บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. สับปะรด (*Ananas comosus*.L.)

1.1. ชีววิทยาและนิเวศวิทยาของสับปะรด

ภาพที่ 2.1 ภาพแสดง *Ananas comosus*.L.
แหล่งที่มา https://th.wikipedia.org/wiki/สับปะรด

สับปะรดมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Ananas comosus วงศ์ Bromeliaceae ในประเทศไทยสับปะรดนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มีปริมาณการผลิตเป็นอันดับหนึ่งของ โลก รองลงมาคือ ฟิลิปปินส์และจีน ตามลำดับ โดยทั่วไป สับปะรดสดจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบถึงร้อยละ 80-85 น้ำตาลร้อยละ 12-15 กรดร้อยละ 0.6 โปรตีนร้อยละ 0.4 เถ้าร้อยละ 0.5 ไขมันร้อยละ 0.1 ส่วนที่เหลือเป็นเส้นใย และวิตามิน (Salvi M.J. ,et. 1995) น้ำตาล ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลอย่างง่าย เช่น ซูโครส กลูโคส และ ฟรุคโทส ซึ่งน้ำตาลซูโครสมีมากถึง 2 ใน 3 ส่วนของ น้ำตาลทั้งหมด ที่เหลือจะเป็นน้ำตาลรีดิวส์ ซึ่งประกอบ ด้วยกลูโคสและฟรุคโทส (Camara, M., 1995) ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.3-3.7 กรดส่วนใหญ่เป็นกรดซิตริกและกรดมาลิค นอกจากนี้ ยังมีกรดแอสคอบิคประมาณ 22.5-33.5 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ในขณะที่มีสารประกอบ ฟีนอลค่อนข้างสูง (~355-361 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เมื่อเทียบกับผักผลไม้อื่นๆ สารประกอบฟีนอลิกในอาหาร และเภสัชโภชนภัณฑ์ (Nutraceuticals) เป็นอนุพันธ์ของ ฟีนิวอะลานีล (Phenylalanine) และไทโรซีน (Tyrosine) เกิดจากเมตาบอไลท์ทุติยภูมิในพืช ประกอบด้วยหมู่ aromatic ring ที่ก่อพันธะกับหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ และอนุพันธ์ของฟีนอล (สโรบล ,2554)

1.2 องค์ประกอบทางเคมี

เศษเหลือของสับปะรดจากโรงงานจะมีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันทั่วไปเรียกว่าเปลือกสับปะรด หรือกากสับปะรดจะประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ มีเปลือกด้านข้าง ส่วนหัว ส่วนล่าง ไส้ (แกนกลาง) และเศษเนื้อ อาจจะมีส่วนใดส่วนหนึ่งมากน้อยแล้วแต่โรงงาน ซึ่งจะทาให้ส่วนประกอบทางเคมีจากเศษเหลือของสับปะรด หรือเปลือกสับปะรดมีค่าแตกต่างกัน (ตารางที่ 3) โดยทั่วไปเปลือกสับปะรดสดจากโรงงานทาสับปะรดกระป๋องจะมีปริมาณน้ำาอยู่สูง มีวัตถุแห้งประมาณ 10-12% มีความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 3.2-3.4 (Perez and Hsu, 1973) มียอดโภชนะย่อยได้ (TDN) 65-74% มีโปรตีนปริมาณแร่ธาตุต่างๆ และวิตามินอีต่า (Muller, 1974, 1975) ปริมาณน้าตาลที่พบมากส่วนใหญ่เป็นพวกซูโครส (70%) กลูโคส (20%) และฟรุคโตส (10%) (Muller, 1978) และได้รวบรวมผลวิเคราะห์ของเปลือกสับปะรดได้จากโรงงานแปรรูปทาสับปะรดกระป๋อง (ตารางที่ 2.2)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกสับปะรดจากโรงงาน (% วัตถุแห้ง)

โปรตีน	ไขมัน	เยื่อใย	เถ้า	NFE
4.80	1.90	25.5	4.50	63.30
6.90	0.90	17.80	4.00	70.40
3.74	3.81	12.72	3.99	77.72
6.44	1.84	13.96	6.81	52.92
6.00	3.81	14.81	6.81	68.54

ที่มา : อ้างโดยจินดา (2547)

ตารางที่ 2.2 ส่วนประกอบทางเคมีของกากสับปะรดโดยวิธี Detergent analysis

องค์ประกอบ	เปลือกด้านข้าง	ส่วนหัว	ส่วนล่าง	แกน (ไส้)	เศษเนื้อ
Moisture	85.8	84.9	85.9	88.6	84.5
Crude protein	4.4	4.1	5.4	3.2	3.6
Crude fat	1.5	1.2	1.4	1.3	1.2
Crude fiber	8.1	11.6	13.4	8.9	4.7
Ash	4.9	5.4	7.6	3.8	4.2
NFE	81.1	77.7	72.2	82.8	86.3
NDS	72.9	61.2	53.1	73.1	85.5
NDF	27.1	38.8	46.9	26.3	14.5
ADF	12.1	17.1	20.4	12.2	5.8
ADL	1.7	1.9	2.8	0.7	0.6
Cellulose	10.4	15.2	17.6	11.5	5.2
Hemicellulose	15.0	21.7	26.5	14.1	8.7

ที่มา : วรพงษ์ และวิภา (2528)

หมายเหตุ : NFE = Nitrogen free extract, NDS = Neutral detergent soluble, NDF = Neutral detergent fiber, ADF = Acid detergent fiber, ADL = Neutral detergent lignin

2. ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิว

ผลิตภัณฑ์พอกผิว (mask) เป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้พอกผิวเพื่อบำรุงผิวขจัดคราบสกปรกและเซลลผิวเก่าทำให้ผิวหน้าและผิวกายผุดผ่องขึ้น ผลิตภัณฑ์พอกผิวเป็นผลิตภัณฑ์ ใช้ทั้งทาหน้าและทาตัวในรูปแบบของของเหลวหรือกึ่งของแข็งกึ่งเหลวแล้วปล่อยให้แห้งหรือแข็งเพื่อทำให้ผิวสะอาดและดูดีขึ้น บางชนิดจะทำให้ผิวหน้าร้อนและกระชับโดยการกระตุ้นให้ผลัดเซลล์ผิว เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกและความมันบนผิว จากนั้นจึงเช็ดหรือล้างออกซึ่งจะช่วยกำจัดเศษผิวหนังและสิวหัวดำได้พร้อมๆ กันแบ่งตามวิธิการใช้เป็น 4 ชนิด ได้แก่ ชนิดลอกออก (peel-off type) ชนิดเช็ดหรือล้างออก (wipe off and rinse-off types) ชนิดลอกออกเมื่อแข็ง (peel-off when hard type) และชนิดกาว (adhesive fabric type) ผลิตภัณฑ์พอกหน้าชนิดเช็ดหรือล้างออกอาจอยู่ในรูปครีม โคลนพอกหรือเจลลี่ เมื่อปล่อยทิ้งไว้ระยะเวลาหนึ่ง ผลิตภัณฑ์จะมีลักษณะแห้งติดผิวต้องใช้ผ้านุ่มชุบน้ำอุ่นเช็ดหรือล้ างด้วยน้ำอุ่นออก สิ่งสกปรกต่างๆ ถึงจะถูกกำจัดออกไปด้วยในขณะที่เช็ดหรือล้าง (เอกพล, 2014)

ผลิตภัณฑ์ขัดผิว เป็นผลิตภัณฑ์ประเภททำความสะอาดและบำรุงผิว ซึ่งการขัดผิวนั้นเป็นการขจัดเซลล์ผิวหนังที่ตายแล้ว (Williams and Schmitt, 1996) นั่นคือส่วนชั้นบนสุดของชั้นคอร์เนียม (stratum corneum) ให้หลุดลอกออกไปเพราะเป็นเซลล์ที่ไม่สามารถทำหน้าที่เก็บกักความชุ่มชื้นได้อีกแล้ว การขัดผิวจึงช่วยให้ผิวมีความสดใส ช่วยลดการอุดตันของรูขุมขน และช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการหลุดลอกเซลล์ผิวที่เสื่อมสภาพออก โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ประเภทนี้จะประกอบด้วยส่วนผสมของสารขัดผิวเม็ดเล็กๆ ที่ไม่ทำลายผิว และครีมประเภทนี้มักอยู่ในรูปอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (O/W emulsions) และมีส่วนผสมของอนุภาคเม็ดขัดผิว ซึ่งอาจเป็นเม็ดขัดผิวสังเคราะห์ เช่น โพลีเอทิลีน หรือ สารชนิดอื่นที่เฉื่อยต่อการทำปฏิกิริยา เช่น เมล็ดพืชที่มีเปลือกแข็ง (ground seed-husks) ซึ่งหากต้องการใช้ในปริมาณมากควรใช้อย่างระมัดระวัง เนื่องจากกลไกในการขัดอาจทำให้เกิดการระคายเคืองต่อผิวได้ (ปัณรสี, 2554)

3. สารขัดผิว (Exfoliating/Scrubbing agent)

ผลิตภัณฑ์สารขัดผิว (Scrub Products) ปัจจุบันได้รับความนิยมมากขึ้นตามลำดับ โดยเฉพาะ อย่างยิ่งการใช้ในสปาซึ่งเน้นถึงปรัชญาในการผ่อนคลาย เป็นการใช้เพื่อการดูแลผิวพรรณ และทำให้รู้สึก เป็นหนุ่มสาว นอกเหนือจากการทำความสะอาดผิว ผลิตภัณฑ์ขัดผิวนอกจากช่วยขจัดสิ่งสกปรก ฝังแน่นและช่วยขจัดเซลล์ผิวเก่าเพื่อให้ผิวเรียบเนียนแล้ว ยังช่วยให้การไหลเวียนโลหิตดี กระตุ้นเซลล์ ผิวใหม่ให้แข็งแรงโดยอาศัยการถูนวดไปมาเบา ๆ บนผิว ผลิตภัณฑ์ขัดผิวมักประกอบด้วยสารขัดถู (abrasives) ซึ่งอาจเป็นสารที่ละลายน้ำได้ เช่น เกลือน้ำตาล หรือเป็นสารไม่ละลายน้ำ เช่น โพลีเอทธิลีนสังเคราะห์ (polyethylene beads), เปลือกเมล็ด หรือเมล็ดธัญพืช เป็นต้น อาจมีการเติมสารปรับสภาพและบำรุงผิว (conditioner) เช่น เกลือแร่ (minerals) น้ำมันจากธรรมชาติ สารอิมอลเลียนท์ วิตามิน และสารอาหารต่าง ๆ สารขัดถูถูกผสมลงในยาพื้น (base) ในลักษณะแขวนกระจาย หรือแบบนอนก้นก็ได้ ดังนั้น ยาพื้นที่ใช้ต้องไม่เป็นตัวทำละลาย สำหรับสารขัดถู สารขัดถูซึ่งมีความแข็ง อนุภาคใหญ่ และรูปร่างไม่แน่นอน มักทำให้ระคายผิว ทำลายผิว และก่อระคายเคืองได้ง่าย ในทางตรงกันข้าม สารขัดถูซึ่งอ่อนเป็นผงละเอียดจะไม่เกิดผลในการนวดถูเพียงพอที่จะทำให้เกิดความรู้สึกผ่อนคลาย สารขัดถูที่ดีควรมีความแข็ง ตั้งแต่ 0.5-7 (สเกลความแข็ง 0 หมายถึง แข็งที่สุด 10 หมายถึง อ่อนที่สุด) ขนาดอนุภาคตั้งแต่ 278 180-420 ไมครอน (ผ่านแร่งเบอร์ 40-80 mesh) รูปร่างทรงกลมให้ผลดีที่สุดในการขัดผิว ปริมาณ ขัดถูอาจใช้ตั้งแต่ 0.5-10% ในตำรับ การใช้สารขัดถูจากธรรมชาติต้องระวังเรื่องการปนเปื้อนของ จุลินทรีย์ ถ้าจะให้ปลอดภัย ควรทำการฆ่าเชื้อโดยทำไร้เชื้อแบบใช้รังสีก่อนนำมาผสมในผลิตภัณฑ์

สารขัดถูที่ได้จากธรรมชาติมักได้จากเปลือกผลเปลือกเมล็ด หรือเมล็ดธัญพืชและถั่ว ต่าง ๆ เช่น เมล็ดลูกท้อ (apricot seed) เปลือกอัลมอนด์ (almond shell) เมล็ดองุ่น (grape seed) เมล็ดพีช (peach seed) เมล็ดทานตะวัน (Sunflower seed) เปลือกเมล็ดวอลนัท (walnut shall) เมล็ดแตงโม (Watermelon seed) เปลือกเมล็ดฝ้าย (cotton seed shell) สารเหล่านี้มีความแข็ง หยาบขัดถูดี สารพวกไขแข็ง เช่น almond meal, jojoba wax, jojoba bead ซึ่งไม่แตกสลาย ราคา ก็แพง ไม่ทนความร้อน สารขัดถูที่เป็นสารสังเคราะห์ เช่น polyethylene powder, nylon powder, polypropylene powder, cellulose beads และ polystyrene รวมถึง Synthetic silica ซึ่งมีทั้งชนิดที่ แตกสลายได้และไม่ได้ มีรูพรุน ขนาดอนุภาคมีตั้งแต่ 10-1000 ไมครอน ดูดซับความมัน/สิ่งสกปรก ได้ดี ทนความร้อน เข้ากับสารอื่นในตำรับได้กว้าง นอกจากนี้อาจได้จากหิน pumice ซึ่งเป็นหินจาก ภูเขาไฟที่มีรูพรุน โดยทั่วไปสารขัดถูมักมีขนาดอนุภาค 180-420 ไมครอน (ผ่านแร่งเบอร์ 40-80 mesh) นิยมใช้ขนาด 300 ไมครอนมากที่สุด (ผ่านแร่งเบอร์ 60 mesh) (พิมพร, 2547)

ตารางที่ 2.3 คุณสมบัติของสารขัดผิวชนิดต่างๆที่นิยมใช้ในท้องตลาด

แหล่งที่มา	ตัวอย่างสารขัดผิว	คุณสมบัติ
1.จากธรรมชาติ	เมล็ดแอฟพริคอต (Apricot seeds) และ วอลนัต (Walnut seeds)	เป็นเมล็ดพืชจากธรรมชาติ ที่นำมาบดให้ละเอียด มีลักษณะแข็ง หยาบ และสาก อาจก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ง่าย ไม่ค่อยบริสุทธิ์ ลักษณะปรากฏไม่สวยงาม
	โจโจบา เอสเทอร์ (Jojoba esters)	เป็นชนิดที่แตกตัวไม่ได้ มีราคาแพง ไม่มีความคงตัวที่อุณหภูมิสูง
2. สารอินทรีย์ที่ได้จากการสังเคราะห์	เม็ดโพลีเอทิลีน (Polyethylene beads)	ความหนาแน่นต่ำ มีโอกาสที่เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญได้ มีความคงตัวในช่วง pH ที่แคบ คือในช่วง 6-9 และไม่มีความคงตัวในด้านสี โดยถ้าอยู่ในสภาวะที่เป็นกรด จะทำให้สีของเม็ดขัดผิวเปลี่ยน
	โพลีเมทธาคีเลท (Cross-linked polymethacrylate)	เป็นชนิดที่แตกตัวไม่ได้ มีราคาแพง มีความหนาแน่นสูง จึงไม่เหมาะที่จะใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีความหนืดต่ำ
	แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate)	ค่อนข้างแข็ง หยาบ และสาก ก่อให้เกิดการระคายเคืองได้ง่าย

นอกจากนี้ยังมีสารขัดผิวชนิดอื่นๆ ทั้งที่ได้จากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดผิว แสดงดังตารางที่ 2.3 ดังนี้

4. สารต้านอนุมูลอิสระ (พิมพร, 2551)

สารต้านอนุมูลอิสระหรือแอนตี้ออกวิแดนท์มีบทบาทในการป้องกันเซลล์ผิวหนังจากการถูกทำลาย จึงใช้ป้องกันหรือชะลอความเหี่ยวย่นของผิวได้

ปกติผิวหนังมีเอนไซม์และสารหลายชนิดทั้งในชั้นของหนังกำพร้าและหนังแท้ ซึ่งสามารถต้านออกซิเดชันได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 สารต้านออกซิเดชันที่พบในผิวหนังชั้นหนังกำพร้าและหนังแท้ของคน

สารต้านออกซิเดชัน	ความเข้มข้น	
	หนังกำพร้า (Epidemis)	หนังแท้ (Dermis)
Superoxide dismutase	816 ± 106 units/gm skin	361 ± 28 units/gm skin
Catalase	2912 ± 406	355 ± 89
Glutathione peroxidease	0.71 ± 0.09	0.44 ± 89
Glutathione reductase	0.63 ± 0.11	0.20 ± 0.20
Clucose-6-phosphate	0.57 ± 0.09	0.27 ± 0.04
dehydrogenase	1.53 ± 0.22	0.37 ± 0.04
Isocitrate dehydrogenase	3.26 ± 1 nmol/gm skin	1.78 ± 1.78 nmol/gm skin
γ-Tocopherol	31.0 ± 3.8	16.2 ± 1.10
α-Tocopherol	3.53 ± 0.79	0.35 ± 0.08
Ubiqunol 10	4.12 ± 0.59	2.86 ± 0.84
Ubiquinone 10 (Coenzyme Q_{10})	3798 ± 1016	723 ± 320
Ascorbic acid	3802 ± 1552	588 ± 240
Dehydroascorbic acid	1071 ± 242	182 ± 24
Uric acid	460.9 ± 77.4	75.1 ± 9.0
Reduced glutathione	23.2 ± 6.41	9.6 ± 3.8
Oxidized glutathione		

แหล่งที่มา : ปัณรสี (2554)

การศึกษาเพื่อวัดปริมาณและประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ได้ถูกศึกษาและพัฒนาขึ้นหลายวิธีด้วยกัน ส่วนใหญ่เป็นการศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro) และเป็นการศึกษาโดยเปรียบเทียบกับฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน (เช่น วิตามินอี, วิตามินซี เป็นต้น) และใช้สารต้านอนุมูลอิสระชนิดสังเคราะห์ที่ไม่มีในร่างกายตามธรรมชาติเป็นตัวแทนในการทำปฏิกิริยาในหลอดทดลอง ดังนั้น การศึกษาฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรหรืออาหารเสริม จึงเป็นการศึกษาฤทธิ์ที่มีอยู่ในตัวอย่างเท่านั้น ไม่ได้เป็นการรับประกันว่า เมื่อใช้หรือรับประทานเข้าไปแล้วจะมีฤทธิ์จริงอย่างที่ศึกษาในหลอดทดลอง เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจะต้องผ่านการดูดซึมทางลำไส้ จึงผ่านการถูกทำลายจากเอนไซม์ต่างๆ ก่อนเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้น ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหรือสารสกัดจากสมุนไพรในเบื้องต้น ผลการศึกษาที่ได้เป็นเพียงการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ที่มีในสารสกัด และอนุมานได้ว่าตัวอย่างที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ย่อมมีโอกาสเกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภคมากกว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำ (สุนีย์ ชาญณรงค์, 2552)

สารต้านอนุมูลอิสระมีมากมายหลายกลุ่ม มีคุณสมบัติทั้งทางเคมีและกายภาพแตกต่างกันไป แต่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เหมือนกัน คือ สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารอนุมูลอิสระที่มีในร่างกาย มีหลายประเภทเช่นกัน ฤทธิ์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและพืชสมุนไพรได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางและยืนยันได้ว่าสามารถลดอุบัติการณ์การเกิดโรคแห่งความเสื่อมต่างๆ ได้อย่างมาก

สารต้านอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็นหลายกลุ่มตามกลไกการออกฤทธิ์ เช่น การเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ การทำให้เปอร์ออกไซด์ (peroxide) หมดฤทธิ์ และการเข้าจับกับโลหะหนัก ดังนั้น ก่อนจะสรุปว่าสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดแต่ชนิดมีฤทธิ์เพียงใด ควรทำการวิเคราะห์โดยหลายๆ วิธีก่อน ซึ่งการวิเคราะห์ที่นิยม คือ การทำปฏิกิริยาทางเคมี ซึ่งมีวิธีใหญ่อยู่ 2 วิธี คือ

1. ปฏิกิริยาที่มีการโอนถ่ายไฮโดรเจนอะตอมหรือ hydrogen atom transfer based method เรียกย่อว่า HAT เช่น วิธี β- carotene bleaching method
2. ปฏิกิริยาที่มีการโอนถ่ายอิเล็คตรอน หรือ electron transfer based method เรียกย่อว่า ET เช่น ปฏิกิริยาส่วนใหญ่ที่กล่าวถึงในบทนี้

วิธี HAT จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการทำลายฤทธิ์ของอนุมูลอิสระ โดยการให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระ สำหรับวิธี ET จะเป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการโอนถ่ายอิเล็คตรอนเพื่อทำการรีดิวซ์สารอนุมูลอิสระ รวมทั้งไอออน

ของโลหะหนักและหมู่ฟังก์ชันที่ต้องการอิเล็คตรอน ปฏิกิริยาทั้งสองนี้ อาจเกิดขึ้นพร้อมๆ กันได้ ถ้าแบบใดเกิดขึ้นมากกว่า จะถือเป็นตัวแทนของปฏิกิริยานั้นอย่างไรก็ตาม ปริมาณของสารผลผลิตของแต่ละปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น สามารถทำการวิเคราะห์ได้ด้วยวิธีที่เหมาะสม ดังนั้น ก่อนจะสรุปลงไปว่า สารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถมากน้อยเพียงใดจะต้องใช้หลายๆ วิธีร่วมกัน เพื่อจะได้อธิบายปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเมื่อรับประทานหรือทาสารออกฤทธิ์เหล่านี้ทางผิวหนัง ซึ่งในความเป็นจริงอาจจะมีกลไกอื่นที่ต่างจากในหลอดทดลองก็ได้

การระบุความสามารถหรือฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ เรียกได้หลายชื่อ เช่น “Antioxidant capacity” ซึ่งอยู่กับวิธีการที่ศึกษาและการประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับตัวอย่าง วิธีการศึกษาฤทธิ์ของสารต้านทานอนุมูลอิสระที่นิยมในการทำวิจัยในปัจจุบัน มีตัวอย่างดังนี้

1. Oxygen radical absorbance capacity (ORAC)
2. Total antioxidant scavenging capacity (TOSC)
3. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)
4. ABTS assay
5. Ferric reducing antioxidant power (FRAP)
6. DPPH assay DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) Assay

เป็นวิธีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ง่าย นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการทดสอบฤทธิ์ของอาหารและสมุนไพร สารที่ใช้คือ อนุมูลอิสระ DPPH· หรืออนุมูลอิสระ 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl เป็นสารที่อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระที่มีความคงตัว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร มีสีม่วงอมสีน้ำเงินเมื่อถูกรีดิวซ์โดยสารต้านอนุมูลอิสระ จะเปลี่ยนจากสีม่วงอมน้ำเงินเป็นสีเหลือง (DPPH· เปลี่ยนเป็นDPPH-H) ซึ่งการเปลี่ยนสีจะสัมพันธ์โดยตรงกับจำนวนของอิเล็คตอนที่ก่อพันธะกับไฮโดรเจนที่ได้จากสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาโดยวิธีนี้ค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถคำนวณได้หลายแบบแล้วแต่ผู้ทดลองจะกำหนดตัวอย่างเช่น การเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นแน่นอน โดยวัดที่ระยะเวลาที่ทำปฏิกิริยาเท่ากัน การรายงานผลจะเป็น % antioxidant activity (% AA) คำนวณได้ดังสมการ

$$\%\,AA = \frac{[1-(A_{517}\ of\ sample)]}{(A_{517}\ of\ s\tan dard)} \times 100$$

นอกจากนี้ ยังสามารถรายงานผลในรูปของ Effective concentration ($EC_{50\%}$) เป็นค่าความเข้มข้นหรือปริมาณของสารที่ลดความเข้มข้นของ DPPH· ได้ 50% ของความเข้มข้นเริ่มต้น ซึ่งวิธีนี้จะต้องเตรียมสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้นหลายๆ ค่าและวัดที่เวลาต่างๆ แล้วพล๊อต กราฟระหว่าง % DPPH· remaining (ปริมาณของ DPPH· ที่ เหลืออยู่ที่เวลาต่างๆ) กับเวลา เพื่อการติดตามปฏิกิริยา จากนั้น หาความเข้มข้นสามารถลดค่าการดูดกลืนแสงลงได้ 50% ของเริ่มต้น บันทึกผลออกมาเป็นค่า $EC_{50\%}$

ข้อควรระวังของการวัดด้วยวิธีนี้ คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ทำปฏิกิริยากับ $DPPH^{\cdot+}$จะเป็นชนิดที่ละลายน้ำได้ จึงวิเคราะห์ผลได้เฉพาะส่วนที่ละลายน้ำได้เท่านั้น ดังนั้น มีผู้วิจัยบางคนใช้ตัวทำละลายเป็นไฮโดรเมทธานอล (hydromethanol) แทนน้ำบริสุทธิ์ เพื่อให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ละลายน้ำในตัวอย่างสามารถละลายและถูกวัดได้และระยะเวลาที่ใช้ทำปฏิกิริยาควรจะนานเพียงพอจะวัดค่าได้ถูกต้องมากขึ้นเชื่อถือหรือไม่ ขึ้นกับสารมาตรฐานที่ใช้และการวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ในตัวอย่างร่วมด้วยอย่างไรก็ตาม แต่ละวิธีควรมีการศึกษาจลนศาสตร์ของปฏิกิริยาร่วมด้วย เนื่องจากในสารสกัดสมุนไพรโดยเฉพาะ crude extract จะมีสารออกฤทธิ์หลายชนิดปนกับ และสารแต่ละชนิดจะมีขีดการละลายน้ำหรือตัวกลางที่ศึกษาแตกต่างกัน ปฏิกิริยาจึงอาจเกิดขึ้นช้าหรือเร็วแตกต่างกัน การใช้วิวิเคราะห์วิธีใดวิธีหนึ่งที่เจาะจงเกินไป อาจทำให้แปลผลคลาดเคลื่อนได้ การทดลองควรมีชุดควบคุมที่ดีเพื่อตัดข้อสงสัยต่างๆ ออกไป และมีข้อควรคำนึงถึงอีกประการหนึ่ง คือ ผลการศึกษานี้ เป็นการวิเคราะห์นอกร่างกาย ซึ่งยังไม่สามารถยืนยันผลที่จะเกิดขึ้นเมื่อเข้าสู่ร่างกายได้ เนื่องจากสารต่างๆ จะต้องผ่านการดูดซึมทั้งทางผิวหนังหรือเยื่อบุทางเดินอาหารที่อาจทำให้การออกฤทธิ์แตกต่างจากผลนอกร่างกาย อย่างไรก็ตาม เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า ถ้าผลในหลอดทดลองให้ผลที่ดีตัวอย่างที่ศึกษาย่อมมีโอกาสถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ได้มากกว่า

6. เอนไซม์โบรมิเลน

โบรมิเลนเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยโมเลกุลของสารประเภทโปรตีน (proteolytic enzyme) จัดอยู่ในกลุ่มซัลฟโฮดริล โปรตีเอส เช่นเดียวกับปาเปน ฟิซิน และจาก Streptococcus protease เป็นเอนไซม์ที่อยู่ภายในเซลล์ (intracellular) สามารถเร่งปฏิกิริยาการย่อยโปรตีน สภาวะที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์โบรมิเลนคือในสภาพที่มี pH 7.0 เมื่อใช้เคซีนเป็นซับสเตรท และ pH 5.0 เมื่อใช้เจลาตินเป็นซับสเตรท อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 63-65 องศาเซลเซียส ถูกทำลายด้วยความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส มีความคงตัวที่ pH 3.0-5.5 และเมื่อ pH ตั้งแต่ 2.5 ลงมาจะไม่เสถียร เป็นเอนไซม์ที่ละลายน้ำได้ ไม่

ละลายในแอลกอฮอล์และอะซีโตน ได้มีการนำเอนไซม์โบรมิเลนไปใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง เช่นเดียวกับปาเปน และโปรตีนเอสอื่น เพื่อให้หนังพองอ่อนนุ่ม และในอุตสาหกรรมสีเพื่อเพิ่มความคงตัว ความหนืดของโปรตีนอีมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในสี later ส่วนนอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้โบรมิเลนเพื่อเร่งขบวนการทำน้ำปลาจากไส้ตันและเพิ่มคุณค่าทางอาหาร และการใช้โบรมิเลนเพื่อป้องกันการเกิดความขุ่นของเบียร์ในการเก็บรักษา และเพื่อความยืดหยุ่นและปริมาตรของขนมปังในอุตสาหกรรมขนมปัง ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์โบรมิเลนช่วยทำให้เนื้อนุ่ม และในอุตสาหกรรมยาใช้เป็นยาช่วยย่อย ยาแก้ประจำเดือน ยาถ่ายพยาธิ ใช้ขับ mucus ก่อน X-ray มดลูก และใช้แก้การอักเสบ และในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางได้มีการสกัดเอนไซม์โบรมิเลนบริสุทธิ์เพื่อใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์กลุ่มพอกหรือลอกผิว ผลิตภัณฑ์ขัดผิว และผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาว เป็นต้น (อรวินท์ วงค์มีเกียรติ, 2527)

7. การศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

7.1 จากการศึกษาผลจากการอบแห้งใยสับปะรด (อุบลรัตน์, 2549) ด้วยตู้อบลมร้อนชนิดถาดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 ชั่วโมง 30 นาที พบว่าได้ใยสับปะรดอบแห้งคิดเป็นร้อยละ 3.26 ของน้ำหนักสด และเมื่อนำใยสับปะรดอบแห้งไปบด และร่อนผ่านตะแกรงขนาด 18 เมซ เพื่อเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ข้าวแต๋นได้ใยสับปะรดแห้งบด คิดเป็นร้อยละ 1.47 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่า ใยสับปะรดอบแห้งมีปริมาณโปรตีน ไขมัน ใยอาหาร เถ้า และ ความชื้น คิดเป็นร้อยละ 3.04 0.85 80.60 2.21 และ 7.41 ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

ชนิดของวัตถุดิบ	องค์ประกอบทางเคมีคิดเป็นร้อยละ				
	โปรตีน	ไขมัน	ใยอาหาร	เถ้า	ความชื้น
ใยสับปะรดอบแห้งบด	3.04	0.85	80.60	2.21	7.41

2. จากการศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในหลอดทดลอง (*in vitro* antioxidant capacity) ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ตทั้งในเปลือก แกน และเนื้อของ สุดารัตน์ และศศิธร (2550) โดยวิธี Total phenol วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) วิธี 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothaizoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) และวิธี Oxygen radical absorbance capacity (ORAC) พบว่า เปลือกสับปะรดพันธุ์

ปัตตาเวียมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงสุด ส่วนเนื้อและแกนของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญ ในขณะที่เปลือกสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงสุด รองลงมาคือเนื้อและแกนสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเนื้อเยื่อส่วนเดียวกันของสับปะรด 2 พันธุ์ พบว่า เปลือก แกน และเนื้อของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียอย่างมีนัยสำคัญ

3. จากการศึกษาสมบัติเคมีกากใยสับปะรดของปัณรสี (2554) โดยตรวจทดสอบค่ากิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนโดยวิธี Enzyme assay for amidase activity ดัดแปลงจากวิธีของดีเคเซอร์ (Dekeyser et al., 1994) โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 nm ของปฏิกิริยาไฮโดไลซิส L-BABNA (substrate) แสดงค่าดังตาราง

ตารางที่ 2.6 ค่ากิจกรรมเอนไซม์โบรมิเลนในตัวอย่างกากใยสับปะรดแห้ง

ตัวอย่าง	Unit of activity (nkat/10g)
กากสับปะรดแห้ง	1.77±0.13

4. ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขัดผิวกายออร์แกนิคจากข้าวหอมนิลของศาตนันท์ (2551) พบว่า ขนาดเม็ดขัดผิวคือ 40/60 mesh และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการขัดผิว คือ 7 % และเมื่อพัฒนาเป็นตำรับผลิตภัณฑ์ 2 ตำรับคือสูตรครีมแบบมีน้ำและสูตรครีมแบบปราศจากน้ำพบว่าทั้ง 2 สูตรมีความคงตัวปกติ และอาสาสมัครมีความพงพอใจในสูตรครีมแบบมีน้ำมากกว่าสูตรครีมแบบปราศจากน้ำ

5. ผลการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์ขัดผิวจากลูกเดือยของประดับฟ้า (2550) พบว่าการพัฒนาสูตรครีมโดยใช้ลูกเดือยบดมีขนาดอนุภาคไม่เกิน 418 ไมครอน และความเข้มข้นลูกเดือยต่างกันตั้งแต่ 3-15% นั้นสูตรที่มีความคงตัวของตำรับดีที่สุดและได้รับความพึงพอใจจากอาสาสมัครมากที่สุดคือสูตรครีมผสมลูกเดือย 3%