

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดด้วยเอทานอลของดอกพิกุล ดอกกระเจี๊ยบแดง ผลมะตาด และผลกระเจี๊ยบมอญ

นภาพัสส์ คุ่มกลาง¹, พิชญ์ ตั้งสมบัติวิจิตร^{1*}, สุวดี ตุ่มทอง¹, กนกวลี คงสง²,
ธารณี นวสนธิ³, จินดาพร คงเดช⁴

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

² คณะบริหารธุรกิจและเทคโนโลยีสารสนเทศ

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

³ คณะศิลปศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

⁴ สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ นนทบุรี

*Corresponding author email: pitchya.t@rmutsb.ac.th

ได้รับบทความ: 16 สิงหาคม 2566

ได้รับบทความแก้ไข: 15 กันยายน 2566

ยอมรับตีพิมพ์: 5 ตุลาคม 2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากดอกพิกุล ดอกกระเจี๊ยบแดง ผลมะตาด และผลกระเจี๊ยบมอญ ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรที่เป็นอัตลักษณ์ชุมชนมอญ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 50 และ 100% โดยปริมาตร ตามลำดับ จากนั้นสารสกัดของพืชทั้ง 4 ชนิดถูกนำมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS รวมทั้งทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากดอกพิกุลด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดคือ 141.63 ± 0.71 มิลลิกรัมสารละลายแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง รวมทั้งสารสกัดจากดอกพิกุลให้ค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่แสดงผลด้วยค่า IC_{50} ดีที่สุด เท่ากับ 0.25 ± 0.03 และ 1.34 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยวิธี DPPH

และ ABTS ตามลำดับ ยังพบว่ามีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงที่สุดในกลุ่มพืชตัวอย่างคือ ร้อยละ 60.87 ± 3.27 ดังนั้น สารสกัดจากดอกพิกุลมีศักยภาพสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรธรรมชาติ เพื่อส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นต่อไป

คำสำคัญ: สารสกัดดอกพิกุล / สารต้านอนุมูลอิสระ / การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส / อัตลักษณ์ชาวมอญ

Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Activities from Ethanolic Extracts of *Mimusops elengi* and *Hibiscus sabdariffa* Flowers and *Dillenia indica* and *Abelmoschus esculentus* Fruits

Nadaphast Koomklang¹, Pitchya Tangsombatvichit^{1*}, Suwut Tumthong¹,
Kanokwalee Kongsong², Tharanee Nawatnatee³, Jindaporn Khongdetch⁴

¹ Faculty of Science and Technology,

Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

² Faculty of Business Administration and Information Technology,

Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

³ Faculty of Liberal Arts,

Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

⁴ Research and Development institute,

Rajamangala University of Technology Suvarnabhumi, Nonthaburi

*Corresponding author email: pitchya.t@rmutsb.ac.th

Received: 16 August 2023

Revised: 15 September 2023

Accepted: 5 October 2023

Abstract

This research aims to study the bioactive compounds of extracts from *Mimusops elengi*, *Hibiscus sabdariffa*, *Dillenia indica* and *Abelmoschus esculentus*, which are indigenous to the Mon community in Phra Nakhon Si Ayutthaya province. The extracts were prepared using ethanol at concentrations of 0, 50, and 100% (v/v). After that, the extracts from four plants were analyzed for total phenolic content, free radical scavenging activity via DPPH and ABTS assays, and the inhibition of the enzyme tyrosinase.

The results of the experiments showed that the extract from *M. elengi* at a concentration of 50% (v/v) had the highest total phenolic content, with a value of 141.63 ± 0.71 milligrams per gram of dry sample. Additionally, the extract from this flower exhibited the best free radical scavenging activity with IC_{50} values of 0.25 ± 0.03 and 1.34 ± 0.01 milligrams per milliliter for DPPH and ABTS assays, respectively. Furthermore, it showed the highest inhibition of tyrosinase enzyme activity at $60.87 \pm 3.27\%$. Therefore, the extracts from these flowers have potential for the development of natural herbal products that can promote local knowledge and benefit the community in the future.

Keywords: *Mimusops elengi* flowers extract / antioxidant /
tyrosinase inhibition / Mon identity

บทนำ

ในศตวรรษที่ 21 ประเทศไทยและต่างประเทศทั่วโลกได้ก้าวเข้าสู่สังคมผู้สูงวัย สำหรับประเทศไทยมีการสำรวจประชากรสูงวัยในช่วงปี 2550 - ปี 2564 พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า และมีการคาดการณ์ว่าจะเพิ่มขึ้นในทุกปี อาจมีสาเหตุมาจากเทคโนโลยีการรักษาโรคภัยไข้เจ็บมีความทันสมัยมากขึ้น ทำให้มนุษย์มีอายุยืนยาวขึ้น [1] ในทางตรงกันข้าม ประเทศไทยมีการสำรวจข้อมูลอัตราการเสียชีวิตต่อประชากร 100,000 คน พบว่า อัตราการเสียชีวิตด้วยโรคเนื้องอกและมะเร็งมีมากเป็นอันดับที่ 1 รองลงมาคือโรคความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดในสมอง รวมทั้งโรคหัวใจ โดยมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งสาเหตุของการเกิดโรคต่าง ๆ เหล่านี้ไม่ได้มาจากการติดเชื้อจุลินทรีย์ [2] แต่เกิดจากอนุมูลอิสระในร่างกายเกิดขึ้นมากจนเกินกว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายจะดักจับให้อยู่ในสภาวะสมดุลได้ มนุษย์จึงมีความจำเป็นที่จะต้องรับสารต้านอนุมูลอิสระเข้าสู่ร่างกาย ปัจจุบันมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากพืชสมุนไพร จากสัตว์ หรือจากจุลินทรีย์ ให้ศึกษากันอย่างแพร่หลาย นักวิจัยใช้ประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีหลากหลายเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์สำหรับการดูแลสุขภาพของมนุษย์ ไม่ว่าจะเป็น ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ผลิตภัณฑ์ชะลอวัย ผลิตภัณฑ์บำรุงสมองและเสริมสร้างความจำ ผลิตภัณฑ์บำรุงหัวใจและปอด ผลิตภัณฑ์บำรุงกระดูกและข้อต่อ ผลิตภัณฑ์เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย รวมทั้งผลิตภัณฑ์ผ่อนคลายความเครียดและความอ่อนล้าจากการทำงาน เป็นต้น สำหรับประเทศไทยมีสมุนไพรพื้นบ้านหลากหลายชนิด ผลกระเจี๊ยบมอญ หรือที่รู้จักกันในชื่อวักกระเจี๊ยบเขียว คนไทยนิยมนำมาต้มกินกับน้ำพริก ผลมะตาดนำมาประกอบอาหาร เช่น แกงส้มมะตาด แกงคั่วมะตาด เป็นต้น

ดอกพิกุล (*Mimusops elengi*) เป็นดอกไม้ชนิดหนึ่งที่อยู่ในตำรายาแผนไทย พิกัดเกสรทั้ง 5 หรือ พิกัดเบญจเกสร ใช้เกสรดอกไม้ 5 อย่าง ได้แก่ ดอกบัวหลวง พิกุล บุนนาค สารภี มะลิ พิกัดเกสรทั้ง 7 หรือ พิกัดสัตตเกสร ใช้เกสรดอกไม้ 7 อย่าง เพิ่มเกสรดอกกระดังงาและดอกจำปา พิกัดเกสรทั้ง 9 หรือ พิกัดเนาวเกสร ใช้เกสรดอกไม้ 9 อย่าง เพิ่มเกสรดอกลำเจียกและดอกลำดวน มีสรรพคุณแก้โรคตา ร้อนในกระหายน้ำ ไข้จับ ลมวิงเวียน น้ำดี ขูากลั้ว บำรุงหัวใจ ช่วยให้เจริญอาหาร จึงนิยมใส่ดอกพิกุลในตำรายาหอม [3, 4] รวมทั้งมีงานวิจัยศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกพิกุลด้วยตัวทำละลายเมทานอล ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) พบว่าสารสกัดดอกพิกุลมีฤทธิ์ยับยั้ง

อนุมูลอิสระทั้ง 2 ชนิด โดยมีค่าการยับยั้ง IC_{50} เท่ากับ 10.25 และ 13.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ [5] ผลมะตาด (*Dillenia indica*) เป็นไม้ผลของชาวมอญปลูกในจังหวัดปทุมธานี นิยมปลูกเป็นไม้ประดับมีดอกสวยงาม ผลมะตาดนำมาทำเป็นอาหารสำหรับในตำรายาโบราณได้ระบุสรรพคุณทางยาของผลมะตาดว่า ผลมะตาดมีรสเปรี้ยว ใช้รับประทานเป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยในการขับถ่าย เมล็ดช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ใบและเปลือกต้นใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย และอาจช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งได้ [6-8] จากงานวิจัยที่ทำการศึกษาด้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากผลมะตาดด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดน้ำของผลมะตาดมีค่าการยับยั้ง IC_{50} เท่ากับ 44.60 ± 0.55 มิลลิกรัมต่อลิตร [9] ดอกกระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa*) ในตำรับยาแผนไทย กลีบเลี้ยง มีรสเปรี้ยว ขับปัสสาวะ ลดไขมันในโลหิต ลดความดันโลหิต แก้กระหายน้ำ ขับเมือกมันในลำไส้ให้ลงสู่ทวารหนัก ทำให้สดชื่น บำรุงกำลัง รักษาแผลในกระเพาะอาหาร แก้พยาธิตัวจิ๊ด ป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน [10] รวมทั้งมีฤทธิ์ทางเภสัชในการต้านแบคทีเรีย จากงานวิจัยที่ทำการศึกษาด้านสารสกัดจากกลีบเลี้ยงของกระเจี๊ยบแดงด้วยตัวทำละลายเมทานอล (ร้อยละ 80) พบว่า สารสกัดจากกลีบเลี้ยงของกระเจี๊ยบแดงสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ เช่น *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Klebsiella pneumonia*, *Proteus vulgaris* และ *Pseudomonas aeruginosa* [11] กระเจี๊ยบมอญ (*Abelmoschus esculentus*) หรือที่รู้จักกันในชื่อว่า กระเจี๊ยบเขียว จากงานวิจัยพบว่า ผลกระเจี๊ยบมอญ มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ช่วยในการรักษาโรคกระเพาะอาหารป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร เนื่องจาก ผลกระเจี๊ยบมอญมีสารสำคัญได้แก่ เพกติน เลซิติน สารเมือก โปรตีน ไขมัน ฟลาโวนอยด์ และแร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แมกนีเซียม เหล็ก วิตามินเอ วิตามินบี1 วิตามินบี2 และวิตามินซี เป็นต้น [12] สำหรับสารต้านอนุมูลอิสระมีหน้าที่จับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย และนำอนุมูลอิสระไปทิ้งนอกเซลล์ ทำให้เซลล์ไม่ถูกทำลาย ร่างกายมีกระบวนการกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น 2 วิธี คือ การใช้เอนไซม์ที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อจับอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ superoxide dismutase (SOD) catalase และ glutathione peroxidase (GPX) ซึ่งร่างกายไม่สามารถสร้างได้เพียงพอเทียบกับการเกิดอนุมูลอิสระ เมื่อมนุษย์มีอายุมากขึ้น ความสามารถในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระจะลดลง อีกวิธีหนึ่งคือ การได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากอาหาร เช่น วิตามินอี

เบต้าแคโรทีน แอนโทไซยานิน และ สารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ เช่น แทนนิน แคทีชิน เป็นต้น [13-14] ส่วนเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในกระบวนการสร้างเม็ดสี (melanogenesis) ทำให้ผิวหนังมีสีหมองคล้ำลง [15] ดังนั้น การป้องกันไม่ให้เกิดการสร้างเม็ดสีหรือเมลานินได้วิธีหนึ่ง คือ การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส [16]

ด้วยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ มีพันธกิจสร้างงานวิจัย นวัตกรรมสู่เชิงพาณิชย์ ตอบสนองความต้องการของชุมชน สังคมและภาคอุตสาหกรรม การถอดอัตลักษณ์ชุมชนมอญเสากระโดง วัดทองบ่อ อำเภอบางปะอิน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา โดยสมาชิกชุมชนมอญเสากระโดงได้คัดเลือกสมุนไพร คือ ต้นดอกพิกุล 100 ปี ต้นมะตาด กระเจี๊ยบแดง และกระเจี๊ยบมอญ ซึ่งปลูกอยู่ในพื้นที่ชุมชนมอญ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาการสกัดสารจากดอกพิกุล ผลมะตาด ดอกกระเจี๊ยบแดง และผลกระเจี๊ยบมอญด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 0, 50 และ 100 % โดยปริมาตร ตามลำดับ และวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS รวมทั้งทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่มีผลต่อการเกิดการหมองคล้ำของ สีมิว เพื่อพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากสมุนไพร ส่งเสริมภูมิปัญญาไทยต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. การเก็บสมุนไพรและเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

อบตัวอย่างดอกพิกุลสด เนื้อในผลมะตาดสดหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก ดอกกระเจี๊ยบแดงสดหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก และผลกระเจี๊ยบมอญสดหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก ด้วยตู้อบควบคุมอุณหภูมิที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่าง 100 กรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอล (เกรดอาหาร) ที่ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 50 และ 100% โดยปริมาตร เป็นเวลา 7 วัน โดยวิธีการแช่หมักที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง เมื่อครบกำหนด กรองกากตัวอย่างออกแล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุนภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดหยาบของตัวอย่างแต่ละชนิดเก็บในภาชนะสีขาป้องกันแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพสารสกัด

2. การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพร

นำสารสกัดหยาบแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu ดัดแปลงจาก Tsai *et al.* [17] โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับตัวอย่างสารสกัดหยาบแต่ละชนิด ใช้ปริมาตร 1.0 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อผสมเอทานอลอัตราส่วน 50:50 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายสารสกัดมา 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-ciocalteu ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5% ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis spectrophotometry (Shimadzu) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แต่ละความเข้มข้นของสารตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร

3.1 วิธี DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH โดยชั่ง DPPH 2.4 มิลลิกรัม ละลายด้วยเมทานอล 100 มิลลิลิตร (AB) จากนั้นนำสารละลายของสารสกัดตัวอย่างมา 0.2 มิลลิลิตร เติม สารละลาย DPPH 1 มิลลิลิตร (AA) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เทียบกับสารละลาย DPPH แต่ละสารตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (%radical scavenging) ดังสมการ (1)

$$\% \text{radical scavenging} = [(AB - AA)/AB] \times 100 \quad (1)$$

3.2 วิธี ABTS

วิธีนี้ดัดแปลงจาก Zhou *et al.* [18] เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7.0 มิลลิโมลาร์ และสารละลายโพแทสเซียมเพอร์ซัลเฟตเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 2 ต่อ 1 ทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง (สารละลายเข้มข้น) จากนั้นเจือจางสารละลายเข้มข้น ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 36 มิลลิลิตร (สารละลายใช้งาน) ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 734 นาโนเมตร กำหนดเป็นค่า A control จากนั้นผสมสารละลายใช้งานปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร กับ สารละลายสารสกัดสมุนไพรปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร กำหนดเป็นค่า A sample ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไป

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร แต่ละสารตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดังสมการ (2)

$$\% \text{ABTS radical scavenging} = [(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100 \quad (2)$$

การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์จากความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยเทียบกับสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) ความเข้มข้นในช่วง 0-50 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสมุนไพรมะนาว

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดัดแปลงจาก Momtaz *et al.* [19] ในการทดสอบนี้ใช้สารสกัดสมุนไพรมะนาวที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำผสมเอทานอล (เกรดอาหาร) ที่ระดับความเข้มข้น คือ 50% โดยปริมาตร (อัตราส่วนน้ำต่อเอทานอล 50:50) นำมาละลายใน DMSO ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายสารสกัดสมุนไพรมะนาวให้มีความเข้มข้นที่ 10, 100, 500 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วย potassium phosphate buffer (pH 6.5) ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ โดยมีอาร์บูตินเป็น positive control จากนั้นเติมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนสเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรลงไป แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร หยอดทดลองที่มีสารละลายสารสกัดสมุนไพรมะนาวกำหนดเป็นค่า A sample คำนวณหาร้อยละความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังสมการที่ (3)

$$\% \text{inhibition} = [(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100 \quad (3)$$

ผลการศึกษา

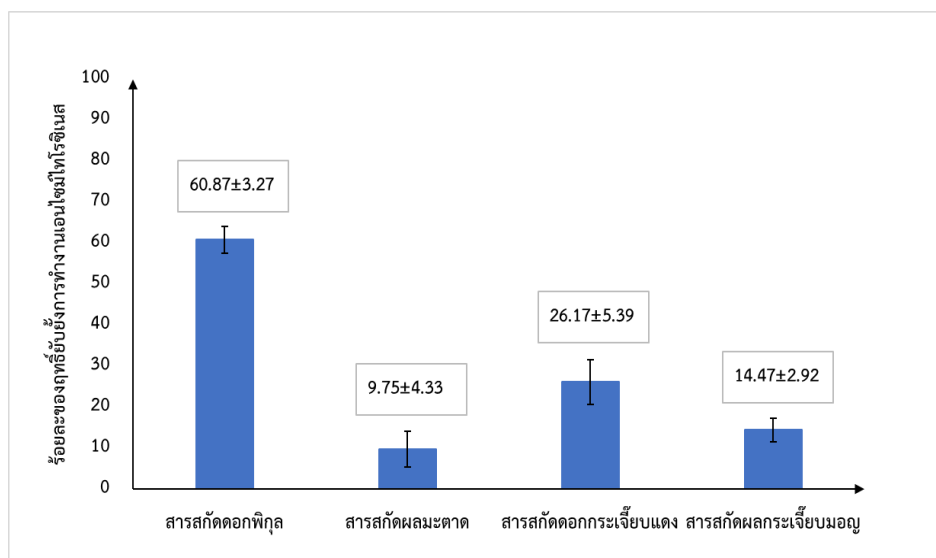
ดอกพิกุล ดอกกระเจี๊ยบแดง ผลมะตาด และผลกระเจี๊ยบมอญ พืชอัตลักษณ์ชุมชนมอญ จังหวัดพระนครศรีอยุธยา พืชทั้ง 4 ชนิดถูกจัดเป็นพืชสมุนไพร เมื่อนำมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 0 50 และ 100 % โดยปริมาตร และทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกพิกุล สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง สารสกัดผลมะตาด และสารสกัดผลกระเจี๊ยบมอญที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้น 0 50 และ 100% โดยปริมาตร วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH และ ABTS

ลำดับสารสกัด	อัตราส่วนความเข้มข้นตัวทำละลาย (น้ำต่อเอทานอล)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g dry crude extract)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ IC ₅₀ (mg/mL)	
			DPPH	ABTS
ดอกพิกุล	100:0	12.75±1.05	19.25±0.27	26.05±0.15
	50:50	141.63±0.71	0.25±0.03	1.34±0.01
	0:100	97.15±3.24	5.02±0.12	5.83±0.08
ดอกกระเจี๊ยบแดง	100:0	7.25±1.44	26.43±0.65	28.44±1.23
	50:50	73.50±1.23	16.45±0.88	17.24±0.78
	0:100	55.44±1.48	22.23±1.27	22.42±0.75
ผลมะตาด	100:0	5.60±2.43	59.85±2.78	64.45±1.43
	50:50	54.50±0.62	27.38±1.64	32.44±1.52
	0:100	33.45±2.10	33.64±1.55	37.16±0.85
ผลกระเจี๊ยบมอญ	100:0	6.55±0.88	24.85±2.10	30.22±1.58
	50:50	65.47±1.23	14.58±0.85	17.45±0.65
	0:100	48.47±0.75	22.45±1.25	24.85±1.45
Trolox (สารมาตรฐาน)			0.11±0.01	0.08±0.01

ผลการทดลองพบว่า สมุนไพรทั้ง 4 ชนิดให้ผลการทดลองสอดคล้องกันโดยพบว่า สารสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ระดับความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร วัดค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากที่สุด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยของสารสกัดดอกพิกุล สารสกัดผลมะตาด สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง และสารสกัดผลกระเจี๊ยบมอญ เท่ากับ 141.63±0.71, 54.50±0.62, 73.50±1.23 และ 65.47±1.23 มิลลิกรัมเทียบเท่าสารละลายแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ (ตารางที่ 1) เมื่อทำการ

ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรทั้ง 4 ชนิด ด้วยวิธี DPPH และ ABTS ผลการทดลองพบว่า สารสกัดดอกพิกุลมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด พิจารณาจากค่า IC_{50} เท่ากับ 0.25 ± 0.03 และ 1.34 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ รองลงมาคือ สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง สารสกัดฝักระเจี๊ยบมอญ และ สารสกัดเนื้อในผลมะตาด ตามลำดับ (ตารางที่ 1)



ภาพที่ 1 ร้อยละของฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดดอกพิกุล ผลมะตาด ดอกกระเจี๊ยบแดง และผลกระเจี๊ยบมอญ ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร

เมื่อนำสารสกัดดอกพิกุล สารสกัดผลมะตาด สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง และสารสกัดผลกระเจี๊ยบมอญ มาวิเคราะห์คุณสมบัติการมีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งมีผลในกระบวนการสร้างเม็ดสี (melanogenesis) ทำให้ผิวหนังมีสีหมองคล้ำลง ผลการทดลองพบว่า ร้อยละของฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดดอกพิกุลให้ผลดีที่สุด เท่ากับ 60.87 ± 3.27 รองลงมาคือ สารสกัดดอกกระเจี๊ยบแดง สารสกัดผลกระเจี๊ยบมอญ และ สารสกัดผลมะตาด เท่ากับ 26.17 ± 5.39 14.47 ± 2.92 และ 9.75 ± 4.33 ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 1

วิจารณ์

จากผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากสมุนไพรดอกพิกุล เนื้อผลมะตาด ดอกกระเจี๊ยบ และผลกระเจี๊ยบมอญ คือ เอทานอลต่อน้ำ 50:50 โดยปริมาตร ซึ่งให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดจากสมุนไพรรทั้ง 4 ชนิด รวมไปถึงผลการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดทั้ง 4 ชนิดให้ผลดีที่สุดเช่นกัน แสดงว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในพืชสมุนไพรรทั้ง 4 ชนิดมีคุณสมบัติมีขั้วต่ำสามารถละลายได้ในเอทานอล และบางชนิดมีขั้วต่ำสามารถละลายได้ในน้ำให้ผลคล้ายกันกับงานวิจัยของ อรุณรัตน์ และยุทธชัย [9] ที่สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากผลมะตาดด้วยน้ำ จากนั้น ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่า สารสกัดน้ำแสดงค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าผลการทดลองของงานวิจัยนี้ที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลต่อน้ำ (50:50) เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Das *et al.* [7] ที่ทำการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากผลมะตาด จากนั้น ทำการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยน้ำ พบว่าสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระสูงเช่นเดียวกับการสกัดด้วยเอทานอลต่อน้ำ (50:50) เป็นไปได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในผลมะตาดส่วนใหญ่มีโครงสร้างทางชีวเคมีที่ละลายได้ดีในน้ำ การทดลองต่อไปควรวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยเครื่องมือที่สามารถตรวจสอบ monograph ของสารสกัดแต่ละชนิดในแต่ละสมุนไพรรได้ เนื่องจากพืชสมุนไพรรแต่ละชนิดมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกัน [14] จึงให้ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ หรือฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสแตกต่างกัน มีงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาบใบฝรั่ง ผลการทดลองพบว่า สารสกัดหยาบที่ใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และ ปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 138.89 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรัม, 157.56 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม และ 145.29 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ [20] ในขณะที่ผลการทดลองของงานวิจัยนี้ทำการสกัดสมุนไพรดอกพิกุล ผลมะตาด ดอกกระเจี๊ยบ และผลกระเจี๊ยบมอญ ด้วยตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำ (50:50) พบว่า เฉพาะดอกพิกุลที่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 141.63 ± 0.71 มิลลิกรัมสารละลายแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส สารสกัดจากดอกพิกุลมีคุณสมบัติที่ดีกว่าสารสกัดจาก

ใบฝรั่ง คุณสมบัติในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เป็นคุณสมบัติหนึ่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในพืชสมุนไพร [13, 16, 21] มีงานวิจัยที่ ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในผลมะตาด พบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลักคือ betulinic acid (BA) มีคุณสมบัติช่วยยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ลดการเกิดสีน้ำตาลหมองคล้ำ สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหารหรือเครื่องสำอางได้ [22] งานวิจัยของ พัชรวิวรรณ และคณะ [23] ได้ทำการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นจากสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว พบว่า สารสกัดจากกระเจี๊ยบเขียวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 50 (เอทานอล 50 ต่อ น้ำ 50) ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 รวมทั้งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการยับยั้ง lipid peroxidation ให้ผลดีกว่าสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 95 ที่ให้ผลการทดลองสอดคล้องกันกับผลการทดลองของงานวิจัยครั้งนี้

สรุป

สารสกัดจากดอกพิกุลในตัวทำละลายเอทานอลที่ ความเข้มข้นอัตราส่วนเอทานอลต่อน้ำ เท่ากับ 50 ต่อ 50 โดยปริมาตร ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือ 141.63 ± 0.71 มิลลิกรัมสารละลายแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง รวมทั้งสารสกัดจากดอกพิกุลมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50}) ดีที่สุด ด้วยวิธี DPPH และ ABTS คือ 0.25 ± 0.03 และ 1.34 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดจากดอกพิกุลมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้สูงที่สุด ที่ร้อยละ 60.87 ± 3.27 ดังนั้น สารสกัดจากดอกพิกุลมีศักยภาพสำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรชาติ เพื่อส่งเสริมภูมิปัญญาท้องถิ่นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ปีงบประมาณ 2562 และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ ขอบพระคุณคำแนะนำจากผู้ทรงคุณวุฒิจาก สกสว. อาจารย์อัมรา หันตรา และผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญเกี่ยวกับชาติพันธุ์มอญ ขอขอบคุณความร่วมมือของสถาบันอยุธยาศึกษา วัฒนธรรมจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ททท. อยุธยา ทองเที้ยว และกีฬาจังหวัดพระนครศรีอยุธยา พัฒนาชุมชน และ อบต. บ้านโพ ผู้ประกอบการร้านขายของ

ฝากของที่ระลึกตลาดโก้งโค้ง ตลาดประจักษ์รัฐ และร้านค้าในชุมชน ที่ให้ข้อมูลอันเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานสถิติแห่งชาติ กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม. การสำรวจประชากรสูงอายุในประเทศไทย พ.ศ.2564 [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก: http://www.nso.go.th/sites/2014en/Survey/social/domographic/OlderPersons/2021/fullreport_64.pdf
2. กองยุทธศาสตร์และแผนงาน กระทรวงสาธารณสุข. สถิติสุขภาพเชิงประเด็นโรคมะเร็งและโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก: <https://www.hiso.or.th/thaihealthstat/topic/index.php?t=02&m=01>
3. ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. พิกุล [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก <https://apps.phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?action=viewpage&pid=251/>
4. โครงการจัดตั้งสถาบันอุทยานธรรมชาติวิทยาสิริรุกขชาติ. พิกัดบัว [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก: <https://sr.mahidol.ac.th/hbe04/>
5. Gadamsetty G, et al. Antioxidant and anti-inflammatory activities of the methanolic leaf extract of traditionally used medicinal plant *Mimusops elengi* L. J. Pharm. Sci. & Res., 2013; 5(6):125–30.
6. Sharma H K, Chhangte L, Dolui A K. Traditional medicinal plants in Mizoram, India. Fitoterapia, 2001; 72(2):146-61.
7. Das M, et al. In vitro antioxidant activity total phenolics content of *Dillenia indica*, *Garcinia penducalata*, commonly used fruits in Assamese cuisine. Free Radicals and Antioxidants, 2012; 2(2):30-6.
8. Kumar D, et al. Anti-leukemic activity of *Dillenia indica* L. fruit extract and quantification of betulinic acid by HPLC. Phytomedicine, 2010; 17(6):431-35.
9. อรุณรัตน์ สันฐิติกวินสกุล, ยุทธชัย อุษุพานิชย์.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำจากผลมะตาดด้วยวิธีการดักจับอนุมูลเอปทีเอส. งานประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่

- 11 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม, 11 – 12 กรกฎาคม 2562; มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม. นครปฐม: มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม; 2562. น. 1-8.
- 10.ฐานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. กระเจี๊ยบแดง [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก: <https://apps.phar.ubu.ac.th/phargarden/main.php?action=viewpage&pid=304/>
11. Abdallah E M. Antibacterial efficiency of the Sudanese Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), a famous beverage from Sudanese folk medicine. *J Intercult Ethnopharmacol*, 2016; 5(2):186-90.
12. พนิดา ไชยธรรมสาร. กระเจี๊ยบมอญ (กระเจี๊ยบเขียว) รักษาโรคกระเพาะอาหาร [อินเทอร์เน็ต]. 2566 [เข้าถึงเมื่อ 15 กรกฎาคม 2566]. เข้าถึงได้จาก: https://medplant.mahidol.ac.th/document/88_Abelmoschus_esculentus.pdf
13. Liyana-Pathirana C M, et al. Antioxidant activity of cherry laurel fruit (*Laurocerasus officinalis* roem.) and its concentrated juice. *Food chemistry*, 2006; 99(1):121-8.
14. Moon J K, Shibamoto T. Antioxidant assays for plant and food components. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009; 57(5):1655–66.
15. Ebanks J P, et al. Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration. *International Journal of Molecular Sciences*, 2009; 10(9):4066–87.
16. Ramsden C A, Riley P A. Tyrosinase: The four oxidation states of the active site and their relevance to enzymatic activation, oxidation and inactivation. *Bioorganic and medicinal*, 2014; 22(8):2388–95.
17. Tsai C C, et al. Lipid peroxidation: a possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *Journal periodontal*, 2005; 40(5):378–84.
18. Zhou S D, et al. On-line screening and identification of free radical scavenging compounds in *Angelica dahurica* fermented with *Eurotium*

- cristatum* using an HPLC-PDATriple-TOF-MS/MS-ABTS system. Food Chemistry, 2019; 272:670–78.
19. Momtaz S, et al. Tyrosinase inhibition by extracts and constituents of *Sideroxylon inerme* L. stem bark, used in South Africa for skin lightening. Journal of Ethnopharmacology, 2008; 119(3):507-12.
 20. ณพัชร บัวฉุน.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดหยาดใบฝรั่ง. วารสารวิจัยและพัฒนาโดยองค์กรในพระบรมราชูปถัมภ์ 2563; 15(1):1-12.
 21. Kim Y J, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic source: structure, inhibition mechanism and prospective for the future. Cell. Mol.Life Sci 2005; 62:1707-23.
 22. Biwas R, et al. Tyrosinase inhibitory mechanism of betulinic acid from *Dillenia indica*. Food Chemistry 2017; 232:689-96.
 23. พัชรวิพรรณ เบ้าคา, ตฤณลดา แสงทอง, นิพนธ์ สุขนวัฒนกุล, มฤกร สายนาคา. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นจากสารสกัดกระเจี๊ยบเขียว. วารสารเกษตร 2563; 36(2):279-90.