

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
ของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ
Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory of
Essential Oil from Pomelo Peel

ธนากรณ ดำสุด¹ ฌานิกา แซ่แง ชูกลิน^{2*} และกัตตินาฏ สกุลสวัสดิพันธ์²
Thanakon Dumsud¹ Chanika Saenge Chooklin^{2*} and Kattinat Sagulsawasdiapan²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางเคมีเบื้องต้น ได้แก่ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอจากเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาว โดยสกัดด้วยไอน้ำ พบว่าเปลือกส้มโอสีเขียวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดที่เวลา 30 นาที ทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยด้วยวิธี DPPH radical-scavenging assay (DPPH) และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครม (Dopachrome method) จากการศึกษาพบสารฟลักซ์เคมีเบื้องต้นในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) คูมาริน (coumarin) ซาโปนิน (saponin) แทนนิน (tannin) นอกจากนี้ในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอมีฟิโอบาแทนนิน (phlobatannins) และปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 155.62 ± 0.05 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g) 162.47 ± 0.03 มิลลิกรัมแทนนินต่อกรัมสารสกัด (mg TAE/g) และ 144.82 ± 0.05 มิลลิกรัมเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด (mg QE/g) ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 13.42 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครม พบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 12.58 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสามารถนำน้ำมันหอมระเหยที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางได้

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส น้ำมันหอมระเหย

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีผลิตภัณฑ์ความงาม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช

² สาขาวิชาการจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช

* Corresponding author e-mail: chanika.sae@gmail.com

DOI: <https://doi.org/10.65217/wichchajinstru.2024.v43i2.258403>

Received: 27 March 2023, Revised: 3 September 2023, Accepted: 11 September 2023

Abstract

The purpose of this research was to study the initial chemical activity, total phenolic content, total tannin content, total flavonoid content, antioxidant, and tyrosinase inhibitory activity of pomelo peel essential oil from green and white peel by steam extraction. It was found that green pomelo peel contained the highest essential oil content at 30 min. Antioxidant of essential oils by DPPH radical scavenging method and tyrosinase inhibition activity by Dopachrome method. Flobatannin, total phenolic, total tannin, and flavonoid content were 155.62 ± 0.05 mg GAE/g, 162.47 ± 0.03 mg TAE/g and 144.82 ± 0.05 mg QE/g, respectively. Antioxidant activity by DPPH radical scavenging method showed the highest antioxidant activity with an EC₅₀ value of 13.42 ± 0.06 mg/ml. The extract showed tyrosinase inhibitory activity with EC₅₀ of 12.58 ± 0.04 mg/ml.

Keywords: Antioxidant activity, Tyrosinase inhibition activity, Essencial oil

บทนำ

ส้มโอ (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) เป็นผลไม้ตระกูลส้มที่ใหญ่ที่สุด มีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และภูมิภาคอินโดจีน (Cheong *et al.*, 2011) อยู่ในวงศ์ Rutaceae เนื่องจากมีกลิ่นหอม รสชาติอร่อย คุณค่าทางอาหารและคุณค่าทางยาสูง ส้มโอจึงกลายเป็นหนึ่งในผลไม้ที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในโลกและเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไป ส้มโอมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมายรวมถึงแร่ธาตุและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด เช่น น้ำมันระเหยง่าย วิตามิน ฟีนอล ฟลาโวนอยด์ เพกติน และคูมาริน (Goh *et al.*, 2019) ตามแพทย์แผนจีน เนื้อส้มโอมีฤทธิ์บรรเทาอาการไอและหอบหืด ขับความร้อนและเสมหะ บำรุงม้าม ส่งเสริมการย่อยอาหาร บรรเทาความมันเมา และบรรเทาความกระสับกระส่าย การวิจัยทางการแพทย์สมัยใหม่พบว่าส้มโอมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Zhao *et al.*, 2019) ต้านออกซิเดชันและต้านไขมันในเลือดสูง (Wang *et al.*, 2019) เพิ่มประสิทธิภาพการล้างพิษตับและกิจกรรมต่อต้านการสร้างเม็ดสีผิว (He *et al.*, 2019) องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของส้มโอมีหลายชนิด ได้แก่ ปริมาณฟีนอลรวม แคโรทีนอยด์ วิตามินซี และโทโคฟีรอล

โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกส้มโอนั้นมีศักยภาพในการลดเรื้อรังรอย ลดการเกิดผิวหมองคล้ำ และชะลอวัย มักจะเป็นสารประเภทฟีนอลิก เช่น สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งสารประเภทนี้มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ดี และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญที่กระตุ้นการสร้างเม็ดสี ทำให้ผิวหมองคล้ำ สารกลุ่มนี้สามารถจับกับโลหะในโครงสร้างของเมทัลโลเอนไซม์ (metalloenzyme) ที่บริเวณเร่ง (active site) ได้ ทำให้ลดการสร้างเม็ดสีจากการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ทั้งนี้โครงสร้างของฟลาโวนอยด์บางชนิดมีหมู่แอลฟา-คีโต (-keto) หรือ 3-ไฮดรอกซี (3-hydroxy) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับหมู่ไดไฮดรอกซีฟีนิลของ 3,4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) จะทำให้สามารถจับคอปเปอร์ได้ (Ebanks *et al.*, 2009) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์คอลลาจีเนส (collagenase) ได้ในระดับหนึ่ง หากร่างกายมีปริมาณคอลลาจีเนส

มากจะกระตุ้นการทำลายเส้นใยคอลลาเจนทำให้ปริมาณคอลลาเจนลดลง ส่งผลให้เซลล์ผิวหนังเสื่อมสภาพ เป็นที่มาของการเกิดริ้วรอยหรือการแก่ก่อนวัย (Fisher *et al.*, 2008) ซึ่งสารประเภทนี้ มักจะไม่เป็นพิษต่อเซลล์

ในปัจจุบันการประยุกต์ใช้น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกผลไม้เป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ตามธรรมชาติได้ งานวิจัยเกี่ยวกับส้มโอเน้นที่การใช้ประโยชน์จากเปลือกส้มโอ เช่น การวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ และการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพมีค่อนข้างมาก ในขณะที่มีงานวิจัยเกี่ยวกับการเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของเปลือกส้มโอที่เป็นลักษณะเปลือกเขียว (ด้านนอก) และเปลือกขาว (ด้านใน) และการนำน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ไปใช้ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสค่อนข้างน้อย ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาหาสารประกอบทางเคมีที่ได้จากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติโดยเฉพาะจากส่วนสกัดจากเปลือกผลไม้เหลือทิ้งที่มีอยู่ในท้องถิ่น โดยเฉพาะเปลือกส้มโอ ซึ่งน่าจะมีสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับสารตั้งต้น และสามารถแสดงผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหย

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอเหลือทิ้ง 1) เปลือกสีเขียว 2) บริเวณเนื้อสีขาวก่อนถึงผล โดยนำตัวอย่างทั้ง 2 ชนิด มาล้างด้วยน้ำให้สะอาดแล้วผึ่งให้แห้งพอหมาด จากนั้นหั่นตัวอย่างให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ชั่งน้ำหนัก 250 กรัม แล้วนำตัวอย่างที่เตรียมไว้ใส่ในขวดก้นกลม และทำการสกัดโดยการสกัดแยกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ 1) สกัดจากเปลือกสีเขียว 2) สกัดบริเวณเนื้อสีขาวของเปลือกส้มโอ โดยการกลั่นด้วยไอน้ำด้วยชุดอุปกรณ์การกลั่นด้วยไอน้ำ เปิดน้ำเข้าเครื่องควบแน่นและเปิดให้ความร้อน ตามลำดับ ทิ้งไว้จนได้น้ำมันหอมระเหยออกมาในภาชนะรองรับ เก็บสารที่ได้ใส่กรวยแยก ทิ้งไว้ให้เย็นแยกชั้นไข เก็บส่วนน้ำมันหอมระเหย และทำการขจัดน้ำออกด้วยการเติมโซเดียมซัลเฟต (anhydrous Na_2SO_4) และเก็บส่วนที่เป็นน้ำมันหอมระเหยใสขวด จากนั้นชั่งน้ำหนักของน้ำมันหอมระเหยที่ได้ และเก็บในภาชนะขวดสีชาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปใช้ทดลองต่อไป

2. การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ โดยแบ่งการทดสอบสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ออกเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) แอนทราควิโนน (anthraquinone) คูมาริน (coumarin) ซาโปนิน (saponins) แทนนิน (tannin) โพลบาแทนนิน (phlobatannins) เทอร์พีนอยด์ (terpenoid) สเตียรอยด์ (steroid) และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ (cardiac glycoside) โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน โดยการทดสอบนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ (Ayoola *et al.*, 2008; นกตล และคณะ, 2565) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (ดัดแปลงวิธีจาก Tsai *et al.*, 2005)

โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยทำการผันแปรความเข้มข้น 0 20 40 60 และ 80 ส่วนในล้านส่วน (ppm) ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย folin-ciocalteu ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมสารละลายโซเดียม

คาร์บอเนต (Na_2CO_3 ร้อยละ 7) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยนำค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก และนำเสนอในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg GAE/g extract) โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4. การหาปริมาณแทนนินรวม (ดัดแปลงวิธีจาก Tsai *et al.*, 2005)

โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแทนนินให้มีความเข้มข้นเป็น 0 20 40 60 และ 80 ส่วนในล้านส่วน ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลาย folin-ciocalteu ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 ร้อยละ 7) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยนำค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานแทนนินในสารสกัดจากกราฟมาตรฐานของกรดแทนนิกและนำเสนอในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแทนนิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg TAE/g extract) โดยแต่ละตัวอย่างทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak *et al.*, 2008)

ด้วยวิธี aluminium trichloride colorimetric โดยทำการผสมสารละลายมาตรฐานเคอร์ซีติน ผันแปรความเข้มข้นเป็น 0 20 40 60 และ 80 ส่วนในล้านส่วน ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมไตรคลอไรด์ (AlCl_3 ร้อยละ 1) ปริมาตร 1.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยนำค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีตินและนำเสนอในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซีตินต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mg QE/g extract)

6. การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (ดัดแปลงวิธีจาก Prommuak *et al.*, 2008)

เตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT (butylated hydroxytoluene) BHA (butylated hydroxyanisole) หรือสารสกัดหยาบของตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 500.00 250.00 125.00 62.50 และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ($\mu\text{g/mL}$) ปิเปตสารละลายมาตรฐานหรือสารสกัดที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH 6×10^{-5} โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลังจากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณหาค่าร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) จากสมการ (1)

$$\text{การทำให้ลายอนุมูลอิสระ} = \frac{\text{ร้อยละ} \quad \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH}} \times 100 \quad (1)$$

นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลงร้อยละ 50 (effective concentration: EC50) จากกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับร้อยละการทำลายอนุมูลอิสระ

7. การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (ดัดแปลงวิธีจาก Li *et al.*, 2010)

โดยนำสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดโคจิก (kojic acid) ผสมสารละลายให้เข้ากันดีแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-DOPA 50 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงในจานหลุม (microplate reader) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้งที่ความยาวคลื่นเดิม แล้วคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (% inhibition) ดังสมการ (2)

$$\text{ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับ DPPH}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH}} \times 100 \quad (2)$$

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารสกัดกับร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (EC50)

ผลการวิจัย

1. การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอ

การสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอเหลือทิ้ง ได้แก่ 1) เปลือกสีเขียว 2) บริเวณเนื้อสีขาวก่อนถึงผล ด้วยวิธีการกลั่นด้วยไอน้ำ โดยปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ ณ เวลาต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยการกลั่นด้วยไอน้ำที่เวลาต่าง ๆ

ชนิดตัวอย่าง	น้ำหนัก (กรัม)	ปริมาณน้ำมันหอมระเหย (มิลลิลิตร)					
		30 นาที	45 นาที	60 นาที	90 นาที	120 นาที	180 นาที
เปลือกสีเขียว	500	5.25	4.28	3.55	2.14	2.05	0.10
เปลือกสีขาว	500	2.95	2.89	2.55	1.98	1.85	<0.10

จากตารางที่ 1 แสดงปริมาณน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ โดยพบว่า การสกัดโดยใช้เวลา 30 นาที ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดทั้งเปลือกส้มโอที่เป็นเปลือกสีเขียวและเปลือกสีขาว โดยมีปริมาณ 5.25 มิลลิลิตร และ 2.95 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากผลการทดลองพบว่าเปลือกส้มโอที่เป็นเปลือกสีเขียวมีปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากกว่าเปลือกสีขาว จึงเลือกน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอที่เป็นเปลือกสีเขียว ในการทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป

2. การทดสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การทดสอบฤทธิ์เคมีเบื้องต้นของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสีเขียวที่สกัดได้ โดยแบ่งการทดสอบออกเป็น 9 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ แอนทราควิโนน คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน โพลีฟีนอล เทอร์ปีนอยด์ สเตียรอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ อาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบว่าสารออกฤทธิ์ทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ มี 5 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน โพลีฟีนอล และแทนนิน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การทดสอบฤทธิ์ทางเคมีเบื้องต้นของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอทั้งสองลักษณะที่สกัดได้

สารออกฤทธิ์ทางเคมี	น้ำมันหอมระเหย
ฟลาโวนอยด์	+
แอนทราควิโนน	-
คูมาริน	+
ซาโปนิน	+
แทนนิน	+
โพลีฟีนอล	+
เทอร์ปีนอยด์	-
สเตียรอยด์	-
คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	-

หมายเหตุ: - หมายถึง ทดสอบไม่พบสาร และ + หมายถึง ทดสอบพบสาร

3. ผลการหาปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และฟลาโวนอยด์รวมของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสีเขียวที่สกัดได้

เมื่อนำน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสีเขียวที่สกัดได้มาทำการหาปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และฟลาโวนอยด์รวม พบว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสีเขียวที่สกัดได้ มีปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 155.62 ± 0.05 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด 162.47 ± 0.03 มิลลิกรัมแทนนินต่อกรัมสารสกัด และ 144.82 ± 0.05 มิลลิกรัมเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณฟีนอลิกรวม แทนนินรวม และฟลาโวนอยด์รวมของน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอสีเขียวที่สกัดได้

สารสำคัญ	น้ำมันหอมระเหย ที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ
ปริมาณฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด)	155.62±0.05
ปริมาณแทนนินรวม (มิลลิกรัมแทนนินต่อกรัมสารสกัด)	162.47±0.03
ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด)	144.82±0.05

4. ผลการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ผลการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียว แสดงให้เห็นว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 13.42 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน BHA และ BHT น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารมาตรฐาน ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียว

สาร	EC50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
น้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียว	13.42 ± 0.06
สารมาตรฐาน BHA	15.85 ± 0.04
สารมาตรฐาน BHT	16.55 ± 0.02

5. ผลการหาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

ผลการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียว โดยนำน้ำมันหอมระเหยไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธีโดปาโครม (Dopachrome method) เปรียบเทียบกับวิตามินซี และคำนวณหาความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ร้อยละ 50 (EC50) พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียวสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 12.58 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ

สารสกัด	EC50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
EC50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	12.58 ± 0.04
วิตามินซี	14.25 ± 0.02

การอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาการสกัดน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้ พบว่าการสกัดโดยใช้เวลาในการสกัด 30 นาที ได้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยมากที่สุดด้วยเปลือกส้มโอสีเขียว โดยมีปริมาณ 5.25 มิลลิลิตร

สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียว เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอสีเขียวมีปริมาณสารดังกล่าวเท่ากับ 155.62 ± 0.05 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด 162.47 ± 0.03 มิลลิกรัมแทนนินต่อกรัมสารสกัดและ 144.82 ± 0.05 มิลลิกรัมเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของน้ำมันหอมระเหยแปรผกผันกับความเข้มข้นของสารที่ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมักแสดงด้วยค่า EC50 คือ ความเข้มข้นของตัวอย่างพืชที่ส่งผลให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ (DPPH) ลดลงครึ่งหนึ่ง ค่า EC50 ที่ต่ำจึงแสดงถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง โดยน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 12.58 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกส้มโอมีหลายงานวิจัย ได้แก่ เปลือกส้มโอพบองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ แคโรทีนอยด์ วิตามินอี ฟลาโวนอยด์ โกลโมนอยด์ องค์ประกอบของฟีนอลิก ลิกนิน ไฟเบอร์เพกทิน และน้ำมันหอมระเหย ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ โดยพบสารประกอบฟีนอล เช่น ปริมาณฟีนอลิก ปริมาณฟลาโวนอยด์อยู่เป็นจำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ บัณฑิตวรรณ และคณะ (2559) ได้วิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของส้มโอ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ทับทิมสยาม สายพันธุ์ทองดี และสายพันธุ์ขาวน้ำผึ้ง พบว่าเปลือกนอกสุด (flavedo) จากส้มโอทั้ง 3 สายพันธุ์มีปริมาณฟีนอลิกสูง โดยมีค่าเท่ากับ 14.20 ± 0.38 12.74 ± 0.24 และ 10.20 ± 0.20 มิลลิกรัมต่อกรัมสารสกัด (mg/g extract) ตามลำดับ และ Fidrianny *et al.* (2016) ได้ศึกษาเปลือกส้มโอโดยใช้ตัวละลายเอทานอล เฮกเซน และเอทิลอะซิเตทในการสกัดเปลือกส้มโอเพื่อหาปริมาณฟลาโวนอยด์ พบว่าการสกัดด้วยตัวละลายเอทิลอะซิเตท จะให้ปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมา คือ เฮกเซนและเอทานอล มีค่าเท่ากับ 5.69 3.31 และ 1.17 กรัมแควอซีทิน (Quercetin) ต่อ 100 กรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกส้มโอโดยจากการศึกษาของกิตติศักดิ์ และรัฐพล (2565) ตรวจหาปริมาณฟีนอลิกรวม โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน ฟลาโวนอยด์รวมโดยใช้แควอซีทินเป็นสารมาตรฐาน วิตามินซีโดยใช้วิธีไทเทรตกับสารละลายไอโอดีน และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากส่วนต่าง ๆ ของผลส้มโอ 3 สายพันธุ์ คือ ขาวหอม ทองดี และมณีอีสาน จากการศึกษาพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีมากที่สุดในส่วนของเปลือกกลางของสายพันธุ์ขาวหอม (98.11 ± 8.70 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม) ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมีมากที่สุดในส่วนเนื้อของสายพันธุ์ขาวหอม (54.60 ± 1.05 มิลลิกรัมสมมูลแควอซีทินต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม) ปริมาณวิตามินซีมีมากที่สุดในส่วนเนื้อของสายพันธุ์ทองดี (57.64 ± 2.17 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักแห้ง 1 กรัม) สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าส่วนเนื้อของสายพันธุ์ขาวหอมและทองดีมีฤทธิ์ดีที่สุด

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอด้วยวิธีโดปาโครม โดยการเปรียบเทียบกับวิตามินซีที่ใช้เป็นสารมาตรฐานเชิงบวก ผลการศึกษาพบว่าสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 12.58 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการศึกษาพบว่ากลุ่มสารที่ยับยั้งคือ กลุ่มสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ที่พบในสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คุมาริน ซาปนิน แทนนิน เป็นต้น ที่พบในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากเปลือกส้มโอ มีการศึกษาว่าสารที่มีหมู่ไฮดรอกซิลสามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับเอนไซม์ไทโรซิเนส ส่งผลให้เกิดไฮโดรไลซิส (hydrolysis) กับซับสเตรต (substrate) ลดลง หรือไม่เกิดปฏิกิริยา (Alam *et al.*, 2011)

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวมในน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโอที่สกัดได้ พบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นรวม 5 กลุ่ม คือ ฟลาโวนอยด์ คุมาริน ซาโปนิน แทนนิน และโพลีฟีนอล มีปริมาณฟีนอลิกรวม 155.62 ± 0.05 มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ปริมาณแทนนินรวม 162.47 ± 0.03 มิลลิกรัมแทนนินต่อกรัมสารสกัด และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม 144.82 ± 0.05 มิลลิกรัมเคอร์ซีตินต่อกรัมสารสกัด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 13.42 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 12.58 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ที่ให้การสนับสนุนทุนในการวิจัย อุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- นภดล ลาเกสงค์ ทศนัย โสคันติกอุบล สรวีย์ ศิริพิลา จันจิรา จรามรบูรพงค์ สมปอง ทองงามดี อรุณรัตน์ สันฐิติกวินสกุล และรุ่งทิพา ชิตทอง. (2565). การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นและปริมาณฟีนอลิกรวมของใบจันทน์หอม. *การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 14 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม*. นครปฐม.
- กิตติศักดิ์ สุขเพ็ญ และรัฐพล ไกรกลาง. (2565). ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม วิตามินซี และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของส้มโอสายพันธุ์ขาวหอม ทองดี และมณีอีสาน. *วารสารวิจัยสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 15(4), 14-28.
- บันทรวรรณ ธุระพระ จันทนา บุญยะรัตน์ เยาวเรศ ชูลิขิต และสุภาวดี ดาวดี. 2559. การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในส้มโอ. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน*, 11(พิเศษ), 80-91.
- Alam, N., Yoon, K.N., Cha, Y.J., Kim, J.H., Lee, K.R. and Lee, T.S. (2011). Appraisal of the antioxidant, phenolic compounds concentration, xanthin oxidase and tyrosinase inhibitory activities of *Pleurotus salmoneostramineus*. *African Journal of Agricultural Research*, 6(6), 1555-1563.

- Ayoola, G.A., Coker, H.A., Adesegun, S.A., Adepoju-Bello, A.A., Obaweya, K., Ezennia, E.C. and Atangbayila, T.O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 1019-1024, doi: <https://doi.org/10.4314/tjpr.v7i3.14686>.
- Cheong, M.W., Loke, X.Q., Liu, S.Q., Pramudya, K., Curran, P. and Yu, B. (2011). Characterization of volatile compounds and aroma profiles of Malaysian pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) blossom and peel. *Journal of Essential Oil Research*, 23(2), 34-44, doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700445>.
- Ebanks, J.P., Wickett, R.R. and Boissy, R.E. (2009). Mechanisms regulating skin pigmentation: The rise and fall of complexion coloration. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(9), 4066-4087, doi: <https://doi.org/10.3390/ijms10094066>.
- Fidrianny, I., Sari, E. and Ruslan, K. (2016). Phytochemical content and antioxidant activities in different organs of pomelo (*Citrus maxima* [BURM.] MERR.) using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl and phosphomolybdenum assays. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(suppl 2), 185-190, doi: <https://doi.org/110.22159/ajpcr.2016.v9s2.13526>.
- Fisher, G.J., Varani, J. and Voorhees, J.J. (2008). Looking older: Fibroblast collapse and therapeutic implications. *Archives of Dermatology*, 144(5), 666-672, doi: <https://doi.org/10.1001/archderm.144.5.666>.
- Goh, R.M.V., Lau, H., Liu, S.Q., Lassabliere, B., Guervilly, R., Sun, J., Bian, Y. and Yu, B. (2019). Comparative analysis of pomelo volatiles using headspace-solid phase micro-extraction and solvent assisted flavor evaporation. *Food Science and Technology*, 99, 328-345, doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.073>.
- He, W., Li, X., Peng, Y., He, X. and Pan, S. (2019). Anti-oxidant and anti-melanogenic properties of essential oil from peel of pomelo cv. Guan Xi. *Molecules*, 24(2), 242-245, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24020242>.
- Li, X., Guo, L., Sun, Y., Zhou, J., Gu, Y. and Li, Y. (2010). Baicalein inhibits melanogenesis through activation of the ERK signaling pathway. *International Journal of Molecular Medicine*, 25(6), 923-927, doi: https://doi.org/10.3892/ijmm_00000423.
- Prommuak, C., De-Eknamkul, W. and Shotipruk, A. (2008). Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extract. *Separation and Purification Technology*, 62(2), 444-448, doi: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2008.02.020>.

- Tsai, C.C., Chen, H.S., Chen, S.L., Ho, Y.P., Ho, K.Y., Wu, Y.M. and Hung, C.C. (2005). Lipid peroxidation: A possible role in the induction and progression of chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 40(5), 378-384, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00818.x>.
- Wang, F., Lin, J., Xu, L., Peng, Q., Huang, H., Tong, L., Lu, Q., Wang, C. and Yang, L. (2019). On higher nutritional and medical properties of a carotenoid-rich mutant pomelo (*Citrus maxima* (L.) Osbeck). *Industrial Crops and Products*, 127(3), 142-147, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.10.065>.
- Zhao, Y.L., Yang, X.W., Wu, B.F., Shang, J.H., Liu, Y.P., Dai, Z. and Luo, X.D. (2019). Anti-inflammatory effect of pomelo peel and its bioactive coumarins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 67, 8810-8818, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b02511>.