



วันที่รับบทความ : 26/02/2568
วันที่แก้ไขบทความ : 30/05/2568
วันที่ตอบรับบทความ : 04/06/2568

วารสารสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

Journal of Allied Health Sciences Suan Sunandha Rajabhat University

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา ของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว นรินทร์ กากะทุม, วรณี พรหมด้าว*

สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ วิทยาลัยสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา

E-mail: wannee.pr@ssru.ac.th*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว (*Momordica cochinchinensis*) โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและอีลาสเทส และประเมินความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ตัวอย่างวัตถุดิบเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวได้รับการคัดเลือกก่อนเข้าสู่กระบวนการเตรียมสารสกัด ซึ่งใช้สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ผลการทดลองพบว่าสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 1.51 ± 0.05 mg/mL เมื่อเปรียบเทียบกับวิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน และมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด 13.18 ± 0.18 mg GAE/100 g DW (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง) สำหรับการทดสอบความเป็นพิษในช่วงความเข้มข้น 0.0001–1 mg/mL พบว่าสารสกัดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง โดยที่ความเข้มข้นสูงสุด (1 mg/mL) ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เท่ากับ 95.35 ± 1.86 ทั้งนี้ สารสกัดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและอีลาสเทสอย่างมีนัยสำคัญ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวในฐานะสารต้านอนุมูลอิสระที่ปลอดภัยต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ ซึ่งอาจนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือเวชสำอางในอนาคต

คำสำคัญ: สารสกัดผักขาว, แอนติออกซิแดนซ์, ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด, อีลาสเทส, ไทโรซิเนส

* ผู้ประพันธ์บรรณกิจ



Antioxidant activity, total phenolic content and bioactivity of *Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng. extract

Narin Kakattum, Wannee Promdao*

Department of Thai Traditional Medicine, Collage of Allied health sciences, Suan Sunandha Rajabhat University

E-mail: wannee.pr@ssru.ac.th*

ABSTRACT

This study aimed to evaluate the biological activities of aril extract from *Momordica cochinchinensis*, focusing on total phenolic content, inhibitory effects on tyrosinase and elastase enzymes, and cytotoxicity on human skin cells. The aril samples were carefully selected prior to extraction, which was then analyzed for total phenolic content. The results revealed that the extract exhibited antioxidant activity with a DPPH radical scavenging value of 1.51 ± 0.05 mg/mL compared to vitamin C as the standard. The total phenolic content was 13.18 ± 0.18 mg GAE/100 g DW. Cytotoxicity testing within the concentration range of 0.0001–1 mg/mL showed that the extract was non-toxic to human skin cells, with a cell viability of $95.35 \pm 1.86\%$ observed at the highest tested concentration (1 mg/mL). However, the extract exhibited no significant inhibitory effects on tyrosinase and elastase enzymes. These findings demonstrate the potential of *M. cochinchinensis* aril extract as a safe antioxidant agent for human skin, supporting its possible application as a bioactive ingredient in cosmetic or cosmeceutical products.

Keywords: *Momordica cochinchinensis* extract, Anti-oxidant, Total phenolic, Elasticity, Tyrosinase

* Corresponding Author



บทนำ

ผักขำ (*Momordica cochinchinensis*) เป็นพืชสมุนไพรในวงศ์ Cucurbitaceae ที่มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ถูกนำมาใช้ในตำรับยาพื้นบ้านในหลากหลายวัฒนธรรมมาอย่างยาวนานกว่า 2,000 ปี ทั้งในฐานะอาหารเพื่อสุขภาพและเป็นยารักษาโรคจากธรรมชาติ¹ โดยเฉพาะในส่วนของผลและเยื่อหุ้มเมล็ด องค์ประกอบทางเคมีของผักขำมีความโดดเด่น โดยเฉพาะในส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งอุดมไปด้วยเบตา-แคโรทีน ในปริมาณสูงกว่าผลไม้ทั่วไปถึง 10 เท่า รวมถึง ไลโคปีน กรดฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ² สารเหล่านี้ได้รับความสนใจจากวงการแพทย์และเภสัชศาสตร์ เนื่องจากมีศักยภาพในการชะลอความเสื่อมของเซลล์ ลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ และภาวะอ้วนเรื้อรัง หลักฐานจากการศึกษาทางเภสัชวิทยาในช่วงไม่กี่ทศวรรษที่ผ่านมา สนับสนุนภูมิปัญญาพื้นบ้านเหล่านี้ โดยมีรายงานว่าการสกัดจากผักขำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่โดดเด่น สามารถจับและกำจัดอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและเอนไซม์อัลลาสเตส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมลานิน และการเสื่อมสภาพของคอลลาเจนในผิวหนังตามลำดับ³ นอกจากนี้ ยังพบฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ³ ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ ผักขำจึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นในฐานะวัตถุดิบทางธรรมชาติที่สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ ทั้งในรูปแบบอาหารฟังก์ชัน เวชสำอาง และผลิตภัณฑ์ต้านการอักเสบ

อย่างปลอดภัย งานวิจัยเชิงลึกเพิ่มเติมเกี่ยวกับสารออกฤทธิ์ในแต่ละส่วนของผักขำจึงมีความสำคัญต่อการสร้างองค์ความรู้ใหม่ และการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์สุขภาพเชิงนวัตกรรม

ในทางการแพทย์แผนโบราณ มีการนำเมล็ดและเยื่อหุ้มเมล็ดผักขำมาใช้เป็นยาบำรุงเลือด ลดไข้ บรรเทาอาการอักเสบ และรักษาโรคผิวหนัง โดยมีการกล่าวถึงสรรพคุณเฉพาะในการรักษาโรคสะเก็ดเงินในตำรับพื้นบ้าน⁴ ในประเทศเวียดนาม น้ำมันจากเมล็ดผักขำ หรือที่รู้จักในชื่อ gac oil ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายในการใช้เป็นยาบำรุงสายตาสำหรับหญิงตั้งครรภ์และเด็ก เนื่องจากมีปริมาณวิตามินเอในรูปแบบของเบตา-แคโรทีนสูง¹ ในประเทศจีนมีการบันทึกการใช้ผักขำในตำรายาสมัยราชวงศ์หมิง โดยระบุว่ารากของผักขำเมื่อนำไปต้มสามารถรักษาอาการบวม ฝี หนอง หรือการติดเชื้อทางผิวหนังได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁵ การใช้ประโยชน์จากผักขำในรูปแบบที่หลากหลายนี้ สะท้อนให้เห็นถึงภูมิปัญญาพื้นบ้าน ซึ่งเกิดจากการสังเกต ทดลอง และถ่ายทอดองค์ความรู้ผ่านบริบทของแต่ละสังคมวัฒนธรรม อันเป็นพื้นฐานสำคัญที่สามารถต่อยอดสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพในยุคปัจจุบันได้อย่างยั่งยืน

งานวิจัยทางเภสัชวิทยาหลายฉบับได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผักขำ โดยเฉพาะในเนื้อผลและเมล็ด ซึ่งเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น กรดแกลลิก (gallic acid) และเคอร์เซติน (quercetin) มีรายงานว่าค่าสารออกฤทธิ์



เหล่านี้มีค่า IC_{50} ต่อการกำจัดอนุมูลอิสระในระบบ DPPH และ ABTS ต่ำถึง 12–45 $\mu\text{g/mL}$ สะท้อนถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่เด่นชัด³ นอกจากนี้ การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกด้วยเทคนิค HPLC พบว่าพริกขี้หนูมีสารกลุ่มนี้ในปริมาณสูงถึง 150 mg GAE/g น้ำหนักแห้ง ซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้มากถึง 80% ที่ความเข้มข้น 100 $\mu\text{g/mL}$ ² เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการสร้างเมลานิน การยับยั้งเอนไซม์นี้จึงมีความสำคัญต่อการลดการเกิดฝ้า กระ และจุดด่างดำ ทำให้พริกขี้หนูเป็นพืชสมุนไพรที่น่าสนใจสำหรับการพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์ผิวขาว อีกทั้งงานวิจัยที่ผ่านมายังรายงานว่าการสกัดจากเมล็ดพริกขี้หนูสามารถยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทสได้ถึง 70% ที่ความเข้มข้น 50 $\mu\text{g/mL}$ โดยมีการออกฤทธิ์ผ่านการจับกับตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ ซึ่งช่วยลดการสลายคอลลาเจนและคงความยืดหยุ่นของผิวพรรณ⁶ นอกจากนี้ ยังมีการค้นพบสารโคชินไนด์ บี (cochinin B) ในเมล็ดพริกขี้หนู ซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งเต้านมผ่านการกระตุ้นกระบวนการ apoptosis และยับยั้งเส้นทางการส่งสัญญาณ NF-KB ที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบและการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง⁷ ด้วยคุณสมบัติทางชีวภาพที่หลากหลาย พริกขี้หนูจึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในฐานะวัตถุดิบสำหรับการพัฒนา functional foods และเวชสำอาง (cosmeceuticals) ที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ งานวิจัยในประเทศไทย⁸ รายงานว่าการสกัดพริกขี้หนูสามารถลดการหลั่ง cytokines

ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการอักเสบ (IL-6 และ TNF- α) ในเซลล์ผิวหนังมนุษย์ได้มากกว่า 50% ที่ความเข้มข้น 25 $\mu\text{g/mL}$ ซึ่งเป็นข้อมูลสำคัญที่สามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในเชิงพาณิชย์ได้ในอนาคต

เพื่อต่อยอดการศึกษาที่ผ่านมาเกี่ยวกับพริกขี้หนู การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู ผลการศึกษานี้จะช่วยเสริมสร้างความเข้าใจเกี่ยวกับศักยภาพของพริกขี้หนูในฐานะแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่ปลอดภัย และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมสุขภาพและความงามได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู (*M. cochinchinensis*) โดยมีวัตถุประสงค์เฉพาะดังนี้

1. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging assay
2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ของสารสกัด
3. เพื่อตรวจสอบความเป็นพิษและความปลอดภัยของสารสกัดต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ (human skin fibroblasts)
4. เพื่อประเมินฤทธิ์ของสารสกัดในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งมีบทบาทในการสร้างเม็ดสีเมลานินในผิวหนัง



ระเบียบวิธีการวิจัย

ตัวอย่างผลผักขาว (*M. cochinchinensis*) ถูกเก็บจากบ้านเลขที่ 88/1 ตำบลพรหมมาตร์ อำเภอเมืองลพบุรี จังหวัดลพบุรี โดยมีหมายเลขตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัย (voucher specimen No.) SSRU 029 จากนั้นนำผลผักขาวมาล้างทำความสะอาด ผ่าแยกเยื่อหุ้มเมล็ดออก และนำไปอบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาบดหยาบด้วยเครื่องบดแบบจานเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดที่ผ่านการอบแห้งและบดหยาบจำนวน 100 กรัม นำมาหมักในเอทานอล 95% (อัตราส่วน 1:10, w/v) เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 และนำกากพืชที่เหลือไปหมักซ้ำและกรองอีก 2 ครั้ง รวมเป็น 3 รอบการสกัด สารกรองที่ได้จากทั้ง 3 รอบถูกนำมารวมกัน แล้วนำไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องโรตารีอีแวปโปเรเตอร์ ภายใต้อุณหภูมิไม่เกิน 45 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้สารสกัดเข้มข้น ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดที่ได้ (% yield) เพื่อใช้เปรียบเทียบกับปริมาณวัตถุดิบสมุนไพร และประเมินต้นทุนการผลิต โดยใช้สูตร: % yield = (น้ำหนักของสารสกัดแห้ง / น้ำหนักแห้งของพืชสมุนไพร) × 100⁹

จากนั้นจึงนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ดังนี้

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay¹⁰

การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวดำเนินการโดยใช้วิธี DPPH

(2, 2 - Diphenyl-1 - picrylhydrazyl) radical scavenging assay ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการตรวจวัดความสามารถของสารตัวอย่างในการบริจาคอะตอมไฮโดรเจนเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ สารละลาย DPPH มีสีม่วงเข้มเมื่ออยู่ในสารละลายเอทานอล และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถบริจาคอะตอมไฮโดรเจนได้ จะทำให้ DPPH ถูกรีดิวซ์เป็น DPPH-H ซึ่งมีสีเหลืองอ่อน ความเข้มของสีจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระจากสมการ: % inhibition = [(A517 control - A517 test sample) / A517 control] × 100

โดยที่: A517 test sample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง

A517 control = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH โดยไม่มีการเติมสารตัวอย่าง

ในการทดสอบนี้ สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวถูกละลายในน้ำกลั่นให้ได้อัตราความเข้มข้น 0.001, 0.01, 0.1, 1 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาผสมกับสารละลาย DPPH ในแผ่นไมโครเพลต 96 หลุม (96-well microplate) และปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ ผลการทดสอบรายงานเป็นค่าร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และคำนวณค่าความเข้มข้นที่ทำให้เกิดการยับยั้ง DPPH ได้ 50% จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่า % inhibition



ซึ่งใช้เป็นดัชนีเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด¹³

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขาวดำเนินการโดยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์ระหว่างสารฟีนอลิกในตัวอย่างกับสารละลาย Folin-Ciocalteu ทำให้เกิดสารประกอบสีน้ำเงินเข้ม และสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างจะถูกนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากกรดแกลลิก (gallic acid) ซึ่งมีสมการของเส้นตรงในรูปแบบ

$$y = Ax + B$$

โดยที่ y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง x หรือ C คือ ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในหน่วยมิลลิกรัมกรดแกลลิกสมมูล (mg GAE) A และ B คือ ค่าคงที่ที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

เมื่อนำค่า y ที่วัดได้จากตัวอย่างมาแทนในสมการ จะสามารถคำนวณหา C ได้ ซึ่งคือค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด จากนั้นจึงนำค่า C มาแทนในสูตรด้านล่าง เพื่อคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง (A)

$$A = (C \times V \times F) / W \times 1000$$

โดยที่ A = ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/100 g DW)

C = ค่าความเข้มข้นของสารฟีนอลิกที่ได้จากกราฟมาตรฐาน

V = ปริมาตรของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์

F = ค่าคูณของสารสกัด (dilution factor) หากมีการเจือจาง

W = น้ำหนักตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ในการทดลอง

1000 = ค่าคงที่เพื่อแปลงหน่วยให้เป็นต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง

การประเมินความปลอดภัยต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์โดยวิธี Sulforhodamine B (SRB) Assay¹⁴

ทำการศึกษาความเป็นพิษของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขาวต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์โดยใช้เซลล์ Human skin fibroblast (ATCC® CRL 2097™) ซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) โดยเติม Fetal Bovine Serum (FBS) 10% และ Penicillin/Streptomycin 1% บ่มในตู้บ่มคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂ incubator) ที่อุณหภูมิ 37 °C และระดับก๊าซ CO₂ 5% เมื่อเซลล์เจริญเต็มที่ ทำการแยกเซลล์โดยใช้สารละลาย Trypsin/EDTA แล้วหยอดเซลล์ลงในแผ่นเพลตชนิด 96 หลุม (96-well plate) ที่ความหนาแน่น 1×10^5 เซลล์/หลุม จากนั้นบ่มเซลล์ในตู้บ่ม CO₂ ต่ออีก 24 ชั่วโมง สารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขาว และวิตามินซี ถูกละลายด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์ (DMEM) แล้วกรองผ่านเมมเบรนกรองปลอดเชื้อที่มีขนาดรูพรุน 0.2 ไมครอน เพื่อทำให้สารละลายปลอดเชื้อ หลังจากนั้นเจือจางตัวอย่างทดสอบให้ได้ระดับความเข้มข้นที่ต้องการโดยใช้อาหารเลี้ยงเซลล์ที่ผ่านการกรอง



ปลอดเชื้อเช่นกัน เติมสารละลายตัวอย่างลงในแผ่นเพลตและบ่มในตู้บ่ม CO₂ ตามช่วงเวลาที่กำหนด เมื่อครบเวลาทดลอง ทำการหยุดปฏิกิริยาและตรึงเซลล์ด้วยสารละลาย Trichloroacetic acid (TCA) จากนั้นย้อมเซลล์ด้วยสารละลาย SRB แล้วล้างสารส่วนเกินออกด้วยกรดอะซิติก 1% และละลายสีด้วยสารละลาย Tris base

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านไมโครเพลต (microplate reader) แล้วคำนวณร้อยละความมีชีวิตของเซลล์ (% cell viability)

$$\text{ใช้สมการ: \% Cell viability} = \frac{(A \text{ sample} / A \text{ control}) \times 100^{15}}$$

โดยที่ A sample = ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่เติมสารทดสอบ

A control = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม (ไม่มีสารทดสอบ)

การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดสมุนไพร¹⁶

เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่าในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase inhibition activity) ได้ทำการทดลองในระดับเซลล์โดยใช้เซลล์ B16F10 melanoma ซึ่งเป็นเซลล์ต้นแบบที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการศึกษาการสร้างเมลานิน เริ่มจากการหยอดเซลล์ B16F10 ลงในแผ่นเพลตชนิด 6 หลุม (6-well plate) ในอัตรา 1 × 10⁵ เซลล์/หลุม แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มคาร์บอนไดออกไซด์ที่อุณหภูมิ 37 °C และระดับ CO₂ 5% เป็นเวลา

24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมสารสกัดสมุนไพรที่เตรียมไว้ลงในแต่ละหลุม แล้วบ่มต่ออีก 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่ม ทำการ lyse เซลล์ด้วย lysis buffer ที่มี protease inhibitor ผสมอยู่ แล้ววางทิ้งไว้ในน้ำแข็งที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปั่นที่ความเร็ว 15,000 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บส่วน supernatant เพื่อนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส

การวิเคราะห์ฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนสใช้วิธี dopachrome formation assay โดยใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น และวัดการเกิด dopachrome ที่ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร เปรียบเทียบผลการทดสอบกับกรดโคจิก (kojic acid) ซึ่งเป็นสารยับยั้งไทโรซิเนสมาตรฐาน ผลการทดลองรายงานเป็น ร้อยละอัตราส่วนสัมพัทธ์ของฤทธิ์ของเอนไซม์ไทโรซิเนส (% relative ratio of tyrosinase activity) โดยคำนวณตามสมการ

$$\% \text{ Relative tyrosinase activity} = (T_1 / T_0) \times 100$$

โดยที่ T₁ = กิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนสในกลุ่มทดลอง (activity ต่อปริมาณโปรตีนของกลุ่มทดลอง)
T₀ = กิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนสในกลุ่มควบคุม (activity ต่อปริมาณโปรตีนของกลุ่มควบคุม)



การทดสอบฤทธิ์ต้านเอนไซม์ไทโรซิเนส ของสารสกัดสมุนไพร¹⁷

การศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเห็ดห่มเมลิ็ด
พักขาวในการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทสดำเนินการ
โดยวิธี colorimetric assay โดยใช้สารตั้งต้นคือ
N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide (SANA)
ซึ่งเมื่อถูกย่อยโดยเอนไซม์อีลาสเทสจะปลดปล่อย
p-nitroaniline ที่สามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่
ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร สำหรับขั้นตอนการ
ทดสอบ เริ่มจากเตรียมสารละลายเอนไซม์อีลาสเทส
ใน Tris-HCl buffer (pH 8.0) ปริมาตร 100 mL
เตรียมสารสกัดและสารควบคุม (DMSO) โดยละลาย
ใน Tris-HCl buffer ที่มี pH 8.0 ให้ได้ความเข้มข้น
ตามที่กำหนด แล้วผสมเอนไซม์ 900 μ L กับสาร
ตัวอย่าง 1,000 μ L เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ
25°C เป็นเวลา 20 นาที (pre-incubation) เติม
สารละลาย SANA (0.8 mM) ปริมาตร 100 μ L
แล้วบ่มต่อที่อุณหภูมิเดียวกันเป็นเวลา 20 นาที
ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 410
นาโนเมตรด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

ในการคำนวณผล ผลการยับยั้งเอนไซม์
อีลาสเทสคำนวณเป็นร้อยละการยับยั้ง (%
inhibition) โดยใช้สมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{[(\text{OD control} - \text{OD sample}) / \text{OD control}] \times 100}$$

โดยที่ OD control = ค่าการดูดกลืนแสง
ของกลุ่มควบคุม (ไม่มีสารตัวอย่าง)

OD sample = ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่ม
ที่มีสารตัวอย่าง

สถิติและการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลดำเนินการโดยใช้
โปรแกรม SPSS version 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL,
USA) ค่าที่ได้จากการทดลองทั้งหมดแสดงเป็น
ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean $\pm$
standard deviation; $\bar{X} \pm \text{SD}$) สำหรับการเปรียบเทียบ
ความแตกต่างของผลการทดลองระหว่างกลุ่ม ใช้การ
วิเคราะห์ความแตกต่างด้วย independent-samples
t-test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ผลผลิตของสารสกัดเห็ดห่มเมลิ็ดพักขาว

สารสกัดจากเห็ดห่มเมลิ็ดพักขาวที่ได้จาก
การหมักด้วยเอทานอล 95% และระเหยตัวทำละลาย
ด้วยเครื่องโรตารีอีแวโปเรเตอร์ มีร้อยละผลผลิต
เท่ากับ 7.81% โดยคิดจากน้ำหนักของวัตถุดิบก่อนสกัด
และน้ำหนักของสารสกัดที่ได้หลังการทำให้เข้มข้น
ผลลัพธ์แสดงในตารางที่ 1



ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัด

ร้อยละของผลผลิตของสาร	น้ำหนักก่อนการสกัด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% Yield)
สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว	500	39.05	7.81

ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ด้วยวิธี DPPH Assay

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว โดยใช้วิธี DPPH radical scavenging assay แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.51 ± 0.05

mg/mL ขณะที่วิตามินซีซึ่งใช้เป็นสารมาตรฐาน ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.04 ± 0.01 mg/mL การเปรียบเทียบค่า IC_{50} ระหว่างกลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุมแสดงให้เห็นว่าค่าดังกล่าวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า IC_{50} ของสารละลายตัวอย่าง (สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาวกับสารมาตรฐาน)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} : mg/ml)	สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ด ผักขาว	สารมาตรฐาน (วิตามินซี)	p-value
	1.51 ± 0.05	0.04 ± 0.01	<0.001

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในสารสกัดหยาบจากเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว โดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu พบว่า สารสกัด

เยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 13.18 ± 0.18 mg GAE/100 g DW (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดผักขาว

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด $\pm$ SD (mg GAE/100 g DW)
สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาว	13.18 ± 0.18



ผลลัพธ์ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขามีองค์ประกอบของสารฟีนอลิกในระดับที่ตรวจวัดได้ ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในการทดสอบ DPPH และสนับสนุนศักยภาพของสารสกัดในการใช้เป็น ส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์สุขภาพหรือเวชสำอาง ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ

ผลการทดสอบความเป็นพิษ (cytotoxicity) ต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์

ผลการทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาม และวิตามินซีต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ผิวหนังของมนุษย์ (human skin fibroblasts) โดยวิธี SRB assay พบว่าในช่วงความเข้มข้นระหว่าง 0.0001–1 mg/mL ทั้งสองกลุ่มไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์ โดยเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์มากกว่าร้อยละ 80 ในทุกกลุ่มที่ทดสอบที่ความเข้มข้นสูงสุด (1 mg/mL) สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขามให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เท่ากับ $99.35 \pm 1.86\%$ ในขณะที่วิตามินซีให้ค่า $88.15 \pm 4.73\%$ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.151$)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์เมื่อได้รับตัวอย่างทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ

ตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์				
	ความเข้มข้น (mg/ml)				
	0.0001	0.001	0.01	0.1	1
สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาม	106.99 $\pm$ 4.54	107.43 $\pm$ 6.31	105.84 $\pm$ 3.76	103.25 $\pm$ 3.98	99.35 $\pm$ 1.86
Vitamin C	99.46 $\pm$ 1.14	101.66 $\pm$ 2.29	108.42 $\pm$ 3.75	102.60 $\pm$ 4.74	88.15 $\pm$ 4.73
p-value	0.053	<0.001	0.028	0.223	0.151

หมายเหตุ: ผลในตารางมาจากการทดลองซ้ำ 4 ครั้ง (ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.)

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดผักขาม ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก พบว่าสารสกัดเยื่อ

หุ้มเมล็ดผักขาม ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่ระดับความเข้มข้นที่ทดสอบได้ (ไม่สามารถคำนวณค่า IC₅₀ ได้) ขณะที่กรดโคจิกให้ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.08 ± 0.00 mg/mL ดังแสดงในตารางที่ 5



ตารางที่ 5ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของของตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (IC ₅₀ : mg/ml)	p-value
สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู	NA	-
กรดโคจิก	0.08 ± 0.00	-

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และ NA = ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ

จากผลการทดสอบพบว่า แม้สารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู จะมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระในระดับหนึ่ง แต่ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมลานินในผิวหนัง ในขณะที่กรดโคจิกซึ่งเป็นสารควบคุมมาตรฐานมีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทสของเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู

การทดสอบฤทธิ์ของสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนูในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อีลาสเทส โดยเมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุมมาตรฐาน epigallocatechin gallate (EGCG) พบว่าสารสกัดเยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทส ในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ (ไม่สามารถคำนวณค่า IC₅₀ ได้) ในขณะที่ EGCG มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ได้อย่างชัดเจน โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.03 ± 0.01 mg/mL ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ elastase ของตัวอย่างทดสอบ

ตัวอย่าง	ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทส (IC ₅₀ : mg/ml)	ความแรง (เท่าของ EGCG)
เยื่อหุ้มเมล็ดพริกขี้หนู	NA	-
EGCG	0.03 ± 0.01	-

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และ NA = ไม่สามารถตรวจพบฤทธิ์ยับยั้งในช่วงความเข้มข้นที่ทดสอบ



สรุปและอภิปรายผล

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วย

วิธี DPPH Assay

ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.51 ± 0.05 mg/mL ซึ่งแม้จะมีฤทธิ์น้อยกว่าวิตามินซี ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน ($IC_{50} = 0.04 \pm 0.01$ mg/mL) ประมาณ 37.75 เท่า แต่ยังมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระในระดับที่มีนัยสำคัญ ค่าดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Abdul Rahman et al. (2024) ที่พบว่าสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของผักขี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ในระดับปานกลางถึงดี โดยให้ค่า IC_{50} อยู่ในช่วง 0.8–3.2 mg/mL¹⁸ ซึ่งยืนยันถึงความเป็นไปได้ในการนำสารสกัด Mc(A) ไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อการดูแลสุขภาพและความงามที่ต้องการคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้

การวิเคราะห์พบว่าสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 13.18 ± 0.18 mg GAE/100 g DW ซึ่งถือว่าอยู่ในระดับปานกลางเมื่อเปรียบเทียบกับพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวถือเป็นปัจจัยสำคัญที่สามารถอธิบายฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้ โดยงานวิจัยของ Popoviciu et al. (2023) รายงานว่าผักขี้มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ($r = 0.87, p < 0.01$) ซึ่งสะท้อนว่า

องค์ประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญในการกำจัดอนุมูลอิสระ¹⁹ นอกจากนี้ Le et al. (2023) ยังระบุว่าเห็ดห่มเมล็ดของผักขี้เป็นแหล่งที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในผลผักขี้ โดยเฉพาะกรดคลอโรจินิก (chlorogenic acid) และ กรดฟีรูลิก (ferulic acid) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพสูง³ เป็นไปได้ว่าการมีอยู่ของสารเหล่านี้มีส่วนส่งเสริมฤทธิ์ทางชีวภาพที่พบในการทดลอง

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์

ผิวหนังของมนุษย์

การประเมินความเป็นพิษของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้ โดยใช้วิธี SRB assay แสดงผลลัพธ์ในระดับที่น่าพึงพอใจ โดยพบว่าในช่วงความเข้มข้น 0.0001–1 mg/ml สารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้ ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ไฟโบรบลาสต์ผิวหนังของมนุษย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเซลล์สูงกว่า 95% ที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ทดสอบ (1 mg/ml) คิดเป็นค่าเฉลี่ย $95.35 \pm 1.86\%$ ซึ่งแสดงถึงความปลอดภัยในการใช้ในระดับเซลล์ (in vitro safety) ผลลัพธ์นี้สอดคล้องกับรายงานของ Nguyen et al. (2023) ที่ศึกษาสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของผักขี้และพบว่ามีความเป็นพิษต่อเซลล์ปกติต่ำมาก โดยเซลล์ยังคงมีชีวิตรอดอยู่มากกว่า 90% ที่ความเข้มข้น 1 mg/ml แสดงถึงความปลอดภัยในการใช้สารสกัดในผลิตภัณฑ์ที่สัมผัสกับผิวหนังโดยตรง²⁰ ความปลอดภัยของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักขี้ ในระดับเซลล์จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้อย่างเหมาะสม งานวิจัยของ Plyduang & Semkeaw (2022) ยังระบุว่า



สารสกัดจากผักข่าสามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ดูแลผิวได้หลากหลายรูปแบบ เช่น เซรั่ม ครีม และโลชั่น โดยไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง²¹ นอกจากนี้ Kim et al. (2021) ยังรายงานเพิ่มเติมว่าสารสกัดจากเห็ดห่มเมล็ดผักข่ามีฤทธิ์ในการปกป้องผิวจากรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV) และช่วยลดการอักเสบของผิวหนัง ซึ่งสนับสนุนการพัฒนาไปสู่ผลิตภัณฑ์เพื่อการดูแลและปกป้องผิวในระดับเวชสำอาง (cosmeceuticals)²²

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่า

แม้ว่าสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่าแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ชัดเจนและไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนังมนุษย์ แต่จากการศึกษานี้พบว่าสารสกัดไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส และ เอนไซม์อีลาสเทส ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเม็ดสี (melanogenesis) และการเสื่อมสภาพของคอลลาเจนในชั้นผิวหนัง (skin aging) ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารควบคุมที่มีประสิทธิภาพสูง เช่น กรดโคจิก ที่มีค่า IC_{50} สำหรับเอนไซม์ไทโรซิเนสอยู่ที่ 0.08 ± 0.00 mg/ml และ EGCG ที่สามารถยับยั้งเอนไซม์อีลาสเทสได้ด้วยค่า IC_{50} ที่ 0.03 ± 0.01 mg/ml จะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่าในการยับยั้งเอนไซม์ทั้งสองชนิดยังอยู่ในระดับที่ไม่สามารถตรวจวัดได้ (not active)

งานวิจัยของ Vaezi (2023) อธิบายว่าการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องใช้สารที่มีโครงสร้างเฉพาะ เช่น สารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลอยู่ในตำแหน่ง

ortho-dihydroxyl ซึ่งสามารถจับกับไอออนทองแดง (Cu^{2+}) ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญในตำแหน่งเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ²³ ขณะที่ Jakimiuk et al. (2021) ระบุว่าสารต้านอีลาสเทสที่มีประสิทธิภาพมักเป็นโมเลกุลขนาดเล็ก (low molecular weight) ที่สามารถเข้าถึงและจับกับ active site ของเอนไซม์ได้โดยตรง²⁴ ผลการศึกษานี้จึงสะท้อนให้เห็นถึงข้อจำกัดของสารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่าในแง่ของการยับยั้งกระบวนการทางชีวภาพที่เกี่ยวข้องกับริ้วรอยและเม็ดสี แม้จะมีศักยภาพในด้านการต้านอนุมูลอิสระและความปลอดภัยสูง แต่ในด้านการต่อต้านความร่วงโรยผิวหนังโดยตรงยังจำเป็นต้องมีการเสริมสูตร (formulation enhancement) หรือการผสมสารออกฤทธิ์ร่วมอื่น ๆ เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ครบถ้วนในผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

ข้อเสนอแนะ

จากผลการศึกษานี้ สารสกัดเห็ดห่มเมล็ดผักข่าแสดงศักยภาพในด้านการต้านอนุมูลอิสระและความปลอดภัยต่อเซลล์ผิวหนัง ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรือเครื่องสำอาง โดยเฉพาะในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่เน้นการปกป้องผิวจากความเสียหายที่เกิดจากอนุมูลอิสระ อย่างไรก็ตาม สารสกัดดังกล่าวยังไม่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและอีลาสเทสอย่างมีนัยสำคัญ จึงควรพิจารณา การปรับปรุงสูตรผลิตภัณฑ์ด้วยแนวทางต่อไปนี้



1) การเพิ่มความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์หลัก ภายในขอบเขตความปลอดภัยที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อเซลล์ผิว

2) การผสมผสานสารต้านอนุมูลอิสระเสริมฤทธิ์ เช่น วิตามินซี, วิตามินอี, หรือสารจากชาเขียว (EGCG) ซึ่งมีข้อมูลสนับสนุนทางวิทยาศาสตร์ด้านฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์และการชะลอความเสื่อมของผิว

3) การพัฒนาเทคโนโลยีการนำส่งสารออกฤทธิ์ เช่น liposomes, nanoemulsions หรือ encapsulation เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึม และคงตัวของสารสำคัญ

4) การศึกษาความคงตัวของสูตรผลิตภัณฑ์ภายใต้เงื่อนไขอุณหภูมิ แสง และเวลา เพื่อประเมินอายุการเก็บรักษา (shelf life)

5) การประเมินความปลอดภัยเพิ่มเติมในอาสาสมัคร เช่น การทดสอบการระคายเคืองผิวหนัง (patch test) และการทดสอบการแพ้เฉพาะบุคคล เพื่อสนับสนุนการใช้งานจริงในระยะยาว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา ที่สนับสนุนการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Vuong T, Hirakawa M, Kato Y, Yamamoto S, Matoba Y. Gac oil: A comprehensive review of traditional uses, phytochemistry, and health benefits. J Funct Foods 2016;22:350-360.

2. Darapong P, Tachai S, Atthaisong J, Jaikla N, Rabiab B, Srimoon R. Tyrosinase inhibitory efficiency and antioxidant activity of Gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.) extract. RMUTP Res J Sci Technol 2023;17(2):149-156.
3. Le X, Pham M, Huynh-Bao M, Nguyen-Huynh H, Ha C. Polyphenol and elastase inhibitors extracted from medicinal plants in Vietnam. AIP Conf Proc 2023;2907(1):050005.
4. เสี่ยม พงษ์บุญรอด. ไม้เทศเมืองไทย สรรพคุณของยาเทศและยาไทย. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์กรุงธน; 2522.
5. Lan H, Zhao B, Shen Y, Li X, Wang S, Zhang L, Zhang H. Phytochemistry, pharmacological activities, toxicity and clinical application of *Momordica cochinchinensis*. Curr Pharm Des 2019;25(6):715-728.
6. Sayeed J, Huynh T. Applications of natural biopesticides with a focus on trypsin inhibitors from *Momordica cochinchinensis*. Biopestic Int 2021;17(2):103.
7. Ishida B, Turner C, Chapman M, McKeon T. Anticancer potential of *Momordica cochinchinensis* Spreng. (gac fruit). J Agric Food Chem 2018;66(12):3450-3458.



8. Vadiveloo S, El-Enshasy H, Dailin D, Teong D, Jenol M, Marsin A, Manas N. Phytochemical compounds, therapeutic effects and antimicrobial properties of gac fruit (*Momordica cochinchinensis* Spreng.). J Bioproc Biomass Technol 2024;3(2):97-105.
9. Phrompittayarat W, Putalun W, Tanaka H, Jetiyanon K, Wittaya-areekul S, Ingkaninan K. Comparison of various extraction methods of *Bacopa monnieri*. Naresuan Univ J. 2007;15(1):29-34.
10. Hou W, Lee M, Chen H, Liang W, Han C, Liu Y, Lin Y. Antioxidant activities of dioscorin, the storage protein of yam (*Dioscorea batatas* Decne) tuber. J Agric Food Chem 2001;49(10):4956-4960.
11. Blois M. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958;181:1199-1200.
12. Manosroi A, Boonpisuttinant K, Winitchai S, Manosroi W, Manosroi J. Free radical scavenging and tyrosinase inhibition activity of physic nut (*Jatropha curcas* Linn.) seed oil entrapped in niosomes. Curr Nanosci 2011;7(5):825-829.
13. Miliauskas G, Venskutonis P, Beek T. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts. Food Chem 2004;85:231-237.
14. Vichai V, Kirtikara K. Sulforhodamine B colorimetric assay for cytotoxicity screening. Nat Protoc 2006;1(3):1112-1116.
15. Muhammad A, Pauzi N, Arulselvan P, Abas F, Fakurazi S. In vitro wound healing potential and identification of bioactive compounds from *Moringa oleifera* Lam. Biomed Res Int 2013;2013:974580.
16. Chang T. An updated review of tyrosinase inhibitors. Int J Mol Sci 2009;10(6):2440-2475.
17. Lee K, Kim J, Choi J, Choi J. Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. Int J Cosmet Sci 1999;21(2):71-82.
18. Abdul Rahman M, Ismail A, Azlan A, Abdul Aziz A, Muhammad N. Antioxidant and anti-adipogenic activities of *Momordica cochinchinensis* (Lour). Spreng fruit extracts. Malays J Med Health Sci 2024;20(3).
19. Popoviciu D, Pricop S, Radu M. Quantitative analysis of nutritional and bioactive compounds in bitter melon (*Momordica charantia* L.) fruits. Ann Univ Craiova Biol Horticult Food Prod Process Technol Environ Eng 2023;28(64).



20. Nguyen D, Holien J, Dekiwadia C, Thrimawithana T, Piva T, Huynh T. *Momordica cochinchinensis* seed extracts induce apoptosis and necrosis in melanoma cells. *Pharmaceutics* 2023;16(1):100.
21. Plyduang T, Sermkeaw N. Development and evaluation of a hydrogel containing *Momordica cochinchinensis* Spreng extract for topical applications. *Braz J Pharm Sci* 2022;58:e20130.
22. Kim J, Hong SC, Lee EH, Lee JW, Yang SH, Kim JC. Preventive effect of *M. cochinchinensis* on melanogenesis via tyrosinase activity inhibition and p-PKC signaling in melan-A cell. *Nutrients* 2021;13(11):3894.
23. Vaezi M. Structure and inhibition mechanism of some synthetic compounds and phenolic derivatives as tyrosinase inhibitors: Review and new insight. *J Biomol Struct Dyn* 2023;41(10):4798-4810.
24. Jakimiuk K, Gesek J, Atanasov AG, Tomczyk M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2021;36(1):1016-1028.