



ปัญหาพิเศษ

การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM POMEGRANATE
PEEL

โดย

นางสาวนัสนินทร์ ชาญประเสริฐ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2564



ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
สาขา

วิทยาศาสตร์
ภาควิชา

เรื่อง การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม
UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM POMEGRANATE PEEL

นามผู้วิจัย.....นางสาวนัสรินทร์ ชาญประเสริฐ.....

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย
ประธานกรรมการ.....

(...อาจารย์พุทธพร ส่องศรี, D.Eng....)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(...รองศาสตราจารย์แดงอ่อน พรหมมี, ป.ร.ด....)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์

วันที่.....22.....เดือน.....เมษายน.....พ.ศ. 2564

การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม

นสรินทร์ ชาญประเสริฐ และ พุทธพร ส่องศรี

บทคัดย่อ

เปลือกทับทิมเป็นส่วนเหลือทิ้งจำนวนมากจากการบริโภคและในอุตสาหกรรมผลิตน้ำทับทิม การจะนำเปลือกทับทิมที่เหลือทิ้งกลับไปใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าได้นั้น ควรมีการศึกษาวิเคราะห์เชิงวิทยาศาสตร์ถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของเปลือกทับทิม การศึกษานี้จึงได้รวบรวมและนำเสนอข้อมูลจากวารสารวิชาการระดับนานาชาติเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม โดยศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกทับทิม เพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์จากเปลือกทับทิมโดยการนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมมีสารพฤกษเคมีมากมายหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดอยู่สูงจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกทับทิมจึงมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านอาหาร ยา เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม โดยนำไปสู่การพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณค่าด้านสุขภาพ ความงาม และการแพทย์ได้เป็นอย่างดีต่อไป

คำสำคัญ: เปลือกทับทิม, สารพฤกษเคมี, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

22/04/2564

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM POMEGRANATE PEEL


Natsarin Chanprasert and Puttaporn Songsri

ABSTRACT

Pomegranate peels are high quantities of waste product from the consumption and pomegranate juice production industry. The development of strategies for the valorization of these industrial residues need scientific analysis about the biological properties of them. The objective of the present review is to compile and update the published data on the utilization of bioactive compounds from pomegranate peel. By studying the phytochemicals, total phenolic compounds, tannins and flavonoids contents, antioxidant activity and tyrosinase inhibition activity of pomegranate peel extract by applying lead to product creation. This study found that the pomegranate peel extract contains various phytochemicals that are useful for health, have high contents of total phenolic compounds, tannins and flavonoids, thus having relatively high antioxidant activity and tyrosinase inhibition activity. Therefore, the pomegranate peel extract is a high potential for use in food, medicine, cosmetic and it's also good for the environment. This led to the development as a natural products that are very valuable in health, beauty and medicine.

Keywords: pomegranate peel, phytochemical, antioxidant activity, tyrosinase inhibition activity

Student's signature


Advisor's signature

22/04/2021

บทนำ

ทับทิม (*Punica granatum* L.) อยู่ในวงศ์ Punicaceae เป็นพืชอาหารดั้งเดิมของเอเชีย และตะวันออกกลาง เป็นผลไม้มงคลที่ใช้ในพิธีกรรมด้วยเหตุผลทางความเชื่อและใช้เพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง แต่อย่างไรก็ตาม ทับทิมยังไม่เป็นที่นิยมบริโภคมากนักในประเทศไทย ทั้งที่มีปลูกทั่วไปในทุกภูมิภาค อาจเป็นเพราะลักษณะของผลที่ไม่สะดวกต่อการบริโภค แต่การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์น้ำทับทิมกำลังได้รับความนิยมใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพเพิ่มมากขึ้น แม้ยังไม่แพร่หลายมากนักในประเทศ เพราะมีราคาค่อนข้างสูงมาก นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ที่จำหน่ายยังไม่มีข้อมูลการศึกษาวิเคราะห์เชิงวิทยาศาสตร์ถึงคุณสมบัติทางชีวภาพที่สนับสนุนให้คนไทยรู้จักมากขึ้น เพียงแต่อ้างถึงผลของการบริโภคโดยรวมและการใช้ประโยชน์ในการรักษาโรคต่างๆ เท่านั้น (กรกช และคณะ, 2555) อีกทั้งยังเป็นผลไม้ที่ไม่นิยมนำไปแปรรูป จึงถูกทิ้งให้กลายเป็นของเสีย โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากอุตสาหกรรมผลิตน้ำผลไม้ที่มักจะเป็นปัญหาในการกำจัดทิ้งในอุตสาหกรรม

ด้วยเหตุนี้ในปัจจุบันจึงมีการนำของเหลือจากการบริโภคหรือการผลิตน้ำทับทิมมาศึกษาถึงคุณสมบัติทางชีวภาพด้วยการวิเคราะห์ทางด้านวิทยาศาสตร์ เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์มากยิ่งขึ้น ด้วยการสกัดสารจากส่วนเปลือกผลของทับทิมที่เหลือทิ้งที่คาดว่าจะมีสารฟลาโวนอยด์ ปริมาณมากและมีคุณภาพที่ดีต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งวัลวิภา และคณะ (2559) ได้รายงานว่ ในเปลือกของผลทับทิมมีสารกลุ่มแทนนินสูงถึง 22-25% โดยประกอบไปด้วยกลุ่ม hydrolysable tannins คือ gallotannin และ ellagitannin ในปริมาณที่สูงกว่ากลุ่มอื่นๆ ในกลุ่มนี้มีคุณสมบัติที่เป็นสรรพคุณทางยารักษาโรค พร้อมเป็นตัวต้านสารอนุมูลอิสระ เมื่อได้รับสารเหล่านี้เข้าสู่ร่างกาย สารดังกล่าวจะถูกแบคทีเรียในลำไส้เมแทบอลิต์เป็นกรดแอลลาจิก ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ยับยั้งการเจริญของมะเร็ง ป้องกันการติดเชื้อจากไวรัส แบคทีเรีย และรา ช่วยยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ส่งผลให้เซลล์ลดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ทำให้ผิวพรรณดูอ่อนเยาว์และขาวกระจ่างใสขึ้น ซึ่งการตรวจสอบสารจากเปลือกทับทิมทางวิทยาศาสตร์ถึงคุณสมบัติด้านชีวภาพเหล่านี้ก็เพื่อประโยชน์สูงสุดต่อการบริโภค ส่งเสริมการปลูกทับทิม และคาดว่าจะนำไปสู่การพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณค่าด้านสุขภาพ ความงาม และการแพทย์ได้เป็นอย่างดี

การศึกษารุ่นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมและนำเสนอข้อมูลจากวารสารวิชาการระดับนานาชาติเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม โดยศึกษาองค์ประกอบทางฟลาโวนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณแทนนินทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกทับทิม เพื่อศึกษาการใช้ประโยชน์จากเปลือกทับทิมโดยการนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างเปลือกทับทิม

นำเปลือกทับทิมมาทำความสะอาดด้วยน้ำและผึ่งให้แห้ง แล้วนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 0.5×0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสจนกว่าจะแห้งและนำไปสกัดด้วยวิธีการแช่หมัก (Maceration) โดยใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลาย

2. การสกัดสารสกัดจากเปลือกทับทิม

ทำการสกัดสารสกัดจากเปลือกทับทิมด้วยวิธีการแช่หมัก ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Farràs *et al.* (2019) โดยชั่งเปลือกทับทิมที่เตรียมจากข้อ 1 ใส่ในขวด Duran 100 กรัม เติมตัวทำละลายเอทานอล 95% 300 มิลลิลิตร ลงในขวด ปิดฝาขวด เขย่าแล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบกำหนดแล้ว กรองสารที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ส่วนกากนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารที่สกัดได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจนแห้งและทิ้งให้เย็น ชั่งน้ำหนักของสารที่สกัดได้และคำนวณหาปริมาณสารสกัด (% Yield of extract)

3. การศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกทับทิม

ศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ สุรางค์รัตน์ (2558) โดยเตรียมแผ่น TLC ที่มีตัวดูดซับเป็น Silica gel และขวดแก้วที่มีฝาปิด 3 ขวด เติมตัวชะ (ตัวทำละลาย) คือ สารผสมของ เอทิลอะซิเตทกับเฮกเซนในอัตราส่วน 1:1, 1:3 และ 1:9 ลงในแต่ละขวด แล้วใส่กระดาษกรองขนาดเท่าแผ่น TLC เพื่อให้ระบบอิมมัตด้วยตัวทำละลาย จากนั้นปิดฝาขวด แล้วใช้หลอดคะปิลลารีหยดสารสกัดและสารมาตรฐานลงบนแผ่น TLC แต่ละแผ่นให้ห่างจากขอบล่างของแผ่น TLC ประมาณ 1 เซนติเมตร แล้วหย่อนแผ่น TLC ลงในขวดที่เตรียมไว้ในแนวตั้ง ปิดฝาขวด รอจนตัวทำละลายเคลื่อนที่ถึงระดับที่ต้องการ แล้วนำแผ่น TLC ออก รอให้แห้ง นำไปอบด้วย Iodine ทำเครื่องหมายในตำแหน่งที่สารแยกออกมาและคำนวณระยะทางที่สารเคลื่อนที่ในรูปค่า R_f (Rate of flow)

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิม

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (FC) โดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Singleton and Rossi (1965) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid)

5. การวิเคราะห์ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิม

วิเคราะห์ปริมาณแทนนินทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (FC) โดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Haile and Kang (2019) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิก (Tannic acid)

6. การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิม

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี Aluminium chloride โดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Meda *et al.* (2005) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอควิซิทิน (Quercetin)

7. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิม

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) scavenging activity โดยวิธีการของ Andrica *et al.* (2016) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ BHT เป็นสารมาตรฐาน

8. การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกทับทิม

วิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี Modified dopachrome โดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Piao *et al.* (2002) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (Kojic acid)

9. การทำผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิว

นำสารสกัดเปลือกทับทิมมาทำผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิว โดยมีการดัดแปลงบางส่วนจากวิธีการของ Chalke *et al.* (2016) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ (DI Water) 100 กรัม และสารสกัดเปลือกทับทิม 5% ลงใน ปีกเกอร์ จากนั้นผสมให้เข้ากัน
2. ค่อยๆ เทซ้อ 1 ลงใน Carbopol 940 1.5% ที่แช่ในน้ำกลั่นข้ามคืนจนขึ้นรูปเป็นเจลไว้แล้ว พร้อมกับกวนช้าๆ อย่างต่อเนื่อง ระวังไม่ให้อากาศเข้าไปในระหว่างการกวน
3. ทำให้เจลเป็นกลางโดยหยด 50% Triethanolamine ลงไป ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 7.3 - 7.5 พร้อมกวนช้าๆ จะได้เจลหนืดและใสขึ้น
4. เติม Glycerine 20% ลงไปเพื่อเป็นสารให้ความชุ่มชื้นกับผิว จากนั้นคนหรือปั่นจนเนื้อเนียนละเอียดเข้ากันได้ดีและเติม Methyl paraben ตามปริมาณที่ต้องการ เพื่อเป็นสารกันเสีย

10. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

การศึกษาครั้งนี้ได้รวบรวมข้อมูลจากบทความที่ลงตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติที่มีคุณภาพจำนวน 11 ฉบับ ในช่วงระหว่างปีค.ศ. 2012-2020

ผลการศึกษา

1. ผลการสกัดสารสกัดจากเปลือกทับทิม

จากการศึกษาการสกัดสารสกัดจากเปลือกทับทิม พบว่า การใช้สัดส่วนและชนิดตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิมจะให้ปริมาณสารสกัดที่ต่างกััน ดังภาพผนวกที่ ข1 จากผลการศึกษาจะเห็นว่า การใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว (น้ำ, เมทานอล, เอทานอล, อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม) ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิมสามารถละลายสารที่ต้องการออกมาได้ในปริมาณที่สูงกว่าและสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีขั้วออกมาได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายไม่มีขั้ว (ปิโตรเลียมอีเทอร์) ในการสกัด ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการสกัดสารสกัดจากเปลือกทับทิมในตัวทำละลายที่ต่างกััน

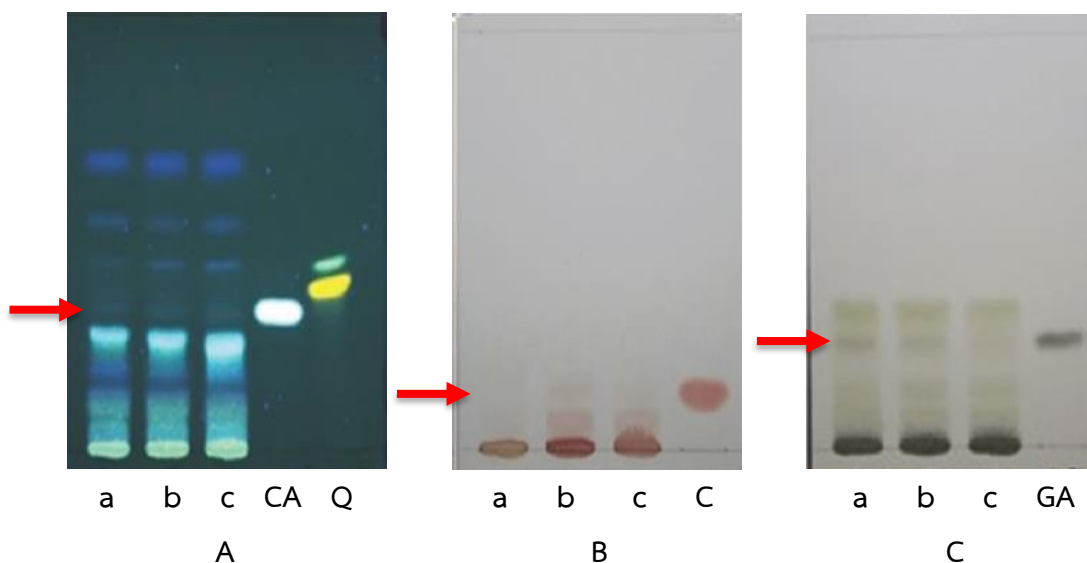
ตัวทำละลาย	วิธีการสกัด	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
เอทานอลที่ความเข้มข้น 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% และ 80% v/v	วิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration)	สารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้น 60% ให้ผลผลิตสูงที่สุด (66.23 ± 0.38% w/w)	Laosirisathian <i>et al.</i> (2020)
เอทานอล, เมทานอล, น้ำ, เอทานอล 30% : น้ำ 70%, เอทานอล 50% : น้ำ 50% และ เอทานอล 70% : น้ำ 30%	วิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration)	สารสกัดเอทานอล 50% : น้ำ 50% ให้ผลผลิตสูงที่สุด (16.28%) ในขณะที่ สารสกัดด้วยน้ำให้ผลผลิตต่ำสุด (5.74%)	Malviya <i>et al.</i> (2014)

ตารางที่ 1 (ต่อ)

ตัวทำละลาย	วิธีการสกัด	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
น้ำ, เอทานอล, อะซิโตน, คลอโรฟอร์ม และปิโตรเลียมอีเทอร์	วิธีการสกัดลำดับ ส่วน (Sequential Extraction)	สารสกัดเอทานอลมี ประสิทธิภาพสูงที่สุดใน การสกัดสารออกฤทธิ์ ทางชีวภาพจากเปลือก ทับทิม รองลงมาคือ สารสกัดด้วยน้ำ, อะซิโตน, คลอโรฟอร์ม และปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ	Mayasankaravalli <i>et al.</i> (2020)

2. ผลการศึกษาการวิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกทับทิม

จากการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกทับทิม พบว่า ในเปลือกทับทิมมีสารพฤกษเคมีมากมายหลายชนิด โดยมีวิธีการตรวจสอบด้วยกันหลายวิธี ซึ่งจากการศึกษาวิจัยของ Mayasankaravalli *et al.* (2020) ได้ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในสารสกัดเปลือกทับทิมโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอนและใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า สารสกัดเอทานอลพบกลุ่มสารพฤกษเคมีมากที่สุด ดังตารางผนวกที่ ข1 และจากการศึกษาวิจัยของ De Souza *et al.* (2018) ได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสมุนไพร 7 ชนิดจากแหล่งที่แตกต่างกันในประเทศบราซิลและใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี TLC โดยใช้สภาวะการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังตารางผนวกที่ ก1 พบว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีหลายชนิด จากการทดลองจะเห็นได้ว่า ตำแหน่งที่ลูกศรชี้พบสารในกลุ่ม Polyphenolic compounds คือ อนุพันธ์ของ Cinnamic เรืองแสงสีขาวในตัวอย่างทั้ง 3 แถบ (a) (b) (c) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Caffeic acid (CA) มีค่า R_f เท่ากับ 0.33 (ภาพที่ 1A) และพบกลุ่ม Condensed tannins มีลักษณะเป็นแถบสีชมพูแดงเกิดขึ้น 2 แถบ (b) (c) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Catechin (C) (ภาพที่ 1B) นอกจากนี้ยังพบกลุ่ม Hydrolysable tannins มีลักษณะเป็นแถบสีเขียวดำเกิดขึ้นในตัวอย่างทั้ง 3 แถบ (a) (b) (c) เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid (GA) (ภาพที่ 1C) แสดงให้เห็นว่ากลุ่มสารเหล่านี้ส่วนใหญ่มีอยู่ในสารสกัดเปลือกทับทิมจาก Recife-Pernambuco และ Paulista-Pernambuco ซึ่งจากผลการศึกษาคาดว่า กลุ่มสารพฤกษเคมีเหล่านี้อาจจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขี้



ภาพที่ 1 TLC ของสารสกัดเปลือกทับทิมจากแหล่งที่แตกต่างกัน 3 แหล่ง (a) สารสกัดเปลือกทับทิมจาก Fortaleza-Ceará, (b) สารสกัดเปลือกทับทิมจาก Recife-Pernambuco และ (c) สารสกัดเปลือกทับทิมจาก Paulista-Pernambuco เมื่อตรวจสอบด้วยสารก่อสี Natural product reagent A + Polyethylene glycol 5% ส่องภายใต้แสง UV 365 nm (A), สารก่อสี Vanillin-HCl (B) และสารก่อสี Ferric Chloride (C) โดย CA คือ Caffeic acid, Q คือ Quercetin, C คือ Catechin และ GA คือ Gallic acid

ที่มา: De Souza *et al.* (2018)

3. ผลการศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิม

จากการศึกษาการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิม พบว่า ความแตกต่างของชื่อและความสัมพันธ์ของโพลีฟีนอลในเปลือกทับทิมต่อตัวทำละลายที่ใช้มีผลอย่างมากต่อองค์ประกอบฟีนอลิก จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ตัวทำละลายที่มีชื่อสูงชันเป็นตัวทำละลายที่ดีในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกทับทิม ดังตารางที่ 2 สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เพราะสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิดส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบที่มีชื่อละลายน้ำได้ ซึ่งการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เพราะต่างก็เป็นสารอินทรีย์เหมือนกันจึงเกิดการละลายกันตามหลักการละลายกันได้ (เอนก และ บุญยกุล, 2559) ซึ่งผลการศึกษาที่ได้มีความสอดคล้องกับการทดลองของ Khalil *et al.* (2018) ได้ทำการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกทับทิม โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน พบว่า ตัวทำละลายเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พุนิคาาลาจิน (เป็นสารในกลุ่มแทนนิน)

และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือ เอทานอลและเอทิลอะซิเตท ตามลำดับ ซึ่งสามารถเปรียบเทียบได้ดังตารางผนวกที่ ข2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกทับทิมในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

ตัวทำละลาย	วิธีการทดสอบ	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
เมทานอล	ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแกลโล-แทนนินทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu, Modified colourimetric และ Rhodanine assay	สารสกัดเมทานอลจากเปลือกทับทิมทั้ง 7 สายพันธุ์ส่วนใหญ่มีปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแกลโล-แทนนินทั้งหมดเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณสูง	Fawole <i>et al.</i> (2012)
เมทานอล, เอทานอล และเอทิลอะซิเตท	ปริมาณฟีนอลิก พุนิคาลาจिन และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu, HPLC และ Aluminum chloride calorimetric	สารสกัดเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิก พุนิคาลาจिन และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (289.40 ± 7.36 mg GAE/g, 110.00 ± 5.10 mg/g และ 58.63 ± 3.41 mg RE/g ตามลำดับ)	Khalil <i>et al.</i> (2018)
เอทานอล, เมทานอล, น้ำ, เอทานอล 30% : น้ำ 70%, เอทานอล 50% : น้ำ 50% และ เอทานอล 70% : น้ำ 30%	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu	สารสกัดด้วยน้ำมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (435 mg TAE/g extract) ในขณะที่สารสกัดเอทานอล 50% : น้ำ 50% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด (297.5 mg TAE/g extract)	Malviya <i>et al.</i> (2014)

หมายเหตุ GAE (Gallic Acid Equivalent), RE (Rutin Equivalent) และ TAE (Tannic Acid Equivalent)

4. ผลการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิม

จากการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิม พบว่า เปลือกของทับทิมเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญจำนวนมากและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าสารสกัดจากน้ำและเมล็ดทับทิม (Derakhshan *et al.*, 2018) ซึ่งมีงานวิจัยที่ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี DPPH scavenging activity (นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ) โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เพื่อศึกษาการนำสารสกัดเปลือกทับทิมไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ พบว่าได้ผลดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี DPPH scavenging activity

ตัวทำละลาย	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
เมทานอล, เอทานอล และเอทิลอะซิเตท	สารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท (78.23%, 70.38% และ 63.63% ตามลำดับ)	Khalil <i>et al.</i> (2018)
เอทานอลที่ความเข้มข้น 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% และ 80% v/v	สารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้น 60% มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด มีค่า IC ₅₀ เท่ากับ 10.97 ± 0.97 µg/mL	Laosirisathian <i>et al.</i> (2020)
เอทานอล, เมทานอล, น้ำ, เอทานอล 30% : น้ำ 70%, เอทานอล 50% : น้ำ 50% และเอทานอล 70% : น้ำ 30%	สารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รองลงมาคือ น้ำ, เอทานอล 30% : น้ำ 70%, เอทานอล 70% : น้ำ 30%, เอทานอล และเอทานอล 50% : น้ำ 50% ตามลำดับ	Malviya <i>et al.</i> (2014)
น้ำและเอทานอล	สารสกัดด้วยน้ำ (1,000 µg/mL) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดร้อยละ 87.6 ± 1.8 รองลงมาเป็นสารสกัดเอทานอล (1,000 µg/mL) ร้อยละ 78.32 ± 1.9 แต่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (1,000 µg/mL) ซึ่งมีค่าร้อยละ 97.35 ± 1.6	Mayasankaravalli <i>et al.</i> (2020)

จากตารางที่ 3 จะเห็นได้ว่า เมทานอลมีแนวโน้มของประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าน้ำ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติที่มีฟีนอลนั้นมีความสามารถในการให้ไฮโดรเจน ทำให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ด้วยการไปแทนที่ในตำแหน่งออร์โธ (ortho) ด้วยหมู่ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ง่าย (สุวรรณี และคณะ, 2555) และเนื่องจากการใช้แอลกอฮอล์ในการสกัดจะมีความจำเพาะเจาะจงกว่าการใช้ น้ำ ทำให้สารสกัดที่ได้เป็นสารเฉพาะกลุ่มและเมทานอลมีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่า รวมทั้งมีสภาพขี้ที่แรงกว่าเอทานอลและเอทิลอะซิเตท ทำให้สามารถแพร่กระจายเข้าสู่ชั้นของผนังเซลล์พืชได้ดีกว่าและสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีขี้ออกมาได้ดีกว่า ส่วนน้ำก็มีความสามารถในการสกัดและละลายสารต่างๆ ออกมาได้หลากหลาย โดยเฉพาะสารที่มีขี้เพราะน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีขี้สูง ทำให้การใช้น้ำสกัดได้สารต้านอนุมูลอิสระที่หลากหลายและมากกว่า (เอนก และบุญยกฤต, 2559) นอกจากนี้น้ำยังมีความปลอดภัยและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมมากกว่า แอลกอฮอล์ สอดคล้องกับการทดลองของ Mayasankaravalli *et al.* (2020) ได้วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกทับทิมด้วยวิธี DPPH scavenging activity พบว่า สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเอทานอล ซึ่งสามารถเปรียบเทียบเป็นกราฟได้ดังภาพผนวกที่ 2

5. ผลการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกทับทิม

จากการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกทับทิม พบว่าเปลือกทับทิมเป็นแหล่งของสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ดีและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมาตรฐานกรดโคจิก (*Laosirisathian et al.*, 2020) ซึ่งจากการศึกษา งานวิจัยของ *Fawole et al.* (2012) ได้วิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสทั้งชนิด Monophenolase และ Diphenolase ของเปลือกทับทิม 7 สายพันธุ์ที่ปลูกในแอฟริกาใต้ในตัวทำละลายเมทานอล 80% ด้วยวิธี Modified dopachrome โดยใช้ L-tyrosine และ L-dopa เป็นสารตั้งต้น ตามลำดับ พบว่า สารสกัดเมทานอลจากเปลือกทับทิมทั้ง 7 สายพันธุ์ส่วนใหญ่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสทั้งชนิด Monophenolase และ Diphenolase สูงกว่าสารมาตรฐานอาร์บูติน ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ $34.66 \pm 0.05 \mu\text{g/mL}$ และ $98.66 \pm 0.12 \mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ โดยสารสกัดเมทานอลจากเปลือกทับทิมสายพันธุ์ Bhagwa มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสชนิด Monophenolase สูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ $3.66 \pm 0.11 \mu\text{g/mL}$ และสายพันธุ์ Arakta มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสชนิด Diphenolase สูงที่สุด มีค่า IC_{50} เท่ากับ $15.88 \pm 0.10 \mu\text{g/mL}$ ดังตารางที่ 4 เนื่องจากในเปลือกทับทิมอุดมไปด้วยสารที่มีขี้ คือ สารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสกลุ่มที่ใหญ่ที่สุดและสารเหล่านี้ละลายได้ง่ายในเมทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขี้

ตารางที่ 4 ค่า IC₅₀ ของสารสกัดเมทานอลจากเปลือกทับทิมทั้ง 7 สายพันธุ์และสารมาตรฐาน อาร์บูตินต่อการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

สายพันธุ์	IC ₅₀ Monophenolase (µg/mL)	IC ₅₀ Diphenolase (µg/mL)
Arakta	11.03 ± 0.08 ^c	15.88 ± 0.10 ^a
Bhagwa	3.66 ± 0.11 ^a	21.16 ± 0.09 ^a
Ganesh	25.38 ± 0.06 ^f	40.93 ± 0.12 ^b
Herskawitz	7.56 ± 0.08 ^b	59.03 ± 0.07 ^c
Molla de Elche	25.56 ± 0.06 ^f	27.11 ± 0.09 ^{ab}
Ruby	20.33 ± 0.07 ^d	114.9 ± 0.08 ^e
Wonderful	23.67 ± 0.06 ^e	27.26 ± 0.07 ^{ab}
สารมาตรฐาน Arbutin	34.66 ± 0.05 ^g	98.66 ± 0.12 ^d

หมายเหตุ ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SE

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง (a-f) แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's multiple range test

ที่มา: Fawole *et al.* (2012)

6. ผลการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดเปลือกทับทิม (การทำผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิว)

จากการศึกษาการใช้ประโยชน์จากสารสกัดเปลือกทับทิม พบว่า เปลือกทับทิมมีสารฟลาโวนอยด์และโพลีฟีนอลจำนวนมากหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อย่างหลากหลาย ซึ่งจากการศึกษางานวิจัยของ Thitipramote *et al.* (2019) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเปลือกและเมล็ดทับทิม โดยใช้ตัวทำละลายที่มีขั้ว 3 ชนิด (น้ำ เอทานอล 95% และอะซิโตน 70%) พบว่า สารสกัดอะซิโตนจากเปลือกทับทิมมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงนำสารสกัดอะซิโตนจากเปลือกทับทิมไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลบำรุงผิวโดยเพิ่มในสูตรพื้นฐาน ดังตารางผนวกที่ ก2 ผลการศึกษาพบว่า ลักษณะของผลิตภัณฑ์เจลที่มีสารสกัดอะซิโตนจากเปลือกทับทิมมีความใสและโปร่งแสง เมื่อทาลงบนผิวหนัง ผลิตภัณฑ์นี้ยังมีเนื้อบางเบาและแพร่กระจายได้ดี มีค่า pH เท่ากับ 5.5 ซึ่งเหมาะสมกับผิวหนัง ดังนั้นจึงสามารถใช้สารสกัดจากเปลือกทับทิมเป็นสารออกฤทธิ์ในส่วนผสมของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้

วิจารณ์ผลการศึกษา

เนื่องมาจากสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรค COVID-19 ทำให้ต้องมีการปรับเปลี่ยนแผนงานจากการทำงานวิจัยแบบที่มีปฏิบัติการมาเป็นรายงานการศึกษาค้นคว้าข้อมูลอย่างอิสระทดแทน จึงไม่สามารถนำเสนอข้อมูลหรือผลการทดลองจากการลงมือปฏิบัติจริงได้ แต่จะเป็นการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลจากแหล่งข้อมูลต่างๆ ที่มีความถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือในทางวิชาการ ซึ่งในปัจจุบันมีผู้วิจัยจำนวนมากได้ศึกษาและรายงานวิจัยที่เกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทับทิม ทำให้ทราบว่าทับทิมมีสารพฤกษเคมีหลายกลุ่มและมีฤทธิ์ทางชีวภาพค่อนข้างหลากหลาย แต่อย่างไรก็ตามสารออกฤทธิ์และกลไกในการออกฤทธิ์ยังไม่ทราบแน่ชัด ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้รวบรวมและนำเสนอข้อมูลจากวารสารวิชาการระดับนานาชาติที่มีคุณภาพเกี่ยวกับการใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิม โดยศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกทับทิม เพื่อศึกษาการนำเปลือกทับทิมไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์โดยการนำไปสู่การสร้างผลิตภัณฑ์ จากผลการศึกษาจะเห็นว่า เปลือกทับทิมเป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะสารในกลุ่ม Polyphenolic compounds, Condensed tannins และ Hydrolysable tannins ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในพืชและอาจเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส นอกจากนี้ยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่สูงจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สารสกัดจากเปลือกทับทิมจึงมีศักยภาพสูงในการนำไปใช้ประโยชน์ทางด้านเครื่องสำอาง โดยนำไปสู่การพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่มีคุณค่าด้านความสวยงามต่อไปได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Ismail *et al.* (2012) ได้รายงานไว้ว่า เปลือกทับทิมเป็นแหล่งที่โดดเด่นขององค์ประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (แอลลาจิทแทนนิน เช่น พุนิกาลาจิน อนุพันธ์ของกรดแอลลาจิก และกรดแกลลิก) และฟลาโวนอยด์ (แอนโทไซยานิน) และมีรายงานว่าคุณค่าทางยาของเปลือกทับทิมเกิดจากองค์ประกอบหลักของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ไฮโดรไลซ์เซเบิลแทนนิน (พุนิกาลิน พุนิกาลาจิน กรดแอลลาจิก และกรดแกลลิก) และฟลาโวนอยด์ (แอนโทไซยานินและคาเทชิน) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารต่อต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส และต้านการอักเสบ จึงสามารถใช้เป็นสารประกอบธรรมชาติที่ออกฤทธิ์ต่อไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและเวชสำอางได้เป็นอย่างดี (Rahimi *et al.*, 2012; Laosirisathian *et al.*, 2020; Magangana *et al.*, 2020)

ดังนั้นการศึกษาการใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกทับทิมในการศึกษานี้ จะนำไปสู่การใช้ประโยชน์วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อไป แต่เนื่องจากเปลือกทับทิมเน่าเสียง่าย อาจต้องนำมาอบแห้งเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาก่อนที่จะนำไปสู่กระบวนการสกัดสาร นับเป็นการนำ วัสดุเหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์อย่างคุ้มค่าอีกทางหนึ่ง ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนด้านสิ่งแวดล้อมและ เพิ่มมูลค่าเชิงพาณิชย์ได้เป็นอย่างดี

สรุปผลการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดจากเปลือกทับทิมอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีมากมายหลายชนิด ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แทนนิน และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเป็น องค์ประกอบอยู่ในปริมาณที่สูงจึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนส เปลือกทับทิมจึงจัดเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งการศึกษาถึงคุณสมบัติทางชีวภาพเหล่านี้ของเปลือกทับทิมทางวิทยาศาสตร์จะทำให้ได้องค์ความรู้ และข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่เป็นประโยชน์ที่จะช่วยส่งเสริมให้มีการผลิตผลิตภัณฑ์ทับทิมไทยเพื่อ สุขภาพและเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยได้เป็นอย่างดี ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกทับทิมจึงมีศักยภาพสูง ในการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านอาหาร ยา เครื่องสำอาง และสิ่งแวดล้อม แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้อง มีการศึกษาเพิ่มเติมถึงการแยกและวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ที่มีความจำเพาะและมีฤทธิ์เฉพาะทาง รวมทั้งความเป็นพิษต่อเซลล์และพันธุกรรมของสารสกัดจากเปลือกทับทิม เพื่อนำไปพัฒนาต่อยอด เชิงพาณิชย์ในการใช้เป็นยาเพื่อรักษาโรคต่างๆ และเป็นอาหารเสริมสำหรับสุขภาพได้อย่างปลอดภัย ทั้งนี้เพื่อเป็นการส่งเสริมการบริโภคและเพาะปลูกทับทิมภายในประเทศ รวมถึงช่วยเสริมสร้างรายได้ ให้กับเกษตรกรไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ และ ฝ่ายกิจการนิสิต คณะศิลปศาสตร์และ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความสนับสนุนทุนการทำวิจัยใน ครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กรกช อินทราพิเชฐ, กนกอร อินทราพิเชฐ และ ศจีรา คุปพิทยานันท์. 2555. **ทับทิม (*Punica granatum*) ไทยเพื่อสุขภาพ**. รายงานการวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- วัลวิภา เสืออุดม, ระพีพันธุ์ ศิริเดช, วิภาพรรณ ชนะภักดิ์ และ ระพีพร ชนะภักดิ์. 2559. ทับทิม ผลไม้เพื่อสุขภาพ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ 2 (2): 89-100.**
- สุรางค์รัตน์ แดงจิระ. 2558. **องค์ประกอบทางเคมี การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของบอนหอม**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- สุวรรณณี แสนทวีสุข, ดวงใจ จงตามกลาง, ทศน์วรรณ สมจันทร์ และ ปิติพงษ์ โดบัณฑิตภพ. 2555. ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. **แก่นเกษตร 40 (2): 480-483.**
- เอนก ทาลี และ บุญยกฤต รัตน์พันธุ์. 2559. ผลของชนิดตัวทำลายและความเข้มข้นของกรดซิตริกที่มีต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวหอมนิล. **วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 39 (3): 353-364.**
- Andrica, F.M., G.A. Draghici, C. Soica, I. Pinzaru, D. Coricovac, C. Citu and C. Dehelean. 2016. Antioxidant activity assessment of ethanolic spirulina extracts. **Revista de Chimie Bucharest 67 (2): 289-290.**
- Chalke, T., K. Sharma, S.K. Nagare and S.S. Jirge. 2016. Formualtion and evaluation of Punica topical gel for its content of gallic acid and anti-microbial study. **International Journal of Drug Delivery Technology 6 (3): 75-78.**
- Derakhshana, Z., M. Ferrante, M. Tadi, F. Ansari, A. Heydari, M.S. Hosseini, G.O. Conti and E.K. Sadrabad. 2018. Antioxidant activity and total phenolic content of ethanolic extract of pomegranate peels, juice and seeds. **Food and Chemical Toxicology 114: 108-111.**
- De Souza, J.A.L., W.A.V. da Silva, I.C.F. Bezerra, M.R.A. Ferreira and L.A.L. Soares. 2018. Chemical profiles by thin-layer chromatography and high-performance liquid chromatography of plant species from northeast Brazil. **Pharmacognosy Magazine 14 (56): 437-443.**

- Farràs, A., G. Cásedas, F. Les, E.M. Terrado, M. Mitjans and V. López. 2019. Evaluation of anti-tyrosinase and antioxidant properties of four fern species for potential cosmetic applications. **Forests** 10 (2): 1-14.
- Fawole, O.A., N.P. Makunga and U.L. Opara. 2012. Antibacterial, antioxidant and tyrosinase-inhibition activities of pomegranate fruit peel methanolic extract. **BMC Complementary and Alternative Medicine** 12: 1-11.
- Haile, M. and W.H. Kang. 2019. Antioxidant activity, total polyphenol, flavonoid and tannin contents of fermented green coffee beans with selected yeasts. **Fermentation** 5: 1-13.
- Ismail, T., P. Sestili and S. Akhtar. 2012. Pomegranate peel and fruit extracts: A review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects. **Journal of ethnopharmacology** 143 (2): 397-405.
- Khalil, A.A., M.R. Khan, M.A. Shabbir and Khalil-ur-Rahman. 2018. *In vitro* antioxidant activity and punicalagin content quantification of pomegranate peel obtained as agro-waste after juice extraction. **Pakistan Journal of Agricultural Sciences** 55: 197-201.
- Laosirisathian, N., C. Saenjum, J. Sirithunyalug, S. Eitssayeam, B. Sirithunyalug and W. Chaiyana. 2020. The chemical composition, antioxidant and anti-tyrosinase activities, and irritation properties of sripanya *Punica granatum* peel extract. **Cosmetics** 7: 1-13.
- Magangana, T.P., N.P. Makunga, O.A. Fawole and U.L. Opara. 2020. Processing factors affecting the phytochemical and nutritional properties of pomegranate (*Punica granatum* L.) peel waste: A review. **Molecules** 25 (20): 1-34.
- Malviya, S., Arvind, A. Jha and N. Hettiarachchy. 2014. Antioxidant and antibacterial potential of pomegranate peel extracts. **Journal of Food Science and Technology** 51 (12): 4132-4137.

- Mayasankaravalli, C., K. Deepika, D. Esther Lydia, R. Agada, D. Thagriki, C. Govindasamy, V. Chinnadurai, O.M. Othman Gatar, A. Khusro, Y.O. Kim and Hak-Jae Kim. 2020. Profiling the phyto-constituents of *Punica granatum* fruits peel extract and accessing its *in-vitro* antioxidant, anti-diabetic, anti-obesity, and angiotensin-converting enzyme inhibitory properties. **Saudi Journal of Biological Sciences** 27 (12): 3228-3234.
- Meda, A., C.E. Lamien, M. Romito, J. Millogo and O.G. Nacoulma. 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. **Food Chemistry** 91 (3): 571-577.
- Piao, L.Z., H.R. Park, Y.K. Park, S.K. Lee, J.H. Park and M.K. Park. 2002. Mushroom tyrosinase inhibition activity of some chromones. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin** 50 (3): 309-311.
- Rahimi, H.R., M. Arastoo and S.N. Ostad. 2012. A comprehensive review of *Punica granatum* (pomegranate) properties in toxicological, pharmacological, cellular and molecular biology researches. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research** 11 (2): 385-400.
- Singleton, V.L. and J.A. Rossi. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture** 16: 144-158.
- Thitipramote, N., T. Maisakun, C. Chomchuen, P. Pradmeeteekul, J. Nimkamnerd, P. Vongnitorn, P. Chaiwut, N. Thitilertdecha and P. Pintathong. 2019. Bioactive compounds and antioxidant activities from pomegranate peel and seed extracts. **Food and Applied Bioscience Journal** 7 (3): 152-161.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีการเตรียมสาร

ตารางผนวกที่ ก1 การเตรียมสภาวะที่ใช้ในการทดสอบ TLC

กลุ่มของสารประกอบ	สารมาตรฐาน	ตัวดูดซับ (วัสดุภาคคงที่)	ระบบตัวทำละลาย (วัสดุภาคเคลื่อนที่)	สารที่ก่อให้เกิดสี
Polyphenolic compound (Cinnamics)	Caffeic acid	Silica gel 60 F ₂₅₄	Toluene: Ethyl acetate: Methanol: Formic acid	NEU + PEG 5% (UV 365 nm)
Polyphenolic compound (Flavonoids)	Quercetin		(75:25:25:6, v:v:v:v)	NEU + PEG 5% (UV 365 nm)
Condensed tannins	Catechin			Vanillin-HCl
Hydrolysable tannins	Gallic acid			Ferric Chloride

หมายเหตุ NEU (Natural product reagent A), PEG (Polyethylene glycol) และ UV (Ultraviolet)

ที่มา: De Souza *et al.* (2018)

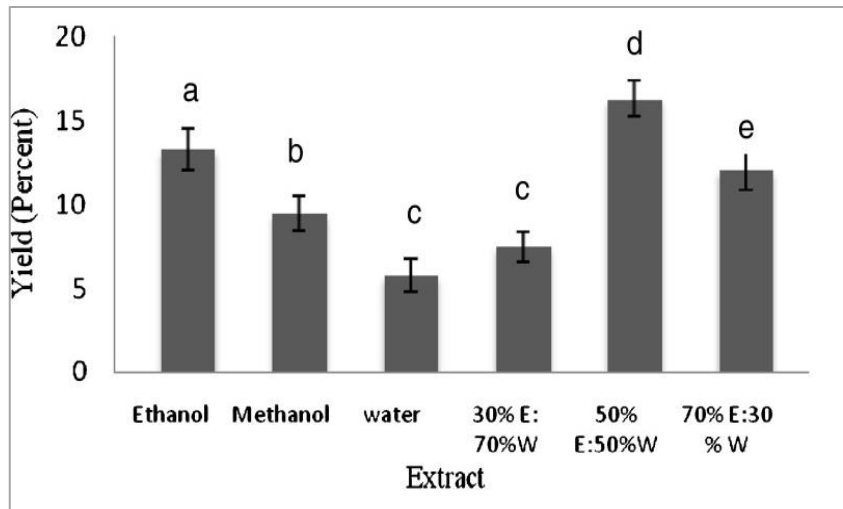
ตารางผนวกที่ ก2 การเตรียมสูตรพื้นฐานของผลิตภัณฑ์เจล

ส่วนผสม	%w/w
DI water	Q.S. ถึง 100
Carbopol 940	0.5
Glycerin	2.0
Dimethicone	1.0
Cyclopentasiloxane	6.0
Butylene glycol	2.5
Propylene glycol	2.0
Tetrasodium EDTA	0.1
Pomegranate extract	5.0
Phenoxyethanol	0.2
Fragrance	0.2
Triethanolamine or citric acid	Q.S.

หมายเหตุ Q.S. หมายถึง เติมตามปริมาณที่ต้องการ

ที่มา: Thitipramote *et al.* (2019)

ภาคผนวก ข
ผลการศึกษา



ภาพผนวกที่ ข1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากเปลือกทับทิมในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ตัวอักษรที่ต่างกัน (a-e) แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ที่มา: Malviya *et al.* (2014)

ตารางผนวกที่ ข1 องค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดเปลือกทับทิมในตัวทำละลายต่างๆ

สารพฤกษเคมี	สารสกัด ด้วยน้ำ	สารสกัด เอทานอล	สารสกัด อะซิโตน	สารสกัด คลอโรฟอร์ม	สารสกัด ปิโตรเลียมอีเทอร์
คาร์โบไฮเดรต	+	+	+	-	-
แทนนิน	+	+	-	+	-
ซาโปนิน	+	+	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	+	+	+	-	-
อัลคาลอยด์	+	+	+	+	-
ควิโนน	+	+	-	+	+
ไกลโคไซด์	-	+	+	-	-
คาร์ดิแอกไกล- โคไซด์	+	+	+	-	-
เทอร์พีนอยด์	+	+	-	+	-
ฟีนอล	+	+	-	-	+
คูมาริน	+	+	+	-	-
สเตอรอยด์	+	+	-	+	-
ไฟโตสเตอรอยด์	-	-	-	-	-
แอนทราควิโนน	-	-	-	-	-

หมายเหตุ + หมายถึง ตรวจสอบพบ

- หมายถึง ตรวจสอบไม่พบ

ที่มา: Mayasankaravalli *et al.* (2020)

ตารางผนวกที่ ข2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พุникаลาจिन (เป็นสารในกลุ่มแทนนิน) และ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกทับทิมในตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

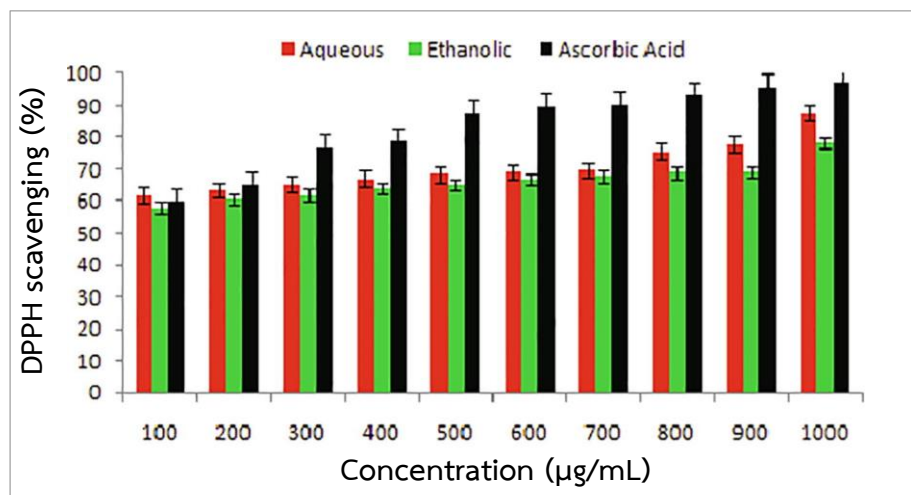
ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g)	ปริมาณพุникаลาจินทั้งหมด (mg/g)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg RE/g)
เมทานอล	289.40 ± 7.36 ^a	110.00 ± 5.10 ^a	58.63 ± 3.41 ^a
เอทานอล	251.62 ± 6.25 ^b	96.50 ± 3.46 ^{ab}	55.26 ± 2.25 ^a
เอทิลอะซิเตท	236.12 ± 4.84 ^b	88.74 ± 4.25 ^b	46.71 ± 3.69 ^b

หมายเหตุ ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง (a และ b) แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

GAE (Gallic Acid Equivalent) และ RE (Rutin Equivalent)

ที่มา: Khalil *et al.* (2018)



ภาพผนวกที่ ข2 ร้อยละกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity ของสารสกัดด้วยน้ำและเอทานอลจากเปลือกทับทิมที่ความเข้มข้นต่างๆ (100-1000 µg/mL)

ที่มา: Mayasankaravalli *et al.* (2020)

ภาคผนวก ค
สรุปผลการศึกษา

ตารางผนวกที่ ๑1 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกทับทิม

วิธีการสกัด	สารพฤษเคมี	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล โดยวิธีการ สกัดแบบไหลย้อนกลับ	Polyphenolic compounds (Cinnamic derivatives), Condensed tannins และ Hydrolysable tannins ด้วยวิธี TLC	สารสกัดเมทานอลของเปลือกทับทิมจากแหล่ง ที่แตกต่างกัน 3 แหล่ง ส่วนใหญ่พบกลุ่มสาร เหล่านี้เป็นองค์ประกอบอยู่ ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในพืช	De Souza <i>et al.</i> (2018)
สกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล, เอทานอล และเอทิลอะซิเตท โดยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก	ปริมาณฟีนอลิก ฟุนิคาลาจिन และ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (FC), HPLC และ Aluminum chloride calorimetric	สารสกัดเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิก ฟุนิคาลาจिन และฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุด (289.40 ± 7.36 mg GAE/g, 110.00 ± 5.10 mg/g และ 58.63 ± 3.41 mg RE/g ตามลำดับ)	Khalil <i>et al.</i> (2018)
สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอลที่ความเข้มข้น 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70% และ 80% v/v โดยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, punicalagin A, punicalagin B และ ellagic acid ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (FC) และ HPLC	สารสกัดเอทานอลที่ความเข้มข้น 60% มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (490.42 ± 7.20 µg GAE/g) และเมื่อวิเคราะห์ด้วย HPLC พบ punicalagin และ ellagic acid เป็นองค์ประกอบหลัก	Laosirisathian <i>et al.</i> (2020)
สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ, เอทานอล, อะซิโตน, คลอโรฟอร์ม และ บิเตรียมเอทอยด์ โดยวิธี การสกัดลำต้นส่วน	แทนนิน, ซาโปนิน, ฟลาโวนอยด์, คิวโนน, โกลโคไซด์, คาร์ติเอกโกลโคไซด์, คูมาริน, เทอร์ฟีนอยด์, สเตอรอยด์, ฟีนอล และอัลคาลอยด์ โดยอาศัยปฏิกิริยาการ เกิดสีหรือตะกอน	สารสกัดเอทานอล พบกลุ่มสารพฤษเคมี เหล่านี้มากที่สุด จึงมีประสิทธิภาพสูงที่สุดใน การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือก ทับทิม	Mayasankaravalli <i>et al.</i> (2020)

ตารางผนวกที่ ค2ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกทับทิม

วิธีการสกัด	ฤทธิ์ทางชีวภาพ	วิธีการทดสอบ	ข้อสรุป	ข้อมูลอ้างอิง
สกัดด้วยตัวทำละลาย	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์	วิธี Modified	สารสกัดเมทานอลจากเปลือกทับทิมทั้ง 7	Fawole
เมทานอล 80% (v/v)	ไทโรซิเนส	dopachrome	สายพันธุ์ส่วนใหญ่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงาน	et al. (2012)
โดยวิธีการสกัดแบบ			ของเอนไซม์ไทโรซิเนสชนิด Monophenolase	
คลื่นเสียงความถี่สูง			และ Diphenolase สูงกว่าสารมาตรฐานอาร์บูติน	
สกัดด้วยตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านเชื้อ	วิธี Microdilution	สารสกัดเมทานอลแสดงฤทธิ์ยับยั้งในวงกว้าง	Fawole
น้ำและเมทานอล 80%	แบคทีเรีย	antibacterial	ต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบมีค่า MIC	et al. (2012)
โดยวิธีการสกัดแบบ		assay	ตั้งแต่ 0.2 ถึง 0.78 มก./มล.	
คลื่นเสียงความถี่สูง				
สกัดด้วยตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	วิธี DPPH radical	สารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง	Khalil et al.
เมทานอล, เอทานอล		scavenging	ที่สุด รองลงมาคือ เอทานอลและเอทิลอะซิเตท	(2018)
และเอทิลอะซิเตท			(78.23%, 70.38% และ 63.63% ตามลำดับ)	
โดยวิธีการสกัดแบบ			เนื่องจากมีปริมาณโพลีฟีนอลที่สูงจึงมีฤทธิ์	
แช่หมัก			ต้านอนุมูลอิสระสูง	
สกัดด้วยตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ,	วิธี DPPH scavenging	สารสกัดด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ	Mayasankaravalli
น้ำและเอทานอล	ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์	activity, วัวิธี	ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงกว่าสาร	et al. (2020)
โดยวิธีการสกัดลำดับ	แอลฟาไกลูโคซิเดส,	p-nitrophenol	สกัดเอทานอล แต่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไลเปส	
ส่วน	ไลเปส และแอนจิโอ	colorimetric และวิธี	และแอนจิโอเทนซิน-คอนเวอร์ติงที่ต่ำกว่าจึง	
	เทนซิน-คอนเวอร์ติง	Spectrophotometric	นำสารสกัดเปลือกทับทิมมาใช้เป็นยารักษาโรค	
			เบาหวาน โรคอ้วน และโรคความดันโลหิตสูงได้	