

การเพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



นิชชีมา บุญอยู่

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

การเพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง



นิชชิวา บุญอยู่

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

สำนักบริหารและพัฒนางานวิชาการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การเพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

นิชชีมา บุญอยู่

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.ลภัสสรดา มุ่งหมาย)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชลินดา อริยเดช)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ญาณิน โอภาสพัฒนกิจ)

รักษาการแทนรองอธิการบดี ปฏิบัติการแทน

อธิการบดีมหาวิทยาลัยแม่โจ้

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การเพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนิชชีมา บุญอยู่
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาสหวิทยาการเกษตร
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล

บทคัดย่อ

เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp; CP) เป็นผลพลอยได้ (by-product) จากอุตสาหกรรมการผลิตเมล็ดกาแฟ จัดเป็นเศษเหลือที่ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมทั้งคุณภาพดินที่เป็นกรดและกลิ่นไม่พึงประสงค์ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงนำ CP มาแปรรูปเพิ่มมูลค่าเป็นสารเชิงหน้าที่ในเครื่องสำอางบำรุงผิว (cosmetic ingredient) โดยนำไปสกัดด้วยน้ำ ได้เป็นผงสารสกัด (coffee pulp extract; CPE) สีน้ำตาลเข้ม มีร้อยละผลผลิตสารสกัด (%yield) 38.5% จากเนื้อผลกาแฟแห้ง CPE มีปริมาณฟีนอลิกรวม 45.12 ± 1.08 mg GAE/ g extract และมีกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) เท่ากับ 17.8 mg/kg ในส่วนของการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพต่อการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีผลต่อการชะลอวัยใน 3 การทดลอง พบว่า CPE มีฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS, อนุมูล DPPH และอนุมูล Superoxide เท่ากับ 61.24 ± 3.78 mg TEAC/ g extract, 5.05 ± 0.11 mg GAE/ g extract และ 164.38 ± 4.76 mg TEAC/ g extract ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่เป็นตัวการสร้างเม็ดสีเมลานิน พบว่ามีค่าการยับยั้งเอนไซม์ได้ 50% ที่ความเข้มข้น (IC₅₀) 125.21 ± 4.90 mg/mL จากการทดลองดังกล่าวจึงนำ CPE ไปพัฒนาตำรับเป็นเครื่องสำอางบำรุงผิว และทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน พบว่า อาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้แล้วได้ทำการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นซึ่งไม่พบผู้ที่เกิดการระคายเคือง ดังนั้น CPE จึงมีศักยภาพในการเป็น cosmetic ingredient ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิว

คำสำคัญ : เนื้อผลกาแฟ, สารประกอบฟีนอลิก, สารต้านอนุมูลอิสระ, เอนไซม์ไทโรซิเนส, เครื่องสำอาง

Title	VALUE ADDED OF COFFEE PULP AS COSMECEUTICAL PRODUCT
Author	Miss Nitchima Boonyu
Degree	Master of Science in Agricultural Interdisciplinary
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Dounporn Amornlerdpison

ABSTRACT

Coffee pulp (CP) is a by-product from the industrial coffee production which causes problems in environmental management including acidic soil quality and unpleasant odors. In this study, CP is processed to add value as a functional compound in cosmetic ingredients, which are extracted with water as dark brown powder, coffee pulp extract (CPE). The yield of CPE was 38.5% from dried CP. CPE contained a total phenolic content of 45.12 ± 1.08 mg GAE/g extract and chlorogenic acid of 17.8 mg/kg. In the study of biological activity on antioxidant activity which possess an effect on anti-aging in 3 experiments, it was found that CPE showed the scavenging ABTS, DPPH and superoxide radicals of 61.24 ± 3.78 mgTEAC/g extract, 5.05 ± 0.11 mgGAE/g extract and 164.38 ± 4.76 mgTEAC/g extract, respectively. Furthermore, CPE evaluated the anti-tyrosinase activity which played a role in melanin pigment formation. The CPE exhibited IC_{50} or 50% enzyme inhibition at the concentration 125.21 ± 4.90 mg/mL. From the above experiments, CPE was developed in the cosmetic formulations and then tested the satisfaction on 30 volunteers. The result showed that 80% of the volunteers were satisfied with CP cosmetics. The analysis showed none irritation reaction in all volunteers. Therefore, CPE has the potential to be a cosmetic ingredient in cosmetic products.

Keywords : Coffee pulp, Phenolic compound, Antioxidant, Tyrosinase, Cosmetic

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลงได้ด้วยความกรุณาจากบุคลากรหลายท่าน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล ที่เป็นที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ที่ให้ความรู้ คำแนะนำในการศึกษาค้นคว้าข้อมูล และชี้แนะแนวทางในการวิจัยรวมถึงการแก้ปัญหาให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงการตรวจและแก้ไขงานจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุตินา ศรีมะเร็ง ที่กรุณารับเป็นประธานการสอบวิทยานิพนธ์ รวมถึงให้ความรู้ คำแนะนำ และชี้แนะแนวทางรวมถึงตรวจทานเล่มวิทยานิพนธ์ให้ถูกต้องสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. เกียรติศักดิ์ เม่งอำพัน และ อาจารย์ ดร. ลภัสรดา มุ่งหมาย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมวิทยานิพนธ์ที่ให้การสนับสนุน ให้คำแนะนำต่างๆ รวมถึงให้ความรู้และชี้แนะแนวทางในการแก้ไขปัญหา ทั้งนี้ยังช่วยขัดเกลาและตรวจทานเล่มวิทยานิพนธ์ให้เสร็จสมบูรณ์อีกด้วย

ขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สำหรับทุนสนับสนุนการวิจัยระดับปริญญาโท ในโครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) (รหัสโครงการ MSD60I0031) และขอขอบคุณบริษัท ฮิลล์คอฟฟ์ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนด้านวัสดุอุปกรณ์ในการวิจัยและเป็นผู้ร่วมให้ทุนในโครงการพวอ. ทั้งนี้ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนด้านสถานที่รวมถึงอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ นางพรสวรรค์ บุญอยู่ ที่คอยให้กำลังใจ ให้ความรัก ความอบอุ่น ให้คำปรึกษาในการแก้ปัญหาต่างๆ ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นิชชิตา บุญอยู่

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร.....	4
2.1 ความรู้เกี่ยวกับกาแฟ.....	4
2.2 ของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟ.....	6
2.3 เนื้อผลกาแฟ.....	7
2.4 ประโยชน์ของเนื้อผลกาแฟต่อการบำรุงผิว.....	8
2.4.1 กรดคอลลอโรจีนิค.....	8
2.4.2 คาเฟอีน.....	8
2.4.3 แอนโทไซยานิน.....	9
2.4.4 แทนนิน.....	10
2.5 อนุมูลอิสระ.....	10
2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	11
2.7 สารประกอบฟีนอลิก.....	12
2.8 เอมีไซม์ไทโรซิเนส.....	12
2.9 เครื่องสำอาง.....	14

2.10 รูปแบบของเครื่องสำอาง	14
2.11 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ	14
2.12 ผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่	15
2.13 ผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาว	16
2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากเนื้อผลกาแฟ.....	17
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	19
3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง.....	19
3.2 สารเคมีที่ใช้ในตำรับเครื่องสำอาง	19
3.3 วัสดุอุปกรณ์.....	20
3.4 เครื่องมือ.....	21
3.5 วิธีการวิจัย	21
3.5.1 การสกัดเนื้อผลกาแฟ	21
3.5.2 การวิเคราะห์สารสำคัญจาก CPE.....	21
3.5.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของ CPE.....	22
3.6 เตรียมและพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์จาก CPE.....	24
3.6.1 ครีมบำรุงผิวจาก CPE	24
3.6.2 เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE.....	24
3.6.3 สครับขัดผิว	25
3.7 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ.....	25
3.8 ทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ	25
3.9 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ	26
บทที่ 4 ผลการวิจัย	27
4.1 การสกัดเนื้อผลกาแฟ.....	27
4.2 การวิเคราะห์สารสำคัญจาก CPE.....	27

4.3 ฤทธิ์ชีวภาพของ CPE.....	28
4.4 พัฒนาการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจาก CPE.....	30
4.4.1 ครีมบำรุงผิว.....	30
4.4.2 เซรั่มบำรุงผิว.....	30
4.4.3 สครับขัดผิว.....	31
4.5 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ.....	32
4.6 ทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ.....	34
4.7 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากเนื้อผลกาแฟ.....	36
วิจารณ์ผลการวิจัย.....	37
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	40
ข้อเสนอแนะ.....	40
บรรณานุกรม.....	41
ภาคผนวก.....	47
ประวัติผู้วิจัย.....	56

สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 แสดงส่วนผสมในการทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส	24
ตาราง 2 การจำแนกระดับความระคายเคืองต่อผิว	26
ตาราง 3 ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ.....	29
ตาราง 4 ค่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ.....	29
ตาราง 5 ค่าสีของครีมบำรุงผิวจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ.....	30
ตาราง 6 ค่าสีของสครับขัดผิวจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ	31
ตาราง 7 ความคงตัวของครีมบำรุงผิวจาก CPE	32
ตาราง 8 ความคงตัวของเซรั่มบำรุงผิวจาก CPE	33
ตาราง 9 ความคงตัวของสครับขัดผิว	33
ตาราง 10 ผลการระคายเคือง (The Primary Dermal Irritation Index (PDII) value and skin irritation reaction)	37

สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 แผนภาพงานวิจัย	3
ภาพ 2 ผลผลิตกาแฟของโลก	5
ภาพ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกาแฟโดยวิธี DPPH	6
ภาพ 4 เปลือกและเนื้อผลกาแฟ (coffee husk and pulp)	7
ภาพ 5 ส่วนประกอบของกาแฟ.....	7
ภาพ 6 โครงสร้างของกรดคลอโรจีนิก	8
ภาพ 7 โครงสร้างของคาเฟอีน	9
ภาพ 8 โครงสร้างแอนโทไซยานิน	9
ภาพ 9 โครงสร้างของ Hydrolyzable tannins และ Condensed tannins.....	10
ภาพ 10 ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ	11
ภาพ 11 กลไกการสร้างเม็ดสีเมลานิน	13
ภาพ 12 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ (CPE)	27
ภาพ 13 โครมาโทแกรมแสดงปริมาณกรดคลอโรจีนิก	28
ภาพ 14 ครีมบำรุงผิวจาก CPE	30
ภาพ 15 เซรัมบำรุงผิวจาก CPE.....	30
ภาพ 16 สครับขัดผิว	31
ภาพ 17 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้ครีมบำรุงผิวจาก CPE.....	34
ภาพ 18 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้เซรัมบำรุงผิวจาก CPE	35
ภาพ 19 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้สครับขัดผิว.....	36
ภาพ 20 บริเวณต้นแขนที่ทำการทดสอบ patch test.....	36

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กาแฟ (coffee) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลกเนื่องจากมีผู้ที่นิยมดื่มกาแฟเป็นจำนวนมากและได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย ทั้งยังมีบทบาทในชีวิตประจำวันของคนไทยเป็นอย่างมาก เนื่องจากการดื่มกาแฟจะส่งผลให้รู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่า ช่วยลดอาการง่วงซึม และช่วยผ่อนคลายความรู้สึกตึงเครียดลงได้ เมื่อความต้องการของผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้นจึงต้องมีการปลูกกาแฟเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามกระบวนการแปรรูปกาแฟในอุตสาหกรรมการผลิตกาแฟเพื่อให้ได้เมล็ดกาแฟเป็นจำนวนมากย่อมส่งผลให้มีส่วนเหลือทิ้งปริมาณมากตามมา โดยในส่วนของอุตสาหกรรมการผลิตเมล็ดกาแฟนั้นหลังจากทำการกะเทาะเปลือกกาแฟเพื่อนำเมล็ดกาแฟด้านในมาผลิตเป็นเครื่องดื่มแล้ว จะเหลือเศษของเปลือกกาแฟ (coffee husk) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ (by-product) ที่มีปริมาณมากและพบว่าเป็นส่วนที่ย่อยสลายได้ยาก อีกทั้งก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมเนื่องจากส่งกลิ่นไม่พึงประสงค์ โดยภายในเปลือกกาแฟนี้จะมีส่วนที่เรียกว่า เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp) อยู่ภายใน แต่เดิมการใช้ประโยชน์จากเนื้อผลกาแฟที่เป็นเศษเหลือทิ้งโดยนำไปเป็นส่วนผสมของอาหารสัตว์ ใช้ทำปุ๋ยหมัก ใช้เป็นพื้นที่สำหรับเพาะปลูกเห็ดต่างๆ (Rathinavelu and Graziosi, 2005) ซึ่งยังไม่ก่อให้เกิดประโยชน์ทางเศรษฐศาสตร์เท่าที่ควร

จากรายงานการวิจัยพบว่า เนื้อผลกาแฟมีสารบางชนิดที่มีฤทธิ์ชีวภาพ เช่น สารประกอบฟีนอลิก คาเฟอีน และแทนนิน (Pandey et al., 2000; Ramirez-Martinez, 1988) เนื้อผลกาแฟมีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ และยังมีน้ำมันที่ช่วยบำรุงผิวได้ จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นวัตถุดิบหรือส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยสารสำคัญที่พบในเนื้อผลกาแฟพบเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดกรดคลอโรจีนิก (chlorogenic acid) พบสูงถึงร้อยละ 42.2 อีพิแคเทชิน (epicatechin) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในชาเขียวและลำไย อยู่สูงถึงร้อยละ 21.6 (de Sotillo and Hadley, 2002) และยังพบแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่เป็นสารสีที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Murthy et al., 2012)

สังคมปัจจุบันผู้คนได้หันมาสนใจดูแลสุขภาพและความงามมากยิ่งขึ้น เครื่องสำอางที่ดีและมีประสิทธิภาพจึงตอบโจทย์การใช้ชีวิตของผู้คนในปัจจุบัน ส่งผลให้ธุรกิจเครื่องสำอางมีการเจริญเติบโต

อย่างรวดเร็ว นอกจากนี้แล้วคนส่วนใหญ่ได้หันมาสนใจผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ และเป็นทางเลือกที่ดีสำหรับผู้บริโภค ผลจากการทดสอบฤทธิ์ชีวภาพและประสิทธิภาพของสารสกัดเนื้อผลกาแฟในการบำรุงผิวเพื่อชะลอวัยจะช่วยสนับสนุนประโยชน์การนำสารสกัดเนื้อผลกาแฟมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง ซึ่งนอกจากเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเศษเหลือทิ้งในอุตสาหกรรมแปรรูปกาแฟเชิงพาณิชย์แล้ว ยังช่วยลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดขยะ และช่วยลดปัญหาสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

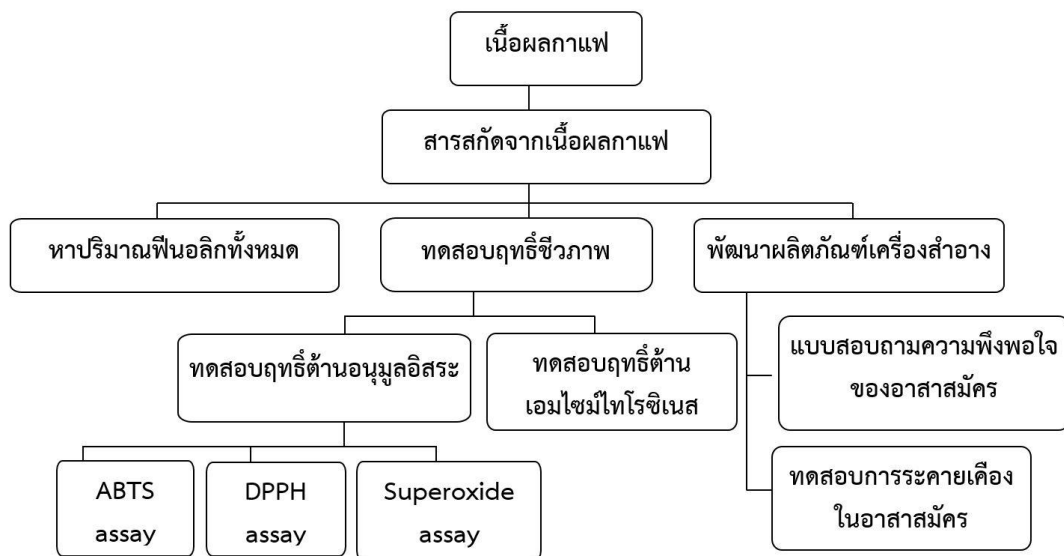
1. วิเคราะห์สารสำคัญฟีนอลิกรวมและปริมาณกรดคลอโรจีนิกในสารสกัดจากเนื้อผลกาแฟ
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเนื้อผลกาแฟสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
3. เพื่อพัฒนาและเพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
4. เพื่อทดสอบความคงตัว ความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์ และการระคายเคืองเบื้องต้น ของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มมูลค่าเนื้อผลกาแฟเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง
2. ช่วยลดค่าใช้จ่ายในการจัดของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตกาแฟ

ขอบเขตของงานวิจัย

1. เตรียมสารสกัดจากเนื้อผลกาแฟ
2. วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ
3. ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเนื้อผลกาแฟคือ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส
4. พัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ
5. ทดสอบความพึงพอใจและการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากเนื้อผลกาแฟ



ภาพ 1 แผนภาพงานวิจัย



บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 ความรู้เกี่ยวกับกาแฟ

กาแฟนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลกเนื่องจากมีความเกี่ยวข้องกับชีวิตประจำวันของมนุษย์ ประชากร 1 ใน 4 ของโลกบริโภคกาแฟเป็นประจำ และมีมากกว่า 50 ประเทศที่ส่งกาแฟเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญและมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นทุกปี ทำให้อัตราการผลิตกาแฟมีเพิ่มสูงขึ้นทุกๆปี และมากกว่า 70% ของผลผลิตโดยรวมของโลกเป็นกาแฟสายพันธุ์อาราบิก้า กาแฟจัดอยู่ในสกุล *Coffea* ซึ่งสกุลนี้ประกอบด้วยชนิดที่สำคัญคือ *Coffea arabica* (กาแฟอาราบิก้า), *C. canephora* (กาแฟโรบัสต้า) และ *C. liberica* (กาแฟลิเบอริก้า) ซึ่งกาแฟเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกับมะลิ พุด เขียวกระแต ตันยอ เข็ม นมแมว และคัตเค้า ซึ่งมีการจัดอันดับทางอนุกรมวิธานไว้ดังนี้ (Murthy and Naidu, 2012b)

Kingdom: Plantae

Subkingdom: Tracheobionta

Division: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Subclass: Asteridae

Order: Rubiales

Family: Rubiaceae

Genus: *Coffea*

ประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งในโลกที่มีการผลิตกาแฟซึ่งนับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ (ภาพ 2) การเพาะปลูกกาแฟในประเทศไทยนิยมอยู่ 2 สายพันธุ์คือพันธุ์โรบัสต้า (Robusta) และพันธุ์อาราบิก้า (Arabica) ซึ่งกาแฟพันธุ์โรบัสต้านิยมปลูกมากบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย โดยมีโครงการและหน่วยงานของทางราชการต่างๆ ที่มีการส่งเสริมการเพาะปลูกกาแฟในประเทศไทยและนำพันธุ์กาแฟหลายสายพันธุ์จากต่างประเทศมาทดลองปลูกได้แก่ โครงการศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ หน่วยงานพัฒนาเกษตรที่สูงหลายหน่วยงานในประเทศไทย รวมทั้งศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร ทั้งนี้ได้มีการปรับปรุงและ

คัดเลือกสายพันธุ์กาแฟที่เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทยจนได้สายพันธุ์ที่ดีและเหมาะสมในการเพาะปลูก โดยกาแฟพันธุ์โรบัสต้าปลูกมากเป็นอันดับสองรองจากพันธุ์อาราบิก้า และมีโครโมโซม $2n=22$ มีลักษณะทรงพุ่มใหญ่กว่าอาราบิก้า มีใบใหญ่สีเขียวเข้มไม่เป็นมัน กาแฟพันธุ์โรบัสต่านั้นจะให้ผลผลิตเมล็ดกาแฟร้อยละ 20 ของผลผลิตโลกแต่จะมีปริมาณของเนื้อกาแฟมากกว่าพันธุ์อาราบิก้า กาแฟพันธุ์นี้ก็นำมาทำเป็นกาแฟผงหรือกาแฟสำเร็จรูป (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2557)

หน่วย : ล้านตัน

ประเทศ	2553/54	2554/55	2555/56	2556/57	2557/58	อัตราเพิ่ม (ร้อยละ)	2558/59*
1. บราซิล	3.270	2.952	3.456	3.432	3.258	1.44	2.964
2. เวียดนาม	1.165	1.560	1.590	1.790	1.644	8.61	1.758
3. โคลัมเบีย	0.512	0.459	0.596	0.725	0.798	14.39	0.804
4. อินโดนีเซีย	0.560	0.498	0.630	0.570	0.528	0.17	0.636
5. เอธิโอเปีย	0.368	0.379	0.390	0.381	0.389	1.17	0.390
6. ฮอนดูรัส	0.239	0.336	0.284	0.264	0.300	2.16	0.354
7. อินเดีย	0.302	0.314	0.318	0.305	0.326	1.25	0.318
8. ยูกันดา	0.193	0.185	0.216	0.231	0.213	4.28	0.228
9. เม็กซิโก	0.240	0.258	0.279	0.237	0.198	-4.59	0.204
10. กัวเตมาลา	0.238	0.265	0.241	0.211	0.202	-5.41	0.199
11. ไทย	0.042	0.041	0.038	0.039	0.026	-9.60	0.031
12. อื่น ๆ	1.296	1.387	1.259	1.157	1.09	-5.14	1.121
รวม	8.425	8.634	9.297	9.342	8.972	2.07	9.007

หมายเหตุ * ประมาณการ

ภาพ 2 ผลผลิตกาแฟของโลก

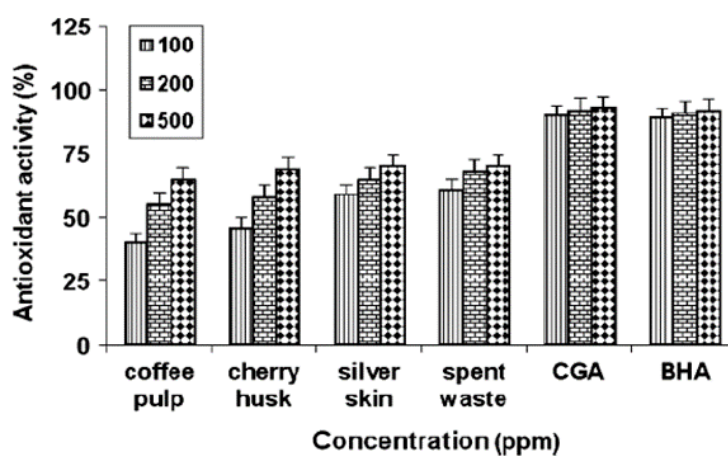
ที่มา: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร (2559)

กาแฟอาราบิก้าซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นทางภาคเหนือมีถิ่นกำเนิดอยู่ในประเทศแถบแอฟริกา มีโครโมโซมเป็น Tetraploid ($2n=44$) มีดอกสมบูรณ์เพศ กาแฟสายพันธุ์อาราบิก้ามากกว่า 90% เกิดจากการผสมตัวเอง สามารถออกดอกและติดผลได้เมื่ออายุ 3-4 ปี ลักษณะลำต้นเป็นพุ่มขนาดเล็กตั้งตรงมีความสูงประมาณ 5 เมตร ลักษณะของใบเป็นรูปไข่หรือโล่ (Rhomboidal หรือ Rhomboid) มีขนาดกว้างประมาณ 5-7 เซนติเมตรฐานใบแหลมและสั้น ปลายใบแหลม ผิวใบด้านบนมีสีเขียวเข้ม โดยปกติใบจะมีสีเขียวตลอดทั้งปีไม่มีการผลัดใบ กลีบดอกมีสีขาวหรือสีครีม รูปร่างคล้ายดาว มีกลิ่นหอมคล้ายมะลิป่า และในสถานะที่มีอุณหภูมิสูงมากจะทำให้ดอกผิดปกติเกษตรกรตัวผู้จะไม่สมบูรณ์ ผลของกาแฟชนิดนี้มีรูปร่างกลม หรือกลมเหมือนไข่ (Oval-elliptic) เปลือกและเนื้อฉ่ำน้ำห่อหุ้มเมล็ดแข็งไว้ภายใน ผลอ่อนมีสีเขียวเมื่อสุกจะมีสีแดง แดงเข้ม หรือสีเหลือง ลักษณะของผลจะประกอบด้วย 3 ส่วนคือส่วนที่เป็นเปลือก (husk) ส่วนที่เป็นเนื้อบางๆสีเหลือง (pulp) และส่วนที่เป็นกะลาหุ้มเมล็ด

(parchment skin) โดยปกติผลกาแฟอาราบิก้าสามารถเก็บเกี่ยวได้ในช่วงเดือนกันยายน-กุมภาพันธ์ ซึ่งขึ้นอยู่กับความสูงที่ทำการเพาะปลูก (มานพ หาญเทวี, มปป; ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมที่สูง, 2553) ซึ่งในอุตสาหกรรมกระบวนการผลิตกาแฟนั้นแต่ละวันมีอัตราการผลิตประมาณ 11,764 ตัน ส่งผลให้เหลือเศษเหลือทางการเกษตรซึ่งมีมากกว่า 80% ของปริมาณทั้งหมดประกอบด้วยเปลือกกาแฟ เนื้อผลกาแฟ และน้ำเสียซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม (Cubero-Abarca et al., 2014)

2.2 ของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟ

ในอุตสาหกรรมกาแฟนั้นจะมีกระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟซึ่งจะต้องนำเอาเมล็ดกาแฟออกมาจากผลกาแฟโดยการนำเอาผลกาแฟที่สุกและคัดสรรแล้วมาปอกเปลือกและขจัดเมือกซึ่งห่อหุ้มเมล็ดออก กระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟนั้นมีอยู่ 2 แบบคือ แบบเปียก (wet process) และแบบแห้ง (dry process) ทั้งนี้ในระหว่างทางของกระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟทั้ง 2 แบบนั้น สิ่งที่ได้มาก็คือของเหลือทิ้งต่างๆ ที่เป็นปัญหาสำคัญของอุตสาหกรรมกาแฟ อย่างไรก็ตามของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่อไปได้ (Murthy and Naidu, 2012a) จากรายงานวิจัยพบว่าของเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตกาแฟ หรือ by-products ได้แก่ เนื้อผลกาแฟ หรือ coffee pulp (CP), เปลือกกาแฟ หรือ coffee husk (CH), coffee parchment husk (PH), silver skin (SS) และ spent waste (SW) มีฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ซึ่งมีผู้ศึกษาโดยใช้วิธี DPPH (ภาพ 3) นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด เช่น แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) คาเฟอีน (Caffeine) กรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) เป็นองค์ประกอบเป็นต้น (Pandey et al., 2000; Ramirez-Martinez, 1988)



ภาพ 3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกาแฟโดยวิธี DPPH
ที่มา: Murthy and Naidu (2012a)

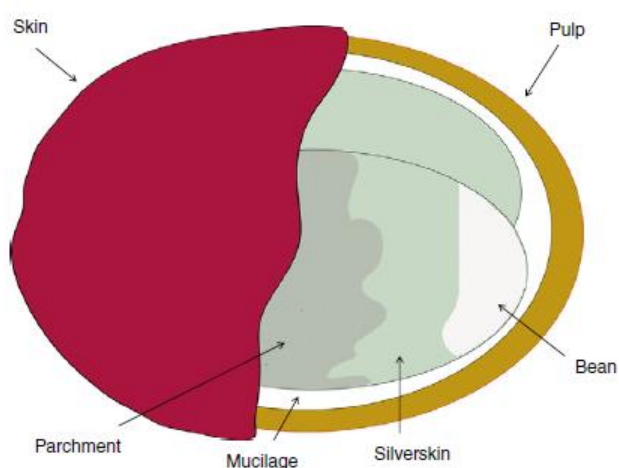
2.3 เนื้อผลกาแฟ

เนื้อผลกาแฟเป็นส่วนประกอบของผลกาแฟ โดยเนื้อผลกาแฟหมายถึง ผนังผลชั้นกลาง (mesocarp) ซึ่งในอุตสาหกรรมการผลิตเมล็ดกาแฟหลังจากทำการกะเทาะเปลือกกาแฟเพื่อนำเมล็ดกาแฟด้านในมาผลิตเป็นกาแฟแล้วจะเหลือเศษของเปลือกกาแฟ (coffee husk) โดยภายในเปลือกกาแฟนี้จะมีส่วนที่เรียกว่า เนื้อผลกาแฟ (ภาพ 4 and ภาพ 5)

เนื้อผลกาแฟนั้นจะเป็นของเหลือทิ้งอย่างแรกที่ได้มาระหว่างทางของกระบวนการผลิตกาแฟ และจะมีน้ำหนักแห้ง (dry weight) ร้อยละ 29 ของผลกาแฟแต่ละผล โดยเนื้อผลกาแฟนี้จะได้มาจากกระบวนการผลิตกาแฟ (coffee processing) และการผลิตกาแฟปริมาณ 2 ตัน จะได้เนื้อผลกาแฟปริมาณ 1 ตัน ซึ่งนับว่าเป็นของเหลือทิ้งที่มีปริมาณมหาศาล (Murthy and Naidu, 2012a)



ภาพ 4 เปลือกและเนื้อผลกาแฟ (coffee husk and pulp)



ภาพ 5 ส่วนประกอบของกาแฟ

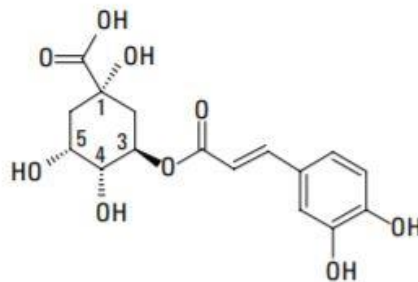
ที่มา: Esquivel and Jiménez (2012)

2.4 ประโยชน์ของเนื้อผลกาแฟต่อการบำรุงผิว

เนื้อผลกาแฟมีสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกคือ คาเฟอีน และแทนนิน (Pandey et al., 2000; Ramirez-Martinez, 1988) เนื้อผลกาแฟมีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอความเสื่อมของเซลล์ และยังมีน้ำมันที่ช่วยบำรุงผิวได้ จึงมีความเป็นไปได้ในการใช้เป็นตัวดูดซับหรือส่วนผสมในเครื่องสำอาง โดยสารสำคัญที่พบในเนื้อผลกาแฟเป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) พบสูงถึงร้อยละ 42.2 อีพิแคเทชิน (epicatechin) ซึ่งเป็นสารสำคัญที่พบได้ในชาเขียวและลำไยอยู่สูงถึงร้อยละ 21.6 (de Sotillo and Hadley, 2012) และยังพบแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ที่เป็นสารสีที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงิน ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Murthy and Naidu, 2012a)

2.4.1 กรดคลอโรจินิก

กรดคลอโรจินิก (Chlorogenic acid) ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพ 6 เป็นสารประกอบฟีนอลิก กลุ่มกรดซินนามิก (cinnamic acid) พบมากในเมล็ดกาแฟ มีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) (Farah et al., 2008) ซึ่งช่วยในเรื่องของการชะลอความเหี่ยวย่นและริ้วรอย (Wrinkle และ Fine lines) ที่เกิดขึ้นกับผิวหนัง ช่วยบำรุงผิวพรรณให้อ่อนนุ่มและเรียบเนียนขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของผิวหนังจากแสงแดด (Photoaging) (Cha et al., 2014)



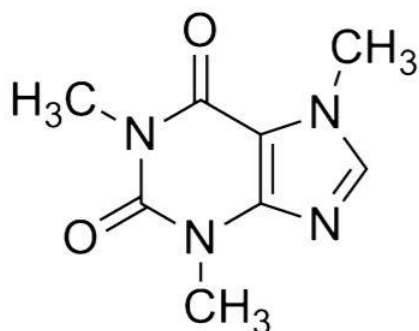
ภาพ 6 โครงสร้างของกรดคลอโรจินิก

ที่มา: Naegele (2016)

2.4.2 คาเฟอีน

คาเฟอีน (Caffeine) ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพ 7 เป็นสารประกอบฟีนอลิกพบมากในกาแฟและชา โดยทั่วไปแล้วจะมีคุณสมบัติทางยา (pharmacological agent) มีฤทธิ์ชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อผิวโดยเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ซึ่งจะช่วยชะลอการเกิดริ้วรอย (Wrinkle) และความเหี่ยวย่น (Fine lines) ที่เกิดขึ้นกับผิวหนัง นอกจากนี้คาเฟอีนยังช่วยปกป้องการเสื่อมสภาพ

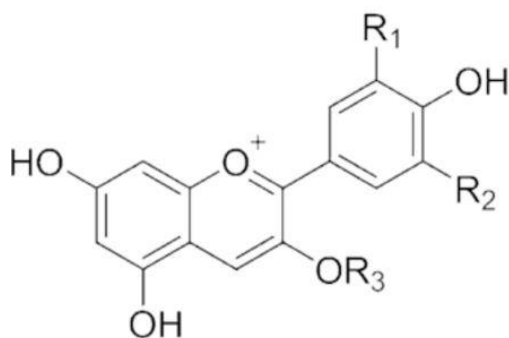
ของผิวจากรังสี UVB (Lu et al., 2007) และยังช่วยลดการบวมใต้ตา (Puffy eyes) ได้อีกด้วย (Amnuait et al., 2011)



ภาพ 7 โครงสร้างของคาเฟอีน
ที่มา: Luo and Lane (2015)

2.4.3 แอนโทไซยานิน

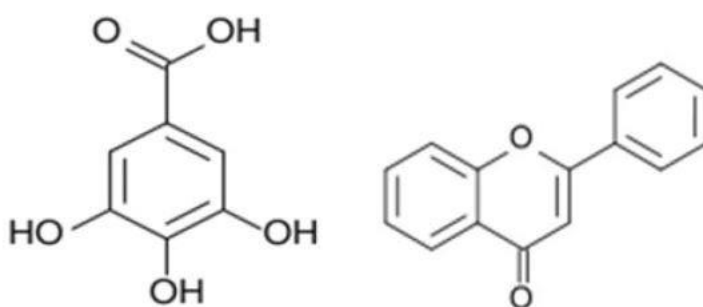
แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพ 8 เป็นสารประกอบฟีนอลิกกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมสีผสมอาหารโดยให้สีน้ำเงินและม่วง (Konczak and Zhang, 2004) มีประโยชน์ต่อผิวโดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของผิว โดยสามารถชะลอการเกิดริ้วรอย นอกจากนี้แล้วยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) อีกด้วย (Hwang et al., 2014)



ภาพ 8 โครงสร้างแอนโทไซยานิน
ที่มา: Tavares et al. (2010)

2.4.4 แทนนิน

แทนนิน (Tannins) ซึ่งมีโครงสร้างดังภาพ 9 เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างซับซ้อน พบมากในชาและกาแฟ มีรสฝาด มีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) มีประโยชน์ต่อผิวโดยช่วยชะลอการเกิดริ้วรอยและการเสื่อมสภาพของผิว นอกจากนี้ยังเป็นสารฝาดสมาน (Astringent) ช่วยทำให้เกิดการหดตัวของเนื้อเยื่อจึงช่วยทำให้รูขุมขนกระชับ (Tighten pores) และยังทำให้ผิวหนังกระชับแลดูอ่อนเยาว์ (Ashok and Upadhyaya, 2012)



ภาพ 9 โครงสร้างของ Hydrolyzable tannins และ Condensed tannins
ที่มา: Ashok and Upadhyaya (2012)

2.5 อนุมูลอิสระ

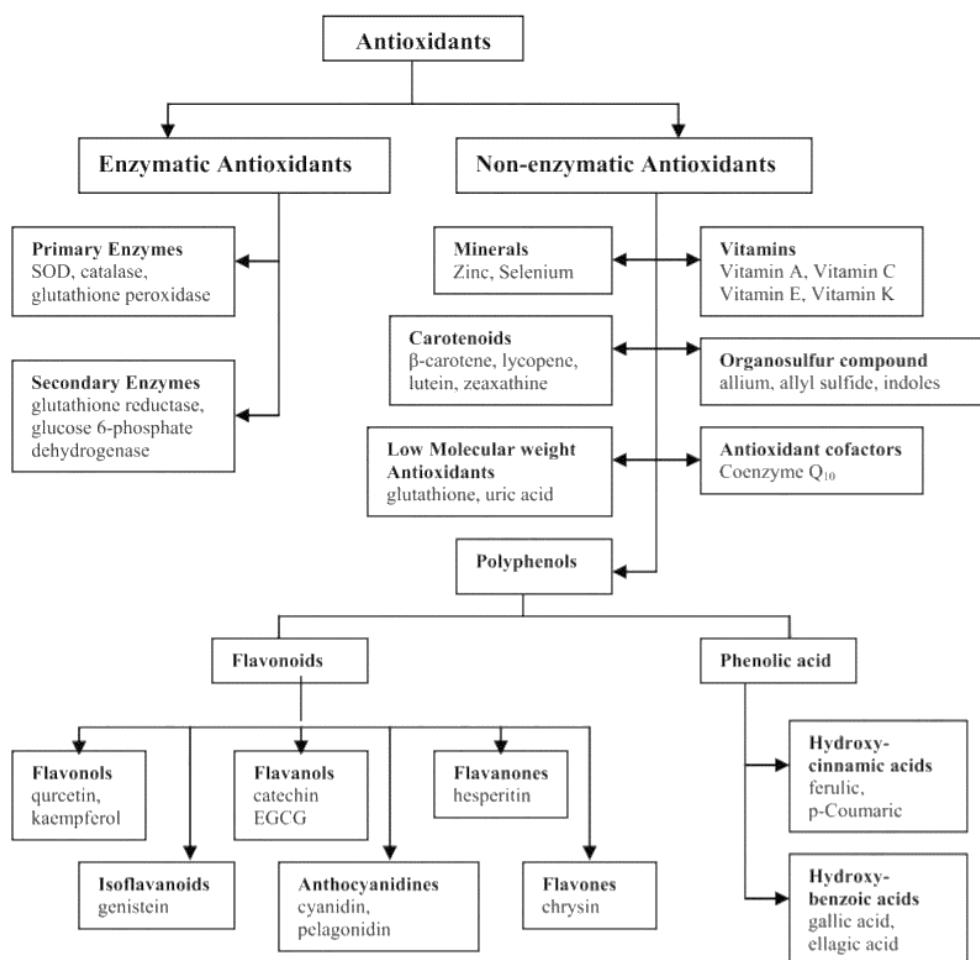
อนุมูลอิสระ (Free radicals) คือสารหรือโมเลกุลที่มีอะตอม หรือโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนที่ไม่มีคู่ (Unpaired electron) หรือหมู่แทนที่อะตอม เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและมีความว่องไวในปฏิกิริยาออกซิเดชัน ดังนั้นจึงทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีแบบปฏิกิริยาลูกโซ่กับสารชีวภาพในร่างกาย ทำให้ร่างกายมีการทำลายสารชีวภาพเหล่านั้น เช่น กรดนิวคลีอิก โปรตีน และไขมัน โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้เซลล์บาดเจ็บหรือถูกทำลายได้ ส่งผลให้เซลล์เสื่อมสภาพและก่อให้เกิดโรคต่างๆ ตามมา เช่น มะเร็ง เป็นต้น (Ames et al., 1993)

ที่มาของอนุมูลอิสระ มีอยู่ 2 ประเภท คืออนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย และอนุมูลอิสระที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก

1. อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในร่างกาย เกิดจากการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายที่มีการสร้างอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อต่อสู้กับเชื้อโรค และเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย
2. อนุมูลอิสระที่เกิดจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น มลภาวะทางอากาศและสิ่งปนเปื้อนที่มาจากอากาศ สารเคมีรวมถึงสารเคมีที่ใช้ทางการเกษตร สีสันอาหารและสารเติมแต่งรสชาติอาหารรวมถึงสารกันบูด สารเคมีปนเปื้อนต่างๆ

2.6 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารเคมีที่ทำหน้าที่ยับยั้งต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือสามารถควบคุมและยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้เกิดการทำลายเซลล์และองค์ประกอบของเซลล์นั้นเรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) (ภาพ 10) โดยระบบการต้านออกซิเดชันของร่างกายแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระได้แก่ glutathione, peroxide, catalase, peroxidase, cytochrome C peroxidase, enzyme, selenium, zinc, copper และกลุ่มสารต้านออกซิเดชันที่มีการทำลายปฏิกิริยาถูกโซ่ ได้แก่ vitamin C, vitamin D, beta carotene, albumin, bilirubin, uric acid, ubiquinone, sulfhydryl group และกรดอะมิโน รวมทั้ง cysteine ที่มีอยู่ในโปรตีน นอกจากนี้แล้วยังมีสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน รวมถึงสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารกลุ่มใหญ่ ทั้งนี้สารต้านอนุมูลอิสระที่กล่าวมานี้มีทั้งสารที่เป็นสารสังเคราะห์และสารจากธรรมชาติ (Baskin and Salem, 1997; Basu et al., 1999; ดำรงเกียรติ, 2546)



ภาพ 10 ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา: Thumsongmuang (2010)

2.7 สารประกอบฟีนอลิก

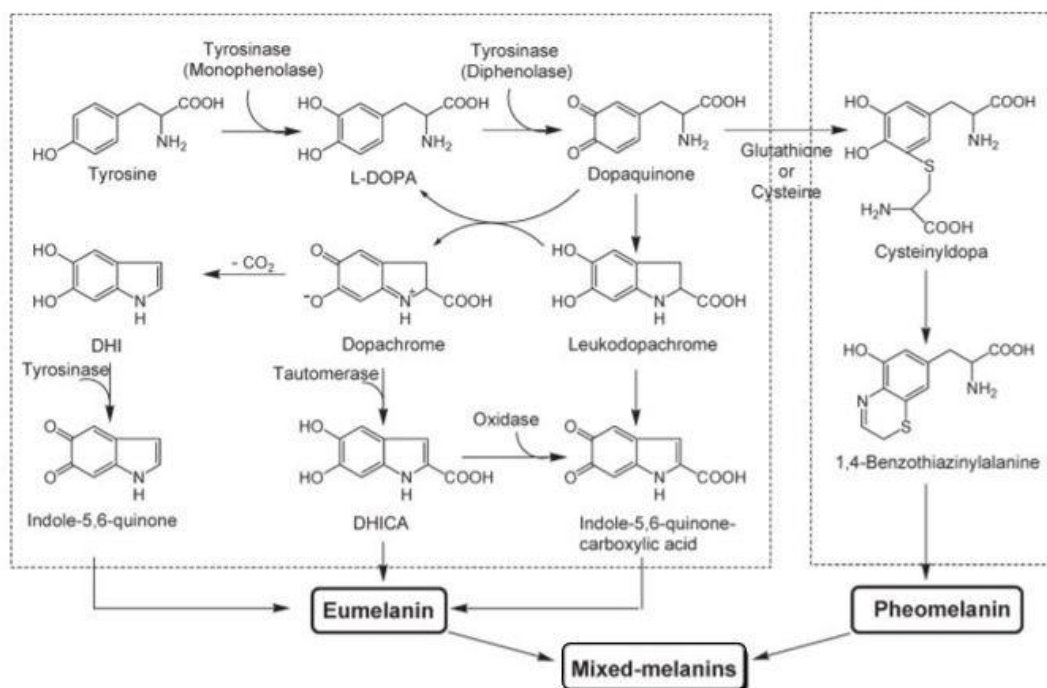
สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารประกอบที่พบทั่วไปในพืชชนิดต่างๆ และมีหลายกลุ่มซึ่งมีลักษณะของสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน โดยสารกลุ่มใหญ่ที่พบจะเป็นสารประกอบฟลาโวนอยด์ นอกจากนี้ยังมีสารประกอบชนิดอื่นๆ เช่น แทนนิน และกรดฟีนอลิก เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชโดยทั่วไปเป็นสารอินทรีย์ที่มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ที่มีจำนวน hydroxyl group ตั้งแต่หนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งในโมเลกุล ทั้งนี้โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลิกเกิดจากการรวมตัวกันของโมเลกุลที่สามารถละลายน้ำได้ โดยโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบนี้จะอยู่ในรูปของสารประกอบ glycosides ซึ่งเกิดจากการรวมตัวกันของน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไปนั้นจะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระ peroxy ซึ่งเป็นอนุมูลที่สำคัญ นอกจากนี้แล้วสารประกอบฟีนอลิกยังสามารถป้องกันรวมทั้งหน่วงเหนี่ยวการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีการเปลี่ยนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยานั้นให้เป็นสารที่มีความเสถียร ทำให้สามารถป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้แล้วสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดยังทำหน้าที่เป็นตัวดักจับไอออนของโลหะไว้ (chelating agent) สารบางชนิดเป็นตัวที่ให้ไฮโดรเจน ตลอดจนการกำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปที่ไวต่อการปฏิกิริยา สารประกอบฟีนอลิกจึงถือได้ว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญชนิดหนึ่ง (กัญญาลักษณ์, 2557; อัญชนา, 2544)

2.8 เอมไซม์ไทโรซิเนส

สิ่งที่ทำหน้าที่ปกป้องผิวของมนุษย์จากสิ่งแวดล้อมเช่น จากแสงแดดไม่ให้เกิดการบวมแดงหรือเผาไหม้ (sunburn) ก็คือปริมาณเม็ดสีเมลานิน (melanin pigment) ซึ่งเม็ดสีเมลานินจะทำหน้าที่ดูดซับรังสี UV จากแสงแดดเอาไว้ ถึงแม้ว่าระบบสารพันธุกรรมอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับกระบวนการเกิดสีผิวก็ตาม แต่ปริมาณเม็ดสีเมลานินที่กระจายอยู่ตามผิวหนังจะมีปริมาณไม่เท่ากัน กล่าวคือบริเวณของผิวหนังที่มีเม็ดสีเมลานินน้อยจะมีสีผิวอ่อน ส่วนบริเวณผิวหนังที่มีเม็ดสีเมลานินมากจะมีผิวสีเข้มโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณผิวหนังที่มีการสัมผัสกับแสงแดดบ่อยครั้งจึงทำให้เกิดความไม่สม่ำเสมอของสีผิว รวมทั้งอาจมีฝ้า (melasma) จุดด่างดำ (dark spot) ตกกระ (fleckles) ปรากฏขึ้น สิ่งที่ทำให้เกิดกระบวนการสร้างเม็ดสีของผิวหนังคือเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ซึ่งจะไปเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไทโรซีน (tyrosine) ให้กลายเป็น Dopaquinone หลังจากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา polymerization อีกหลายขั้นตอนเกิดเป็นเม็ดสีผิว 3 ชนิด ตามกลไกที่แสดงดังภาพ 11 ดังนี้

1. ยูเมลานิน (Eumelanin) เป็นเม็ดสีน้ำตาลและสีดำ ซึ่งพบในผู้มีสีผิวคล้ำรวมทั้งชาวเอเชีย
 2. ฟีโอเมลานิน (Pheomelanin) เป็นเม็ดสีเหลืองและสีแดง พบในคนผิวขาวและคนที่มีผมสีแดง
 3. เมลานินผสม (Mixed-melanins) เป็นเม็ดสีที่มีทั้งยูเมลานินและฟีโอเมลานินผสมกัน
- (Chang, 2009; Kim and Uyama, 2005; กัญญาลักษณ์, 2557; พิมพร, 2551)

ในสังคมมนุษย์นั้นนิยมการมีสีผิวอ่อนมากกว่าสีผิวเข้มเพราะดูสดใสและสะอาดตากว่า นอกจากนี้ การที่ผิวหนังของมนุษย์มีการสร้างเม็ดสีของผิวมากกว่าปกติแสดงให้เห็นว่าเป็นโรคชนิดหนึ่งที่จำเป็นต้องรักษาและควบคุมการเกิดสีผิว โดยจะใช้สารที่มีกลไกในการยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นตัวการในการสร้างเม็ดสีเมลานิน ทำให้การผลิตเม็ดสีเมลานินในผิวหนังลดลง ในปัจจุบันมีการเสริมความงามโดยการขจัดสีผิวหรือการทำให้ผิวขาวโดยมีผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ช่วยบำรุงผิว ทั้งที่เป็นสารเคมีและสมุนไพรมากมายให้เลือกใช้ ที่ช่วยลดจุดต่างดำและทำให้ผิวแลดูกระจ่างใส (กัญญาลักษณ์, 2557)



ภาพ 11 กลไกการสร้างเม็ดสีเมลานิน

ที่มา: Kim and Uyama (2005)

2.9 เครื่องสำอาง

เครื่องสำอาง ตามมาตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติเครื่องสำอาง พ.ศ. 2558 หมายความว่า

1. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้ทา ถู นวด โรย พ่น หยอด ใส่ อบ หรือกระทำด้วยวิธีอื่นใด กับส่วนภายนอกของร่างกายมนุษย์ และให้หมายความรวมถึงการใช้กับฟันและเยื่อในช่องปาก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อความสะอาด ความสวยงาม หรือเปลี่ยนแปลงลักษณะที่ปรากฏ หรือระงับกลิ่นกาย หรือปกป้องดูแลส่วนต่างๆ นั้น ให้อยู่ในสภาพดี และรวมตลอดทั้งเครื่องประทีนต่างๆ สำหรับผิวด้วย แต่ไม่รวมถึงเครื่องประดับและเครื่องแต่งตัวซึ่งเป็นอุปกรณ์ภายนอกร่างกาย
2. วัตถุที่มุ่งหมายสำหรับใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตเครื่องสำอางโดยเฉพาะ หรือ
3. วัตถุอื่นที่กำหนดโดยกฎกระทรวงให้เป็นเครื่องสำอาง

2.10 รูปแบบของเครื่องสำอาง

เครื่องสำอางจะถูกผลิตมาในหลายรูปแบบตามความเหมาะสมของแต่ละผลิตภัณฑ์ เช่น แบบอิมัลชัน (emulsion) ซัสเพนชัน (suspension) แบบเพสต์ (paste) หรือ ผง (powder) ซึ่งมีทั้งแบบผงอัดแข็ง (compressed powder) รวมทั้ง แบบน้ำยาใส (solution) กล่าวคือ เครื่องสำอางที่นิยมผลิตในรูปแบบน้ำยาใส และอิมัลชันก็คือ แชมพู ในรูปแบบของครีมเพสจะนิยมใช้ผลิตเครื่องสำอางกำจัดขน ส่วนเครื่องสำอางตกแต่งแก้ม นิยมผลิตในรูปแบบผงอัดแข็ง โดยพบว่าเครื่องสำอางส่วนใหญ่จะถูกผลิตออกมาในรูปแบบของอิมัลชันซึ่งมีทั้งอิมัลชันกึ่งแข็ง (ครีม) และอิมัลชันเหลว (โลชั่น) สาเหตุต่าง ๆ ที่อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องสำอางนิยมใช้รูปแบบของอิมัลชันในการผลิตเครื่องสำอางทั้งหลายนั้นได้แก่ รูปแบบอิมัลชัน สามารถกระจายตัวได้ดีบนเส้นผม ขน และผิวหนัง สามารถใช้สารที่ละลายในน้ำและสารที่ละลายในน้ำมัน ในสูตรเดียวกันได้รูปแบบอิมัลชันมีความคงตัวดีกว่าผลิตภัณฑ์ประเภท aqueous gel หรือ anhydrous cream และเมื่อนำมาทาผิวหนังจะทำให้เปียก และทำให้ตัวยาหรือสารสำคัญซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้เครื่องสำอางที่เป็นรูปแบบอิมัลชันนี้ยังมีลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ดี สวยงาม นำใช้ ไม่เหนอะหนะติดเสื้อผ้าและผิวหนังอีกด้วย (พิมพ์, 2536)

2.11 ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

ในปัจจุบันผู้บริโภคทั้งหลายได้ให้ความสำคัญและสนใจในการดูแลสุขภาพของตนเองมากยิ่งขึ้น โดยหันไปบริโภคผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ที่มาจากธรรมชาติ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม อาหาร ยา รักษาโรครวมทั้งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และการใช้ศาสตร์ของแพทย์ทางเลือก ที่เป็นภูมิปัญญาดั้งเดิม

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติได้นำสารจากแหล่งธรรมชาติคือ จากพืช สัตว์ และจากจุลินทรีย์ มาสกัด เพื่อนำสารประกอบทางเคมีบริสุทธิ์ หรือที่เรียกว่า สารผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ มาใช้ประโยชน์ตามความประสงค์

ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติมีหลายประเภท อาทิ ผลิตภัณฑ์ที่จำแนกตามโครงสร้างของโมเลกุล ผลิตภัณฑ์ที่จำแนกตามการออกฤทธิ์ ผลิตภัณฑ์ที่จำแนกตามอนุกรมวิธานเคมีและผลิตภัณฑ์ที่จำแนกตามวิถีชีวสังเคราะห์ในธรรมชาติ (นุชนิภา, 2558)

2.12 ผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่

ถึงแม้ว่าความแก่จะเป็นสิ่งธรรมดาของมนุษย์ทุกคน แต่ก็ไม่มีใครที่ต้องการให้สิ่งนี้เกิดกับตนเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสุขภาพสตรีทั้งหลาย ความแก่นั้นจะมีอยู่ 2 แบบ คือ ความแก่ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ หรือ แก่ตามวัย เมื่อพ้นวัยหนุ่มสาวหรือเมื่อมีวัยสูงขึ้น ตั้งแต่อายุ 30 ปีขึ้นไป เนื่องจากเซลล์ร่างกาย เซลล์ผิวหนัง ต่อมน้ำมันใต้ผิวหนังและเส้นใยคอลลาเจน อิลาสตินรวมทั้งกรดไฮยาลูโรนิก เริ่มลดประสิทธิภาพการทำงานและหน้าที่ จึงทำให้ผิวหนังเกิดรอยย่น ความชุ่มชื้นน้อยลง ขาดความยืดหยุ่น หย่อนยานไม่เต่งตึง ผิวหนังบางลงและเกิดความหยابแห้งในที่สุด ความแก่อีกแบบหนึ่งคือ ความแก่ก่อนวัยเป็นความแก่ที่เกิดจากแสงแดดหรืออนุมูลอิสระ จากการศึกษาในปัจจุบันพบว่าอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายนั่นเอง หรืออาจได้รับจากแสงแดดที่อยู่ภายนอกร่างกาย จากอาหารที่รับประทาน รวมทั้งมลภาวะต่างๆ ปัจจุบันดังกล่าวนี้จะทำให้โครงสร้างทางเคมี และหน้าที่ทางชีวภาพของสารชีวโมเลกุล เช่น กรดนิวคลีอิก ไขมัน และโปรตีนในร่างกายถูกกระทบกระเทือน ซึ่งมีผลให้เซลล์และเนื้อเยื่อในส่วนต่าง ๆ ของร่างกาย ถูกทำลาย และเสื่อมสภาพ เกิดพยาธิสภาพและเป็นพิษเรื้อรัง หากกล่าวถึงผิวหนังจะมีผลให้เกิดออกซิเดชันที่บริเวณผนังเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนที่มีไขมัน ทำให้ผิวหนังสูญเสียความชุ่มชื้นเนื่องมาจากการสูญเสียความชื้นของเซลล์ผิวหนังเสื่อมประสิทธิภาพไป สิ่งที่เกิดตามมาคือ ผิวหนังขาดความยืดหยุ่น ผิวแห้งและเกิดรอยย่น เพราะคอลลาเจนและอิลาสตินถูกทำลายหรือแปรสภาพไป ทำให้เกิดผิวแห้งและรอยย่นตามมา

ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิจัยอย่างหลากหลายและต่อเนื่องจนถึงปัจจุบัน เพื่อหาวิธีการที่จะช่วยชะลอความแก่ตามวัย และแก่ก่อนวัย ดังกล่าวเบื้องต้นให้เกิดความแก่ช้าที่สุด เท่าที่จะเป็นไปได้ โดยทำการค้นคว้าจากสารธรรมชาติ และจากสารสังเคราะห์ทางเคมี จึงพบสารที่ให้ความชุ่มชื้นต่อผิวหนัง สารอาหารหรือวิตามินทดแทนสิ่งที่ลดน้อยหรือขาดไปในผิวหนังตามธรรมชาติ สารปรับสภาพและฟื้นฟูผิวให้ตึงเรียบ สารแอนติออกซิแดนซ์หรือสารต้านอนุมูลอิสระโดยสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันและชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยป้องกันการเกิด reactive oxygen species

(ROS) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดภาวะ oxidative stress ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมสภาพของเซลล์ และอวัยวะต่างๆ รวมไปถึงความยืดหยุ่นของผิวหนัง เพื่อจะนำสารเหล่านี้มาเป็นส่วนผสมในการผลิตผลิตภัณฑ์ชะลอความแก่ต่าง ๆ ซึ่งมีบทบาทสำคัญยิ่งในวงการเครื่องสำอางสำหรับผิวหนังในปัจจุบันนี้ โดยมีการพิจารณาใช้สูตร ผลิตภัณฑ์ที่ดี การศึกษาตัวอย่างสูตร และเทคนิคเฉพาะในการเตรียมเครื่องสำอางนั้น ๆ รวมทั้งประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์นั้นด้วย (พิมพร, 2544)

2.13 ผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาว

สีผิวของมนุษย์จะเป็นสีเข้มหรือสีอ่อนขึ้นอยู่กับการถ่ายทอดทางพันธุกรรม หรือเชื้อชาติ แต่มนุษย์ส่วนใหญ่จะขึ้นชมและปรารถนาที่จะมีสีผิวอ่อนมากกว่า ด้วยเหตุนี้จึงได้มีผู้ศึกษาและค้นหาวิธีการและสารสังเคราะห์ต่าง ๆ ที่จะทำให้สีผิวขาวขึ้นและฝ้าสีเข้มจางลง โดยสารสังเคราะห์เหล่านั้น มักจะมีกลไกในการออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสีผิวได้ไม่นาน ในที่สุดพันธุกรรมของแต่ละคนก็จะควบคุมให้กลไกในร่างกายทำงานไปตามธรรมชาติดั้งเดิม ตั้งแต่อดีต ถึงปัจจุบันได้มีการผลิตผลิตภัณฑ์ขจัดสีผิวในรูปแบบของเครื่องสำอางสำหรับคนมีผิวสีเข้ม และผลิตภัณฑ์สำหรับขจัดฝ้า รวมทั้งรักษาโรคชนิดหนึ่งที่มีการสร้างสีผิวมากกว่าปกติทำให้ผิวพรรณ ไม่ขาวกระจ่างใส และสวยงาม

การนำสารสังเคราะห์ทั้งหลายมาใช้ในผลิตสำหรับขจัดสีผิวจะต้องคำนึงถึงคุณสมบัติในการยับยั้งหรือต้านการสร้างเม็ดสีผิว ซึ่งจะมีกลไกในการขจัดสีผิวหลายวิธี ได้แก่ Melanogenesis คือ การทำลายเซลล์สร้างเม็ดสีผิว การรบกวนชีวสังเคราะห์ (Biosynthesis) ของเมลานิน และสารเริ่มต้นของเมลานิน Anti-tyrosinase activity (ต่อต้านหรือยับยั้งปฏิกิริยาของ เอนไซม์ tyrosinase) ซึ่งเป็นตัวการหลักในการสังเคราะห์เม็ดสี ทำการยับยั้ง Phacocytosis ของ Melanocytic dendrite หรือ การทำให้เกิด intercellular edema เพื่อรบกวนการส่งผ่าน melanosome ไปยัง malpighian ตลอดจนการทำให้ melanosome จากสีเข้ม (oxidized form) เปลี่ยนเป็นสีจาง (reduced form) ซึ่งปรากฏว่าวิธีที่นำมาใช้มากที่สุดคือ Anti-tyrosinase activity (การต่อต้านหรือยับยั้งปฏิกิริยาของ เอนไซม์ tyrosinase) นั้นเอง (พิมพร, 2544)

ประเภทของสารสังเคราะห์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ขจัดสีผิว อาทิเช่น สารเคลือบคลุมสารต่อต้านกลไกการสร้างสีผิว สารป้องกันแสงแดด และสารออกซิไดเซอร์ ได้พบว่า สารที่ให้ผลดีในการทำให้ผิวขาว และขจัดสีผิวในระยะเวลาที่นานที่สุดคือ Dipigmentating agent หรือ สารต่อต้านกลไกในการสร้างสีผิว

ดังที่กล่าวมาแล้วว่าวิธีการในการต่อต้านการสร้างสีผิวที่ได้รับความนิยมมากที่สุดคือ วิธีการต่อต้าน หรือยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ tyrosinase โดยใช้สารยับยั้ง เอนไซม์ tyrosinase เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ผิวขาว ซึ่งเรียกว่า skin whitening products ที่ไม่ก่อให้เกิดการตาย

ของเซลล์สร้างผิวเป็นสิ่งสำคัญ จากการศึกษาวิจัยพบว่า กรด อะเซลาอิด (Azelaic acid) อาร์บูติน (Arbutin) กรดโคจิก (Kojic acid) อนุพันธ์ของวิตามินซี กรดแลคติก (Lactic acid) กรดไลโนเลอิก (Linoleic acid) สารสกัดจากชะเอม (Licorice extract) สารสกัดจากหม่อน (Mulberry) และสารสกัดจากพืชชนิดอื่น ๆ เหล่านี้มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ tyrosinase ได้ ซึ่งปัจจุบันนี้ได้พิจารณานำมาใช้ให้ถูกต้องและเหมาะสมในผลิตภัณฑ์ที่ทำให้ผิวขาว ที่เป็นประเภทเครื่องสำอาง หรือ บางชนิดเป็นประเภทยารักษา ทั้งนี้ผู้นำผลิตภัณฑ์มาใช้ ควรให้แพทย์ดูแลอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ผลและปลอดภัยที่สุด (พิมพร, 2544)

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการใช้ประโยชน์จากเนื้อผลกาแพ

เนื้อผลกาแพ (pulp) คือของเสียจากอุตสาหกรรมกาแพที่ก่อให้เกิดความสกปรกและส่งกลิ่นเน่าเหม็นอันเป็นปัญหาของสิ่งแวดล้อมที่รุนแรง ซึ่งเดิมที่มีผู้ศึกษาหลายคนพบว่าเนื้อของผลกาแพที่อยู่ล้อมรอบเมล็ดกาแพนั้นเป็นสิ่งที่ให้ประโยชน์น้อยในเชิงพาณิชย์และมีปริมาณมากทำให้จำเป็นต้องกำจัดทิ้ง แต่การที่จะกำจัดของเหลือทิ้งดังกล่าวนี้ต้องเสียค่าใช้จ่ายจำนวนมาก จึงมีการนำเนื้อผลกาแพมาศึกษานำมาพัฒนาต่อยอดให้เกิดประโยชน์และสร้างมูลค่าให้แก่เนื้อผลกาแพ รวมถึงลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสียในอุตสาหกรรมกาแพอีกด้วย ทำให้จากของเหลือทิ้งเป็นของที่มีมูลค่าเชิงพาณิชย์ ด้วยเหตุนี้จึงเริ่มมีการศึกษาการนำเนื้อผลกาแพซึ่งเป็นเศษเหลือทางการเกษตรมาศึกษาวิจัยและพัฒนาในด้านต่างๆ ดังนี้ การใช้เป็นอาหารทดแทนสารอาหารในการผลิตอาหารสัตว์ได้สูงสุดถึง 20% และไม่ก่อให้เกิดผลเสียในการเลี้ยงดูวัวนมทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้ถึง 30% อย่างไรก็ตามพบว่า เนื้อผลกาแพยังมีส่วนประกอบของสารคาเฟอีนอยู่ ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ (Núñez et al., 2015) จึงมีการนำเนื้อผลกาแพไปใช้ประโยชน์ด้านอื่นๆ เช่น การใช้เนื้อผลกาแพหมักและแห้งบางส่วนเป็นวัสดุทดแทนในการเพาะปลูกเห็ดต่างๆ ซึ่งพบว่าเห็ดที่เพาะปลูกในของเหลือทิ้งจากกาแพจะเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วภายในไม่กี่สัปดาห์ ซึ่งปกติต้องใช้เวลาในการเจริญเติบโตหลายเดือน (Pandey et al., 2000) การใช้เนื้อผลกาแพในการผลิตเป็นปุ๋ยหมัก พบว่าเป็นปุ๋ยที่ประกอบไปด้วยสารอาหารต่างๆ เพียง 1 ใน 5 ส่วนของสารอาหารที่ได้จากดินจากการผลิตของถั่วเขียว (Rathinavelu and Graziosi, 2005) อย่างไรก็ตามเนื้อผลกาแพเป็นแหล่งกำเนิดที่ดีของชีวมีสและคาร์บอนของดินอินทรีย์ และยังสามารถเก็บรักษาไว้ 2-3 ปีรูปแบบกอง (Núñez et al., 2015; Pandey et al., 2000; Rathinavelu and Graziosi, 2005) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการใช้ประโยชน์จากเนื้อผลกาแพด้านอื่นๆอีก โดยนำไปทำเป็นก๊าซชีวภาพ (Biogas) จากการหมักและย่อยสลายเนื้อผลกาแพโดยจุลินทรีย์ ในสภาวะไม่มีอากาศ (anaerobic digestion) ในการผลิตก๊าซมีเทน (CH₄) ในการเป็นพลังงานทดแทนซึ่งเป็นวิธีการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เนื่องจากช่วยลดปริมาณของ

เนื่อผลกาแพซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมลภาวะทางอากาศจากการส่งกลิ่นเน่าเหม็น และเป็นการสร้างสุขอนามัยที่ดีให้กับบริเวณใกล้เคียง (Calzada et al., 1981; Thumsongmuang, 2010) นอกจากนี้ยังสามารถนำน้ำเสีย (water waste) จากกระบวนการต่างๆมาใช้ในการหมักเพื่อทำก๊าซชีวภาพได้อีกด้วย (Tadesse and Adamu, 2017)

จากรายงานการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้น ยังไม่พบรายงานการวิจัยที่นำเนื่อผลกาแพมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของเนื่อผลกาแพที่มีประโยชน์ต่อการบำรุงผิว โดยนำมาพัฒนาและเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อเพิ่มมูลค่าทั้งในเชิงเศรษฐศาสตร์ ช่วยลดปริมาณเศษทิ้ง และลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 3.1.1 Folin-Ciocalteu reagent (BDH Prolabo Chemicals; Pennsylvania, USA)
- 3.1.2 Sodium carbonate (BDH Prolabo Chemicals; Pennsylvania, USA)
- 3.1.3 Gallic acid (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.4 2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.5 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.6 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.7 Ubiquinone oxidoreductase (NADH) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.8 Nitroblue tetrazolium (NBT) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.9 Phenazine methosulphate (PMS) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.10 L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.11 Kojic acid (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)
- 3.1.12 Tyrosinase from mushroom (Sigma – Aldrich; St. Louis, USA)

3.2 สารเคมีที่ใช้ในตำรับเครื่องสำอาง

- 3.2.1 Disodium Ethylenediaminetetraacetic acid
- 3.2.2 Glycerin
- 3.2.3 Butylene glycol
- 3.2.4 Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer
- 3.2.5 Glycerin, Hydrogenated Lecithin, Hydroxypropyl Methylcellulose Stearoy Ether, Squalane, Sodium Methyl Stearoyl Taurate
- 3.2.6 Squalane

- 3.2.7 Cyclotetrasiloxane and Cyclopentasiloxane
- 3.2.8 Cetyl alcohol
- 3.2.9 Steryl alcohol
- 3.2.10 Sodium hydroxide
- 3.2.11 Caprylhydroxamic Acid and 1, 2-Hexanediol and Butylene Glycol
- 3.2.12 Polysorbate 20
- 3.2.13 Triethanolimine
- 3.2.14 Petrolatum
- 3.2.15 Phenyl Trimethicone
- 3.2.16 Butyrospermum Parkii (Shea) Butter
- 3.2.17 Cetyl Ethylhexanoate
- 3.2.18 Triethylhexanoin
- 3.2.19 Cetareth-20
- 3.2.20 PEG-40 hydrogenated castor oil
- 3.2.21 Sorbitan Stearate
- 3.2.22 Tocopherol
- 3.2.23 Caprylhydroxamic Acid and Ethylhexylglycerin and Methylpropanediol

* สารเคมีที่ใช้ในเครื่องสำอางจากบริษัท วันรัต (หน้าเซียน) จำกัด

3.3 วัสดุอุปกรณ์

- 3.3.1 ปีกเกอร์
- 3.3.2 ซ้อนตักสาร
- 3.3.3 ปีเปตดูด-จ่ายสารละลายอัตโนมัติ (Micropipette)
- 3.3.4 ไมโครปีเปตต์ทิป (Micropipette tips)
- 3.3.5 หลอดทดลอง
- 3.3.6 กระดาษกรอง Whatman No. 1
- 3.3.7 ไมโครเพลทชนิด 96 หลุม (96-microplate well)
- 3.3.8 โกร่งบดสาร

3.4 เครื่องมือ

- 3.4.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
- 3.4.2 เครื่องปั่น (Blender)
- 3.4.3 ชุดกรองสาร (Buchner vacuum filter)
- 3.4.4 เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (Vacuum rotary evaporator)
- 3.4.5 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer)
- 3.4.6 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)
- 3.4.7 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
- 3.4.8 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
- 3.4.9 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader)
- 3.4.10 เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter)
- 3.4.11 เครื่องวัดสี (Colorimeter)
- 3.4.12 เครื่องวัดความหนืด (Viscometer)

3.5 วิธีการวิจัย

3.5.1 การสกัดเนื้อผลกาแฟ

เนื้อผลกาแฟ (coffee pulp, CP) สายพันธุ์อาราบิก้าได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท ฮิลล์คอฟฟี่ จำกัด จังหวัดเชียงใหม่ โดยการเตรียม CPE มีรายละเอียดดังนี้ นำ CP ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50°C แล้วนำไปบดให้ละเอียดเพื่อใช้ในการสกัดสารสำคัญด้วยการต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง และทำการแยกตะกอนโดยนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที นำสารละลายน้ำที่ได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุนและทำให้แห้งด้วยวิธีการ freeze dry ได้เป็น CPE (coffee pulp extract; CPE) นำไปใช้ตั้งตำรับเครื่องสำอาง และคำนวณร้อยละผลผลิตดังสมการ

$$\% \text{yield} = \left[\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)}}{\text{เนื้อผลกาแฟแห้ง (กรัม)}} \right] \times 100$$

3.5.2 การวิเคราะห์สารสำคัญจาก CPE

วิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกจาก CPE ตามวิธีการของ Hammerschmidt and Pratt (1978) โดยผสมสารละลาย Folin-Ciocalteu 1,000 ไมโครลิตร

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 800 ไมโครลิตร และ CPE ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันใน ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดความยาวคลื่นที่ 765 นาโนเมตร คำนวณปริมาณกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกโดยเทียบกับ gallic acid ต่อน้ำหนัก CPE ปริมาณ 1 กรัม โดยรายงานผลเป็น gallic acid equivalents (GAE) / g extract

วิเคราะห์หาปริมาณกรดคลอโรจีนิกใน CPE ด้วย High performance liquid chromatography (HPLC; Agilent Technologies 1200 series) โดยใช้ mobile phase เป็น absolute methanol HPLC grade (สาร A) และ acetic acid 2% (สาร B) โดยมี condition ดังนี้ ที่ 9 นาทีแรกคือ 12% สาร A ในสาร B; ที่เวลา 0-5 นาที ความเข้มข้น 12-15% ของสาร A ในสาร B (linear gradient); ที่เวลา 5-15 นาที ความเข้มข้น 15-30% ของสาร A ในสาร B (linear gradient); ที่เวลา 15-19 นาที ความเข้มข้น 30% สาร A ในสาร B (isocratic); ที่เวลา 19-27 นาที ความเข้มข้น 30-50% สาร A ในสาร B (linear gradient) โดยมี flow rate เท่ากับ 0.5 mL/min ปริมาณกรด คลอโรจีนิกทำการตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดคลอโร จินิก

* HPLC ส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์บริการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ศวท-มช.)

3.5.3 การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของ CPE

3.5.3.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี ABTS radical scavenging (Re et al., 1999) โดยเตรียม CPE ที่ความเข้มข้นแตกต่างกันปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เต็ม สารละลาย 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) ปริมาตร 1,800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ใช้ trolox เป็นสารมาตรฐาน

3.5.3.2 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging ตามวิธีการของ Mensor et al. (2001) โดยเติม CPE ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมกับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้า กัน และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ใช้ methanol เป็นตัวควบคุมและใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

3.5.3.3 ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี superoxide radical scavenging ตามวิธีการของ Nishikimi et al. (1972) โดยเติม CPE ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองผสมกับสารละลาย nitroblue tetrazolium (NBT) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ผสมสารให้เข้ากันตามด้วยสารละลาย ubiquinone oxidoreductase (NADH) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร และสารละลาย phenazine methosulphate (PMS) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน

โดยประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระสามารถคำนวณหาค่าดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(Abscontrol - Abssample) / Abscontrol] \times 100$$

3.5.3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี dopachrome ของ Sritularak et al. (1998) ทำการทดสอบใน 96 well plate โดยใช้ L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) เป็น substrate เตรียม Tyrosinase solution และ L-DOPA 200 U/mL ด้วย 20 mM phosphate buffer (pH 6.8) เติม CPE และ Tyrosinase solution ลงใน 96 well plate และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นเติม L-DOPA (ตาราง 1) ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ทันทีด้วยเครื่อง microplate reader จากนั้นบ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 20 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรทันที คำนวณฤทธิ์การต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้ Kojic acid เป็นสารมาตรฐาน ประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสสามารถคำนวณหาค่าดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = [(A-B)-(C-D) \times 100] / (A-B)$$

ตาราง 1 แสดงส่วนผสมในการทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

	Reaction	Phosphate buffer	DMSO	Sample	Tyrosinase	L-DOPA
A	Control	140 μ l	20 μ l	-	20 μ l	20 μ l
B	Blank control	160 μ l	20 μ l	-	-	20 μ l
C	Test sample	140 μ l	-	20 μ l	20 μ l	20 μ l
D	Blank sample	160 μ l	-	20 μ l	-	20 μ l

โดย A คือ Control; B คือ Blank control; C คือ Test sample และ D คือ Blank sample

3.6 เตรียมและพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์จาก CPE

3.6.1 ครีมบำรุงผิวจาก CPE

นำ CPE ไปพัฒนาตำรับเป็นเครื่องสำอางบำรุงผิว โดยการตั้งตำรับครีมที่มีส่วนผสมของ water phase คือ Disodium EDTA, Glycerin, Butylene glycol, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer และ CPE ทั้งนี้ oil phase ประกอบไปด้วย Glycerin, Hydrogenated Lecithin, Hydroxypropyl Methylcellulose Stearoyl Ether, Squalane, Sodium Methyl Stearoyl Taurate, Squalane, Cyclotetrasiloxane and Cyclopentasiloxane, Cetyl alcohol, Steryl alcohol จากนั้นเท oil phase ลงใน water phase และเติม Sodium hydroxide เพื่อปรับ pH จากนั้นเติม spactrastat PHL ผสมให้เข้ากัน พิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพจากสีและความคงตัวของผลิตภัณฑ์

3.6.2 เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE

นำ CPE ไปพัฒนาตำรับเป็นเครื่องสำอางบำรุงผิว โดยการตั้งตำรับครีมที่มีส่วนผสมคือ Disodium EDTA, Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, Butylene Glycol, Polysorbate 20, Glycerin, Caprylhydroxamic Acid and 1, 2-Hexanediol and Butylene Glycol และ CPE แล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม Triethanolimine เพื่อปรับ pH ผสมให้เข้ากัน พิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพจากสีและความคงตัวของผลิตภัณฑ์

3.6.3 สคริปต์ผิว

หลอมละลาย Petrolatum, Phenyl Trimethicone, Butyrospermum Parkii (Shea) Butter, Cetyl alcohol, Stearyl alcohol, Squalane, Cetyl Ethylhexanoate, Triethylhexanoin, Cetareth-20, PEG-40 hydrogenated castor oil, Sorbitan Stearate, Tocopherol, Caprylhydroxamic Acid and Ethylhexylglycerin and Methylpropanediol ให้เข้ากัน จากนั้นเติมเนื้อผลกาแฟบด และ กากกาแฟ ลงไป ผสมให้เข้ากัน พิจารณาการเปลี่ยนแปลงของลักษณะทางกายภาพจากสีและความคงตัวของผลิตภัณฑ์

3.7 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

นำผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางครีมบำรุงผิวและเซรั่มบำรุงผิวไปทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ โดยการเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 90 วัน และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งโดยการทดสอบแบบร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 45°C และอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งหมด 6 รอบ ทำการวัดค่า pH และทำการวัดความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด (Viscometer) พิจารณาลักษณะทางกายภาพและการแยกชั้น

ทดสอบความคงตัวของสคริปต์ผิวโดยตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 วัน ทำการวัด pH พิจารณาลักษณะทางกายภาพและการแยกชั้น

3.8 ทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

ทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสคริปต์ผิว โดยแจกแบบสอบถามความพึงพอใจให้แก่อาสาสมัครจำนวน 30 คน ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวและเซรั่มบำรุงผิว มีเกณฑ์ในการประเมินโดย คะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1 พบว่าเมื่ออาสาสมัครมีการทดลองใช้ครีมบำรุงผิวจาก CPE สี (Colour) กลิ่น (Smell) เนื้อของผลิตภัณฑ์ (Texture) เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว (Feel on skin) ความหนืดของผลิตภัณฑ์ (Greasy and Sticky) การซึมเข้าสู่ผิว (Absorbed into the skin) ความพึงพอใจโดยรวม (Overall satisfaction) การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย (Buying decisions) ส่วนสคริปต์ผิวมีเกณฑ์ในการประเมินโดย คะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1 พบว่าเมื่ออาสาสมัครมีการทดลองใช้สคริปต์บำรุงผิวจาก CPE สี (Colour) กลิ่น (Smell) เนื้อของผลิตภัณฑ์ (Texture) เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว (Feel on skin) ความเหนอะของผลิตภัณฑ์ (Greasy and Sticky) ความชุ่มชื้นของผิวหลังใช้ (Feel moisturizer) ความพึงพอใจโดยรวม (Overall satisfaction) การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย (Buying decisions)

3.9 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

เตรียมอาสาสมัครจำนวน 30 คน อายุ 20-55 ปี ทาผลิตภัณฑ์บริเวณที่ต้องการทดสอบหรือบริเวณที่เหมาะสมในการใช้ผลิตภัณฑ์แก่อาสาสมัครและติดแผ่นแปะแผ่นทดสอบระคายเคือง (Finn chamber) ที่บรรจุด้วย ครีมบำรุงผิวจาก CPE เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE และสครับขัดผิวจากเนื้อผลกาแฟ และ sodium lauryl sulfate (SLS) ความเข้มข้น 1 w/v โดยคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลรวมระหว่างอาการบวมและอาการแดงของแต่ละเวลา (30 นาที, 1, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง) แล้วหาค่าเฉลี่ยของ PDII (Primary Dermal Irritation Index) โดยอ้างอิงระดับความระคายเคืองต่อผิวจาก (ตาราง 2)

ตาราง 2 การจำแนกระดับความระคายเคืองต่อผิว

PDII	Level of skin irritation
< 0.5	Non-irritating
0.5-2.0	Slightly irritating
2.1-5.0	Moderate irritating
>5	Severely irritating

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยวัดค่าความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA) ในการวิเคราะห์ความคงตัวของผลิตภัณฑ์เพื่อศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงแต่ละชุดการทดลอง โดยใช้วิธีการเปรียบเทียบของ Tukey test ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ในการพิจารณาว่ามีความสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Statistic Package for Social Science)

สถานที่ในการทำการทดลองและปฏิบัติการ

- ห้องปฏิบัติการกลางสำหรับบัณฑิตศึกษาคณะเทคโนโลยีการประมงและทรัพยากรทางน้ำ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
- บริษัท เอส.ที.ดี.เมติกส์ จำกัด

บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 การสกัดเนื้อผลกาแฟ



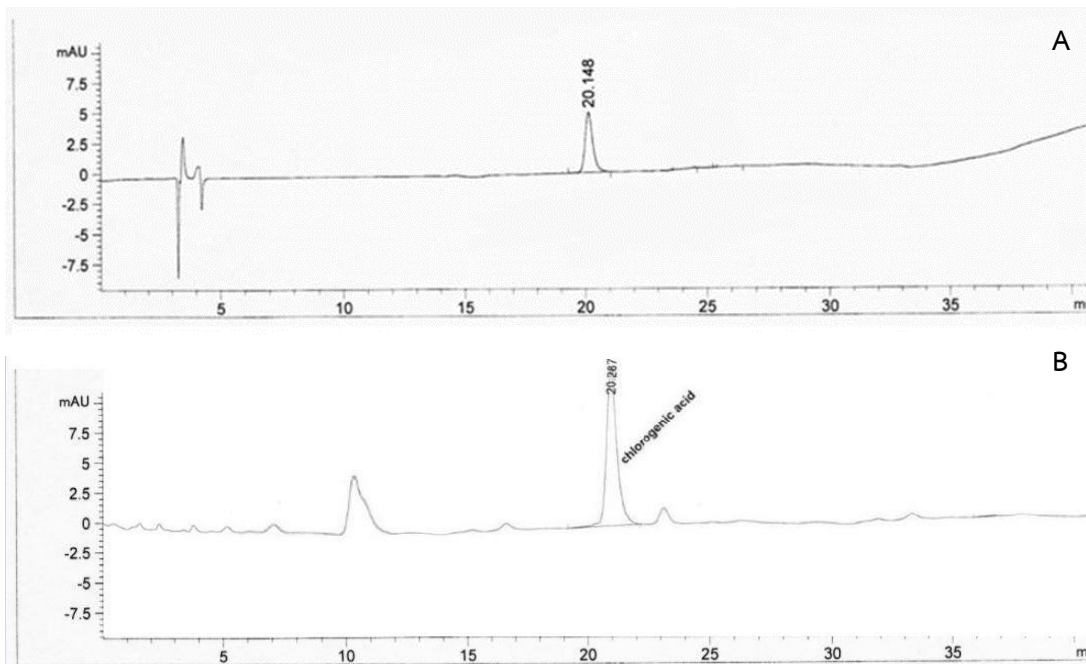
ภาพ 12 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ (CPE)

เนื้อผลกาแฟแห้ง 100 กรัมสกัดได้ CPE เท่ากับ 38.5 กรัม หรือคิดเป็นร้อยละผลผลิตสารสกัด (%yield) เท่ากับ $38.5 \pm 0.89\%$ ลักษณะสารสกัดเป็นผงแห้งสีน้ำตาลเข้ม แสดงในภาพ 12

4.2 การวิเคราะห์สารสำคัญจาก CPE

ปริมาณฟีนอลิกรวมและกรดคลอโรจีนิก

ผลการวิเคราะห์สารสำคัญพบว่า CPE มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 45.12 ± 1.08 mg GAE/g extract และเมื่อตรวจวัดปริมาณกรดคลอโรจีนิกซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในเนื้อผลกาแฟด้วยเครื่อง HPLC พบว่าจากโครมาโทแกรม (ภาพ 13) กรดคลอโรจีนิกมีค่า retention time เท่ากับ 20.15 นาที และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดคลอโรจีนิกพบว่ามีค่าเท่ากับ 17.8 mg/kg



ภาพ 13 โครมาโทแกรมแสดงปริมาณกรดคลอโรจีนิก
โครมาโทแกรมแสดงปริมาณสารมาตรฐานกรดคลอโรจีนิก (A) และ ปริมาณกรดคลอโรจีนิกใน CPE (B) โดยวัดด้วยเครื่อง HPLC ที่ความยาวคลื่น 280 nm

4.3 ฤทธิ์ชีวภาพของ CPE

4.3.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์การต้านอนุมูล ABTS ด้วยวิธี decolorization assay โดยอาศัยคุณสมบัติของปฏิกิริยารีดักชันซึ่งทำให้อนุมูล ABTS ที่มีสีเขียวปนน้ำเงินซึ่งตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 734 nm มีปริมาณลดลง จากการทดลองดังแสดงในตาราง 3 พบว่า CPE ที่ความเข้มข้น 0.20 – 1.00 mg/mL สามารถยับยั้งอนุมูล ABTS โดยมีค่า %inhibition สูงที่สุดเท่ากับ $77.92 \pm 1.79\%$ เมื่อคำนวณปริมาณสารที่สามารถต้านอนุมูลได้ 50% หรือครึ่งหนึ่งของการทดลอง (IC₅₀) มีค่าเท่ากับ 0.59 ± 0.01 mg/mL

ฤทธิ์การต้านอนุมูล DPPH จะอาศัยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก้อนุมูล DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยผลการทดสอบจะตรวจวัดการเปลี่ยนสีของอนุมูลในสารละลายจากสีม่วงเป็นสีเหลือง ผลการทดลองพบว่า CPE ที่ความเข้มข้นในช่วง 0.10 - 1.50 mg/mL สามารถต้านอนุมูล DPPH โดยมีค่า %inhibition สูงที่สุดเท่ากับ $73.76 \pm 0.48\%$ เมื่อ

พิจารณาว่า IC₅₀ ของ CPE และสารมาตรฐานกรดแกลลิกพบว่าเท่ากับ 0.94 ± 0.01 และ 0.01 ± 0.00 mg/mL ตามลำดับ (ตาราง 3)

ฤทธิ์การต้านอนุมูล superoxide ทำการทดสอบโดยอาศัยสารทดสอบไปต้านอนุมูล superoxide ในปฏิกิริยารีดักชันของ NBT ให้กลายเป็น diformazan ซึ่งมีสีน้ำเงินสามารถตรวจวัดได้ที่ความยาวคลื่น 560 nm ผลการทดสอบพบว่า CPE ความเข้มข้นในช่วง 3.00 – 15.00 mg/mL มีค่า %inhibition สูงที่สุดเท่ากับ $63.47 \pm 1.44\%$ เมื่อเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกดังแสดงในตาราง 3 พบว่า CPE และสารมาตรฐานกรดแกลลิกมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 9.53 ± 0.11 และ 1.37 ± 0.05 mg/mL ตามลำดับ

ตาราง 3 ค่าการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ

	ABTS assay		DPPH assay		Superoxide assay	
	mg TEAC/g extract	IC ₅₀ (mg/mL)	(mg GEAC/g extract)	IC ₅₀ (mg/mL)	(mg GEAC/g extract)	IC ₅₀ (mg/mL)
CPE	61.24 ± 3.78	0.59 ± 0.01	5.05 ± 0.11	0.94 ± 0.01	164.38 ± 4.76	9.53 ± 0.11
Trolox	-	0.04 ± 0.00	-	-	-	-
Gallic	-	-	-	0.01 ± 0.00	-	1.37 ± 0.05

4.3.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ผลการทดลองพบว่า CPE สามารถยับยั้งอนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ โดยประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสกัดโดย CPE ที่ความเข้มข้น 150 mg/mL มีประสิทธิภาพสูงสุดเท่ากับ $82.64 \pm 0.32\%$ ดังแสดงในตาราง 4 พบว่าค่า IC₅₀ ของ CPE และสารมาตรฐานกรดโคจิกมีค่าเท่ากับ 125.21 ± 4.90 และ 0.20 ± 0.05 mg/mL ตามลำดับ

ตาราง 4 ค่าการยับยั้งอนุมูลไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ของสารสกัดเนื้อผลกาแฟ

(mg)	IC ₅₀ (mg/mL)	Kojic acid equivalent (mg/g extract)
CPE	125.21 ± 4.90	6.94 ± 0.05
Kojic acid	0.20 ± 0.05	-

Kojic acid used for standard

4.4 พัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจาก CPE

4.4.1 ครีมบำรุงผิว



ภาพ 14 ครีมบำรุงผิวจาก CPE

เมื่อทำการพัฒนาตำรับครีมบำรุงผิวจาก CPE แล้วจะได้ครีมที่มีสีขาวอมเหลือง (ภาพ 14) เนื้อครีมนุ่มและลื่น มีการกระจายตัวได้ดี มีค่า pH เท่ากับ 5.5 เมื่อทำการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) จะแสดงค่าดังตาราง 5

ตาราง 5 ค่าสีของครีมบำรุงผิวจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ

	L*	a*	b*
Colour	48.02 ± 0.32	1.66 ± 0.03	8.08 ± 0.13

4.4.2 เซรั่มบำรุงผิว



ภาพ 15 เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE

เมื่อทำการพัฒนาตำรับเซรามบารุงผิวจาก CPE แล้วจะได้เซรามที่มีสีอำพัน (ภาพ 15) เนื้อผลิตภัณฑ์นุ่มและลื่น มีการกระจายตัวได้ดี มีค่า pH เท่ากับ 5.5 ซึ่งเซรามบารุงผิวไม่สามารถทำการวัดค่าสี (L^* a^* b^*) ได้เนื่องจากมีความโปร่งแสงทำให้แสงทะลุผ่านจึงไม่สามารถวัดค่า L^* (Lightness) ได้

4.4.3 สกรับขัดผิว



ภาพ 16 สกรับขัดผิว

เมื่อทำการพัฒนาตำรับสกรับขัดผิวจากเนื้อผลกาแฟแล้วจะได้สกรับที่มีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพ 16) เนื้อสัมผัสนุ่มและลื่น แต่มีความหยาบของเนื้อผลกาแฟและกากกาแฟเล็กน้อย มีการกระจายตัวได้ดี มีค่า pH เท่ากับ 4 เมื่อทำการวัดสีด้วยเครื่องวัดสี (Colorimeter) จะแสดงค่าดังตาราง 6

ตาราง 6 ค่าสีของสกรับขัดผิวจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ

	L^*	a^*	b^*
Colour	6.27 ± 0.06	2.17 ± 0.23	3.77 ± 0.06

4.5 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

4.5.1 ครีมบำรุงผิว

เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว โดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 90 วัน และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งโดยการทดสอบแบบร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 45°C และอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งหมด 6 รอบ และทำการวัดค่า pH จะแสดงค่าดังตาราง 7

ตาราง 7 ความคงตัวของครีมบำรุงผิวจาก CPE

Conditions	pH	Viscosity (Pa.s)	Separation and precipitation
Initial	5.5	9.12±0.13 ^a	X
RT (90 days)	5.5	9.19±0.09 ^a	X
4°C (90 days)	5.5	9.08±0.04 ^a	X
45°C (90 days)	5.5	8.46±0.15 ^b	X
H/C (6 cycles)	5.5	9.08±0.23 ^a	X

RT: room temperature H/C: heating/cooling cycles X: not separation and precipitation

^{a, b} Values with different superscript annotations show significantly different ($p < 0.05$)

ผลการทดลองพบว่า ลักษณะทางกายภาพทั่วไปของครีมคงเดิม ไม่มีการแยกชั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสีกลิ่น และค่า pH ส่วนค่าความหนืด (viscosity) พบว่า ครีมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และแบบเร่ง 6 รอบ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดเมื่อเทียบกับวันเริ่มต้นของการเก็บ ยกเว้นครีมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45°C ที่พบค่าความหนืดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยมีความหนืดลดลง การทดสอบความ คงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

4.5.2 เซรั่มบำรุงผิว

เมื่อทำการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิว โดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิ 45°C เป็นเวลา 90 วัน และทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่งโดยการทดสอบแบบร้อนสลับเย็น ที่อุณหภูมิ 45°C และอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งหมด 6 รอบ และทำการวัดค่า pH จะแสดงค่าดังตาราง 8

ตาราง 8 ความคงตัวของเซรั่มบำรุงผิวจาก CPE

Conditions	pH	Viscosity (Pa.s)	Separation and precipitation
Initial	5.5	11.59±0.07 ^a	X
RT (90 days)	5.5	11.64±0.17 ^a	X
4°C (90 days)	5.5	11.76±0.13 ^a	X
45°C (90 days)	5.5	12.19±0.08 ^b	X
H/C (6 cycles)	5.5	11.77±0.09 ^a	X

RT: room temperature H/C: heating/cooling cycles X: not separation and precipitation

^{a, b} Values with different superscript annotations show significantly different ($p < 0.05$)

ผลการทดลองพบว่า ลักษณะทางกายภาพทั่วไปของเซรั่มคงเดิม ไม่มีการแยกชั้น ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของสีกลิ่น และค่า pH ส่วนค่าความหนืด (viscosity) พบว่า เซรั่มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 4°C และแบบเร่ง 6 รอบ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดเมื่อเทียบกับวันเริ่มต้นของการเก็บ ยกเว้นเซรั่มที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45°C ที่พบค่าความหนืดมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยโดยมีความหนืดเพิ่มขึ้น การทดสอบความ คงตัวของผลิตภัณฑ์แบบเร่ง ไม่มีการเปลี่ยนแปลง

4.5.3 สคริปซ์ผิว

เมื่อนำสคริปซ์ผิวไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 วัน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของ สี กลิ่น และเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ และค่า pH (ตาราง 9)

ตาราง 9 ความคงตัวของสคริปซ์ผิว

Conditions	pH
Initial	4
RT (90 days)	4

RT: room temperature

4.6 ทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางจากเนื้อผลกาแฟ

4.6.1 ครีมบำรุงผิว

ทำการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวจาก CPE โดยแจกแบบสอบถามความพึงพอใจให้แก่อาสาสมัครจำนวน 30 คน โดยคะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1 พบว่าเมื่ออาสาสมัครมีการทดลองใช้ครีมบำรุงผิวจาก CPE สี (Colour) กลิ่น (Smell) เนื้อของผลิตภัณฑ์ (Texture) เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว (Feel on skin) ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ (Greasy and Sticky) การซึมเข้าสู่ผิว (Absorbed into the skin) ความพึงพอใจโดยรวม (Overall satisfaction) การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย (Buying decisions) โดยพบว่าความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ดี อาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ แสดงผลดังภาพ 17

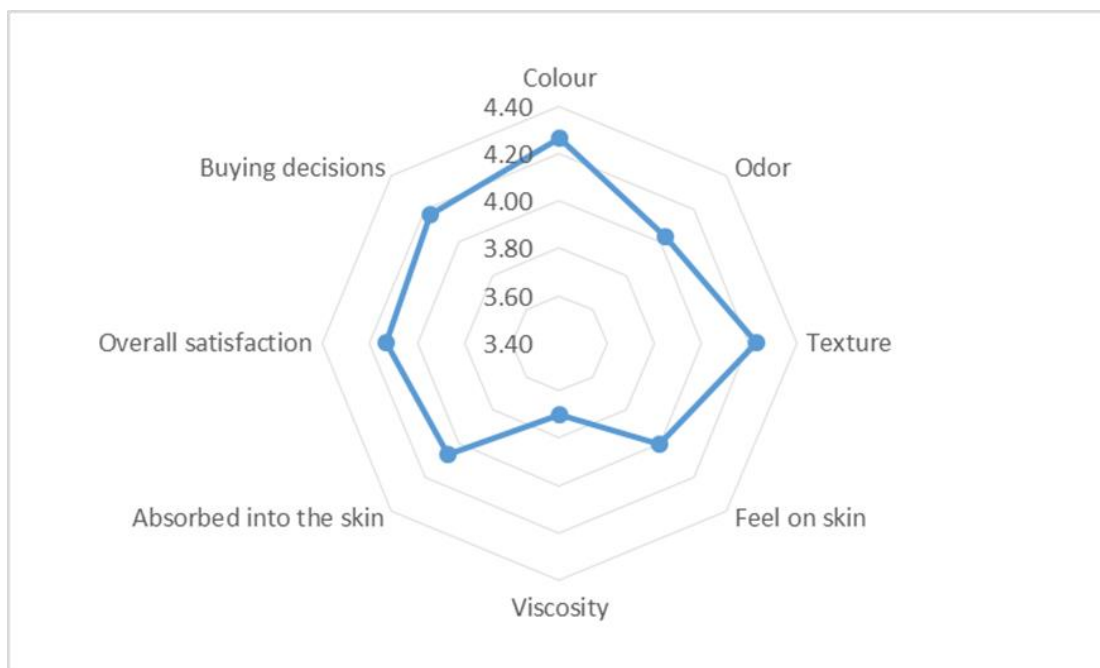


ภาพ 17 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้ครีมบำรุงผิวจาก CPE

4.6.2 เซรั่มบำรุงผิว

ทำการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE โดยแจกแบบสอบถามความพึงพอใจให้แก่อาสาสมัครจำนวน 30 คน โดยคะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1 พบว่าเมื่ออาสาสมัครมีการทดลองใช้เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE สี (Colour) กลิ่น (Smell) เนื้อของผลิตภัณฑ์ (Texture) เนื้อสัมผัส

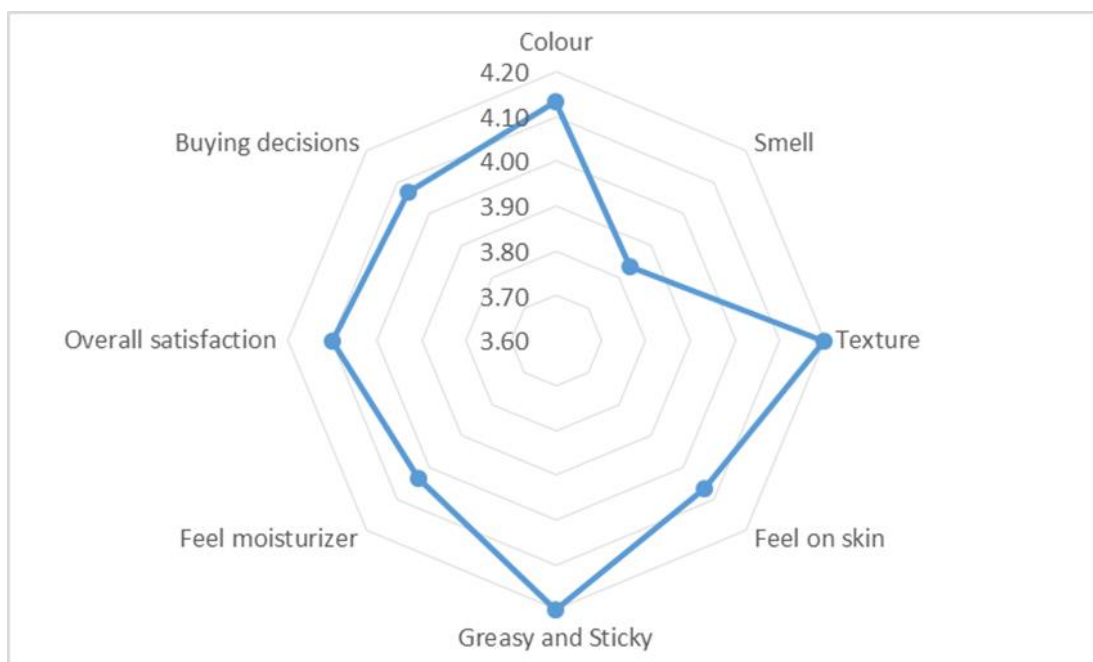
ของผลิตภัณฑ์ต่อผิว (Feel on skin) ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ (Greasy and Sticky) การซึมเข้าสู่ผิว (Absorbed into the skin) ความพึงพอใจโดยรวม (Overall satisfaction) การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย (Buying decisions) โดยความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ดี โดยอาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ แสดงผลดังภาพ 18



ภาพ 18 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE

4.6.3 สคริปต์ผิว

ทำการทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์สคริปต์บำรุงผิวจาก CPE โดยแจกแบบสอบถามความพึงพอใจให้แก่อาสาสมัครจำนวน 30 คน โดยคะแนนแบ่งออกเป็น 5 ระดับคือ ดีมาก = 5 ดี = 4 ปานกลาง = 3 พอใช้ = 2 และ ควรปรับปรุง = 1 พบว่าเมื่ออาสาสมัครมีการทดลองใช้สคริปต์บำรุงผิวจาก CPE สี (Colour) กลิ่น (Smell) เนื้อของผลิตภัณฑ์ (Texture) เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว (Feel on skin) ความเหนียวของผลิตภัณฑ์ (Greasy and Sticky) ความชุ่มชื้นของผิวหลังใช้ (Feel moisturizer) ความพึงพอใจโดยรวม (Overall satisfaction) การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย (Buying decisions) โดยความพึงพอใจโดยรวมอยู่ในเกณฑ์ดี โดยอาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ แสดงผลดังภาพ 19



ภาพ 19 ความพึงพอใจในอาสาสมัครจำนวน 30 คน จากการทดลองใช้สครับขัดผิว

4.7 ทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์จากเนื้อผลกาแฟ



ภาพ 20 บริเวณต้นแขนที่ทำการทดสอบ patch test

ทำการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นในอาสาสมัครจำนวน 30 คน อายุ 20-55 ปี ด้วยผลิตภัณฑ์ ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิว โดยการแปะแผ่นทดสอบ (Finn chamber) ที่บรรจุ ครีมบำรุงผิวจาก CPE เซรั่มบำรุงผิวจาก CPE และสครับขัดผิวจากเนื้อผลกาแฟ บนบริเวณต้นแขนของอาสาสมัคร (ภาพ 20) โดยผลการระคายเคืองหลังจากลอกแผ่นเทปออกพบว่า ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิว มีค่า PDII < 0.5 คือ ไม่ก่อระคายเคือง โดยมี 1% sodium

lauryl sulphate (SLS) เป็น positive control พบว่า 1% SLS มีค่า PDII>0.5 ก่อการระคายเคืองเล็กน้อย (ตาราง10)

ตาราง 10 ผลการระคายเคือง (The Primary Dermal Irritation Index (PDII) value and skin irritation reaction)

Test substances	PDII	Classification of skin irritation
CPE cream	0.13	Non-irritating
CPE serum	0.19	Non-irritating
CPE scrub	0.05	Non-irritating
1% w/v SLS (positive)	0.80	Slightly irritating
DI water (negative)	0.00	Non-irritating

วิจารณ์ผลการวิจัย

อุตสาหกรรมเครื่องสำอางมีการเติบโตอย่างต่อเนื่องและรวดเร็วโดยเฉพาะเครื่องสำอางจากธรรมชาติที่ช่วยปรับโทนผิวให้กระจ่างใส (Burger et al., 2016) ลดเลือนริ้วรอย ชะลอความแก่ของผิวหน้า (Plainfossé et al., 2018) เนื่องจากผู้คนในปัจจุบันหันมาใส่ใจกับการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติมากขึ้น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติยังพบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางหรือเวชสำอาง (Ribeiro et al., 2015; Soto et al., 2015) ดังนั้นเมื่อผลกาแพที่พบว่ามีปริมาณเป็นจำนวนมากซึ่งเป็นวัสดุเศษทิ้งทางการเกษตรจึงมีความน่าสนใจในการนำมาใช้เป็นสารเชิงหน้าที่ในทางเครื่องสำอางบำรุงผิว โดยทำการสกัดเนื้อผลกาแพสกัดด้วยน้ำเนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและหลีกเลี่ยงสารละลายอินทรีย์ที่อาจเป็นอันตราย (Płotka-Wasyłka et al., 2017) จากการทดลองพบว่า CPE มีปริมาณผลผลิตของสารสกัดค่อนข้างสูง โดยตรวจพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส คอลลาจีเนส อิลาสเทส ปกป้องผิวจากรังสียูวี เป็นต้น (Ribeiro et al., 2015; Zillich et al., 2015) และยังตรวจพบกรดคลอโรจีนิกซึ่งเป็นกรดฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในทางเครื่องสำอางเนื่องจากมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ ชะลอการแก่ของผิวหน้า ช่วยต้านการอักเสบของผิวหน้า สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Bessada et al., 2018; Naveed et al., 2018) และสามารถยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินใน B16 murine melanoma cells (Li et al., 2014) ส่วนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

พบว่า CPE มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ทำให้ผิวแก่ เสื่อมสภาพ เกิดริ้วรอย เกิดการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ซึ่งเป็นสาเหตุของ กระ ฝ้า ในที่สุด (Uwa, 2017) โดยเฉพาะการแก่ของผิวหนังที่เกี่ยวข้องกับการทำลายอีซีเอ็ม (extracellular matrix; ECM) ซึ่งประกอบด้วย คอลลาเจน อิลาสตินที่ทำหน้าที่ให้ความยืดหยุ่นแก่ผิวหนัง จากการทำงานของ เอนไซม์ในกลุ่ม Matrix metalloproteinases (MMPs) เช่น คอลลาจีเนส และเจลาติเนส เป็นต้น ซึ่งถูกกระตุ้นโดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์โดยเฉพาะกลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (ROS) (Mukherjee et al., 2011) นอกจากนี้ CPE ยังมีประสิทธิภาพในการต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ตัวการสำคัญในการสังเคราะห์เมลานิน ซึ่งจะช่วยให้ปรับสภาพผิวให้กระจ่างใสในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวได้ ส่วนการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของส่วนอื่นของกาแฟพบว่าส่วนเมล็ดของ *Coffea arabica* และ *Coffea canephora* ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ และเอนไซม์ไทโรซิเนส (Kiattisin et al., 2016) ส่วนใบของกาแฟ *Coffea arabica* ที่ทำการสกัดด้วยเอทานอลสามารถประยุกต์ใช้เป็นสารเชิงหน้าที่ในเครื่องสำอางที่สามารถต้านอนุมูล ABTS, DPPH และ lipid peroxidation (Kiattisin et al., 2019) ดังนั้น CPE จึงมีคุณสมบัติในการเป็นสารเชิงหน้าที่เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ด้านเวชสำอางชะลอวัยและปรับสภาพผิวให้กระจ่างใส

พัฒนาเป็นตำรับเป็นเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของ CPE 3 ผลิตภัณฑ์ได้แก่ ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิว โดยได้ทำการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในครีมและเซรั่มที่ผสม CPE เป็นเวลา 90 วัน ที่สภาวะต่างๆ และการทดสอบแบบเร่งด้วยความร้อนสลับเย็น พบว่า ลักษณะทางกายภาพและเคมีไม่เปลี่ยนแปลง ยกเว้นการเก็บผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 45°C มีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยครีมบำรุงผิวมีความหนืดลดลง ในส่วนของเซรั่มบำรุงผิวมีความหนืดเพิ่มขึ้น (ตาราง 5) เนื่องจากเซรั่มเนื้อเจลมีน้ำเป็นส่วนประกอบหลัก ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปน้ำจะระเหยออกบางส่วน ทำให้เซรั่มมีความหนืดเพิ่มขึ้น จึงมีข้อควรระวังไม่ควรเก็บครีมและเซรั่มไว้ที่อุณหภูมิสูง ในส่วนของสครับขัดผิวเมื่อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเนื้อของผลิตภัณฑ์ และจากผลการสำรวจความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิวที่ผสม CPE ในอาสาสมัคร พบว่าอาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ และมีแนวโน้มการตอบรับทางการตลาดจากผู้บริโภคเมื่อวางจำหน่าย นอกจากนี้แล้วได้ทำการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้น ผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิว พบว่ามีค่า PDII < 0.5 คือ ไม่ก่อระคายเคือง อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยแรกที่พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางบำรุงผิวขึ้นจาก CP ที่มีประสิทธิภาพ และยังช่วยลดปริมาณวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรที่มีเป็นจำนวนมากซึ่งยากต่อการกำจัดให้หมด อีกทั้งยังไม่มีวิธีการจัดการอย่างเป็นรูปธรรมซึ่งนับได้ว่าเป็นปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อมให้กับอุตสาหกรรมการผลิตกาแฟเป็นอย่างมากในปัจจุบัน

นอกจากนี้งานวิจัยนี้จะดำเนินการศึกษาเพิ่มเติมในการยืนยันประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ครีมบำรุงผิวผสม CPE ในอาสาสมัครเพิ่มเติมต่อไป



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

เนื้อผลกาแฟจัดเป็นเศษเหลือจากอุตสาหกรรมกาแฟถูกนำมาเพิ่มมูลค่าโดยสกัดเป็น CPE ที่มีสารสำคัญชนิดกรดคลอโรจีนิกซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและมีฤทธิ์ชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระ ช่วยชะลอการเสื่อมสภาพของผิว ทั้งยังช่วยต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดผิวสีเข้ม จึงมีศักยภาพในการนำมาเป็นสารเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยตั้งตำรับเป็นเครื่องสำอาง 3 ผลิตภัณฑ์คือ ครีมบำรุงผิว เซรั่มบำรุงผิว และสครับขัดผิว ที่ช่วยลดเลือนริ้วรอย และบำรุงผิวให้แลดูกระจ่างใส ทั้งนี้ยังได้มีการทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครพบว่าอาสาสมัครมากกว่า 80% มีความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้แล้วได้ทำการทดสอบการระคายเคืองเบื้องต้นซึ่งไม่พบผู้ที่เกิดการระคายเคือง ผลจากการวิจัยนอกจากจะช่วยเพิ่มมูลค่าให้แก่เนื้อผลกาแฟแล้ว ยังช่วยลดการกำจัดของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมกาแฟที่ส่งผลเสียให้กับสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยในครั้งนี้สามารถทำให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้นได้โดยทำการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพเพิ่มเติม เช่น ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระคอลลาเจนเนส ทำการทดสอบประสิทธิภาพ (efficacy test) ในการชะลอวัยของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางผสม CPE ในอาสาสมัครเพิ่มเติมในการศึกษาครั้งต่อไป

บรรณานุกรม

- Ames, B. N., Shigenaga, M. K. & Hagen, T. M. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 90(17), 7915-7922.
- Amnuakit, T., Maneenuan, D. & Boonme, P. 2011. Evaluation of Caffeine Gels on Physicochemical Characteristics and In Vivo Efficacy in Reducing Puffy Eyes. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, 1(2), 56-59.
- Ashok, P. K. & Upadhyaya, K. 2012. Tannins are Astringent **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 1(3), 45-50.
- Baskin, S. I. & Salem, H. 1997. **Oxidant, Antioxidant and Free Radical**. Washington D.C.: Taylor & Francis.
- Basu, T. K., Temple, N. J. & Garg, M. L. 1999. **Antioxidants in human health and disease**. New York CABI Pub.
- Bessada, S., C Alves, R. & PP Oliveira, M. 2018. Coffee silverskin: a review on potential cosmetic applications. **Cosmetics**, 5(1), 5.
- Burger, P., Landreau, A., Azoulay, S., Michel, T. & Fernandez, X. 2016. Skin whitening cosmetics: Feedback and challenges in the development of natural skin lighteners. **Cosmetics**, 3(4), 36.
- Calzada, J. F., León, O. R. d., Arriola, M. C. d., Micheo, F. d., Rolz, C., León, R. d. & Menchú, J. F. 1981. Biogas from coffee pulp. **Biotechnology Letters**, 3(12), 713-716.
- Cha, J. W., Piao, M. J., Kim, K. C., Yao, C. W., Zheng, J., Kim, S. M., Hyun, C. L., Ahn, Y. S. & Hyun, J. W. 2014. The Polyphenol Chlorogenic Acid Attenuates UVB-mediated Oxidative Stress in Human HaCaT Keratinocytes. **Biomolecules & Therapeutics**, 22(2), 136-142.
- Chang, T.-S. 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. **International Journal of Molecular Sciences**, 10(6), 2440-2475.
- Cubero-Abarca, R., Moya, R., Valaret, J. & Tomazello Filho, M. 2014. Use of coffee (Coffea arabica) pulp for the production of briquettes and pellets for heat generation. **Ciência e Agrotecnologia**, 38(5), 461-470.

- de Sotillo, D. V. R. & Hadley, M. 2002. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. **The Journal of nutritional biochemistry**, 13(12), 717-726.
- Esquivel, P. & Jiménez, V. M. 2012. Functional properties of coffee and coffee by-products. **Food Research International**, 46(2), 488-495.
- Farah, A., Monteiro, M., Donangelo, C. M. & Lafay, S. 2008. Chlorogenic Acids from Green Coffee Extract are Highly Bioavailable in Humans. **The Journal of Nutrition**, 138(12), 2309-2315.
- Hammerschmidt, P. A. & Pratt, D. E. 1978. Phenolic antioxidants of dried soybeans. **Journal of Food Science**, 43(2), 556-559.
- Hwang, S. J., Kim, Y. W., Park, Y., Lee, H. J. & Kim, K. W. 2014. Anti-inflammatory effects of chlorogenic acid in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 cells. **Inflammation Research**, 63(1), 81-90.
- Kiattisin, K., Nantararat, T. & Leelapornpisid, P. 2016. Evaluation of antioxidant and anti-tyrosinase activities as well as stability of green and roasted coffee bean extracts from *Coffea arabica* and *Coffea canephora* grown in Thailand. **Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy**, 8(10), 182-192.
- Kiattisin, K., Nitthikan, N., Poomanee, W., Leelapornpisid, P., Viernstein, H. & Mueller, M. 2019. Anti-inflammatory, Antioxidant Activities and Safety of *Coffea arabica* Leaf Extract for Alternative Cosmetic Ingredient. **Chiang Mai Journal of Science**, 46(2) 284-294.
- Kim, Y. J. & Uyama, H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, 62(15), 1707-1723.
- Konczak, I. & Zhang, W. 2004. Anthocyanins—More Than Nature's Colours. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, 2004(5), 239-240.
- Li, H.-R., Habasi, M., Xie, L.-Z. & Aisa, H. 2014. Effect of chlorogenic acid on melanogenesis of B16 melanoma cells. **Molecules**, 19(9), 12940-12948.
- Lu, Y. P., Lou, Y. R., Xie, J. G., Peng, Q. Y., Zhou, S., Lin, Y., Shih, W. J. & Conney, A. H. 2007. Caffeine and caffeine sodium benzoate have a sunscreen effect, enhance

- UVB-induced apoptosis, and inhibit UVB-induced skin carcinogenesis in SKH-1 mice. **Carcinogenesis**, 28(1), 199-206.
- Luo, L. & Lane, M. E. 2015. Topical and transdermal delivery of caffeine. **International Journal of Pharmaceutics**, 490(1-2), 155-164.
- Mensor, L. L., Menezes, F. S., Leitão, G. G., Reis, A. S., Santos, T. C. d., Coube, C. S. & Leitão, S. G. 2001. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, 15(2), 127-130.
- Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K. & Sarkar, B. K. 2011. Bioactive compounds from natural resources against skin aging. **Phytomedicine**, 19(1), 64-73.
- Murthy, P. S., Manjunatha, M., Sulochannama, G. & Naidu, M. M. 2012. Extraction, characterization and bioactivity of coffee anthocyanins. **European Journal of Biological Sciences**, 4(1), 13-19.
- Murthy, P. S. & Naidu, M. M. 2012a. Recovery of Phenolic Antioxidants and Functional Compounds from Coffee Industry By-Products. **Food and Bioprocess Technology**, 5(3), 897-903.
- _____. 2012b. Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review. **Resources, Conservation and Recycling**, 66(45-58).
- Naegele, E. 2016. **Determination of Chlorogenic Acid in Coffee Products According to DIN 10767**. [Online]. Available <https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-2852EN.pdf> (2 September 2017).
- Naveed, M., Hejazi, V., Abbas, M., Kamboh, A. A., Khan, G. J., Shumzaid, M., Ahmad, F., Babazadeh, D., FangFang, X. & Modarresi-Ghazani, F. 2018. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, 97(67-74).
- Nishikimi, M., Rao, N. A. & Yagi, K. 1972. The occurrence of superoxide anion in the reaction of reduced phenazine methosulfate and molecular oxygen. **Biochemical and biophysical research communications**, 46(2), 849-854.
- Núñez A. C., Rentería I. D. C. D., Villagómez M. Á., Martínez P. E., Sánchez C. E. M., Pulido S. A. A. & Rojas-Ronquillo, R. 2015. The Use of Coffee Pulp as a Potential

- Alternative Supplement in Ruminant Diets. **Journal of Agricultural Science and Technology**, A, 5, 214-217.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Nigam, P., Brand, D., Mohan, R. & Roussos, S. 2000. Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses. **Biochemical Engineering Journal**, 6(2), 153-162.
- Plainfossé, H., Burger, P., Azoulay, S., Landreau, A., Verger-Dubois, G. & Fernandez, X. 2018. Development of a Natural Anti-Age Ingredient Based on *Quercus pubescens* Willd. Leaves Extract—A Case Study. **Cosmetics**, 5(1), 15.
- Plotka-Wasyłka, J., Rutkowska, M., Owczarek, K., Tobiszewski, M. & Namieśnik, J. 2017. Extraction with environmentally friendly solvents. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, 91, 12-25.
- Ramirez-Martinez, J. R. 1988. Phenolic compounds in coffee pulp: Quantitative determination by HPLC. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 43(2), 135-144.
- Rathinavelu, R. & Graziosi, G. 2005. Potential alternative use of coffee wastes and by-products. **Coffee Organization**, 1-4.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology and medicine**, 26(9-10), 1231-1237.
- Ribeiro, A., Estanqueiro, M., Oliveira, M. & Sousa Lobo, J. 2015. Main benefits and applicability of plant extracts in skin care products. **Cosmetics**, 2(2), 48-65.
- Soto, M., Falqué, E. & Domínguez, H. 2015. Relevance of natural phenolics from grape and derivative products in the formulation of cosmetics. **Cosmetics**, 2(3), 259-276.
- Sritularak, B., De-Eknamkul, W. & Likhitwitayawuid, K. 1998. Tyrosinase inhibitors from *Artocarpus lakoocha*. **Thai J Pharm Sci**, 22(149-155).
- Tadesse, M. & Adamu, M. 2017. Design and Development of Biogas Production System From Waste Coffee Pulp and its Waste Water Around Tepi. **International Journal of Recent Development in Engineering and Technology**, 6(1), 18-30.

- Tavares, L., Fortalezas, S., Carrilho, C., McDougall, G. J., Stewart, D., Ferreira, R. B. & Santos, C. N. 2010. Antioxidant and antiproliferative properties of strawberry tree tissues. **Journal of Berry Research**, 1(1), 3-12.
- Thumsongmuang, S. 2010. **Development and application of standardized lychee seed extract for anti-wrinkle cosmetics**. Doctoral Dissertation. Chiang Mai University.
- Uwa, L. 2017. The anti-aging efficacy of antioxidants. **Curr Trends Biomed. Eng Biosci**, 7(4), 2-4.
- Zillich, O., Schweiggert-Weisz, U., Eisner, P. & Kersch, M. 2015. Polyphenols as active ingredients for cosmetic products. **International journal of cosmetic science**, 37(5), 455-464.
- กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยพืชสวน. 2559. **ยุทธศาสตร์กาแฟ ปี 2560-2564**. [ระบอบออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.doa.go.th/hort/images/jsn_is_thumbs/images/hort/strategiccoffee.pdf (10 ตุลาคม 2560).
- กรมส่งเสริมการเกษตร. 2557. **การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตกาแฟ**. กรุงเทพฯ: ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย.
- กัญญาลักษณ์ จันทะกี. 2557. **ประสิทธิภาพของน้ำผึ้งในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบริเวณผิวหนัง และการยับยั้งอนุมูลอิสระ**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ดำรงเกียรติ คำมา. 2546. **Total antioxidant activity ในช่วงอายุต่างๆ**. ภาคนิพนธ์ปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- นุชนิภา นันทะวงศ์. 2558. **ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ**. เชียงใหม่: เอร่าวิสาหกิจ.
- พิมพ์พร ลีลาพรพิสิฐ. 2536. **อิมัลชันทางเครื่องสำอาง**. เชียงใหม่: โครงการตำรา งานส่งเสริมการวิจัยและตำรากองบริการการศึกษา สำนักงานอธิการบดี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- _____. 2544. **เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง**. เชียงใหม่: คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- _____. 2551. **เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง**. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- มานพ หาญเทวี. 2553. **เทคโนโลยีการผลิตกาแฟอาราบิก้า**. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร ศูนย์วิจัยและฝึกอบรมที่สูง มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

อัญชนา เจนวิถีสุข. 2544. การตรวจหาและบ่งชี้ชนิดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักพื้นบ้านและสมุนไพรไทย.วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.



ภาคผนวก



2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018



At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

IGRC02010089

Coffee Pulp Extract and Its Antioxidant Activity for Cosmetic Ingredient

Nitchima Boonyu^{1, 2}, Lapatrada Mungmai², Kriangsak Mangumphan^{3, 4} and Doungporn Amornlerdpison^{3, 4}

¹ Agricultural Interdisciplinary Program, Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

² Program in Cosmetic Science, School of Pharmaceutical Sciences, University of Phayao, Phayao Thailand

³ Graduate School, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

⁴ Faculty of Fisheries Technology and Aquatic Resources, Maejo University, Chiang Mai, Thailand

* Corresponding author, e-mail: nitchimaboonyu@gmail.com

Abstract

Coffee pulp (*Coffea arabica*) is by-product from coffee processing in industry. It has been used as compost and animal feed. This research aimed to add the value of coffee pulp as biological compound due to the chlorogenic acid was obtained the main phenolic component in coffee pulp and useful for cosmetic ingredient. Furthermore, the reports presented that chlorogenic acid is the phenolic compound for anti-aging and brightening skin. Therefore, the coffee pulp was extracted with distilled water and then the aqueous was evaluated the total phenolic content and antioxidant activity. The coffee pulp extract was measured the total phenolic content (TPC) using the Folin-Ciocalteu reagent method. Moreover, chlorogenic acid of coffee pulp extract was analyzed by HPLC technique. Furthermore, its antioxidant activity was tested using ABTS radical scavenging assay. It was found that yield of coffee pulp extract was 38.5%, TPC was 45.12±1.08 mgGAE/g of extract and also chlorogenic acid was 17.8 mg/kg. Additionally, the extract displayed antioxidant activity 61.24±3.78 mgTEAC/g of extract. The finding of this study suggests that phenolic content and its antioxidant activity of coffee pulp extract which are benefit for skin. Consequently, the coffee pulp extract is proper to formulate in cosmetic products.

Keywords: antioxidant activity, anti-tyrosinase activity, coffee pulp extract, cosmetic ingredient, total phenolic content

INTRODUCTION

One of the most important consumed beverages in the world is coffee. It has been consuming for decades. It is also the second largest traded commodity after crude oil [1]. Only two species; Arabica (*Coffea arabica*) and Robusta (*Coffea canephora*) are produced to be the well-known coffee beverage for the worldwide consumers [1]. Coffee is produced widely in 60 tropical and subtropical countries [2].

For both consuming and producing countries, coffee is a considerable cash crop. Coffee is cultivated in many countries in Asia such as India, Indonesia, Vietnam and Thailand. Each year, big amount of Robusta coffee are produced in the South of Thailand, while small amount of Arabica coffee are produced in the cooler highland areas of the North. Besides, grounded and roasted Arabica are completely used in the country [3].

In coffee industry abundant waste or agricultural residues are produced during the processing coffee, for example, coffee pulp and cherry husk which are considered to be residues or by-products [4]. Amount of coffee by-products is one of the most extreme environmental pollution problems, and therefore, there are some development attempts and researches to transform the residues, especially



2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018



At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

the coffee pulp for the value added products through biotechnological process which is also the waste management and the reduction of coffee by-products [4, 5, 6].

For the waste utilization and the reduction of environmental pollution, the limited applications of coffee pulp and husk have found to be used for animal feed, fertilizer, compost, mushroom cultivation, etc. However, the methods of using were not very technically efficient, though the quantity were available [5].

Nowadays, some efforts have been made to utilize coffee pulp extract for the development of value addition in commercial that is important consideration for cosmetic products.

Coffee pulp contains many biological activity substances such as phenolic compounds, caffeine and tannins [7]. There are many of phenolic compounds and chlorogenic acid, the important phenolic compound in coffee pulp [8]. It is beneficial for skin.

Recently, the quality of cosmetic products plays the important role on many people's daily life because they care for their health and beauty and this causes the fast growing of cosmetic business in the world. Most of people are interested in using the natural extract which is the best choice for the quality of life.

The aim of this study was to determine total phenolic content and chlorogenic acid in coffee pulp extract and also evaluate antioxidant activity on nourishing skin. Furthermore, the value-added of coffee pulp as cosmetic ingredients is investigated.

MATERIALS AND METHODS

Sample Extraction

Coffee pulp (*Coffea arabica*) was obtained from Hillkoff Co., Ltd. Chiang Mai province. Coffee pulp (Figure 1) was dried in hot air oven at 50°C for 24 h and grounded it in the blender into powder. Then, we extracted the sample with distilled water at 60°C for 6 hours and then centrifuged at 4,000 rpm for 3 minute and filtrated by using Whatman No.1. We then evaporated it by Vacuum rotary evaporator and used freeze dryer to obtain the extract. The percentage of yield was finally calculated.



Figure 1. coffee pulp

Determination of Total Phenolic Content

The total phenolic content in coffee pulp extract was determined according to the Folin-Ciocalteu reagent assay [9]. Folin-Ciocalteu solution 1,000 μ l was mixed with sodium carbonate 800 μ l and 200 μ l of coffee pulp extract in varying concentrations. The mixture was incubated for 1 hour at room temperature. The absorbance at 765 nm was measured. The total phenolic content was expressed as gallic acid equivalent (GAE) in milligrams per gram of dry coffee pulp extract.



2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE
UNIVERSITY

Determination of chlorogenic acid by high performance liquid chromatography (HPLC)

The chlorogenic acid in coffee pulp extract was determined by high performance liquid chromatography (HPLC). Analysis was carried out with HPLC, mobile phase: solvent A (absolute methanol, HPLC grade) and solvent B (2% acetic acid in aqueous solution). The HPLC condition was initially at 9 min, 12% of solvent A in solvent B, then at 0-5 min, 12-15% of solvent A in solvent B and then, at 5-15 min, 15-30% of solvent A in Solvent B and at 19-27 min, 30-50% of solvent A in solvent B. The flow rate was 0.5 ml/min, wavelength 280 nm, sensitivity 0.16 AUFS. The injection volume at 5 μ l. chlorogenic acid was used as standard.

ABTS radical scavenging activity

Antioxidant activity was determined by ABTS radical scavenging assay [10]. The coffee pulp extract 200 μ l was prepared in varying concentrations, then adding ABTS radical solution of 1,800 μ l. The mixture was incubated for 6 min. The absorbance at 765 nm was measured. ABTS radical scavenging activity was expressed as trolox equivalent (TEAC) in milligrams per gram of dry coffee pulp extract.

RESULTS AND DISCUSSION

Extraction of coffee pulp

The coffee pulp extract was dark brown color (Figure 2) and the yield percentage was 38.5%. In this study, coffee pulp was extracted with distilled water since it is environmentally friendly solvent and we avoided using harmful organic solvents [11].



Figure 2. coffee pulp extract

Determination of Total Phenolic content and chlorogenic acid

The total phenolic content of coffee pulp was 45.12 ± 1.08 mgGAE/g of extract. There are many phenolic compounds in coffee pulp, and chlorogenic acid was the main phenolic component. Chlorogenic acid is phenolic compounds formed by the esterification of cinnamic acids [8]. It was widely used in cosmetic formulation due to the biological activity such as antioxidant activity, photo-aging activity and anti-inflammatory activity [8].

The result obtained from HPLC analysis of chlorogenic acid was 17.8 mg/kg. Figure 3 shows the HPLC chromatogram of chlorogenic acid standard and Figure 4 displays the HPLC chromatogram of coffee pulp extract. This chromatogram shows the peak of chlorogenic acid compared with chlorogenic acid standard in Figure 3.



2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018

At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand



GRADUATE
SCHOOL
CHIANG MAI
UNIVERSITY

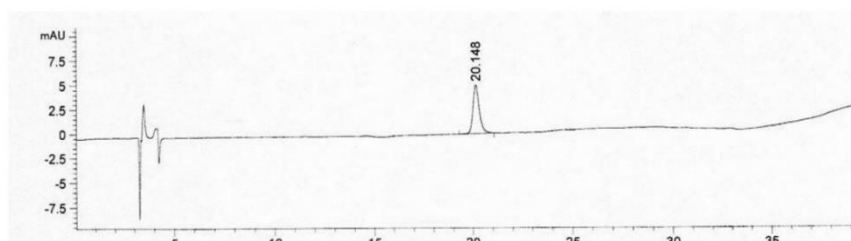


Figure 3. Chromatograms showing chlorogenic acid standard analyzed with HPLC

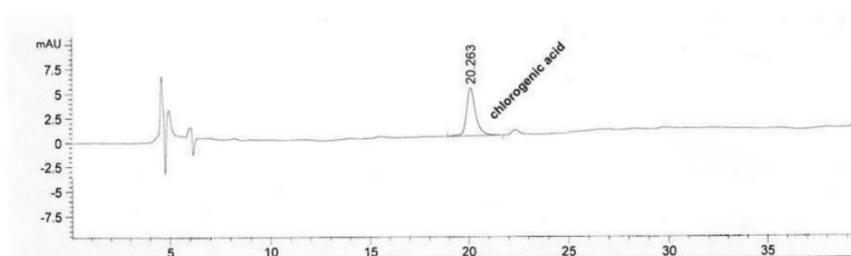


Figure 4. Chromatograms showing chlorogenic acid in coffee pulp extract analyzed with HPLC

ABTS radical scavenging activity

Antioxidant can prevent oxidative stress that is the imbalance between the production of free radical and antioxidative defense system in favor of free radicals [12]. Antioxidant can protect skin from aging, photo-aging and photocarcinogenesis of skin [13]. The antioxidant activity of coffee pulp extract was evaluated by ABTS radical scavenging assay. It was found that the extract showed antioxidant activity 61.24 ± 3.78 mgTEAC/g of extract.

CONCLUSIONS

The coffee pulp extract provided total phenolic content and antioxidant activity. Chlorogenic acid is main phenolic content in coffee pulp extract. The compound can prevent skin damage, anti-aging and useful for cosmetic ingredient. The many reports found that chlorogenic acid is also anti-inflammatory and anti-tyrosinase which can brighten the skin. The results of this study showed that numerous waste or agricultural residues in coffee industry can be add value of coffee pulp to be cosmetic ingredient. Moreover, further study need to evaluate other biological activities of coffee pulp extract and its mechanism of action for cosmetic ingredient. In addition, the irritation test and clinical study will be tested in human in future study.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Ms. Naruemon Taksaudom, Hillkoff Co., Ltd., Chiang Mai, for her contribution in this work which is the study of master's degree (MSD60I0031) and co-funding. This research was mainly supported funding by Project of Research and Researchers for Industries (RRI), The Thailand Research Fund (TRF), Thailand.



2nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference
May 17th -18th, 2018



At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand

REFERENCES

1. S. I. Mussatto, E. M. S. Machado, S. Martins, and J. A. Teixeira, "Production, composition, and application of coffee and its industrial residues", *Food Bioprocess Technology.*, **2011**, *4*, 661-672.
2. P. Esquivel and, V. M Jiménez, "Functional properties of coffee and coffee by-products", *Food Research International.*, **2012**, *46*, 488-495.
3. P. Angkasith, "Coffee production status and potential of organic Arabica coffee in Thailand", *AU Journal of Technology.*, **2002**, *5*, 117-123.
4. P. S Murthy, M. R. Manjunatha, G. Sulochannama and M. M. Naidu, "Extraction, characterization and bioactivity of coffee anthocyanins", *European Journal of Biological Sciences.*, **2012**, *4*, 13-19.
5. P. S Murthy and M. M Naidu, "Sustainable management of coffee industry by-products and value addition—A review", *Resources, Conservation and Recycling.*, **2012**, *66*, 45-58.
6. C. Augur, G. Gutierrez-Sanchez, A. Ramirez-Coronel, M. Contreras-Dominguez, I. Perraud-Gaime and S. Roussos, "Analysis of Antiphenolic Components of Coffee Pulp", **2006**, 391-402.
7. A. Pandey, C. R Soccol, P. Nigam, D. Brand, R. Mohan and S. Roussos, "Biotechnological potential of coffee pulp and coffee husk for bioprocesses", *Biochemical Engineering Journal.*, **2000**, *6*, 153-162.
8. A. Farah, M. Monteiro, C. M. Donangelo and S. Lafay, "Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans", *The Journal of nutrition*, **2008**, *138*, 2309-2315.
9. P. A Hammerschmidt and D. E. Pratt, "Phenolic antioxidants of dried soybeans", *Journal of Food Science.*, **1978**, *43*, 556-559.
10. R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans, "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay" *Free Radical Biology and Medicine.*, **1999**, *26*, 1231-1237.
11. J. Plotka-Wasyłka, M. Rutkowska, K. Owczarek, M. Tobiszewski and J. Namieśnik, "Extraction with environmentally friendly solvents", *TrAC Trends in Analytical Chemistry.*, **2017**, *91*, 12-25.
12. A. Martínez, J.C. Estévez and F. J. Silva-Pando, "Antioxidant activity, total phenolic content and skin care properties of 35 selected plants from Galicia (NW Spain)", *Frontiers in Life Science.*, **2012**, *6*, 77-86.
13. K. Scharffetter-Kochanek, M. Wlaschek, P. Brenneisen, M. Schauen, R. Blaudschun and J. Wenk, "UV-induced reactive oxygen species in photocarcinogenesis and photoaging", *Biological chemistry*, **1997**, *378*, 1247-1258.



Science and Technology Service Center, Chiang Mai University
(STSC-CMU)

239 Huay-Kaew Road, Muang District Chiang Mai, Thailand 50200

Tel: 053-941971, 053-943397

Fax: 053-892275 E-mail : stsc@science.cmu.ac.th

ใบรายงานผลการทดสอบ

เลขที่รายงานผล 60/1946

รหัสตัวอย่าง STSC-CMU 60/0770 (3)

ชื่อ / หน่วยงานผู้ขอรับบริการ นิชธิมา บุญอยู่

ที่อยู่ 63 หมู่ 4 ตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290

วันที่รับตัวอย่าง 15 ธันวาคม พ.ศ. 2560 ช่วงเวลาที่ทดสอบ 15- 22 ธันวาคม พ.ศ. 2560

วันที่ออกรายงานผลทดสอบ 26 ธันวาคม พ.ศ. 2560

ชื่อตัวอย่าง สารสกัดจากพืช CD

ลักษณะตัวอย่างและสภาพตัวอย่าง ประเภทตัวอย่าง : สารสกัด เป็นผงสีน้ำตาล

ภาชนะบรรจุ : ขวดพลาสติก น้ำหนักประมาณ 5 กรัม

อุณหภูมิขณะรับตัวอย่าง : อุณหภูมิห้อง , สภาพตัวอย่างปกติ

ผลการทดสอบตัวอย่าง

ลำดับที่	รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOQ	LOD	วิธีทดสอบ
1	Chlorogenic acid	17.8	mg/L	-	-	HPLC

หมายเหตุ :

ND = Not Detected (ไม่พบ) , LOQ = Limit of Quantitation , Limit of Detection

ผลการทดสอบตามเอกสารข้างต้นนี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการทดสอบเท่านั้น และห้ามใช้
รายงานฉบับนี้ในการขอ - ตัดทอน โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษร

ลงชื่อ กฤษณะ จิตมณี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กฤษณะ จิตมณี)

ผู้จัดการด้านวิชาการ

ลงชื่อ ธีรวรรณ บุญญวรรณ

(รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรวรรณ บุญญวรรณ)

ผู้อำนวยการ สวท-มช.

“ End of report”

แบบสอบถามประเมินความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์

เซรั่มบำรุงผิวหน้าจากสารสกัดเนื้อผลกาแฟ

(B)

1.1 เพศ [] ชาย [] หญิง

1.2 อายุ.....ปี

- โปรดทำเครื่องหมาย ในช่องสี่เหลี่ยมเพื่อประเมินในหัวข้อต่อไปนี้

(5) ดีมาก (4) ดี (3) ปานกลาง (2) พอใช้ (1) ควรปรับปรุง

2.ลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์	5	4	3	2	1
2.1 สี					
2.2 กลิ่น					
2.3 เนื้อของผลิตภัณฑ์					
3.ความพึงพอใจหลังการใช้ผลิตภัณฑ์	5	4	3	2	1
3.1 เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว					
3.2 ความหนืดของผลิตภัณฑ์					
3.3 การซึมเข้าสู่ผิว					
3.4 ความพึงพอใจโดยรวม					
3.5 การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย					

4. ท่านประสบปัญหาใดๆจากการใช้ผลิตภัณฑ์นี้หรือไม่

[] ไม่มี

[] มี (โปรดระบุ).....

5. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

.....

.....

แบบสอบถามประเมินความพึงพอใจในการใช้ผลิตภัณฑ์

สครับขัดผิวหน้าจากเนื้อผลกาแฟ

(C)

1.1 เพศ [] ชาย [] หญิง

1.2 อายุ.....ปี

- โปรดทำเครื่องหมาย ในช่องสี่เหลี่ยมเพื่อประเมินในหัวข้อต่อไปนี้

(5) ดีมาก (4) ดี (3) ปานกลาง (2) พอใช้ (1) ควรปรับปรุง

2.ลักษณะทั่วไปของผลิตภัณฑ์	5	4	3	2	1
2.1 สี					
2.2 กลิ่น					
2.3 เนื้อของผลิตภัณฑ์					
3.ความพึงพอใจหลังการใช้ผลิตภัณฑ์	5	4	3	2	1
3.1 เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ต่อผิว					
3.2 ความเหนอะของผลิตภัณฑ์					
3.3 ความชุ่มชื้นของผิวหลังใช้					
3.4 ความพึงพอใจโดยรวม					
3.5 การตัดสินใจซื้อเมื่อวางจำหน่าย					

4. ท่านประสบปัญหาใดๆจากการใช้ผลิตภัณฑ์นี้หรือไม่

[] ไม่มี

[] มี (โปรดระบุ).....

5. ข้อเสนอแนะเพิ่มเติม

.....

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาว นิชชีมา บุญอยู่
เกิดเมื่อ	6 พฤศจิกายน พ.ศ. 2535
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาจากโรงเรียน ประินสร้อยแยลส์วิทยาลัย จังหวัดเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2554 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ เครื่องสำอาง คณะวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง จังหวัดเชียงราย ปีการศึกษา 2558 ได้ทำการนำเสนอแบบปากเปล่า (oral presentation) ในหัวข้อ ” Coffee Pulp Extract and Its Antioxidant Activity for Cosmetic Ingredient” ในงาน 2 nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference May 17th -18th, 2018 At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand ได้ตีพิมพ์ proceeding ในหัวข้อ ” Coffee Pulp Extract and Its Antioxidant Activity for Cosmetic Ingredient” ในงาน 2 nd GCIC, 46th National and 9th International Graduate Research Conference May 17th -18th, 2018 At The Empress International Convention Center, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand