดลองการหาสารสกัดจากผลมะเมี สกัดด้วย 95 % เอทานอล

ลำดับ ที่	น้ำหนักขวด แรกเริ่ม	น้ำหนักขวดหลังจากการ ระเหยตัวทำละลาย	ปริมาณสาร แอนโทไซยานิน	%YIELD	SD
1	84.6842	85.6325	0.9483	7.5864	
2	79.1432	80.1155	1.0523	8.4184	0.8153
3	48.5163	49.3648	0.8485	6.788	
ร้อยละผลผลิตที่ได้กลับมาเท่ากับ เท่ากับ 7.5976 ±0.82					

การคำนวณร้อยละสารสกัดจากผลมะเมี % yield

นำผลมะเมีไปหมักด้วยตัวทำละลาย 95% Ethnaol ในอัตราส่วน 20:1 (ตัวทำละลายต่อพืชโดยปริมาณต่อน้ำหนัก) (ชนานันท์ สุวรรณปิฎกกุล, 2558) โดยน้ำหนักของผลมะเมีที่ได้นำมาคือ 12.50 กรัมหมักแช่ด้วย 95% Ethanol 250.00 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาและวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 120 นาที

การคำนวณร้อยละสารสกัดจากผลมะเมี % yield ครั้งที่ 1

$$\begin{aligned}
 \text{จาก} \quad \% \text{yield} &= (\text{crude anthocyanin weight (g)}/\text{raw material weight (g)}) \times 100 \\
 &= (0.9483/12.50) \times 100 \\
 &= 7.5864
 \end{aligned}$$

การคำนวณร้อยละสารสกัดจากผลมะเมี % yield ครั้งที่ 2

$$\begin{aligned}
 \text{จาก} \quad \% \text{yield} &= (\text{crude anthocyanin weight (g)}/\text{raw material weight (g)}) \times 100 \\
 &= (1.0523/12.50) \times 100 \\
 &= 8.4184
 \end{aligned}$$

การคำนวณร้อยละสารสกัดจากผลมะเมี๊ยะ % yield ครั้งที่ 3

จาก
$$\begin{aligned}\% \text{yield} &= (\text{crude anthocyanin weight (g)} / \text{raw material weight (g)}) \times 100 \\ &= (0.8485 / 12.50) \times 100 \\ &= 6.7880\end{aligned}$$



ภาคผนวก ข

การศึกษาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินจากสารสกัดผลมะเเฒ่า

ตารางที่ ข1 ผลการทดสอบการหาปริมาณแอนโทไซยานินจากผลมะเเฒ่าด้วยวิธี pH Differential

ความยาวคลื่น	517 nm		720 nm	
	บัฟเฟอร์ 1.00	บัฟเฟอร์ 4.50	บัฟเฟอร์ 1.00	บัฟเฟอร์ 4.50
ครั้งที่ 1	0.543	0.075	0.003	0.021
ครั้งที่ 2	0.543	0.075	0.003	0.022
ครั้งที่ 3	0.543	0.076	0.003	0.022

วิธีการเจือจางสารสกัดแอนโทไซยานินด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.00 และ pH 4.50

นำสารสกัดจากผลมะเเฒ่าปริมาณ 11 มิลลิกรัม ละลายในน้ำปริมาณ 1.1 มิลลิลิตร คือ 1,100 ไมโครลิตร จากนั้นนำสารละลายปริมาณ 30 ไมโครลิตรไปผสมกับบัฟเฟอร์ที่เตรียมไว้ การคำนวณค่าการเจือจาง (DE) (อรุษา เขาวนลิขิต, 2554) นำสารสกัดจากมะเเฒ่าที่ระเหยตัวทำละลายออกแล้ว 11.00 มิลลิกรัม ละลายในน้ำ 1.1 มิลลิลิตร สารละลายสารสกัดจากผลมะเเฒ่า 11 มิลลิกรัม/1.1 มิลลิลิตร เท่ากับ 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

$$(10 \text{ mg/L})(0.30\text{mL}) = C_2(3.00\text{mL})$$

$$C_2 = 1 \text{ mg/mL}$$

$$C_1 = 10C_2$$

สารละลายสารสกัดจากผลมะเเฒ่าปริมาณ 30.00 ไมโครลิตร + สารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.00 ปริมาตร 270.00 ไมโครลิตร

สารละลายสารสกัดจากผลมะเเฒ่าปริมาณ 30.00 ไมโครลิตร + สารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.50 ปริมาตร 270.00 ไมโครลิตร

ภาคผนวก ค

การศึกษาคุณสมบัติการละลายของสารสกัดจากผลมะเมี

ภาพการละลายของสารทำละลายที่แตกต่างกัน



ก่อนทำการเขย่า

เขย่าเท่ากัน 10 ครั้ง

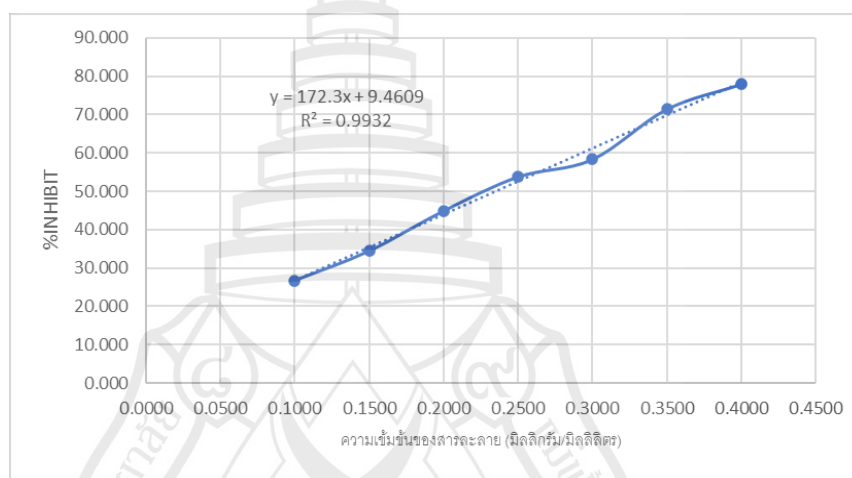
ภาพที่ ค1 แสดงภาพประกอบการละลายของตัวทำละลายที่ใช้ในการทดสอบทั้ง 3 ชนิด

ภาคผนวก ง

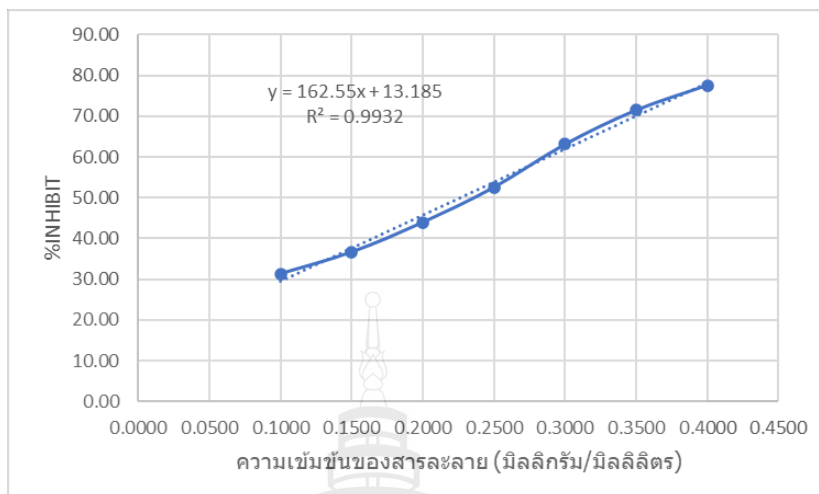
การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลมะเมี

การคำนวณ IC_{50}

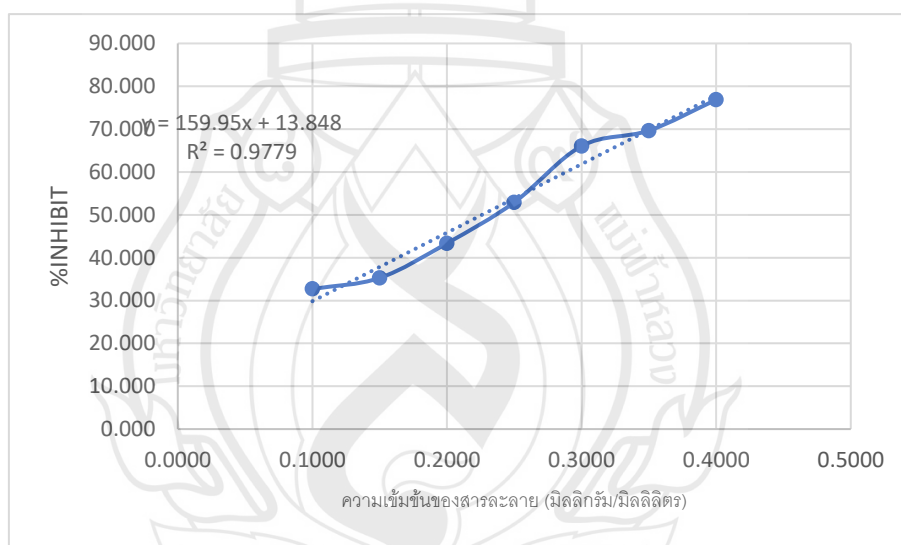
ในการคำนวณทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดจากผลมะเมี จะได้กราฟแสดงค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระดังนี้



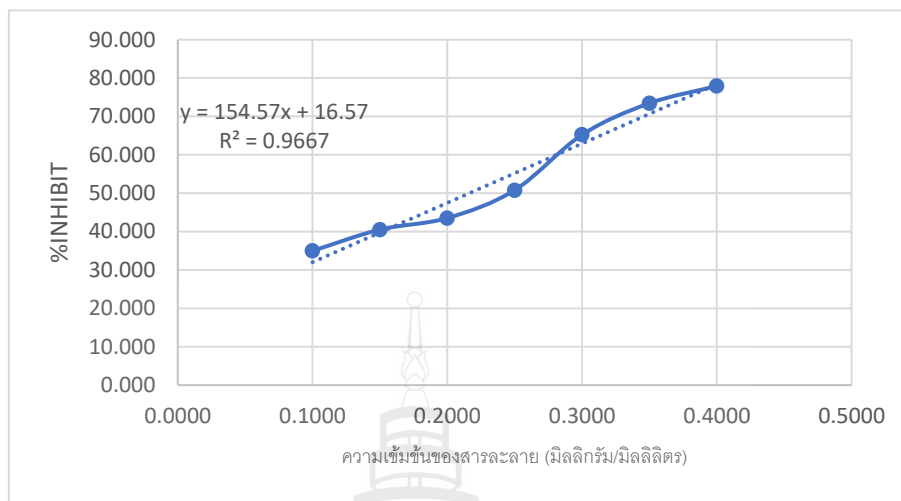
ภาพที่ ง1 กราฟการศึกษาการคำนวณค่าเฉลี่ยของ IC_{50} จากการวัดการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร



ภาพที่ ง2 กราฟการศึกษาการคำนวณค่าของ IC_{50} จากการวัดการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรครั้งที่ 1



ภาพที่ ง3 กราฟการศึกษาการคำนวณค่าของ IC_{50} จากการวัดการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรครั้งที่ 2



ภาพที่ ง4 กราฟการศึกษาการคำนวณค่าของ IC_{50} จากการวัดการฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรครั้งที่ 3

วิธีการคำนวณการวัด IC_{50} ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การคำนวณการวัด IC_{50} ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 1

$$y = 172.3x + 9.4609$$

แทนค่า $y = 50$ แทนค่าในสมการ $50 = 172.3x + 9.4609$

$$X = 0.2353 \text{ mg/ml}$$

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 1 ของสารสกัดจากผลมะเฒ่าเท่ากับ 0.2353 mg/ml

การคำนวณการวัด IC_{50} ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 2

$$y = 159.95x + 13.848$$

แทนค่า $y = 50$ แทนค่าในสมการ $50 = 159.95x + 13.848$

$$X = 0.2260 \text{ mg/ml}$$

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 2 ของสารสกัดจากผลมะเฒ่าเท่ากับ 0.2260 mg/ml

การคำนวณการวัด IC_{50} ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 3

$$y = 154.57x + 16.57$$

แทนค่า $y = 50$ แทนค่าในสมการ $50 = 154.57x + 16.57$

$$X = 0.2163 \text{ mg/ml}$$

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ครั้งที่ 3 ของสารสกัดจากผลมะเฒ่าเท่ากับ 0.2163 mg/ml

การคำนวณค่าเฉลี่ยการวัด IC_{50} ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร

$$y = 162.55x + 13.185$$

แทนค่า $y = 50$ แทนค่าในสมการ $50 = 162.55x + 13.185$

$$X = 0.2265 \text{ mg/ml}$$

ค่าเฉลี่ยของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ DPPH วัดการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ของสารสกัดจากผลมะเฒ่าเท่ากับ 0.2265 mg/ml

