

บทความวิจัย (Research Article)**ผลของการสกัดเบต้าแคโรทีนจากผลตาลโตนดด้วยไมโครเวฟในตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ เพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง**ลิขิต ลาเต๊ะ^{1*} และ นิสภาพร มุหะมัด¹**Effect of microwave-assisted extraction of β -carotene from *Borassus flabellifer* Fruit in different solvents for cosmetic application**Likit Lateh^{1*} and Nisaporn Muhamad¹¹ Cosmetic science, Health & Anti-aging, Faculty of Science Technology & Agriculture, Yala Rajabhat University, Yala, 95000

* Corresponding author: likit.l@yru.ac.th

Health Science, Science and Technology Reviews. 2023;16(3):40-52.

Received: 3 May 2023; Revised: 15 December 2023; Accepted: 18 December 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากเส้นใยและเปลือกผลตาลโตนด โดยใช้วิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นวิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และใช้ตัวทำละลายทางเลือกที่มีอยู่ในตำรับเครื่องสำอาง จากการศึกษาทำให้ได้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมด้วยเครื่องไมโครเวฟ โดยใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ใช้กำลังไฟฟ้าของเครื่องไมโครเวฟ 600 วัตต์ เปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟ 3 รอบ โดยในหนึ่งรอบเปิดเครื่อง 30 วินาที และปิดเครื่อง 30 วินาที ที่อุณหภูมิในช่วง 75-80 องศาเซลเซียส การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเปลือกผลตาลโตนดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดจากเส้นใย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0039 ± 0.98 และ 1.23 ± 0.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu พบว่าในสารสกัดจากเปลือกผลและเส้นใยตาลโตนดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 50.26 ± 1.00 และ 6.67 ± 0.25 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกผลตาลโตนดที่มีเบต้าแคโรทีนที่เตรียมได้จากสภาวะที่ดีที่สุดจึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ: ตาลโตนด, แคโรทีนอยด์, ไมโครเวฟ**Abstract**

This study focused on the preparation of β -carotene extracted from *Borassus flabellifer* fiber and peel using microwave-assisted extraction (MAE) and alternative solvents for cosmetic formulation. Propylene glycol was utilized as the solvent, a microwave with a power of 600 W, and three cycles of irradiation at a temperature of 75–80 °C were selected. One cycle consisted of 30 seconds of power-on and 30 seconds of power-off. Extracts of *B. flabellifer* were assessed for their antioxidant activity and total phenolic content.

¹ วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง สุขภาพและการชะลอวัย คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา จังหวัดยะลา 95000

Using the DPPH scavenging assay and the Folin-Ciocalteu method, the amount of the extracts was determined. The antioxidant activities of peel extracts were found to be more competent than those of fiber extracts, with IC_{50} values of 0.0039 ± 0.98 and 1.23 ± 0.85 mg/mL, respectively. The total phenolic content of *B. flabellifer* fiber and peel extracts was determined to be 50.26 ± 1.00 mg GAE/g and 6.67 ± 0.25 mg GAE/g, respectively. The production of *B. flabellifer* peel extracts is one of the most effective methods for enhancing the antioxidant activity of β -carotene, suggesting its potential to be utilized in cosmetics.

Keywords: *Borassus flabellifer*, β -carotene, microwave

บทนำ

ตาลโตนด (*Borassus flabellifer* L.) เป็นพืชในวงศ์ Arecaceae จัดเป็นพืชตระกูลปาล์ม พบได้ทั่วไปในแถบเอเชียใต้ และพบมากในหลายจังหวัดของประเทศไทย ในภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทย ส่วนของช่อดอก และรากใช้เป็นยาขับปัสสาวะ ลูกตาล ไข่ แก้วกระหายน้ำ แก้วไขตัวร้อน ละลายเสมหะ บรรเทาอาการไอเรื้อรัง [1] และยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมในการเตรียมอาหาร เช่น น้ำตาลโตนด โดยใช้เป็นสารให้ความหวาน และผลตาลสุกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในขนมตาล เป็นต้น [2] โดยกลุ่มวิสาหกิจชุมชนใช้ประโยชน์จากต้นตาลโตนด โดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น น้ำตาลไซรัป น้ำตาลผง น้ำตาลแว่น ซึ่งผลิตภัณฑ์โดยส่วนใหญ่จะเน้นการแปรรูปจากน้ำตาลเป็นหลัก และจากการสำรวจเบื้องต้น พบว่าการใช้ประโยชน์จากผลตาลสุกในท้องถิ่นนอกจากจะนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการประกอบอาหารแล้วนั้น ชุมชนยังไม่ได้ใช้ประโยชน์จากสารสำคัญในผลตาลโตนดมากนักและมีผลผลิตเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากต่อไป

มีรายงานว่าองค์ประกอบทางเคมีในผลตาลโตนดสุกนั้นมีความสำคัญต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในด้านผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) จัดเป็นสารในกลุ่มเทอร์ปีน ซึ่งพบมากในพืชผักผลไม้และพืชผักที่มีสีเขียว เหลือง ส้ม และยังมีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้ยังมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งหลายชนิด โดยพบมากที่สุด คือ แอลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน และเบต้าคริปโตแซนทีน โดยเฉพาะสารเบต้าแคโรทีนซึ่งนอกจากจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีแล้วยังมีคุณสมบัติเป็น provitamin A อีกด้วย [3] และยังมีคุณสมบัติที่ดีต่อผิวพรรณ ช่วยต้านการอักเสบ ปกป้องผิวจากรังสียูวี ผ่านกลไกต้านอนุมูลอิสระ [4] อย่างไรก็ตามสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์นั้นจัดเป็นสารที่มีขั้วน้อยละลายได้ดีละลายในไขมัน และเป็นสารโมเลกุลใหญ่มีสูตรทางเคมี คือ $C_{40}H_{56}$ จึงไม่ละลายในน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซีโตน เฮกเซน [3]

อนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นสารที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย และนอกจากนั้นยังสามารถเกิดจากปัจจัยอื่นๆ ได้ เช่น ความเครียด มลพิษในอากาศ รังสี UV สารอนุมูลอิสระเหล่านี้จึงทำลายภูมิคุ้มกันและส่งผลให้เซลล์เสื่อมสภาพเร็วขึ้น จึงเป็นสาเหตุทำให้ ผิวหมองคล้ำ แต่ถ้าหากร่างกายเผชิญกับปัจจัยดังกล่าวมากขึ้นเรื่อยๆ อนุมูลอิสระก็จะมีปริมาณสูงขึ้น ส่งผลให้ผิวหนังมีริ้วรอยเหี่ยวย่น แก่ก่อนวัยอันควร และยังก่อให้เกิดโรคร้ายต่างๆ ได้ง่ายขึ้น จนไปถึงเกิดอาการเสื่อมของเซลล์อวัยวะต่างๆ จนก่อตัวเป็นเซลล์มะเร็งได้ แต่สารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีอยู่อย่างจำกัด จึงต้องอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกเพื่อใช้ป้องกันหรือลดการเกิดอนุมูลอิสระสำหรับสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) กรดฟีนอลิก (phenolic acid) และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พบได้ทั่วไปในส่วนต่างๆ ของพืช มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลมาเกาะตั้งแต่สองหมู่ขึ้นไปละลายน้ำได้ ในปัจจุบันสารกลุ่มนี้ได้รับความสนใจและมีการวิจัยเป็นอย่างมากเนื่องจากมีความเชื่อว่าการบริโภคสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติมีความปลอดภัยมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ [5]

ปัจจุบันทั่วโลกได้ให้ความสนใจเกี่ยวกับการพัฒนาวิธีการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green extraction) และการเลือกใช้ตัวทำละลายทางเลือกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (green solvent) เพื่อนำมาใช้ในการเตรียมสารสกัดจาก

พืชมากขึ้น [6] ซึ่งกระบวนการสกัดสารเบต้าแคโรทีนในระดับอุตสาหกรรมสามารถทำได้หลายวิธี ได้แก่ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (solvent extraction) นิยมใช้ เฮกเซน อะซิโตน และเอทิลอะซิเตต เป็นต้น [7] ซึ่งมีข้อเสียคือใช้ระยะเวลาในการสกัดนานและสิ้นเปลืองตัวทำละลาย และตัวทำละลายที่ใช้มีความเป็นพิษและเป็นอันตรายในกระบวนการเตรียมสารสกัดเนื่องจากมีจุดวาบไฟต่ำ [8] การสกัดด้วยของไหลวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) พบว่า สารสกัดที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงประหยัดตัวทำละลายและเหมาะสำหรับการสกัดสารที่ละลายง่ายเมื่อโดนความร้อน อย่างไรก็ตาม วิธีดังกล่าวมีข้อด้อยคือ ต้องใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่จำเพาะและมีราคาสูง [9] ผู้วิจัยจึงได้นำหลักการของการสกัดที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมาใช้ในการพัฒนากรรมวิธีการเตรียมสารสกัดจากผลตาลที่มีสารเบต้าแคโรทีน โดยนำเทคนิคการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (Microwave assisted extraction; MAE) มาใช้ในการสกัด ซึ่งคลื่นไมโครเวฟเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าทำให้เกิดการสั่นสะเทือนของสารละลายส่งผลให้เกิดการหมุนหรือสั่นและเกิดความร้อนที่กระจายตัวไปยังตัวทำละลาย ทำให้มีผลต่อเนื้อเยื่อของตัวอย่างและมีผลต่อการละลายของสารละลายที่ต้องการออกมา [10,11] วิธีการสกัดด้วยเทคนิคนี้ สิ้นเปลืองเวลาในการสกัดน้อยมาก จึงมีความสะดวก รวดเร็ว และประหยัดพลังงาน กว่าวิธีการสกัดแบบทั่วไป และให้ปริมาณสารสกัดและมีประสิทธิภาพที่สูงด้วย โดยปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดด้วยไมโครเวฟมีอยู่หลายปัจจัยด้วยกัน ได้แก่ กำลังไฟฟ้าคลื่นไมโครเวฟ เวลาอุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติวัตถุและความคงตัวของวัตถุ คุณสมบัติของตัวทำละลายและสมบัติสารที่ต้องการสกัด [10,11] นอกจากนี้ ผู้วิจัยยังสนใจที่จะนำตัวทำละลายที่ใช้ในตำรับเครื่องสำอางซึ่งเป็นตัวทำละลายทางเลือก ได้แก่ โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 โพรพิลีน ไกลคอล บิวทิลีน ไกลคอล เอทานอล ดี-ลิโมนีน กลีเซอริน และกลุ่มตัวทำละลายประเภทน้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะพร้าว ซึ่งตัวทำละลายเหล่านี้มีข้อดี เนื่องจากมีความเป็นพิษต่ำและสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมในตำรับเครื่องสำอางโดยไม่ต้องระเหยตัวทำละลายออก มาใช้ในการศึกษาหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาล หาสภาวะที่ดีที่สุดในการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี MAE และประเมินฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลรวมในสารสกัดที่ได้จากสภาวะที่ดีที่สุด

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างและการเตรียมผงเส้นใยและเปลือกผลตาลโดนด

เก็บตัวอย่างผลตาลโดนดสุก วิสาหกิจชุมชนจะรัง อำเภอยะหริ่ง จังหวัดปัตตานี ในช่วงเดือน เมษายน - พฤษภาคม นำผลตาลสุกล้างทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง แยกส่วนของเส้นใยเนื้อตาลกับส่วนเปลือกผลสีม่วงดำออกจากกัน และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลาประมาณ 48 ชั่วโมง จนแห้งแล้วจึงนำมาบดเป็นผงละเอียดและผ่านร่อนเบอร์ 45 จากนั้นนำผงเส้นใยตาลและเปลือกผลตาลที่ได้นำมาเก็บในภาชนะแห้งและปิดสนิทป้องกันแสง แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อนำไปใช้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดต่อไป

2. การหาตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี MAE จากผงเปลือกตาลโดนด

สกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยวิธี MAE โดยดัดแปลงวิธีการมาจาก Lateh และคณะ [12] โดยมีวิธีการพอสังเขปดังนี้ ชั่งผงเส้นใยและเปลือกผลตาล 2 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร แล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในกลุ่มของตัวทำละลายทางเลือกที่ใช้ในตำรับเครื่องสำอาง ได้แก่ โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 (PEG200) โพรพิลีนไกลคอล (PG) บิวทิลีน ไกลคอล (BG) เอทานอล (Et) ดี-ลิโมนีน (Li) และกลีเซอริน (G) กลุ่มของน้ำมันพืช ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง (SB) น้ำมันปาล์ม (PO) และน้ำมันมะพร้าว (CC) โดยเติมตัวทำละลาย 20 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่แล้วนำเข้าเครื่องไมโครเวฟ รุ่น UltimateTaste 300 (Electrolux, Sweden) ที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ ให้คลื่นไมโครเวฟโดยเปิดเครื่อง (power on) เป็นเวลา 30 วินาที และปิดเครื่อง (power off) เป็นเวลา 30 วินาที (คิดเป็น 1 รอบ) ให้คลื่นไมโครเวฟซ้ำ 2 รอบ กรองและจดบันทึกน้ำหนักและปริมาตรสารสกัด แล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์

ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคัดเลือกตัวทำละลายที่สกัดสารเบต้าแคโรทีนที่ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมด้วย MAE ต่อไป

3. การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี MAE

3.1) การหาอัตราส่วนของผงลูกตาลต่อปริมาตรตัวทำละลาย

ทดสอบโดยการสกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลปริมาณ 2, 4, 6 และ 8 กรัม ด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสม (ซึ่งคัดเลือกมาจากการทดลองในข้อ 2) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร ด้วยวิธีการสกัดเช่นเดียวกันกับการสกัดในข้อ 2 เมื่อสกัดเสร็จแล้วจึงกรองและจดบันทึกน้ำหนักและปริมาตรสารสกัด แล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคัดเลือกอัตราส่วนที่ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาหาพลังงานไฟฟ้าที่เหมาะสมต่อไป

3.2) การหากำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัด

สกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยตัวทำละลายและอัตราส่วนของผงแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลายที่เหมาะสม (ซึ่งได้มาจากการทดลองในข้อ 3.1) และแปรเปลี่ยนกำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดเป็น 200, 400 และ 600 วัตต์ เมื่อสกัดเสร็จแล้วจึงกรองและจดบันทึกน้ำหนักและปริมาตรสารสกัด แล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคัดเลือกกำลังไฟฟ้าที่ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาหาจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสมต่อไป

3.3) การหาจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟ

สกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยตัวทำละลายและอัตราส่วนของผงเนื้อตาลและเปลือกผลตาลแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลาย และใช้กำลังไฟฟ้าที่เหมาะสม (ซึ่งได้มาจากการทดลองในข้อ 3.2) และแปรเปลี่ยนจำนวนรอบที่ให้คลื่นไมโครเวฟเป็น 1, 2, 3 และ 4 รอบ (1 รอบ = เปิดเครื่อง 30 วินาที และปิดเครื่อง 30 วินาที) เมื่อสกัดเสร็จแล้วจึงกรองและจดบันทึกน้ำหนักและปริมาตรสารสกัดแล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีน ด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคัดเลือกจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟที่ดีที่สุดไปใช้ในการศึกษาหาจำนวนครั้งในการสกัดผงลูกตาลที่เหมาะสมต่อไป

3.4) การหาจำนวนครั้งในการสกัดผงยา

สกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยตัวทำละลายและอัตราส่วนของผงเนื้อตาลและเปลือกผลตาลแห้งต่อปริมาตรตัวทำละลายและกำลังไฟฟ้าและจำนวนรอบที่ให้คลื่นไมโครเวฟเหมาะสม (ซึ่งได้มาจากการทดลองในข้อ 3.3) โดยศึกษาจำนวนครั้งในการสกัดเส้นใยและเปลือกผลตาลที่ผ่านการสกัดมาแล้วด้วยตัวทำละลายใหม่โดยนำกากที่ได้จากการสกัดครั้งแรกมาสกัดด้วยตัวทำละลายใหม่ในอัตราส่วนเดิมอีก 2 ครั้ง เมื่อสกัดเสร็จแล้วในแต่ละครั้งทำการกรองและจดบันทึกน้ำหนักและปริมาตรสารสกัด แล้วนำสารสกัดไปวิเคราะห์ปริมาณด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4. การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนด้วย UV-Visible Spectrophotometer

วิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วย UV-Visible Spectrophotometer รุ่น T60 UV-VIS (Beijing Purkinje General Instruments, China) ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Hasan และ Aldaaiek [13] โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

4.1) การเตรียมกราฟมาตรฐานเบต้าแคโรทีน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีนความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน 0.005 กรัม ละลายด้วยอะซิโตนและปรับปริมาตรให้เป็น 10 มิลลิลิตร ด้วยเมทานอลในขวดวัดปริมาตร เตรียมสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีนความเข้มข้น 250, 125, 62.5, 31.2 และ 15.6 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายมาตรฐานเบต้าแคโรทีนที่เตรียมไว้โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร โดยมีอะซิโตนซึ่งเป็นตัวทำละลายเป็นแบลนด์ (Blank) บันทึกค่าการดูดกลืนแสงและสร้างกราฟมาตรฐานเบต้าแคโรทีนระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในตัวอย่าง

บีเปตสารสกัด 100 ไมโครลิตร และชั่งน้ำหนักสารสกัด ละลายสารสกัดด้วยอะซีโตนและปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาความเข้มข้นของสารเบต้าแคโรทีนในสารสกัดเทียบกับกราฟมาตรฐานเบต้าแคโรทีน โดยใช้ Blank ที่มีตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ ผสมอยู่ในการวิเคราะห์

5. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

5.1) วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric [14] โดยมีวิธีการพอสังเขปดังนี้ นำสารตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 1 N Folin-Ciocalteu' phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (0-0.12 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

5.2) การเตรียมกราฟมาตรฐาน Gallic acid

บีเปตสาร Gallic acid ปริมาตร 20 40 60 80 และ 100 ไมโครลิตร ตามลำดับและเติมน้ำกลั่นให้ครบ 1000 ไมโครลิตร จากนั้นเติม 1 N Folin-Ciocalteu' phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 – 5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร บันทึกค่าการดูดกลืนแสงและสร้างกราฟมาตรฐานแกลลิกระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยวิธี DPPH ใช้วิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Sudiono และ Susanto [15] โดยมีวิธีการโดยสังเขปดังนี้ เตรียมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2.0 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งสารมาตรฐาน 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)หนัก 0.020 กรัม ละลายด้วยเมทานอลในจันสารละลายจนหมด หลังจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตรด้วยเมทานอล และนำสารละลาย 2.5 มิลลิลิตร เทลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้พอดีด้วยเมทานอลอีกครั้งจะได้สารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ จากนั้นเตรียมสารละลายมาตรฐาน Trolox โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย เตรียม 5 ความเข้มข้นทั้งสองสารละลายมาตรฐาน แล้วเตรียมสารสกัด 5 ความเข้มข้น จากนั้นทำการวิเคราะห์โดยนำสารสกัดเส้นใยและเปลือกผลตาล 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล 2.9 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที (ในที่มืด) พร้อมกันนี้เตรียมตัวอย่างควบคุม (control) หรือสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่างสารสกัดวิเคราะห์ตามวิธีการเดียวกันเมื่อครบ 30 นาทีนำตัวอย่างสารสกัดและตัวอย่างควบคุมทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงเป็น 5, 20, 30, 40 และ 60 นาที ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) ดังสมการที่ (1) และรายงานผลในรูป IC_{50} โดย เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox โดยค่า IC_{50} คำนวณจากสมการที่ได้จากกราฟเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

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

7. การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทุกด้านทำการทดลอง 3 ซ้ำ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ SD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (analysis of variance; ANOVA) โดยการวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการศึกษา

1. การหาตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี MAE จากผลตาลโตนด

ลักษณะของสารสกัดจากเส้นใยตาลและเปลือกผลตาลโตนดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ได้แก่ โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 (PEG200) โพรพิลีนไกลคอล (PG) บิวทิลีนไกลคอล (BG) เอทานอล (Et) ดี-ลิโมนีน (Li) กลีเซอริน (G) น้ำมันถั่วเหลือง (SB) น้ำมันรำข้าว (RB) น้ำมันปาล์ม (PO) และน้ำมันมะพร้าว (CC) ด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ รูป 1



รูป 1 ลักษณะของสารสกัดจากเส้นใยตาล (A) และเปลือกผลตาล (B) ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ สกัดด้วยวิธี MAE (โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 (PEG200), โพรพิลีนไกลคอล (PG), บิวทิลีนไกลคอล (BG), เอทานอล (Et), ดี-ลิโมนีน (Li), กลีเซอริน (G), น้ำมันถั่วเหลือง (SB), น้ำมันรำข้าว (RB), น้ำมันปาล์ม (PO) และน้ำมันมะพร้าว (CC))

ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ จำนวน 10 ชนิดที่สกัดด้วยวิธีการคลื่นไมโครเวฟช่วย (MAE) ดังแสดงในตาราง 1 ผลการศึกษาพบว่า ในกลุ่มของตัวทำละลายทางเลือกที่ใช้ในตำรับเครื่องสำอาง การสกัดด้วยโพรพิลีนไกลคอลมีปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งในสารสกัดจากเส้นใย (35.38 มิลลิกรัม, ผลผลิตร้อยละ 75) และเปลือกผลตาล (67.47, ผลผลิต

ร้อยละ 77.5) เมื่อเทียบกับตัวทำละลายชนิดอื่นๆ รองลงมา โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 (PEG) บิวทิลีนไกลคอล (BG) กลีเซอริน (G) เอทานอล (Et) และดี-ลิโมนีน (Li) ตามลำดับ และพบว่าในน้ำมันพืชทั้ง 4 ชนิดมีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากเส้นใยอยู่ในช่วง 5.33 - 11.42 มิลลิกรัม ได้ผลผลิตร้อยละ 75 และในสารสกัดจากเปลือกผลตาลอยู่ในช่วง 23.55 - 28.63 มิลลิกรัมได้ผลผลิตร้อยละ 77.5 โดยปริมาณเบต้าแคโรทีนในสารสกัดด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดแตกต่างกันนั้น เนื่องจากผลของความมีขี้ ค่าคงที่ไดอิเล็กทริก และความหนืดเฉพาะตัวของตัวทำละลาย และเมื่อพิจารณาลักษณะสีของสารสกัดด้วยตัวทำละลายกลีเซอรินที่มีสีเข้มนั้นเกิดขึ้นจากอุณหภูมิของสารสกัดที่สูงมากกว่า 100 องศาเซลเซียส เนื่องจากในตัวทำละลายแต่ละชนิดมีค่าคงที่ไดอิเล็กทริกเฉพาะตัว จึงส่งผลต่อการตอบสนองต่อคลื่นไมโครเวฟที่ไม่เท่ากัน ทำให้สารสกัดด้วยกลีเซอรินมีสีเข้มนั้นเนื่องจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น [12]

ตาราง 1 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดเส้นใยและเปลือกผลตาลด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (MAE)

ตัวทำละลาย	เส้นใย			เปลือกผล		
	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)
PEG200	0.89 ± 0.01	31	27.64 ± 0.39 ^c	1.76 ± 0.02	32	56.22 ± 0.73 ^c
PG	1.51 ± 0.03	30	45.38 ± 0.82 ^a	2.18 ± 0.03	31	67.47 ± 0.84 ^a
BG	0.98 ± 0.02	32	31.42 ± 0.54 ^b	1.68 ± 0.02	32	53.82 ± 0.68 ^d
Li	0.51 ± 0.02	33	16.68 ± 0.56 ^e	0.73 ± 0.01	34	24.84 ± 0.43 ^f
Et	0.68 ± 0.02	34	22.95 ± 0.51 ^d	0.88 ± 0.02	34	29.84 ± 0.64 ^e
G	0.59 ± 0.01	26	15.24 ± 0.38 ^e	1.64 ± 0.02	26	42.76 ± 0.56 ^d
SB	0.18 ± 0.02	30	5.33 ± 0.62 ^g	0.76 ± 0.01	31	23.55 ± 0.20 ^f
RB	0.25 ± 0.01	30	7.54 ± 0.38 ^g	0.93 ± 0.01	31	28.68 ± 0.39 ^e
PP	0.21 ± 0.01	30	6.29 ± 0.38 ^g	0.79 ± 0.01	31	24.68 ± 0.33 ^f
CC	0.38 ± 0.01	30	11.42 ± 0.51 ^f	0.84 ± 0.02	31	26.13 ± 0.49 ^g

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. การหาสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี MAE

2.1 การศึกษาหาอัตราส่วนระหว่างผงผลตาลโดนดต่อตัวทำละลายที่เหมาะสม

การศึกษาผลของอัตราส่วนของเส้นใยและเปลือกผลตาลต่อตัวทำละลาย โดยศึกษาที่อัตราส่วน 22:40 4:40 6:40 และ 8:40 กรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงเส้นใยและเปลือกผลตาล ปริมาณของเบต้าแคโรทีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 2) อย่างไรก็ตามปริมาณเบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลที่อัตราส่วน 6:40 และ 8:40 กรัมต่อมิลลิลิตรนั้น มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อพิจารณาปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาลในอัตราส่วน 8:40 นั้นเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงไม่มีความจำเป็นที่จะต้องเพิ่มปริมาณผงตัวอย่างอีก และเพื่อลดต้นทุนในกระบวนการเตรียมสารสกัด ดังนั้นผงเส้นใยและเปลือกผลตาล 6 กรัมต่อโพพิลีนไกลคอล 40 มิลลิลิตร คืออัตราส่วนที่เหมาะสม และนำอัตราส่วนดังกล่าวไปศึกษาหากล้างไฟฟ้าที่เหมาะสมในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาล ด้วยวิธี MAE ต่อไป

ตาราง 2 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลที่อัตราส่วนระหว่างผงผลตาลกับตัวทำละลายต่างๆ ด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (MAE)

อัตราส่วนผง ตาลต่อตัวทำ ละลาย (g:mL)	เส้นใย			เปลือกผล		
	ปริมาณเบต้า แคโรทีน	ปริมาตร สารสกัด	เบต้าแคโรทีน ทั้งหมด (mg)	ปริมาณเบต้า แคโรทีน	ปริมาตร สารสกัด	เบต้าแคโรทีน ทั้งหมด (mg)
	(mg/mL)	(mL)		(mg/mL)	(mL)	
2:40	0.18 ± 0.02	33	5.68 ± 0.59 ^a	0.49 ± 0.02	34	16.81 ± 0.59 ^a
4:40	0.25 ± 0.03	31	7.42 ± 0.79 ^b	1.11 ± 0.08	30	33.76 ± 0.76 ^b
6:40	0.29 ± 0.22	25	8.26 ± 0.87 ^c	1.82 ± 0.03	28	51.33 ± 0.82 ^c
8:40	0.39 ± 0.03	26	10.14 ± 0.82 ^d	2.20 ± 0.03	26	55.07 ± 0.72 ^d

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

2.2 การศึกษาหากล้างไฟฟ้าที่เหมาะสม

การศึกษาคผลของกำลังไฟฟ้าที่เหมาะสม ที่กำลังไฟฟ้า 200, 400, 600 และ 800 วัตต์ โดยใช้โพรพิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดเบต้าแคโรทีนจากเส้นใยและเปลือกผลตาล จากการศึกษาพบว่า เมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าจนถึง 600 วัตต์ กำลังไฟฟ้าที่ไม่ให้มีผลต่อปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากผงลูกตาลทั้งสองชนิด (ตาราง 3) ในขณะเดียวกันเมื่อเพิ่มกำลังไฟฟ้าถึง 800 วัตต์ ปริมาณเบต้าแคโรทีนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเกิดจากผลของความร้อนที่เกิดขึ้นเมื่อกำลังไฟฟ้าสูงขึ้นจึงอาจทำให้สารเบต้าแคโรทีนสลายตัวได้ [16] ดังนั้นกำลังไฟฟ้าที่เหมาะสมคือ 600 วัตต์ และกำลังไฟฟ้าที่เหมาะสมไปศึกษาหาจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟต่อไป

ตาราง 3 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลที่ใช้กำลังไฟฟ้าจากเครื่องไมโครเวฟในการสกัดแตกต่างกัน

กำลังไฟฟ้า (วัตต์)	เส้นใย			เปลือกผล		
	ปริมาณเบต้า แคโรทีน	ปริมาตร สารสกัด	เบต้าแคโรทีน ทั้งหมด (mg)	ปริมาณเบต้า แคโรทีน	ปริมาตร สารสกัด	เบต้าแคโรทีน ทั้งหมด (mg)
	(mg/mL)	(mL)		(mg/mL)	(mL)	
200	0.31 ± 0.03	26	8.09 ± 0.88 ^a	1.33 ± 0.02	28	37.01 ± 0.53 ^a
400	0.81 ± 0.04	26	21.02 ± 0.99 ^b	1.89 ± 0.02	28	52.97 ± 0.53 ^b
600	1.43 ± 0.05	26	37.12 ± 1.31 ^c	1.97 ± 0.04	28	55.03 ± 1.02 ^c
800	1.46 ± 0.07	24	35.07 ± 1.63 ^d	2.13 ± 0.03	22	46.87 ± 0.56 ^d

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

2.3 การศึกษาหาจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟ

การศึกษาคหาจำนวนรอบในการเปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟที่เหมาะสมส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการสกัดมากที่สุด โดยศึกษาหาจำนวนรอบในการเปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟที่แตกต่างกันตั้งแต่ 1 ถึง 4 รอบ (1 รอบคือเปิดเครื่อง 30 วินาที และปิด 30 นาที) ในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาล พบว่า เมื่อเพิ่มจำนวนรอบในการให้คลื่นไมโครเวฟจนถึง 3 รอบปริมาณเบต้าแคโรทีนในสารสกัดทั้งหมดเพิ่มขึ้น (ตาราง 4) แต่เมื่อเพิ่มจำนวนรอบเป็น 4 รอบ พบว่าปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดเปลือกผลตาลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในขณะเดียวกันในสารสกัดเส้นใยในรอบที่ 3 และ 4 ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาในปริมาณสาร

เบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากเส้นใยเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น จึงไม่คุ้มค่าต่อการเพิ่มรอบในการสกัด ดังนั้นการสกัดด้วยการเปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟเพียง 3 รอบเป็นสภาวะที่เหมาะสม เนื่องจากประหยัดเวลาในการสกัดและมีปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดสูงที่สุด และสภาวะที่ได้ไปศึกษาผลของจำนวนครั้งในการสกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลต่อไป

ตาราง 4 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลจำนวนรอบในการเปิดเครื่องในการให้คลื่นไมโครเวฟที่แตกต่างกัน

จำนวนรอบ	เส้นใย			เปลือกผล		
	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)
1	0.32 ± 0.01	26	8.41 ± 0.27 ^a	1.43 ± 0.03	27	38.51 ± 0.75 ^a
2	0.44 ± 0.03	26	11.38 ± 0.11 ^b	1.80 ± 0.05	27	48.60 ± 1.22 ^b
3	1.05 ± 0.05	26	27.26 ± 1.32 ^c	2.25 ± 0.04	27	60.86 ± 1.07 ^c
4	1.32 ± 0.05	24	31.57 ± 1.25 ^d	2.43 ± 0.06	25	61.64 ± 2.10 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2.4 การหาจำนวนครั้งในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากผงผลตาลโตนด

การศึกษาค้นคว้าของจำนวนรอบในการสกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาล โดยการนำกากที่เหลือจากการสกัดมาสกัดซ้ำอีกครั้งด้วยตัวทำละลายใหม่ จำนวน 3 ครั้ง ผลจากการศึกษาพบว่า หลังจากสกัดผงเส้นใยและเปลือกผลตาลครั้งแรก ปริมาณเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดทั้งสองชนิดนั้น มีปริมาณลดลงเมื่อจำนวนครั้งในการสกัดเพิ่มขึ้นเกือบ 90% ของเบต้าแคโรทีนทั้งหมดถูกสกัดออกมาในการสกัดครั้งแรก (ตาราง 5) ดังนั้นจึงไม่คุ้มค่าที่จะทำการสกัดซ้ำต่อเนื่องด้วยตัวทำละลายใหม่อีกครั้ง

ตาราง 5 ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลตาลและจำนวนครั้งในการสกัดผงผลตาลด้วยตัวทำละลายใหม่ที่แตกต่างกัน ด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ (MAE)

จำนวนครั้ง	เส้นใย			เปลือกผล		
	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)	ปริมาณเบต้าแคโรทีน (mg/mL)	ปริมาตรสารสกัด (mL)	เบต้าแคโรทีนทั้งหมด (mg)
1	1.12 ± 0.03	26	29.11 ± 0.91 ^a	3.19 ± 0.15	29	92.48 ± 1.37 ^a
2	0.27 ± 0.02	34	9.16 ± 0.67 ^b	1.05 ± 0.56	35	36.80 ± 1.68 ^b
3	0.09 ± 0.01	34	2.98 ± 0.22 ^c	0.28 ± 0.98	34	9.68 ± 1.77 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนด้วยวิธี MAE คือ ใช้ผงเส้นใยตาลหรือเปลือกผลตาล 6 กรัม ต่อโพรพิลีนไกลคอล 40 มิลลิลิตร ที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ เปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟจำนวน 3 รอบ โดยสกัดผงเส้นใยตาลหรือเปลือกผลตาลเพียงครั้งเดียว โดยให้สารสกัดที่มีปริมาณเบต้าแคโรทีนในสารสกัดจากเส้นใยตาลเท่ากับ 3.18 ± 1.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ผลผลิตร้อยละ 65 และในสารสกัดจากเปลือกผลตาลเท่ากับ 11.11 ± 0.91

มิลลิกรัมต่อมิลลิตรให้ผลผลิตร้อยละ 72 ตามลำดับ และนำสารสกัดที่เตรียมได้ทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการนำสารสกัดที่เตรียมได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

2.5 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging activity)

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงเส้นใยตาลและเปลือกผลตาลด้วยวิธี DPPH เทียบกับสารมาตรฐาน Trolox พบว่า สารมาตรฐาน Trolox มีค่า IC_{50} 0.049 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร และในสารสกัดทั้งสองชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดจากเปลือกผลตาลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดจากเส้นใย โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0039 ± 0.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร และสารสกัดจากเส้นใยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.23 ± 0.98 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ (ตาราง 6) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลตาลโดนดด้วยเมทานอล ที่ทดสอบด้วยวิธี DDPH พบว่าสารสกัดจากผลตาลนั้นมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี มีการยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 81 [17] และมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดผลตาลด้วยเอทานอล โดยใช้วิธี DPPH มีค่า IC_{50} เท่ากับ 12 มิลลิกรัมต่อลิตร [15]

2.6 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

ผลการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกผลด้วยวิธีการ Folin-Ciocalteu colorimetric พบว่าในสารสกัดทั้งสองชนิดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดจากเปลือกผลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 50.26 ± 1.00 mg GAE/g สูงกว่าประมาณ 7 เท่า เมื่อเทียบกับสารสกัดจากเส้นใยเท่ากับ 6.67 ± 0.25 mg GAE/g (ตารางที่ 6) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Pramod และคณะ [18] โดยศึกษาหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากส่วนเส้นใยจากผลตาลโดนด พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมรวมอยู่ในช่วง 6.44 - 9.29 mg GAE/g จากแหล่งปลูก 3 แหล่งที่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดนั้นสอดคล้องกับฤทธิ์ต่อการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้ ซึ่งสารสกัดเปลือกผลตาลนั้นมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากเส้นใย

ตาราง 6 ความเข้มข้นของสารสกัดที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50}) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดโพรฟีนโนไกลคอลจากผลตาลด้วยวิธี MAE

สารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} ; mg/mL)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g)
เส้นใย	1.23 ± 0.85^a	6.67 ± 0.25^a
เปลือกผล	0.0039 ± 0.98^b	50.26 ± 1.00^b

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิจารณ์

มีรายงานการศึกษาเฮกเซนและเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารแคโรทีนอยด์ อุตสาหกรรมยาและอาหารจึงนิยมนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับสกัดสารแคโรทีนอยด์ [7] อย่างไรก็ตาม เฮกเซนกับเอทิลอะซิเตทนั้นเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นพิษ หากกำจัดออกไม่หมดอาจปนเปื้อนอยู่ในสารสกัดได้และอาจเป็นอันตรายต่อผู้ใช้ อีกทั้งยังมีราคาแพงอีกด้วย [8] ดังนั้น การศึกษาหาตัวทำละลายทางเลือกใหม่ที่มีความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม มาใช้ในการเตรียมสารเบต้าแคโรทีนจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาล สำหรับนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เสริมอาหารนั้นจึงเป็นที่สนใจอย่างมาก จากการศึกษาใช้ตัวทำละลายทางเลือกที่มักใช้เป็นส่วนผสมในตำรับเครื่องสำอาง 6 ชนิด ได้แก่ โพลีเอทิลีนไกลคอล 200 โพรพิลีนไกลคอล บิวทิลีนไกลคอล เอทานอล ดี-ลิโมเนน กลีเซอริน และน้ำมันพืช 4 ชนิด ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันรำข้าว น้ำมันปาล์ม และน้ำมันมะพร้าว (CC) ในการสกัดสารเบต้าแคโรทีนจากผงเส้นใยและเปลือกผลตาล โดยที่ตัวทำละลายเหล่านี้ยังมีข้อดีในแง่ของ

การเตรียมเนื่องจากสามารถนำสารสกัดที่ได้ไปใช้ได้โดยไม่ต้องระเหยตัวทำละลายออกจึงช่วยลดขั้นตอนในการเตรียมสารสกัดได้ ผลจากการศึกษาพบว่า ในตัวทำละลายแต่ละชนิดมีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนทั้งหมดแตกต่างกันอันเนื่องมาจากผลของค่าคงที่ไดอิเล็กทริก (dielectric constant) และความสามารถในการละลายของสารที่ต้องการนั้นเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อปริมาณสารสำคัญในการสกัดสำหรับการสกัดด้วยวิธี MAE [12,13] ค่าความหนืดของตัวทำละลายแต่ละชนิด เนื่องจากความหนืดของตัวทำละลายแต่ละชนิดอาจส่งผลต่อการสกัดสารสำคัญออกมาจากเส้นใยและเปลือกผลตาลเนื่องจากตามหลักการย้ายมวลสาร สารที่มีความหนืดต่ำจะสามารถเคลื่อนที่ของสารได้ดีกว่าซึ่งจะสามารถสกัดออกมาได้มีประสิทธิภาพกว่าสารที่มีความหนืดสูงซึ่งส่งผลต่อสารเบต้าแคโรทีนในสารสกัดได้ [22] และเมื่อพิจารณาลักษณะของสีสารสกัดที่ได้ทั้งในส่วนของเส้นใยและเปลือกผลตาลนั้นสารสกัดเปลือกผลตาลด้วยกลีเซอรินมีสีเข้มเนื่องจากอุณหภูมิที่เกิดขึ้นในตัวทำละลายในการสกัดสูงมากเกินไปจึงทำให้มีการเปลี่ยนแปลงสีที่เข้มข้นในขณะที่เดียวกันปริมาณสารเบต้าแคโรทีนน้อยอาจเกิดจากการสลายตัวเมื่อโดนอุณหภูมิสูง [16] ดังนั้น จึงคัดเลือกโพรฟิลีนไกลคอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม และนำไปศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดด้วย MAE ได้แก่ ผลของอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อผงตาล ผลของกำลังไฟฟ้า ผลของจำนวนรอบในการเปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟ และผลของจำนวนครั้งในการสกัดเส้นใยและเปลือกผลตาล จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่ดีที่สุดในการเตรียมสารสกัดด้วยวิธี MAE คือ ใช้ผงเส้นใยตาลหรือเปลือกผลตาล 6 กรัมต่อโพรฟิลีนไกลคอล 40 มิลลิลิตร ที่กำลังไฟฟ้า 600 วัตต์ เปิดเครื่องเพื่อให้คลื่นไมโครเวฟจำนวน 3 รอบ โดยสกัดผงเส้นใยตาลหรือเปลือกผลตาลเพียงครั้งเดียว โดยมีปริมาณสารเบต้าแคโรทีนในสารสกัดเส้นใยและเปลือกผลตาลเท่ากับ 3.18 ± 1.37 และ 11.11 ± 0.91 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ ซึ่งวิธีการสกัดด้วยวิธี MAE มีประสิทธิภาพในการเตรียมสารสกัดจากตาลได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Elik และคณะ [19]

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากเส้นใยและเปลือกตาลด้วยโพรฟิลีนไกลคอลที่เตรียมได้นั้น พบว่าในสารสกัดจากเปลือกตาลมีค่าการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากเส้นใย เนื่องจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดของเปลือกตาลมีปริมาณที่สูงกว่าในเส้นใยจึงทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย [20,21]

ดังนั้น จากการศึกษาครั้งนี้สารสกัดเปลือกตาลด้วยโพรฟิลีนไกลคอล มีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิวได้ เนื่องจากมีสารเบต้าแคโรทีนที่มีอยู่ในสารสกัดนั้น คุณสมบัติที่ดีต่อผิว ได้แก่ ลดริ้วรอย ต้านอนุมูลอิสระ ด้านการอักเสบ และป้องกันยูวี เป็นต้น อีกทั้งกระบวนการเตรียมสารสกัดที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ใช้เวลาในสกัดน้อย ใช้ตัวทำละลายเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ปลอดภัยในกระบวนการเตรียม สารสกัดที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้โดยไม่ต้องระเหยตัวทำละลายออก จึงช่วยลดระยะเวลา ต้นทุนในกระบวนการเตรียมสารสกัดได้ และยังสามารถนำวิธีการที่พัฒนาขึ้นไปต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมหรือถ่ายทอดต่อไปในระดับชุมชนได้ อย่างไรก็ตามอาจต้องมีการศึกษาด้านสมบัติทางเคมีกายภาพ ความคงตัวและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ของสารสกัดที่ได้ และขยายขนาดการเตรียมในปริมาณที่มากขึ้น เพื่อเป็นข้อมูลในด้านการนำไปใช้ประโยชน์ทางยาและเครื่องสำอางต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ท่านสนับสนุนโครงการวิจัยจากงบบำรุงการศึกษา พ.ศ. 2564 คณะวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง สุขภาพและการชะลอวัย และศูนย์การเรียนรู้แม่ลาน ที่อำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมืออุปกรณ์และห้องปฏิบัติการ ทำให้การดำเนินการวิจัยเสร็จสิ้นสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

- [1] Saranya K, Sivakumar G, Gopalasatheeskumar K, Arulkumaran G. An updated overview on phytochemical screening and pharmacological screening of *Borassus flabellifer* Linn. PharmaTutor. 2019; 7(5):15-19.
- [2] Vengaiah PC, Kaleemullah S, Madhava M, Mani A, Sreekanth B. Palmyrah fruit (*Borassus flabellifer* L.): Source of immunity and healthy food: A review. J. Pharm. Innov. 2021;10(11):1920-1925.
- [3] Black HS, Boehm F, Edge R, Truscott TG. The benefits and risks of certain dietary carotenoids that exhibit both anti-and pro-oxidative mechanisms-A comprehensive review. Antioxidants. 2020;9(3):264.
- [4] Baswan SM, Klosner AE, Weir C, Salter-Venzon D, Gellenbeck KW, Leverett J, Krutmann J. Role of ingestible carotenoids in skin protection: A review of clinical evidence. Photodermatol Photoimmunol Photomed. 2021;37(6):490-504.
- [5] Lv QZ, Long JT, Gong ZF, Nong KY, Liang XM, Qin T, Yang L. Current state of knowledge on the antioxidant effects and mechanisms of action of polyphenolic compounds. Nat. Prod. Commun. 2021;16(7):1-13.
- [6] Armenta S, Garrigues S, Esteve-Turrillas FA, De la Guardia M. Green extraction techniques in green analytical chemistry. Trends Analyt Chem. 2019;116: 248-253.
- [7] Suryana MR, Haziman ML, Islamawan PA, Hariadi H, Yusuf D. (2023). Use of Beta-Carotene Pigment to Improve Food Product Chemical and Sensory Qualities: A Review. J. Funct. Foods. 2023;4(2):67-78
- [8] Joshi DR, Adhikari N. An overview on common organic solvents and their toxicity. J. Pharm. Res. Int. 2019;28(3):1-18.
- [9] Arumugham T, Rambabu K, Hasan SW, Show PL, Rinklebe J, Banat F. Supercritical carbon dioxide extraction of plant phytochemicals for biological and environmental applications-A review. Chemosphere. 2021; 271:129525.
- [10] Chemat F, Abert-Vian M, Fabiano-Tixier A.S, Strube J, Uhlenbrock L, Gunjevic V, Cravotto G. Green extraction of natural products. Origins, status, and future challenges. TrAC, Trends Anal. Chem. 2019; 118:248-263.
- [11] Bagade SB, Patil M. Recent advances in microwave assisted extraction of bioactive compounds from complex herbal samples: a review. Crit. Rev. Anal. Chem. 2021;51(2):138-149.
- [12] Lateh L, Yuenyongsawad S, Chen H, Panichayupakaranant P. A green method for preparation of curcuminoid-rich *Curcuma longa* extract and evaluation of its anticancer activity. Pharmacogn. Mag. 2019;15(65):730-735.
- [13] Yadav N, Sharma S, Joys JS, Kumar S. Microwave assisted extraction of bioactive compounds: A brief review. J. Indian Chem. Soc. (2020;97(10a):1751-1756.
- [14] Hasan H, Mohamad A, Aldaaiek G. Extraction and Determination the of Beta carotene content in carrots and tomato samples collected from some markets at El-Beida City, Libya. EPH-Int. J. Appl. Sci. (2019);1(1):105-110.
- [15] Wabaidur SM, Obbed MS, Alothman ZA, Alfaris, NA, Badjah-Hadj-Ahmed AY, Siddiqui MR, Aldayel TS. Total phenolic acids and flavonoid contents determination in Yemeni honey of various floral sources: Folin-Ciocalteu and spectrophotometric approach. Food Sci. Technol. 2020; 40:647-652.

- [16] Sudiono J, Susanto GR. Antioxidant content of palm fruit (*Borassus flabellifer* L.) seed coat. Biomed. J. Sci. Tech. Res. 2021;34(3):26695-26699.
- [17] Valerio PP, Frias, JM, Cren EC. Thermal degradation kinetics of carotenoids: *Acrocomia aculeata* oil in the context of nutraceutical food and bioprocess technology. J. Therm. Anal. Calorim. 2021;143:2983-2994.
- [18] Pramod HJ, Yadav AV, Raje VN, Mohite M, Wadkar G. Antioxidant Activity of *Borassus flabellifer* (linn.) Fruits. Asian J. Pharm. Sci. Technol. 2013;3(1):16-19.
- [19] Elik A, Yanık DK, Göğüş F. Microwave-assisted extraction of carotenoids from carrot juice processing waste using flaxseed oil as a solvent. Lwt. 2020; 123:109100.
- [20] Kurian A, Thiripuranathar G, Paranagama PA. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Borassus flabellifer* Linn. fruit pulp collected from several parts of Sri Lanka. Int. J. Pharm. Sci. Res. 2017;8(6):2701-5.
- [21] Molole GJ, Gure A, Abdissa N. Determination of total phenolic content and antioxidant activity of *Commiphora mollis* (Oliv.) Engl. resin. BMC Chem. 2022;16(1): 48.
- [22] Zuo J, Geng S, Kong Y, Ma P, Fan Z, Zhang Y, Dong A. Current progress in natural deep eutectic solvents for the extraction of active components from plants. Crit. Rev. Anal. Chem. 2023;53(1):177-198.