ฤทธิ์ทางชีวภาพ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี จากสารสกัดลูกหว้า

BIOLOGICAL ACTIVITIES, PHENOLIC AND VITAMIN C CONTENTS FROM *SYZYGIUM CUMINI* (L.) EXTRACT

มนตรา ศรีษะแย้ม[1*] เชาวลิต พึ่งแตง[1] อนงค์ ศรีโสภา[2] และ อรุณลักษณ์ โชตินาครินทร์[3]

Montra Srisayam[1*], Chawalit Puengtang[1], Anong Srisopa[2],

and Arunluk Chodnakarin[3]

[1]สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

[2]สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

[3]สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

[1]Department of Microbiology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

[2]Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

[3]Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University

[*]corresponding author e-mail: srisayam_ssy@psru.ac.th

(Received: 12 June 2022; Revised: 26 July 2022; Accepted: 1 August 2022)

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์เวชสำอางเป็นสิ่งที่ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในปัจจุบัน ซึ่งลูกหว้าเป็นผลไม้พื้นบ้านของไทยที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย แต่ยังขาดการรายงานคุณสมบัติด้านเวชสำอางที่แน่ชัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและวิตามินซี จากสารสกัดลูกหว้า ผลที่ได้พบว่า สารสกัดลูกหว้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 85.22±4.35 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 18.50±1.84 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด มีปริมาณวิตามินซีในรูปของกรดแอสคอร์บิคเป็นองค์ประกอบ เท่ากับ 15.24±1.84 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด นอกจากนี้สารสกัดลูกหว้ามีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} เท่ากับ 181.59±4.77 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการยับยั้ง *Propionibacterium acnes* และ *Staphylococcus aureus* ได้เท่ากับ 14.5±0.07 และ 9.50±0.50 เซนติเมตร ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสามารถนำสารสกัดลูกหว้าไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางเพื่อยับยั้งสิวได้ แต่ควรมีการทดสอบการระคายเคืองต่อผิวต่อไป

คำสำคัญ: ลูกหว้า ฟีนอลิก วิตามินซี ต้านแบคทีเรีย ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Cosmeceutical products are more attractive nowadays. *Syzygium cumini* fruit, a Thai fruit possess wide variety of biological activities. However, its cosmeceutical property has not reported yet. The aims of this study are to study the antioxidant activity, antityrosinase activity, inhibition of acne causing bacteria, analysis of phenolic content and vitamin C from *Syzygium cumini* extract. The results indicated that *Syzygium cumini* extract showed antioxidant activity with IC_{50} of 85.22±4.35 µg/ml. The phenolic content and Vitamin C of *Syzygium cumini* extract were 18.50±1.84 mg gallic acid equivalent/ g extract and 15.24±1.84 mg/g extract, respectively. Moreover, antityrosinase activity showed IC_{50} to 181.59±4.77 µg/ml. Also, *Syzygium cumini* extract in concentration of 50 mg/ml inhibited *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus* to 1.45±0.07 cm and 0.95±0.50 cm, respectively. Therefore, *Syzygium cumini* extract can be further developed for cosmeceutical products. However, skin irritation should be evaluated.

Keywords: *Syzygium cumini*, Phenolic, Vitamin C, Antibacterial, Antioxidant

บทนำ

ตลาดของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือเวชสำอางในประเทศไทยและต่างประเทศกำลังขยายตัวอย่างต่อเนื่อง ผู้ประกอบการทั้งรายใหม่และรายเก่าพยายามพัฒนาและค้นหาวัตถุดิบตัวใหม่เพื่อตอบสนองความต้องการของผู้ใช้ ซึ่งในปัจจุบันผู้คนให้ความสนใจผลิตภัณฑ์ที่มาจากธรรมชาติเป็นอย่างมากจากกระแสความใส่ใจเรื่องสุขภาพ ส่งผลให้มีการศึกษาวิจัยถึงวัตถุดิบที่มีฤทธิ์ด้านเวชสำอางและความงามที่มาจากธรรมชาติ ได้แก่ พืช สมุนไพร รวมถึงผลไม้ ซึ่งมีความหลากหลายมาก โดยผลไม้ไทยหลายชนิดมีสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางเวชสำอาง สามารถนำมาพัฒนาเป็นวัตถุดิบทางเครื่องสำอางได้ เช่น ลำไย มังคุด เงาะ และลิ้นจี่ เป็นต้น

หว้า มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Syzygium cumini* (L.) Skeels ชื่อสามัญ Jambolan Plum Java Plum และ Jambul อยู่ในวงศ์ Myrtaceae หว้าเป็นผลไม้พื้นบ้านของไทย ที่มีฤทธิ์และสรรพคุณทางยามากมาย ส่วนของผลหว้าหรือลูกหว้า ใช้ในการรักษาคออักเสบ เบาหวาน ความผิดปกติของม้าม ท่อปัสสาวะ และโรคผิวหนัง เช่น กลาก (Afify et al., 2011) นอกจากนี้พบว่า ลูกหว้ามีความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระ (Zhang & Lin, 2009) เนื่องจากประกอบไปด้วยสารแอนโทไซยานิน แทนนิน และกรดแกลลิค เป็นต้น (Benherlal & Arumughan, 2007)

และพบว่า สารสกัดน้ำจากลูกหว้ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *Streptococcus mutans* และ *Candida albicans* (สุภาณี และอนุศรา, 2554) จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า กรดแกลลิกในลูกหว้า มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักในการสร้างเม็ดสีเมลานิน (Kim, 2007) และมีสารแอนโทไซยานินปริมาณมาก โดยสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารที่มีสีแดง ม่วง หรือน้ำเงิน มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งแบคทีเรีย และสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Aramwit, Bang, & Srichana, 2010; Santos et al., 2011) มีรายงานว่า แอนโทไซยานินมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิดได้ เช่น *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* (กิติพงศ์ และนฤมล, 2560) จึงมีความเป็นไปได้สูงว่าสารสกัดจากลูกหว้าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นส่วนหนึ่งในผลิตภัณฑ์เวชสำอางได้

แม้ว่าจะมีงานวิจัยศึกษาเกี่ยวกับลูกหว้ามากมาย แต่ยังขาดการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการนำลูกหว้ามาใช้ประโยชน์ทางด้านเครื่องสำอางหรือเวชสำอาง ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการเกิดสิว ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีจากสารสกัดลูกหว้า เพื่อทราบปริมาณหรือความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยับยั้งการเกิดสิว หรือผลิตภัณฑ์เพื่อผิวขาวกระจ่างใสได้ในอนาคต

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเก็บและเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างลูกหว้าจากพื้นที่ชุมชนจังหวัดพิษณุโลกและใกล้เคียงในเดือนมิถุนายน นำลูกหว้ามาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง นำมาบดให้เป็นผงและเก็บไว้ในที่แห้งเพื่อใช้ในการสกัดต่อไป

2. การเตรียมสารสกัดเอทานอล

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้มาสกัดด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำไปสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonicator เป็นเวลา 30 นาที กรองและระเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการศึกษาต่อไป

3. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay

นำสารสกัดลูกหว้ามาทำเป็นสารละลายที่ความเข้มข้น 50–200 µg/ml โดยใช้ Methanol เป็นตัวทำละลาย จากนั้นเตรียมสารละลาย 2,2–Diphenyl–1–picrylhydrazyl (DPPH) ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 20 µg/ml ดูดสารสกัดลูกหว้าแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 0.75 ml ใส่ลงในสารละลาย DPPH ปริมาตร 1.5 ml ผสมให้เข้ากันด้วย Vortex ทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ทำเป็นจำนวน 3 ซ้ำ โดยใช้ Methanol เป็น Blank

จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหา % Inhibition และนำมาหาค่าความเข้มข้นที่ทำให้อนุมูลอิสระลดลง 50% (IC_{50}) (Sapkota et al., 2010)

4. การตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดหาจากการเติมตัวอย่างที่มีระดับความเข้มข้น 5 mg/ml ปริมาตร 0.25 ml ในน้ำ 2.5 ml และ 0.5 ml ของสารละลาย Folin–Ciocalteu หลังจากนั้น 5 นาที เติม Na_2CO_3 ความเข้มข้น 0.2 g/ml ปริมาตร 0.5 ml ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 nm โดยมีกรดแกลลิก (Gallic acid) ความเข้มข้นระหว่าง 10–100 µg/ml เป็นสารมาตรฐาน และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดหาได้จากการเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg gallic acid equivalent/ g extract) (Singleton et al., 1999)

5. การหาปริมาณวิตามินซี

การวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีทำโดยใช้เทคนิคสเปคโทรโฟโตเมทรี วัดค่าการดูดกลืนแสงของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาที่มีสารละลาย 0.07 M Oxalic acid/ 0.02 mM. Ethylene diamine tetra–acetic acid (EDTA) 3% mata–Phosphoric acid / 8% Acetic acid 5% Sulfuric acid และ 5% Ammoniummolydbate ที่ความยาวคลื่น 760 nm เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน 0.1% L–Ascorbic acid (Rahman & Hosin, 2007)

6. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านกิจกรรมของเอนไซม์ไทโรซิเนส

นำสารสกัดลูกหว้าที่ความเข้มข้น 100–400 µg/ml มาใส่ลงใน 96 well plate ที่มีความเข้มข้นสุดท้ายของเอนไซม์ 27 units/ml ปริมาณ 20 µl จากนั้นเติมสารละลาย l–3,4 Dihydroxyphenylalanine (L–DOPA) ที่ละลายใน 0.1 M Phosphate buffer saline (PBS) pH 6.8 ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4.5 mM ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสง นำไปหาค่า % inhibition และนำมาหาค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเอนไซม์ได้ 50% (IC_{50}) (Srisayam et al., 2014)

7. การตรวจสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar well diffusion method

แบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้แก่ *P. acnes* DMST 14916 และ *S. aureus* DMST 8013 ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *S. aureus* DMST 8013 ในอาหารเหลว Nutrient broth; NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วน *P. acnes* DMST 14916 เลี้ยงในอาหาร Brain heart infusion; BHI broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน โดยเพาะเลี้ยงใน Anaerobic jar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นของเชื้อทดสอบให้ได้เท่ากับความขุ่นมาตรฐาน McFarland No.0.5 (1.5×10^8 CFU/ml) สำหรับเชื้อ *S. aureus* DMST 8013 และ McFarland No.2 (6×10^8 CFU/ml) สำหรับเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 ทำการ Swab

ในอาหาร Nutrient agar; NA สำหรับเชื้อ *S. aureus* DMST 8013 และ Swab ในอาหาร BHI agar สำหรับเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 เจาะหลุมโดยใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 mm จากนั้นละลายตัวอย่างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้มีระดับความเข้มข้นเท่ากับ 10 และ 50 mg/ml ปริมาตร 50 µl ใส่ลงในหลุม ใช้ยาปฏิชีวนะ Ampicillin ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml ปริมาตร 50 µl เป็น Positive control และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อเป็น Negative control นำเชื้อ *S. aureus* DMST 8013 ไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเชื้อ *P. acnes* DMST 14916 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนใน Anaerobic jar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง มีหน่วยเป็น มิลลิเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (Srisayam & Chantawannakul, 2010)

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลการทดลองแสดงข้อมูลในรูปของค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทำการทดลอง 3 ซ้ำ การวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และ Tukey's test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($P<0.05$)

ผลการวิจัย

1. ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซี

จากการนำสารสกัดลูกหว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมาทดสอบคุณสมบัติด้านเวชสำอางด้วยการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซี และความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว ผลที่ได้พบว่า สารสกัดลูกหว้ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 85.22±4.35 µg/ml มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} เท่ากับ 181.59±4.77 µg/ml มีปริมาณฟีนอลิก เท่ากับ 18.50±1.84 mg gallic acid equivalent/g extract มีปริมาณวิตามินซีในรูปของกรดแอสคอร์บิคเป็นองค์ประกอบ เท่ากับ 15.24±1.84 mg/g extract ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณวิตามินซี ของสารสกัดลูกหว้า

ยับยั้งอนุมูลอิสระ IC_{50} (µg/ml)	ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, IC_{50} (µg/ml)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg gallic acid equivalent/ g extract)	ปริมาณวิตามินซี (mg/g extract)
85.22±4.35	181.59±4.77	18.50±1.84	15.24±1.84

2. ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว

สารสกัดลูกหว้ามีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียก่อสิว *P. acnes* และ *S. aureus* โดยพบว่า สารสกัดลูกหว้าที่ความเข้มข้น 10 และ 50 mg/ml สามารถยับยั้ง *P. acnes* ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง เท่ากับ 7.5±0.21 และ 14.5±0.07 mm ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดลูกหว้ายับยั้ง *S. aureus* ให้เส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง เท่ากับ 7.0±0.50 และ 9.50±0.50 mm ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความสามารถในการยับยั้ง *S. aureus* และ *P. acnes*

ความเข้มข้นสารสกัดลูกหว้า (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางโซนยับยั้ง (mm)	
	S. aureus	***P. acnes***
10	7.0±0.50[a]	7.5±0.21[a]
50	9.5±0.70[b]	14.5±0.07[b]
Ampicillin (100 µg/ml)	32.5±0.70[c]	29.5±0.07[c]

หมายเหตุ ตัวอักษรยกกำลังที่ต่างกันในคอลัมน์ (a, b, c) แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

อภิปรายผล

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลูกหว้าโดยการวิเคราะห์ค่า IC_{50} พบว่า มีค่าเท่ากับ 85.22±4.35 µg/ml แสดงให้เห็นว่า สารสกัดลูกหว้ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง เมื่อเทียบกับสารสกัดของผลไม้บางชนิดที่มีการนำมาใช้ด้านเครื่องสำอาง เช่น เนื้อผลลำใยสดมีฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 38.22 mg/ml เนื้อผลเงาะสดมีฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 179.19 mg/ml เนื้อลิ้นจี่สดมีฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ IC_{50} เท่ากับ 17.15 mg/ml (ศรีปาน และคณะ, 2556) ซึ่งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดลูกหว้าส่วนหนึ่งเกิดจากสารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ตัวอย่างเช่น แอนโทไซยานิน กรดเอลลาจิก ไอโซเควอร์เซทิน แทนนิน กรดแกลลิก เป็นต้น (Benherlal & Arumughan, 2007; Sari et al., 2012) เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดลูกหว้า พบว่า มีค่าเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน กรดแกลลิกเท่ากับ 18.50±1.84 mg gallic acid equivalent/ g extract ซึ่งมากกว่าผลไม้บางชนิด เช่น ส้มโอ (1.92 µg gallic acid equivalent/ g) สับปะรด (16.3 µg gallic acid equivalent/ g) กล้วยน้ำว้า (14.3 µg gallic acid equivalent/ g) มะละกอ (11.0 µg gallic acid equivalent/ g) และแคนตาลูป (9.51 µg gallic acid equivalent/ g) (ปฏิวิทย์ และคณะ, 2554) นอกจากนี้พบว่า การสกัดลูกหว้าด้วย 95% เอทานอล ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วยกรดร่วมกับ 80% เอทานอล ภายใต้คลื่นความถี่สูงเป็นระยะเวลา 10 นาที และ

ทำซ้ำ 2 รอบ (2.85 mg gallic acid equivalent/g extract) (Singh, Shukla & Walia, 2013) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในรูปของกรดแอสคอร์บิค พบว่า สารสกัดเอทานอลจากลูกหว้ามีปริมาณวิตามินซีเท่ากับ 15.24±1.84 mg/g extract โดยวิตามินซีมีความสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการจับ (Scavenging activity) อนุมูลออกซิเจน (Reactive oxygen species; ROS) (Traber & Stevens, 2011) วิตามินซีมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยจับกับคอปเปอร์ไอออน (Copper (Cu) ions) ที่บริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ (Sanadi & Deshmukh, 2020) นอกจากนี้วิตามินซีช่วยปกป้องผิวจากรังสียูวี และป้องกันการเกิดริ้วรอยผ่านกลไกการสร้างคอลลาเจน โดยเป็น Cofactor ของเอนไซม์ Lysyl hydroxylase และ Prolyl hydroxylase (Sharma et al., 2008) ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของลูกหว้านอกจากผลของวิตตามินซีแล้ว กรดแอลลาจิกสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้เช่นกัน จากรายงานที่ผ่านมามีศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในพืชกลุ่มตระกูลเบอร์รีของไทยเช่นเดียวกับลูกหว้า ได้แก่ หม่อนหรือมัลเบอร์รี มะเม่า มะขามป้อม มะยม เป็นต้น พบว่า พืชกลุ่มนี้จะให้สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสามารถในการลดกระบวนการชีวสังเคราะห์เมลานิน ได้แก่ ต้านการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยการจับกับคอปเปอร์ที่บริเวณเร่ง ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์โดยยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมลานิน และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยลดการกระตุ้นจากแสงแดดซึ่งเป็นขั้นตอนแรกของกระบวนการเกิดสีผิว (ประไพพิศ, 2561) สำหรับการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว พบว่าสารสกัดมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อสิว *P. acnes* ได้สูงกว่า *S. aureus* ที่ระดับความเข้มข้น 50 mg/ml ขณะที่ยับยั้งได้ใกล้เคียงกันที่ระดับความเข้มข้น 10 mg/ml จากความสามารถดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้กับเครื่องสำอางคือความเข้มข้นตั้งแต่ 10 mg/ml ขึ้นไป แต่จะให้ผลดีกว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 50 mg/ml อย่างไรก็ตามต้องพิจารณาถึงความเข้าเป็นเนื้อเดียวกันของสารสกัดกับสารตัวอื่นในสูตรตำหรับด้วย พิจารณาถึงความคงตัว ลักษณะทางประสาทสัมผัส และการแพร่ผ่านของสารสกัดในเนื้อตำหรับ ดังนั้นควรมีการทดสอบการตั้งตำรับต่อไป ความสามารถในการยับยั้งดังกล่าวอาจเกิดจากสารในกลุ่มแทนนิน ฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิก ที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (ศิริวรรณ และคณะ, 2553; Arash et al., 2015) นอกจากนี้กรดอินทรีย์ต่างๆ ในลูกหว้ามีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ เช่น Ellagic acid Ferulic acid (นิตยา และคณะ, 2558) Gallic acid (Jain & Seshadri, 1975) Citric acid และ Malic acid (Lewis, Dwarakanath & Johar, 1956) จากวิจัยที่ผ่านมาพบว่า Ferulic acid และ Gallic acid มีการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* และ *L. monocytogenes* (Borges et al., 2013)

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าผลลูกหว้ามีฤทธิ์ทางชีวภาพด้านเครื่องสำอาง คือ ยังยั้งอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเกิดสิว และ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งเป็นงานวิจัยแรกที่ทำการทดสอบสาร

สกัดเอทานอลจากผลลูกหว้าในการยับยั้ง *P. acnes* และยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ขณะที่งานวิจัยที่ผ่านมาทำการทดสอบสารสกัดที่ได้จากใบ กิ่ง และเมล็ดของหว้า Ramanuj et al. (2012) พบว่าสารสกัดเมทานอลและเอทานอลจากเมล็ดผลลูกหว้า ยับยั้ง *P. acnes* ให้ค่า Minimal inhibitory concentration (MIC) เท่ากับ 400 และ 1,000 µg/ml ตามลำดับ Utharalakshmi et al. (2020) รายงานว่าสารสกัดเมล็ดจากผลลูกหว้ามีสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 63.48% ที่ระดับความเข้มข้น 40 µg/ml ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 57.1% ที่ระดับความเข้มข้น 100 µg/ml และพบสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 78 µg gallic acid equivalent/ g extract Junlatat et al. (2018) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเอทานอลจากใบและกิ่งหว้า พบว่า ใบและกิ่งหว้าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.58±0.07 และ 5.80±0.03 µg/ml ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมีค่า IC_{50} เท่ากับ 34.07 µg/ml และ IC_{50} เท่ากับ 133.55 µg/ml พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 341.23±11.25 และ 217.58±9.13 mg gallic acid equivalent/ g extract ตามลำดับ แม้ว่าสารสกัดจากผลลูกหว้าจะมีฤทธิ์ทางชีวภาพและสารประกอบฟีนอลิกต่ำกว่าส่วนอื่นๆ ของหว้า แต่ผลลูกหว้าเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่มีความสำคัญทางชีวภาพ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในทางเครื่องสำอาง อาหารเพื่อสุขภาพ หรือทางการแพทย์ได้

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดลูกหว้า เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ทางเวชสำอาง ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดลูกหว้ามีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดสิว โดยยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (IC_{50} = 181.59±4.77 µg/ml) ซึ่งเป็นเอนไซม์หลักที่ทำให้เกิดเม็ดสีเมลานิน ยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC_{50} = 85.22±4.35 µg/ml) ตัวการของปัญหาผิวต่างๆ และพบสารประกอบฟีนอลิก (18.50±1.84 mg gallic acid equivalent/g extract) และวิตามินซี (15.24±1.84 mg/g extract) ซึ่งเป็นสาระสำคัญทางธรรมชาติที่ให้ฤทธิ์ทางชีวภาพ จากงานวิจัยนี้จึงแสดงให้เห็นว่า สารสกัดลูกหว้ามีคุณสมบัติที่สามารถนำมาใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านเวชสำอางได้ในอนาคต อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาฤทธิ์เชิงลึกถึงความเป็นพิษในเซลล์ไลน์ การระคายเคืองหรือประสิทธิภาพในอาสาสมัครต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พ.ศ. 2562 ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ และสาขาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม สำหรับสถานที่และเครื่องมือที่ใช้ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กิติพงศ์ อัศตรกุล, และนฤมล หิมะสุทธิเดช. (2560). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากหัวหอมและการประยุกต์ใช้ในน้ำผักและผลไม้ผสม. **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม**, **12**, 71–83.

นิตยา บุญนำมา, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ม, ฉัตรภา หัตถโกศล, และพร้อมลักษณ์ สมบูรณ์ปัญญากุล. (2558). การเอนแคปซูเลชั่นน้ำลูกหว้าด้วยการแห้งทำแบบพ่นฝอยและผลต่อสมบัติทางเคมี–กายภาพปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**, **46(3)(พิเศษ),** 601–604.

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย, ทิพวรรณ ผาสกุล, และราตรี มงคลไทย. (2554). เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอสิระ และสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 42(2)(พิเศษ),** 385–388.

ประไพพิศ อินเสน. (2561). การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รีไทย. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย, 12(2),** 69–82.

ศรีปาน เชยกลิ่นเทศ, ทศพร นามโฮง, และกลอยใจ เชยกลิ่นเทศ. (2556). ผลของการเตรียมเนื้อลำใย เงาะและลิ้นจี่ก่อนการอบแห้งด้วยไมโครเวฟร่วมกับอินฟราเรดตามด้วยลมร้อนต่อปริมาณน้ำตาลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิชาการ มทร.สุวรรณภูมิ, 1(2),** 115–127.

ศิริวรรณ แก้วเพ็ชร์, สุณีนุช คุ้มภัย, สุรัตน์ โหนา, และอลิษา โต๊ะและ. (2553). **การศึกษาสารสกัดจากพืชในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของเนื้อสัตว์**. (รายงานการวิจัย). ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

สุภาณี ฟ้ารุ่งสาง, และอนุศรา พิพัฒน์พิทยาสกุล. (2554). **การพัฒนาเจลจากผลหว้าเพื่อใช้รักษาแผลในปาก**. (ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต). มหาวิทยาลัยมหิดล, คณะเภสัชศาสตร์.

Afify, A.M.R., Fayed, S.A., Shalaby, E.A., & El–Shemy, H.A. (2011). *Syzygium cumini* (pomposia) active principles exhibit potent anticancer and antioxidant activities. **Afr J Pharm Pharmacol**, **5**, 948–956.

Aramwit, P., Bang, N., & Srichana, T. (2010). The properties and stability of anthocyanins in mulberry fruits. **Food Res Int, 43**, 1093–1097.

Arash, M., Jinous, A., Parisa, S., & Mehrdad, F. (2015). Total phenolic and flavonoid content and antibacterial activity of *Punica granatum* L. var. pleniflora flowers (Golnar) against bacterial strains causing foodborne diseases. **BMC Complement Altern, 15**, 366.

Benherlal, P.S., & Arumughan, C. (2007). Chemical composition and in vitro antioxidant studies on *Syzygium cumini* fruit. **J Sci Food Agric**, **87**, 2560–2569.

Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M.J., & Simoes, M. (2013). Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. **Microb Drug Resis**, **19**(4), 256–65.

Jain, M.C., & Seshadri, T.R. (1975). Anthocyanins of *Eugenia jambolana* fruits. **Indian J Chem**, **3**, 20–23.

Junlatat, J., Fangkrathok, N., & Sripanidkulchai, B. (2018). Antioxidative and melanin production inhibitory effects of *Syzygium cumini* extracts. **Songklanakarin J. Sci. Technol, 40 (5),** 1136–1143.

Kim, Y.J. (2007). Anti–melanogenic and antioxidant properties of gallic acid. **Biol Pharm Bull, 30**, 1052–1055.

Lewis, Y.S., Dwarakanath, C.T., & Johar, D.S. (1956). Acids and sugars in *Eugenia jambolana*. **Journal of Scientific and Industrial Research, 15C**, 280–281.

Rahman, M.M., & Hosin, M.M. (2007). Analysis of Vitamin C (ascorbic acid) Contents in Various Fruits and Vegetables by UV–spectrophotometry, Bangladesh. **J Sci Ind Res, 42,** 417–424.

Ramanuj, K., Bachani, P., & Kothari, V. (2012). *In vitro* antimicrobial activity of certain plant products / seed extracts against multidrug resistant *Propionibacterium acnes*, *Malassezia furfur*, and aflatoxin producing *Aspergillus flavus*. **Research in Pharmacy, 2(3),** 22–31.

Sanadi, R.M., & Deshmukh, R.S. (2020). The effect of Vitamin C on melanin pigmentation – A systematic review. **Journal of Oral and Maxillofacial Pathology, 24(2),** 374–382.

Santos, J., La, V.D., Bergeron, C., & Grenier, D. (2011). Inhibition of host– and bacteria–derived proteinases by natural anthocyanins. **J Periodont Res**, **46**(5), 550–557.

Sapkota, K., Park, S.E., Kim, J.E., Kim, S., Choi, H.S., Chun, H.S., & Kim, S.J. (2010). Anti–oxidant and antimelanogenic properties of chestnut flower extract, **Biosci Biotechnol Biochem, 74,** 1527–1533.

Sari, P., Wijaya, C.H., Sajuthi, D., & Supratman, U. (2012). Color properties, stability, and free radical scavenging activity of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit anthocyanins in a beverage model system: Natural and copigmented anthocyanins. **Food Chem, 132**, 1908–1914.

Sharma, S.R., Poddar, R., Sen, P., & Andrews, J.T. (2008). Effect of vitamin C on collagen biosynthesis and degree of birefringence in polarization sensitive optical coherence tomography (PS–OCT). **African Journal of Biotechnology, 7(12),** 2049–2054.

Singh, J., Shukla, R.K., & Walia, S. (2013). Sugar profile, total phenolic and antioxidant potential of anthocyanins rich *Syzygium cumini* fruit. **NPAIJ, 9**(9), 350–354.

Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela–Raventos, R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin–Ciocalteu reagent, **Methods in Enzymology, 299**, 152–178.

Srisayam, M., & Chantawannakul, P. (2010). Antimicrobial and antioxidant properties of Thai honeys produced by *Apis mellifera* in Thailand. **Journal of ApiProduct and ApiMedical Science, 2(2),** 77–83.

Srisayam, M., Weerapreeyakul, N., Barusrux, S., & Kanokmedhakul, K. (2014). Antioxidant, antimelanogenic, and skin–protective effect of sesamol. **Journal of cosmetic science, 65**, 69–79.

Traber, M.G., & Stevens, J.F. (2011). Vitamins C and E: Beneficial effects from a mechanistic perspective. **Free Radic Biol Med, 51(5),** 1000–1013.

Utharalakshmi. N., Gayathri. S., Hansika. S., & Narendrakumar. G. (2020). Unlocking the Therapeutic Potential of *Syzygium cumini* Seeds Extract. **Current Trends in Biotechnology and Pharmacy, 14 (4),** 403–414.

Zhang, L.L., & Lin, Y.M. (2009). Antioxidant tannins from *Syzygium cumini* fruit. **Afr. J. Biotechnol, 8**, 2301–2309.