

การสกัดสารยับยั้งไทโรซิเนสจากมะแขว่น

Extraction of Tyrosinase Inhibitor from *Zanthoxylum limonella* Alston

ปภัศรา พันหิรัญ

อีเมล : 6251701274@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

อีเมล: phanuphong@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสกัดสารยับยั้งไทโรซิเนสจากมะแขว่น การสกัดทำการเปรียบเทียบส่วนของมะแขว่น 3 ส่วน ได้แก่ ก้าน ผนังผล และเมล็ด สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50 และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ด้วยวิธีการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่า สารสกัดผนังผลมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดคือร้อยละ 17.37 ± 0.02 สารสกัดก้านมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 136.87 ± 0.11 mg GAE/g และ 90.90 ± 0.72 mg QE/g ตามลำดับ และก้านที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 สามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้สูงที่สุดโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.21 ± 0.01 mg/mL ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัดผนังผลที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ซึ่งมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.26 ± 0.03 mg/mL สารสกัดผนังผลมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 มีฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสลดลง 3.8 เท่า เมื่อเก็บสารสกัดไว้ 30 วัน

คำสำคัญ: มะแขว่น, ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส, ความคงตัว

Abstract

This research was aimed to extract tyrosinase inhibitor from *Zanthoxylum limonella* (*Z. limonella*) Alston. Three parts of *Z. limonella* Alston including twig, pericarp, and seed were used for the extraction 50% and 95% ethanol with shaking at 150 rpm for 48 h. The highest extraction

yield of $17.37 \pm 0.02\%$ w/v was obtained from 50% ethanolic extract of pericarp. The 95% ethanolic extract of twig showed the highest total phenolic and flavonoid contents of 136.87 ± 0.11 mg GAE/g and 90.90 ± 0.72 mg QE/g, respectively. Moreover, the 50% ethanolic extract of pericarp also exhibited the highest tyrosinase inhibitory activity with the IC_{50} of 0.21 ± 0.001 mg/mL. Non entrapment of 50% ethanolic pericarp extract showed decrease 3.8 times of its tyrosinase inhibition after 30 days storage.

Keywords: *Zanthoxylum limonella* Alston, Tyrosinase Inhibition, Stability

บทนำ

มะแขว่น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zanthoxylum Limonella* Alston เป็นพืชสมุนไพรไทย และเป็นพืชเศรษฐกิจของภาคเหนือตอนบนของไทย ได้แก่ จังหวัดน่าน เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ พะเยา ลำปาง และลำพูน คนท้องถิ่นทางภาคเหนือนิยมนำไปอ่อน เมล็ดและผลแห้งมาใช้ในการปรุงอาหาร เป็นเครื่องเทศที่มีรสเผ็ดร้อนคล้ายพริกไทย รวมทั้งเป็นสมุนไพรที่รักษาอาการท้องร่วง ติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ โรคเชื้อหุ้มสมองอักเสบ การติดเชื้อในกระแสเลือด อาหารเป็นพิษ ปวดท้อง ท้องเสีย ภาวะต่ำไส้อักเสบ ภาวะอาหารและต่ำไส้อักเสบ เป็นต้น (Xainhiaxang, Leksawasdi & Wirjantoro, 2018) มะแขว่นยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น lupeol, alkaloid nutaecarpine, coumarins, scopoletin, sabinene, linalool, limonene, alpha-pinene, alpha-terpineol, β -Ocimene และ terpinen-4-ol เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (จันทร์เพ็ญ ตังจิตรเจริญกุล, 2553) ฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหลายชนิด เช่น *Mycobacterium tuberculosis*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Vibrio cholera* (Nanasombat & Wimuttigosol, 2011) และยังพบว่าสามารถระงับอาการปวดและการอักเสบได้ (จตุรรัตน์ อิมพัฒน, ณวัชพงศ์ ไชยรัตน์ และนันทกานต์ ชินอัครวัฒน์, 2559)

ยังไม่เคยมีรายงานวิจัยการศึกษาการยับยั้งการสร้างเมลานินของมะแขว่นแต่มีการศึกษาน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ซึ่งเป็นพืชวงศ์ตระกูลเดียวกับมะแขว่น ในการศึกษาการยับยั้งการผลิตเมลานินในเซลล์ผิวหนังของหนู ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ช่วยลดการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ช่วยยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานินและไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ได้แก่ β -Ocimene, alpha-pinene และ sabinene เป็นสารที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

(Kim, Zheng, Lee, Yoo & Kim, 2018) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่พบในมะแขว่นเช่นกัน ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่าสารสกัดมะแขว่นจะสามารถแสดงฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสได้เช่นเดียวกัน

เนื่องจากนี้ยังไม่เคยมีรายงานการใช้ประโยชน์สารสกัดมะแขว่นเพื่อเป็นสารออกฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาการสกัดสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากมะแขว่น วิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์ในสารสกัดมะแขว่น เพื่อจะได้ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการนำมาพัฒนาผลิตภัณฑ์ในเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อสกัดและหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมะแขว่น
2. เพื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะแขว่น

ขอบเขตของการวิจัย

1. เก็บตัวอย่างมะแขว่นจากบ้านผาหลัก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน โดยทำการสกัดส่วนของก้าน (Twig) ผนังผล (Pericarp) และเมล็ด (Seed)
2. สกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากมะแขว่นแบบแช่ด้วย 95% เอทานอล และ 50% เอทานอล
3. ทดสอบหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay
4. ทดสอบหาปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium Chloride method
5. ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะแขว่นด้วยวิธี Dopachrome method

การทบทวนวรรณกรรม

มะแขว่น มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Zanthoxylum Limonella* Alston อยู่ในวงศ์ Rutaceae ซึ่งพืชตระกูล *Zanthoxylum* นี้มีมากกว่า 200 ชนิดทั่วโลก นิยมปลูกในเขตร้อนและเขตอบอุ่น (Antonia, Marcelo, Arana & Herminda, 2016) ซึ่งในแต่ละประเทศมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันไป มะแขว่นเป็นพืชสมุนไพรไทยที่พบมากในภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดน่าน เชียงใหม่ เชียงราย แพร่ พะเยา ลำปาง และลำพูน มะแขว่นมีสารออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย มีสรรพคุณเป็นพืชสมุนไพรและเป็นเครื่องเทศที่ใช้ในการประกอบอาหารพื้นบ้านของทางภาคเหนือ เช่น ลาบ หลู้ ยาต่าง ๆ น้ำพริก แกงอ่อม เป็นต้น อีกทั้งปัจจุบันยังมีการนำสารสกัดของมะแขว่นมาใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางด้วยไทโรซิเนสของสารสกัดมะแขว่น

1. สารสำคัญ

ผลมะแขว่นประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น lupeol, alkaloid nutaecarpine, coumarins, scopoletin, sabinene, linalool, limonene, alpha-pinene, alpha-terpineol, β -Ocimene และ terpinen-4-ol เป็นต้น (จันทร์เพ็ญ ตังจิตรเจริญกุล, 2553)

ลำต้นของมะแขว่นเดิมค้นพบสารประกอบ alkaloid, rutaecarpine และ coumarins 3 ชนิด คือ xanthoxyletin, osthol และ scopoletin และได้มีการค้นพบ quinolone alkaloid ชนิดใหม่ คือ limonellone (4-methoxy-3-(3-methyl-2-oxobut-3-enyl) quinolin-2(1H)-one) (Tangjitjaroenkun, Chantarasriwong & Chavasiri, 2012)

น้ำมันหอมระเหยของผลมะแขว่นประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น pinenes, sabinene, alpha-terpinene, beta-phellandrene, terpinen-4-ol, mullilamdiol, 1,4-cineol, cuminic aldehyde, octanal, decanal, cryptone และ phlorophenone dimethyl ether และนอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบ สารกลุ่มไทรเทอร์พีนอยด์ คือ lupeol และสารกลุ่มสเตอรอล คือ beta-sitosterol, beta-sitosteryl glucoside และ stigmasteryl glucoside (วรรณันท์ บัวจับ, วัฒนา จิรัจฉริยากุล และวรางคณา ชิดช่วงชัย, 2560)

น้ำมันจากเมล็ดมะแขว่น ประกอบด้วย alpha-linolenic acid methyl ester, linoleic acid methyl ester และ oleic acid methyl ester, palmitic acid methyl ester, stearic acid methyl ester กรดไขมันเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับปริมาณของ alpha-linolenic acid (ALA, omega-3), linoleic ester (LA, omega-6), oleic acid (OA, omega-9), palmitic acid และ stearic acid ซึ่งสรุปได้ว่าน้ำมันจากเมล็ดมะแขว่นมี omega 3-6-9 (Bubpawan, Udeye & Boonphong., 2016)

2. ฤทธิ์ทางเครื่องสำอาง

สารสกัดจากก้านและเมล็ดมะแขว่นสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดน้ำมันจากผลมะแขว่นแต่น้อยกว่าส่วนของลำต้น สารที่เป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกิดจากสารประกอบฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์ (Phowichit, Ratanachamnong, Matsathit & Ussawawongaraya, 2019)

น้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ในประเทศเกาหลีใต้ มีการนำมาใช้ในการประกอบอาหารและเป็นยาสมุนไพร ที่ช่วยรักษาอาการปวดท้องและรักษาอาการผดผื่นของผิวหนัง ซึ่งเป็นพืชวงศ์ตระกูลเดียวกับ *Zanthoxylum Limonella* Alston และได้มีการนำมาศึกษาการยับยั้งการผลิตเมลานินในเซลล์มะเร็งผิวหนังชนิด B16F10 (Murine melanoma cell line) ของหนู ซึ่งพบว่าน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ที่ความเข้มข้น 0.005-0.04% สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ เมื่อเทียบกับกรดโคจิกที่ความเข้มข้น 0.5 mM กับ กรดแอสคอร์บิก ที่ความเข้มข้น 0.25 mM และน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ที่ความเข้มข้น 0.00125-0.01% ช่วย

ยับยั้งการสร้างเม็ดสีเมลานิน มีความสามารถในการยับยั้งที่ใกล้เคียงกับกรดโคจิก ที่ความเข้มข้น 0.2 mM และน้ำมันหอมระเหยของผล *Z. coreanum* ที่ความเข้มข้น 0.04% กับ 0.02% ไม่พบความเป็นพิษต่อเซลล์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยของ *Z. coreanum* ได้แก่ β -Ocimene, (-) - α -pinene, 4-carvomenthenol และ sabinene เป็นสารที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (Kim et al., 2018)

การพัฒนาขี้ผึ้งและน้ำยาบ้วนปากผสมสารสกัดเปลือกมะแขว่น พบว่า ขี้ผึ้งที่มีส่วนผสมสารสกัดเปลือกมะแขว่นสามารถยับยั้ง *S.mutans*, KPSK2 *Lactobacillus* และ *C.albicans* ATCC 13802 ไม่แตกต่างจากขี้ผึ้งยี่ห้ออื่น ๆ ในท้องตลาด ส่วนน้ำยาบ้วนปากที่มีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกมะแขว่นสามารถยับยั้ง *C. albicans* ATCC 13802 แต่ไม่สามารถยับยั้ง *S. mutans*, KPSK2 *Lactobacillus spp.* ได้ (วารานนท์ และคณะ, 2560)

การพัฒนาลูกกลิ้งแปรงสีฟันผสมสารสกัดจากผลมะแขว่น พบว่า ลูกกลิ้งแปรงสีฟันที่มีส่วนผสมจากสารสกัดผลมะแขว่นสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แปรงสีฟันได้ 7 ชนิด *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Candida albicans* และ *C. albicans* (เขาวนารถ งามนนท์, 2556)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดมะแขว่น

นำตัวอย่างมะแขว่น จากบ้านพาลัก อำเภอสองแคว จังหวัดน่าน ประเทศไทย นำมาคัดแยกออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ ก้าน ผนังผล และเมล็ด จากนั้นทำการบดด้วยเครื่องบดสมุนไพรร้อน ผ่านตะแกรงร่อน 60 mesh นำตัวอย่างก้าน ผนังผล และเมล็ด มาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ยับยั้ง ไทโรซิเนสด้วยวิธีการเขย่า (ดัดแปลงวิธีจาก Nanasombat, Yansodthee & Jongjaited 2018) อัตราส่วนของมะแขว่นเท่ากับ 1 : 10 ต่อตัวทำละลายเอทานอลเข้มข้น 95% หรือ 50% เขย่าสกัดตลอดเวลาที่ 150 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 และระเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส คำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดจากก้าน ผนังผล และเมล็ด

2. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดมะแขว่นด้วยวิธี Folin Ciocalteu assay

3. การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดมะแขว่น ด้วยวิธี

Aluminium chloride colorimetric assay

4. การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดมะแขว่น

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดมะแขว่น ด้วยวิธี Dopachrome method

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. การเตรียมสารสกัดมะแขว่น

จากการนำมะแขว่นมาแยกเป็นส่วนต่าง ๆ แล้วนำมาบด ได้แก่ ก้าน ผนังผล และเมล็ด หลังจากนั้นนำมาสกัดสารออกฤทธิ์ในตัวทำละลายเอทานอล 95% และเอทานอล 50% ด้วยวิธีเขย่าที่ 150 rpm เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้สารสกัดที่มีลักษณะดังตารางที่ 1 ในการศึกษาพบว่าเมล็ดที่สกัดด้วยเอทานอล 95% จะสกัดสารได้เป็น 2 ส่วนคือส่วนที่เป็นน้ำมันและส่วนที่เป็นสารสกัด โดยคาดว่าส่วนที่เป็นน้ำมันซึ่งมีสีเหลืองคือน้ำมันเมล็ดมะแขว่นสามารถสกัดได้โดยใช้เอทานอล 95%

การสกัดเมล็ดด้วยวิธีเดียวกันแต่แตกต่างกันที่ความเข้มข้นของเอทานอล โดยใช้เอทานอล 80% ในการสกัด (Nanasombat et al., 2018) การสกัดเมล็ดด้วยวิธีการเขย่า 5 ชั่วโมง โดยใช้เอทานอล 80% ในการสกัด (Srisamatthakarn, Wattanawikkrit & Ammawath, 2016) การสกัดเมล็ดด้วยวิธีการหมักโดยใช้น้ำและเอทานอลในการสกัด (เขวณารณ งามนนท์, 2013) และการสกัดเมล็ดด้วยวิธี Soxhlet สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง ซึ่งมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 29.56 ± 0.01 และ 30.95 ± 0.02 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ สกัดด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้เฮกเซนเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 18.40 ± 0.07 และ 22.56 ± 0.07 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และการกลั่นด้วยน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 2.50 ± 0.05 และ 3.20 ± 0.01 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ (สิริภา ฐะฐาคำ, 2562) ซึ่งการสกัดด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้เอทานอลและเฮกเซนเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง พบว่า มีร้อยละผลผลิตมากกว่าของการศึกษานี้ ซึ่งคาดว่าอาจเกิดจากความร้อนที่ใช้ในการสกัดและตัวทำละลายหมุนเวียนผ่านตัวอย่างหลายครั้งจึงทำให้ได้ร้อยละผลผลิตที่มากกว่า ส่วนการกลั่นด้วยน้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมงและ 6 ชั่วโมง พบว่า มีร้อยละผลผลิตน้อยกว่าของการศึกษานี้ โดยงานวิจัยก่อนหน้านี้ยังไม่เคยมีรายงานว่าพบสารสกัดจากเมล็ดเป็น 2 ส่วน ส่วนปริมาณสารสกัดหยาบของก้าน ผนังผล และเมล็ด ที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 8.54 ± 0.01 , 12.41 ± 0.02 , 2.24 ± 0.01 (เมล็ดส่วนน้ำมัน) และ 8.91 ± 0.01 (เมล็ดส่วนสารสกัด) โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และร้อยละผลผลิตสารสกัดหยาบของก้าน ผนังผล และเมล็ด ที่สกัดด้วยเอทานอล 50% เท่ากับ 15.43 ± 0.02 , 17.37 ± 0.02 และ 4.83 ± 0.003 โดย

น้ำหนัก ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษานี้พบว่าผนังผลมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 50% มีร้อยละ
ผลผลิตมากที่สุดคือเท่ากับ 17.37 ± 0.02 โดยน้ำหนัก



ตารางที่ 1 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดมะแขว่น

| ลักษณะทางกายภาพ | ก้าน | | ผนังผล | | เมล็ด | | |
|-----------------|--|---------------------|---------------------|---------------------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------|
| | สกัดด้วยเอทานอล 95% | สกัดด้วยเอทานอล 50% | สกัดด้วยเอทานอล 95% | สกัดด้วยเอทานอล 50% | สกัดด้วยเอทานอล 95% น้ำมัน | สกัดด้วยเอทานอล 95% สารสกัด | สกัดด้วยเอทานอล 50% |
| ลักษณะ | | | | | | | |
| ความหนืด | +++ | ++ | +++ | ++ | + | ++++ | ++ |
| สี | สีเขียวอมเหลือง | สีเขียวอมเหลือง | สีเขียวอมเหลือง | สีเขียวอมเหลือง | สีเหลืองปนน้ำตาล | สีเขียวอมเหลือง | สีน้ำตาลเหลือง |
| กลิ่น | กลิ่นเฉพาะตัวของมะแขว่น | | | | | | |
| หมายเหตุ | ++++ หมายถึง มีความหนืดมากที่สุด, +++ หมายถึง มีความหนืดมาก, ++ หมายถึง มีความหนืดปานกลาง, + หมายถึง มีความหนืดเล็กน้อย | | | | | | |

2. ปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดมะแขว่น

การศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดมะแขว่น ซึ่งพบว่าก้านมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เท่ากับ 136.87 ± 0.11 mg GAE/g และเมล็ดมะแขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ส่วนน้ำมันมีปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุดเท่ากับ 22.86 ± 0.18 mg GAE/g มีรายงานการสกัดสารออกฤทธิ์จากก้านมะแขว่นด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล เอธิลอะซิเตท ไคคลอโรมีเทน และเฮกเซน พบปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 53.67 ± 0.45 , 17.36 ± 0.15 , 10.82 ± 0.13 และ 12.93 ± 0.14 mg GAE/g ตามลำดับ (Phowichit et al., 2019) การสกัดผนังผลมะแขว่นด้วยวิธีการแช่ 5 ชั่วโมงในเอทานอล 80% พบปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 10.26 mg GAE/g (Srisamatthakarn et al., 2016) นอกจากนี้ยังมีรายงานการสกัดเมล็ดมะแขว่นด้วยวิธี Soxhlet ในตัวทำละลายเอทานอล เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ได้ปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 68.32 ± 1.30 , 68.32 ± 1.30 mg GAE/g ตามลำดับ และสกัดในตัวทำละลายเฮกเซนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง มีปริมาณรวมสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 106.67 ± 0.66 , 87.35 ± 3.00 mg GAE/g ตามลำดับ (สิริภา ชูระคำ, 2562) ซึ่งการสกัดเมล็ดมะแขว่นด้วยวิธีนี้พบว่าได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าในการศึกษานี้ซึ่งใช้วิธีการแช่ สันนิษฐานว่าการสกัดด้วยวิธี Soxhlet เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องและใช้ความร้อนในการสกัด โดยตัวทำละลายจะหมุนเวียนผ่านตัวอย่างที่ต้องการสกัดหลายครั้ง จึงอาจทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดมะแขว่นออกมาได้มากกว่า

3. ปริมาณรวมสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดมะแขว่น

การศึกษาหาปริมาณรวมของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดมะแขว่น ซึ่งพบว่าก้านมะแขว่นสกัดด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 90.90 ± 0.72 mg QE/g และเมล็ดมะแขว่นสกัดด้วยเอทานอล 50% มีปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด เท่ากับ 7.90 ± 0.20 mg QE/g มีรายงานการสกัดฟลาโวนอยด์จากก้าน มะแขว่นด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล เอธิลอะซิเตท ไคคลอโรมีเทน และเฮกเซน พบปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์เท่ากับ 25.76 ± 0.43 , 9.64 ± 0.31 , 5.93 ± 0.12 และ 5.06 ± 0.24 mg QE/g ตามลำดับ (Phowichit et al., 2019) จะพบว่าสารสกัดก้านมะแขว่นที่สกัดด้วยเมทานอล มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 25.76 ± 0.43 mg QE/g ซึ่งมีค่ามากกว่าสารสกัดก้านที่สกัดด้วยเอทานอล 50% ซึ่งมีค่าเท่ากับ 17.99 ± 0.04 mg QE/g แต่น้อยกว่าสารสกัดก้านที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ซึ่งมีค่าเท่ากับ 90.90 ± 0.72 mg QE/g ของการศึกษานี้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัด

ผนังผลมะเขว่นจากงานวิจัยนี้มีปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์มากกว่างานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.02 mg QE/g (Srisamattakarn et al., 2016)

4.ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดมะเขว่น

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดมะเขว่น ซึ่งพบว่า สารสกัดก้านมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 50% สามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้มากที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.21 ± 0.01 mg/mL และสารสกัดผนังผลมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 95% ยับยั้งไทโรซิเนสได้น้อยที่สุดมีค่า IC_{50} เท่ากับ 2.00 ± 0.04 mg/mL โดยสารสกัดมะเขว่นจากการทดลองนี้สามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้น้อยกว่า สารมาตรฐานกรดโคจิก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.03 ± 0.01 mg/mL

5. การทดสอบความคงตัวของฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดผลมะเขว่น

การทดสอบความคงตัวของฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดผนังผลมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 50% โดยการเก็บรักษาที่สภาวะตู้เย็น ($4^{\circ}C$) ทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสวันที่ 0 และ 30 แสดงในตารางที่ 3 จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสจะเห็นว่าฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสวันที่ 0 และวันที่ 30 มีการเปลี่ยนแปลงลดลงโดยมีค่า IC_{50} ลดลงจาก 0.21 mg/mL เป็น 0.80 mg/mL

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของสารสกัดผนังผลมะเขว่นสกัดด้วยเอทานอล 50% ที่เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

| ระยะเวลา | IC_{50} ของ Tyrosinase inhibitory activity (mg/mL) |
|---|--|
| วันที่ 0 | 0.21 ± 0.01^a |
| วันที่ 30 | 0.80 ± 0.07^b |
| การลดลงของฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนส ณ วันที่ 30 | 3.8 เท่า |

หมายเหตุ ตัวหนังสือยกพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในแนวดิ่ง

สรุปผลการทดลอง

การสกัดมะเขว่น 3 ส่วนคือ ก้าน ผนังผล และเมล็ด โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50% และเอทานอล 95% พบว่า สารสกัดผนังผลมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 50% ให้ร้อยละผลผลิตสูงที่สุดคือร้อยละ 17.37 ± 0.02 สารสกัดก้านมะเขว่นที่สกัดด้วยเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 136.87 ± 0.11 mg GAE/g และ 90.90 ± 0.72 mg QE/g ตามลำดับ และก้านที่สกัดด้วยเอทานอล 50% สามารถยับยั้งไทโรซิเนสได้

สูงที่สุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.21 ± 0.01 mg/mL ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสารสกัด
ผนังผลที่สกัดด้วยเอทานอล 50% ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.26 ± 0.03 mg/mL

ข้อเสนอแนะ

1. ในการแยกส่วนต่าง ๆ ของมะแขว่นก่อนข้างยาก เนื่องจากมะแขว่นมีขนาดค่อนข้างเล็ก
และแจ้งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยสกัดทุกส่วนด้วยกันเพื่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ของ
สารสกัดหากมีฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกับสารสกัดที่แยกเป็นส่วนจะทำให้ประหยัดเวลาในการ
สกัดได้

2. หากมีเวลาในการศึกษาควรนำไลโปโซมที่กักเก็บสารสกัดมะแขว่นไปศึกษาในตำรับ
เครื่องสำอางเพื่อดูความคงตัวและการออกฤทธิ์ของไลโปโซมเมื่อผสมอยู่ในตำรับ

3. ควรนำไลโปโซมไปส่องกล้องจุลทรรศน์สำหรับส่องอนุภาคระดับนาโนเมตร เช่น TEM
เพื่อให้เห็นรูปร่างของไลโปโซมที่ชัดเจนมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- จันทร์เพ็ญ ตั้งจิตรเจริญกุล. (2553). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นมะแขว่น *Zanthoxylum
limonella* Alston. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ.
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- จรีภรณ์ อิมพัฒน์, ณวัชพงศ์ ไชยรัตน์ และนันทกานต์ ชินอัครวัฒน์. (2559). ผลิตภัณฑ์หัวน้ำมัน
นวดที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยผลมะแขว่น. อนุสิทธิบัตรประเทศไทย เลขที่
11339.
- เขวนารถ งามนนท์. (2556). การพัฒนาลูกกลิ้งแต้มผิวจากสมุนไพรผสมสารสกัดใบขนุนพันธุ์ฟ้า
ถล่มและเหรียญบาท. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา.
มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์, ปทุมธานี.
- วรานันท์ บัวจิบ, วิภา จิรจรรย์กุล และวรางคณา ชิดช่วงชัย. (2560). โครงการพัฒนาต้นแบบ
สมุนไพรทางทันตกรรม: ยาสีฟันพริกพราวนและน้ำยาบ้วนปากพริกพราวนสู่การต่อยอดเชิง
พาณิชย์. สืบค้นเมื่อ 28 สิงหาคม 2563, จาก [http://www.thai-
explore.net/search_detail/result/5380](http://www.thai-explore.net/search_detail/result/5380)
- สิริภา ฐะคำ. (2562). การเตรียมสารสกัดจากมะแขว่นเพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง.
วิทยาศาสตร มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง. มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง,
เชียงใหม่.

- Antonia, J., Marcelo, D., Arana, Y., & Herminda, E. R. (2016). Comparative morphology and anatomy of the leaf and stem of species of *Zanthoxylum* (Rutaceae) from Center Argentina. *Polibotanica*, 42, 121-136.
- Bubpawan, P., Udeye, V., & Boonphong, S. (2016). Omega 3-6-9 from Makhwaen seed oil (*Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) DC). In *The 3rd National Meeting on Biodiversity Management in Thailand*. Retrieved September 12, 2020, from <https://www.biodconference.org/wp-content/uploads/2017/03/34.-page-222-227.pdf>
- Kim, Y. P. M., Zheng, Z., Lee, S., Yoo, K., & Kim, H. (2018). Inhibitory effects of essential oil from *Zanthoxylum coreanum* Nakai on melanin production: Protection against re-pigmentation after laser treatment. *Medical Lasers*, 7(2), 62-68.
- Nanasombat, S., & Wimuttigol, P. (2011). Antimicrobial and antioxidant activity of spice essential oils. *Food Science and Biotechnology*, 20, 45-53.
- Nanasombat, S., Yansodthee, K., & Jongjaited, I. (2018). Evaluation of antidiabetic, antioxidant and other phytochemical properties of Thai fruits, vegetables and some local food plants. *Walailak Journal Science and Technology*, 16(11), 851- 866.
- Phowichit, S., Ratanachamnong, P., Matsathit, U., & Ussawawongaraya, W. (2019). Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of crude extracts from piper ribesoides and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern Thailand. *Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*, 18, 2651-2289.
- Srisamatthakarn, P., Wattanawikkit, P., & Ammawath, S. (2016). Effect of extraction conditions on the physical-chemical and antioxidant properties of Mah-Khwuaen (*Zanthoxylum limonella* Alston) extract. *Journal of Plant Science*, 3, 31-38.
- Tangjitjaroenkun, J., Chantarasriwong, O., & Chavasiri, W. (2012). Chemical constituents of the stems of *Zanthoxylum limonella* Alston. *Phytochemistry Letters*, 5(3), 443-445. doi:10.1016/j.phytol.2012.04.001
- Xainhiayang, S., Leksawasdi, N., & Wirjantoro, T. I. (2018). Antimicrobial activities of some herb and spices extracted by hydrodistillation and supercritical fluid extraction on the growth of *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium* and *Staphylococcus aureus* in microbiological media. *Food and Applied Bioscience*, 6, 218-239.