โครงงานทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

การศึกษาสารสกัดจากเปลือกมะละกอและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

PAPAYA PEEL EXTRACT AND ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY FOR APPLICATION IN COSMETIC PRODUCTS

โดย

นางสาวสุชาดา ห้วยสุข

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2567

ใบรับรองโครงงานทางวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ

คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวภาพ วิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ

สาขา **ภาควิชา**

เรื่อง การศึกษาสารสกัดจากเปลือกมะละกอและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

PAPAYA PEEL EXTRACT AND ITS ANTIOXIDANT ACTIVITY FOR APPLICATION IN COSMETIC PRODUCTS

นามผู้วิจัย นางสาวสุชาดา ห้วยสุข

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ .....

(อาจารย์ พุทธพร ส่องศรี, D.Eng.)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์แตงอ่อน พรหมมิ, ปร.ด.)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ

วันที่ ..... **เดือน** **พ.ศ.2567**

การศึกษาสารสกัดจากเปลือกมะละกอและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

สุชาดา ห้วยสุข และ พุทธพร ส่องศรี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่พบในเปลือกมะละกอ ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการแปรรูปมะละกอ มะละกอมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลิก ที่ช่วยสนับสนุนสุขภาพหัวใจและหลอดเลือด และอาจช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ วิธี Folin-Ciocalteu ได้ยืนยันถึงการมีอยู่ของสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกมะละกอ ขณะที่การทดสอบ DPPH ยืนยันถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้วิธีอลูมิเนียมคลอไรด์ระบุถึงการมีอยู่ของฟลาโวนอยด์ พบว่าเปลือกมะละกอยังสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอีกด้วย ผลการศึกษาเหล่านี้ช่วยสนับสนุนว่าเปลือกมะละกอ ซึ่งมักถูกมองว่าเป็นของเสียทางการเกษตร อาจมีคุณค่าในฐานะแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ งานวิจัยนี้ย้ำให้เห็นถึงศักยภาพในการลดของเสียและส่งเสริมการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ

คำสำคัญ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ, ฟีนอลิก, เปลือกมะละกอ, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

_____ _____ ____/____/____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

Papaya peel extract and its antioxidant activity for application in cosmetic products

Suchada Huaisuk and Puttaporn Songsri

ABSTRACT

This study investigates the bioactive compounds and antioxidant properties found within papaya peels, a common byproduct of papaya processing. Papaya contains antioxidants, like flavonoids and phenolic compounds, that support cardiovascular health and may help prevent colon cancer. The Folin-Ciocalteu method revealed the presence of phenolic compounds within papaya peels, while DPPH assays confirmed antioxidant activity. Additionally, the Aluminum chloride method indicated the presence of flavonoids. Papaya peels were also found to inhibit the tyrosinase enzyme. These findings suggest that papaya peels, often considered agricultural waste, hold potential value as a source of bioactive compounds with antioxidant properties. This research underscores the potential to reduce waste and promote applications in various industries.

Keywords: Bioactive Compounds, Phenolic, Papaya Peel , Antioxidant Properties

_____ _____ ____/____/____

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ

บทนำ

ในปัจจุบันเศษเหลือทิ้งจากผลผลิตทางการเกษตรมีแนวโน้มการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง การก่อให้เกิดเศษเหลือทิ้งในปริมาณมากโดยเฉพาะส่วนเปลือกและเมล็ดของผลไม้ เศษเหลือทิ้งเหล่านี้มีทั้งส่วนที่เป็นของแข็ง ของเหลว ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมและสูญเสียงบประมาณในการกำจัดของเสียตามมา การเพิ่มมูลค่าของผลิตผลพลอยได้และเศษเหลือทิ้งจากเปลือกผลไม้มีเป้าหมายสำคัญ คือ เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบสูงสุด เพื่อลดปัญหาสิ่งแวดล้อม ลดความจำเป็นในการกำจัดของเสีย และการใช้ประโยชน์จากของเหลือใช้ รวมถึงการผลิตมะละกอเพื่อแปรรูปนำไปปรุงอาหาร เช่น ส้มตำ ส่วนที่เหลือจะเป็นวัตถุดิบที่เหลือทิ้งได้แก่ เปลือกและเมล็ด ชัย ชวนชื่น (2548) รายงานว่ามะละกอเป็นพืชที่มีการปลูกกันมาเป็นเวลานาน จนหลายคนเข้าใจกันว่าเป็นพืชพื้นเมืองดั้งเดิมของไทย เนื่องจากเป็นพืชที่มีประโยชน์มากจนอาจกล่าวได้ว่าแทบทุกส่วนของต้นมะละกอมีประโยชน์แทบทั้งสิ้นและคนไทยรู้จักคุ้นเคยและนำมะละกอไปใช้ประโยชน์มากมายหลายอย่างในชีวิตประจำวัน

มะละกอ (*Carica papaya* L.*)* อยู่ในวงศ์Caricaceae ประเทศไทยเป็นประเทศเขตร้อนที่มีการเพาะปลูกและบริโภคมะละกอในปริมาณที่สูงประกอบกับมะละกอมีปริมาณแคโรทีนซึ่งเป็นสารที่ช่วยในการป้องกันการทำลายของอนุมูลอิสระมากกว่าผลไม้ชนิดอื่นๆ เช่น แอปเปิ้ล ฝรั่ง เป็นต้น มะละกออุดมไปด้วยวิตามิน เอ บี1 บี2 และ ซี มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบร้อยละ 5 โดยจะแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ (Sankat & Maharaij, 1997) ซูโครส (Sucrose) ฟรุกโตส (Fructose) และกลูโคส (Glucose) จะพบได้ในปริมาณสูงเมื่อเป็นมะละกอสุก โดยมีน้ำตาลร้อยละ 10-13 (Zhou & Paull, 2001) รงควัตถุ (Pigments) ในมะละกอเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ละลายในน้ำ พบในแวคิวโอล ได้แก่ สารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) และ กลุ่มที่ละลายในไขมันพบในพลาสติด(Plastid) มีหลายชนิด เช่น สารสีเขียวในคลอโรฟิลล์เอ และบี สารสีเหลืองในแคโรทีน และสารสีแดงในไลโคปีน (สารแคโรทีนอยด์ (Carotenoid) ที่พบในมะละกอ ส่วนใหญ่คือ ไลโคปีน (Lycopene) และเบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) มีรายงานว่ามะละกอแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณแคโรที่นอยด์รวมแตกต่างกัน โดยผลสุกของมะละกอมีค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ ระหว่าง 0.005-0.676 มิลลิกรัมเบต้าแคโรทีนต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด (Parmeshwar et al.. 2015) นอกจากนี้เอนไซม์ปาเปนที่พบในมะละกอ มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย ทั้งด้านเภสัชกรรม โรงงานเครื่องหนัง อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สปา เอนไซม์ปาเปนนำมาใช้ในเครื่องสำอางได้เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายคอลลาเจนได้ ช่วยเร่งการผลัดเปลี่ยนเซลล์ผิว

จึงใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ แอลฟาไฮดรอกซีแอซิด (alphahydroxy acids; AHA) ได้ และมีคุณสมบัติช่วยย่อยโมเลกุลของโปรตีนด้วย

จากดังกล่าวข้างต้น มะละกอเป็นวัตถุเหลือใช้ทางการเกษตร แม้ว่าผู้บริโภคจะซื้อมะละกอไปรับประทานก็ยังคงเหลือเปลือกและเมล็ดไว้ ซึ่งเปลือกของมะละกอมีการนำมาใช้ประโยชน์โดยพัฒนาเป็นแหล่งของเภสัชกรรม โรงงานเครื่องหนัง นอกจากนี้ ยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารสัตว์อีกด้วย ซึ่งส่วนของมะละกอที่จัดเป็นของเหลือมากที่สุดคือ เปลือก ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์จะศึกษาสารสกัดจากเปลือกมะละกอและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และกิจกรรมทางชีวภาพของสารสกัด เพื่อนำมาพัฒนาไปใช้ประโยชน์ในเชิงอุตสาหกรรมอาหาร ผลิตเวชสำอาง

อุปกรณ์และวิธีการ

1.การเตรียมตัวอย่างเปลือกมะละกอ

นำมะละกอมาปอกเปลือกและหั่นเปลือกมะละกอให้มีขนาดเล็ก ชั่งน้ำหนักสดก่อนเข้าตู้อบลมร้อนน้ำหนักได้ 322.85 กรัม จากนั้นนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส(เป็นอุณหภูมิสูงที่สุดที่ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหลืออยู่มาก แต่ป้องกันการเกิดเชื้อราได้) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเปลือกมะละกอมาชั่งน้ำหนักแห้งได้ 31.97 กรัม (ความชื้นหายไป 90.09%)

การคำนวณความชื้นที่หายไปเป็น % ในการอบลมร้อน $\frac{\text{น้ำหนักสด}-\text{น้ำหนักแห้ง}}{\text{น้ำหนักสด}} x100$

2.การเตรียมสารสกัดจากเปลือกมะละกอ

นำตัวอย่างเปลือกมะละกอแห้งที่ 31.07 กรัม นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย 95%Ethanol 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวด Duran เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง กรองสารสกัดโดยใช้กระดาษกรอง Whatman เบอร์1 แยกกากทิ้ง จากนั้นนำสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่ได้มาบรรจุใส่ในขวดดูแรน ขนาด 100 ml เพื่อไปใช้วิเคราะห์ขั้นตอนถัดไป

3.การทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การหาปริมาณฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกมะละกอ โดยวิธี Folin-Ciocalteu

ดัดแปลงวิธีบางส่วนจาก Singleton et al. (1996) เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ในน้ำกลั่นความเข้มข้นต่างๆ (0,20,40,60,80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร) จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายที่เจือจาง

แล้วใส่หลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร เตรียมสารสกัดตัวอย่างเจือจาง95%เอทานอล 1:10 ,1:100 และ 1:1000 ตามลำดับ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu Reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 7 % Sodium Carbonate (Na_2CO_3) หลอดละ 4 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง เขย่าให้สารละลายผสมกัน ตั้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer คำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

4.การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Andrica et al. (2016) เตรียมสารมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT) ใน methanol ความเข้มข้นต่างๆ (0,20,40,60,80 และ 100 µg/mL) จากนั้นใช้ปิเปตดูดสารละลายที่ เจือจางแล้วใส่หลอดทดลองปริมาตรหลอดละ 1 มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารสกัดตัวอย่างเจือจางด้วยเมทานอล 1:10 และ 1:100 ตามลำดับ ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 3 มิลลิลิตรทุกหลอด จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ใน methanol เข้มข้น 1 mmol/Lปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรทุกหลอด เขย่าให้ผสมกัน เก็บไว้ในที่มืด 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer จากนั้นเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ กับสารละลายมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT) โดยใช้ %Radical scavenging

5.การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์

การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมใช้วิธี Aluminium chloride ดัดแปลงวิธีบางส่วนจาก ภานุมาศ (2563) เตรียมสารมาตรฐานเควอซิทิน ความเข้มข้นต่างๆ (0,40,80 และ 120 µg/mL) จากนั้นเตรียมสารสกัดเปลือกมะละกอที่ละลายด้วยตัวทำละลาย 95%Ethanol ปริมาตร 500 µl ละลายด้วยตัวทำละลาย 95%Ethanolปริมาตร 1.5 ml เติม 1 M Potassium acetate 100 µl จากนั้นเติม 10%Aluminium chloride 100 µl และเติมน้ำกลั่น 3 ml เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่องเขย่าสาร ตั้งทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 20 นาทีนำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 กmด้วยเครื่อง Spectrophotometer รุ่น Novaspec Plus คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Quercetin ในช่วงความเข้มข้น40-200 µg/ml และแสดงข้อมูลในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของเควอซิทินต่อกรัมน้ำหนักแห้ง(ug of quercetinequivalents (QE) /g dryweight)

6.การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (Tyrosinase)

การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยดัดแปลงวิธีการของ (Neagu et al., 2016) โดยเติมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 12 ยูนิตต่อ 100 µl ปริมาตร 500 µlจากนั้นเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆกัน ปริมาตร 100 µl ตามด้วยเติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M พีเอช 6.8 ปริมาตร 4 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) ความเข้มข้น 2.5mM ปริมาตร 200 µl วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงตามเวลาที่ 0,8,14และ 21นาที หลังเกิดปฏิกิริยาซึ่งทำสามซ้ำ โดยใช้ kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

7.การผลิตซีรั่มบำรุงผิวผสมสารสกัดเปลือกมะลอกอ

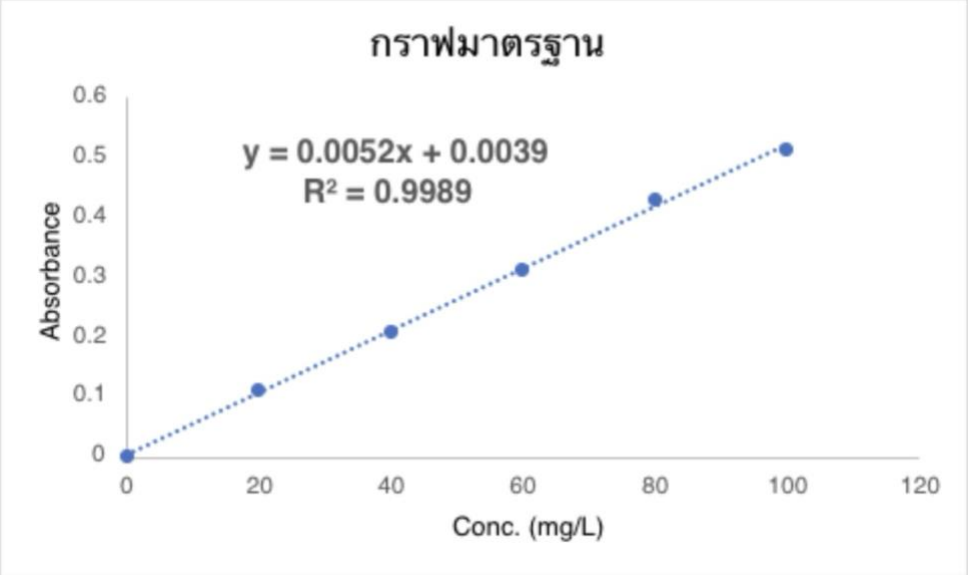
เตรียมผลิตภัณฑ์ ไซริส เซรั่ม เอ (Sciwis Serum A) ที่มีส่วนผสมของ Aqua,Propylene glycol, Butylene Glyco, Glycerin, Phenolxy Ethanol, DMDM Hydantoin, Hydroxyethylcellulose จากนั้นใส่สารสกัดเปลือกมะละกอ และเติมกลิ่นสังเคราะห์และสารกันเสีย ลงไปกวนให้เข้ากันอีกครั้งจึงจะสามารถนำมาบรรจุลงภาชนะตามต้องการ

8.การวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองทั้งหมดดำเนินการ 3 ซ้ำและวิเคราะห์ข้อมูลโดยการใช้การทดสอบANOVA ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) ค่าเฉลี่ยถูกแยกโดยการใช้การทดสอบหลายช่วง และพิจารณาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ $p \leq 0.05$

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากเปลือกมะละกอด้วยวิธีFolin-Ciocalteu พบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟสารมาตรฐานของกรดแกลลิก แสดงให้เห็นว่าเปลือกมะละกอ มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ และมีปริมาณฟีนอลิกโดยรวม สูงสุดเท่ากับ 0.174 mg GAE/gDW และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย 0.181 ± 0.006 mg GAE/gDW

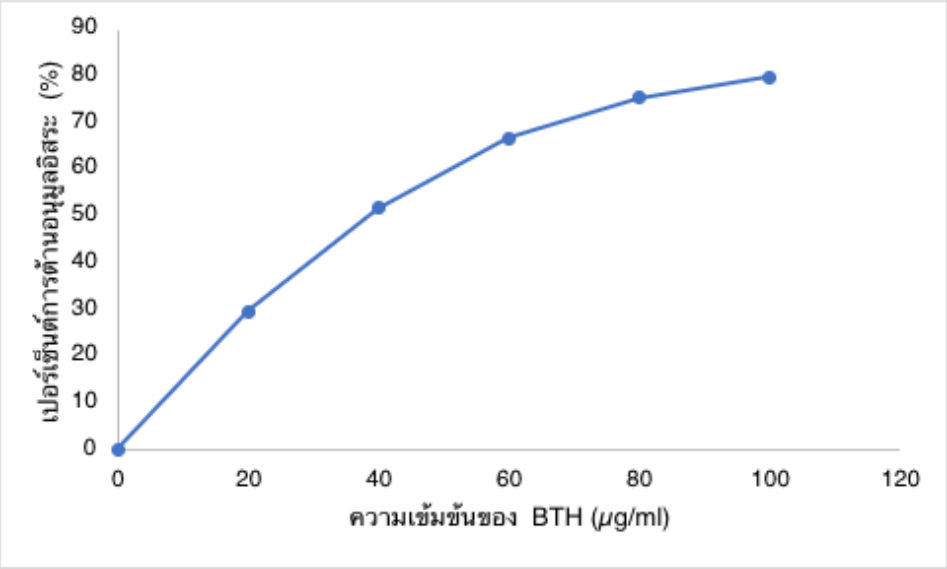


ภาพที่ 1 กราฟมาตรฐานของแกลลิก

ตารางที่ 1 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเปลือกมะละกอ

	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด			ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย
ตัวอย่าง	1	2	3	(mg GAE/g DW) ± SD
1:10	0.174	0.171	0.169	0.181 ± 0.006

ผลการทดสอบผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมะละกอโดยใช้ % DPPH scavenging activity พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:10 และสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:100 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 52.38% และ 8.57% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มีเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ยเท่ากับ 52.14 ± 0.221

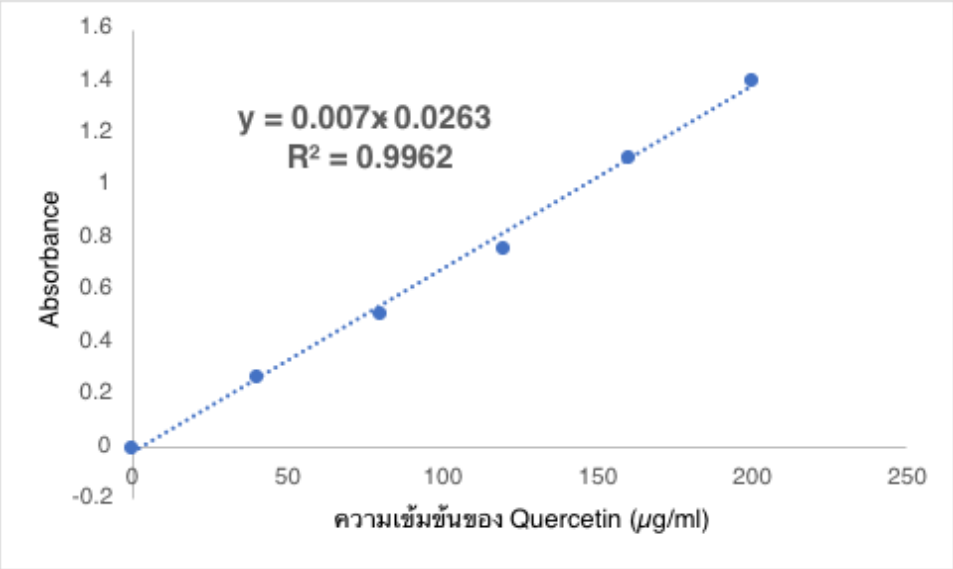


ภาพที่ 2 กราฟมาตรฐานของ Butylated hydroxytoluene (BHT)

ตารางที่ 2 ผลการหา % ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมะละกอ เทียบเท่ากราฟมาตรฐาน BHT ที่ความเข้มข้น 0,20,40,60,80,100,120 ไมโครกรัมต่อลิตร

ตัวอย่าง	%Radical scavenging			ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเฉลี่ย ± SD
	1	2	3	
1:10	52.38	52.12	51.94	52.14 ± 0.22
1:100	8.57	8.48	8.31	8.45 ± 0.13

ผลการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเปลือกมะละกอ พบว่าเปลือกมะละกอ มีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ มีปริมาณฟลาโวนอยด์โดยรวมสูงสุดเท่ากับ 0.910 mg QE/gDW และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ย 0.905 ± 0.005 mg QE/gDW



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐานของ Quercetin

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเปลือกมะละกอ

ตัวอย่าง	ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด			ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ย (mg QE/gDW) ± SD
	1	2	3	
1:10	1.774	1.770	1.698	1.747 ± 0.042
1:100	0.910	0.900	0.905	0.905 ± 0.005

ผลการทดสอบหาสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกมะละกอพบว่า การเปลี่ยนแปลงการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร ณ เวลา 21 นาที เทียบกับเวลา 0 นาที สารสกัดเปลือกมะละกอที่ความเข้มข้น 1:100 มีค่าการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด 21.87 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน kojic acid ที่มีการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 50.0 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดสอบสารสกัดเปลือกมะละกอมีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ มีประสิทธิภาพยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเฉลี่ย 0.089 ± 0.011 แสดงว่าเปลือกมะละกอสามารถสกัดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้

ตารางที่ 4 ผลประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

ค่าดูดกลืนแสงที่ 475 nm					
ตัวอย่าง	**ΔA/นาที ประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส**				**ประสิทธิภาพยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเฉลี่ย**
	0	8	14	21	
สารสกัดตัวอย่าง 1:100 ครั้งที่1	0.074	0.090	0.096	0.099	0.089 ± 0.011
สารสกัดตัวอย่าง 1:100 ครั้งที่2	0.073	0.089	0.094	0.099	0.088 ± 0.011
สารสกัดตัวอย่าง 1:100 ครั้งที่3	0.074	0.088	0.094	0.099	0.088 ± 0.010

ตัวอย่าง	**ค่าเฉลี่ยรวม 3 ซ้ำ ณ เวลาทุกนาที (0 และ 21 นาที) (nm)**	**การยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ไทโรซิเนส (%) ± SD**
blank	0	0
control	0.032	0
kojic	0.016	50.00 ± 0.007
ความเข้มข้น 1 : 100	0.025	21.87 ± 0.011

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเปลือกมะละกอ พบว่า เปลือกมะละกอ มีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ และมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย 0.181 ± 0.006 mg GAE/gDW สอดคล้องกับวิจัยที่กล่าวว่าในเปลือกของผลไม้มีปริมาณฟีนอลิกที่สูง (suttida, 2022) การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกมะละกอ ด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเท่ากับ 0.552 ± 0.002 ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:100 การศึกษาปริมาณฟลาโวนอยด์ของเปลือกมะละกอพบว่า สารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:100 มีปริมาณฟลาโวนอยด์มากกว่าสารสกัดจากเปลือกมะละกอที่เจือจาง 1:10 แสดงว่าเปลือกมะละกอมีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ ทั้งนี้ปริมาณสารประกอบฟินอลและฟลาโวนอยด์พบในส่วนของใบและดอกมากกว่าลำต้นและเมล็ด อาจเนื่องมาจากบทบาทหน้าที่ในพืช ใบและดอกจำเป็นต้องมีการสะสมสารประกอบโพลิฟีนอล (poly-phenol)มาก เพื่อใช้ในการป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดมาจากความเข้มแสงที่พืชได้รับ (Chua,2016) การทดสอบหาสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่า เปลือกมะละกอสามารถสกัดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ และมีประสิทธิภาพการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสมีค่ายับยั้ง 21.87% แสดงให้เห็นว่าสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อใช้ประโยชน์ด้านยาและเครื่องสำอางได้

สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการทดสอบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือกมะละกอมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกมะละกอ มีปริมาณฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ และพบปริมาณฟลาโวนอยด์ในสารสกัดจากเปลือกมะละกอ และสารสกัดจากเปลือกมะละกอยังสามารถสกัดสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ ดังนั้น เปลือกมะละกอมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่สามารถใช้ประโยชน์ช่วยเพิ่มมูลค่าให้เปลือกมะละกอ และยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมอาหาร คุณสมบัติทางยา ผลิตเวชสำอางจากธรรมชาติ และอุตสาหกรรมต่างๆเพื่อเพิ่มมูลค่าในเชิงพาณิชย์

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต วิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาควิชาวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมชีวภาพ และ ฝ่ายกิจการนิสิต คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้ความสนับสนุนทุนการทำวิจัย

ขอขอบคุณอาจารย์พุทธพร ส่องศรี อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานทางวิทยาศาสตร์ที่ให้คำปรึกษาการศึกษาในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สาขาวิชาชีวเคมีผู้ที่คอยให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์และสารเคมีทำให้การศึกษาในครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ณัฐพล มนุโศภิษฐ์, วิษณุ สุมาลี และ ศิวกร ชุมคง .2561. **สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากของเหลือทิ้ง ทางการเกษตร**.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 21(3): 275 – 286.

พัชรี ขุนหลัด, ยงยุทธ ตัณฑุลเวสส, ธารารัตน์ ศุภศิริ และ วราดุล ฉัตรทอง. 2551. การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารประกอบเคอร์คิวมินอยด์จากผงขมิ้นชัน.**วารสารวิทยาศาสตร์มศว** 24(1): 125-139.

ภานุมาศ จินดาวงศ์. 2563. **การศึกษาเปรียบเทียบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเมล็ดของพวงชมพูและการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์แยมพวงชมพู**.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

หทัยรัตน์ อุไรรงค์. 2548. **มะละกอ**. เอกสารวิชาการ. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร

เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2017. **การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผัก**

Andrica, F.M., G.A. Draghici, C. Soica, I. Pinzaru, D. Coricovac, C. Citu and C.Dehelean. 2016. Antioxidant Activity Assessment of Ethanolic Spirulina Extracts. **Revista de Chimie Bucharest** 67: 289-290.

Barbagallo, M., Marotta F., & Dominguez, L.J. 2015. Oxidative stress in patients with

Alzheimer's disease: **Effect of extracts of fermented papaya powder**. *Mediators Inflammation*, 624801. 1-6.

Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier, and C. Berset. 1995.**Use of a free radical method to to evaluate antioxidant activity**. LWT Food Sci. Technol. 28: 25-30.

Hengsawasd, D. 2008. Herbs in Thai Food. **Food Journal**, 38, pp. 10-16.

Paul Haider.2013. **Papaya Leaves - A Powerful Cure for Cancer**

Kim, Y-J., and H. Uyama. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic source: structure, inhibition mechanism and prospective for the future. **Cell. Mol. Life Sci.** 62:1707-1723.

Neagu, E., G.L. Radu, C. Albu and G. Paun. 2016. Antioxidant activity,acetylcholinesterase and tyrosinase inhibitory potential of Pulmonaria officinalis and Centarium umbellatum extracts. **Saudi Journal of Biological Sciences** 25(3): 578-585.

Ramadan ElGamal ,Cheng Song , Ahmed M. Rayan , Chuanping Liu , Salim Al-Rejaie and Gamal EMasry. 2023. Thermal Degradation of Bioactive Compounds during Drying Process of Horticultural and Agronomic Products:A Comprehensive Overview. **Agronomy**. 13(6):15

Singleton, V.L., R. Orthofer, and R.M. Lamuela-Ravenros.1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ci-ocalteu reagent. **Method Enzymol**. 299: 152-178.

ภาคผนวก ก
สารเคมีและการเตรียมสาร

สารเคมี

1. %95 Ethanol
2. 7% Sodium Carbonate (Na2CO3)
3. Gillic acid
4. 10 %Folin – Ciocalteu
5. Butylated hydroxytoluene (BHT)
6. Methanol
7. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
8. Quercetin
9. Aluminium chloride (Al3Cl3)
10. Potassium acetate
11. DOPA
12. Tyrosinase
13. PO4 butter
14. Kojic

ตารางผนวกที่ ก1 การเตรียมสารมาตรฐาน gallic acidความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (mg/L)	gallic acid (100mg/L)	น้ำกลั่น
0	0 ml	10 ml
20	2 ml	8 ml
40	4 ml	6 ml
60	6 ml	4 ml
80	8 ml	2 ml
100	10 ml	0 ml

ตารางผนวกที่ ก2 การเตรียมสารมาตรฐาน butylated hydroxytoluene (BHT) ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (µg/ml)	BHT (40µg/ml)	Methanol
0	0 ml	10 ml
20	2 ml	8 ml
40	4 ml	6 ml
60	6 ml	4 ml
80	8 ml	2 ml
100	10 ml	0 ml

ตารางผนวกที่ ก3 การเตรียมสารมาตรฐาน Quercetin ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น (µg/ml)	Quercetin (200µg/ml)	ethanol
0	0 ml	4 ml
40	1 ml	3 ml
80	2 ml	2 ml
120	3 ml	1 ml
160	4 ml	0 ml

ภาคผนวก ข

วิธีการทดลองและผลการทดลอง

1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

โดยใช้ %Radical scavenging คำนวณดังนี้

$$\%\text{Radical scavenging} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

2 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

คำนวณ $[(\Delta A_{control} - \Delta A_{kojic})] / \Delta A_{control} \times 100\%$

ตารางผนวกที่ ข1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานแกลลิก

ความเข้มข้นแกลลิก (mg/L)	ค่าการดูดกลืนแสง (760nm)
0	0.002
20	0.110
40	0.207
60	0.312
80	0.428
100	0.513

ตารางผนวกที่ ข2 ค่าการดูดกลืนแสงการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเปลือกมะละกอ

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง 517 nm		
	1	2	3
1:10	0.174	0.184	0.165
1:100	0.021	0.016	0.010
1:1000	0.007	0.006	0.005

ตารางผนวกที่ ข3 ค่าการดูดกลืนแสงและ **%Radical scavenging** ของสารละลายมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT)

ค่าความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง (517nm)	%Radical scavenging
0	1.155	0
20	0.815	29.43
40	0.559	21.36
60	0.386	51.60
80	0.286	66.58
100	0.235	75.23

ตารางผนวกที่ ข4 ค่าการดูดกลืนแสงการหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกมะละกอ

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง 517 nm		
	1	2	3
1:10	0.551	0.554	0.556
1:100	1.056	1.055	1.054

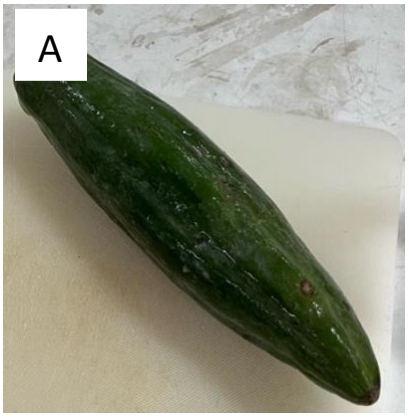
ตารางผนวกที่ ข5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน Quercetin

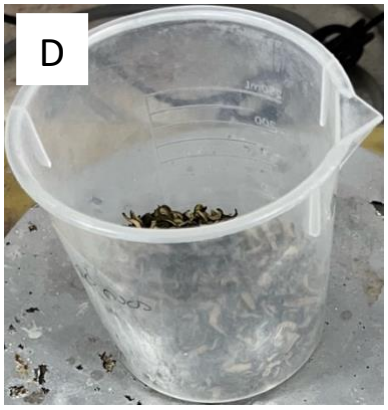
ความเข้มข้น (µg/mL)	ค่าการดูดกลืนแสง 415 nm
0	0.004
40	0.270
80	0.509
120	0.763
160	1.112
200	1.407

ตารางผนวกที่ ข6 ค่าการดูดกลืนแสงของการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดเปลือกมะละกอ

ตัวอย่าง	ค่าการดูดกลืนแสง 415 nm		
	1	2	3
1:10	1.774	1.770	1.698
1:100	0.910	0.900	0.905

ภาคผนวก ค
ภาพการทดลอง



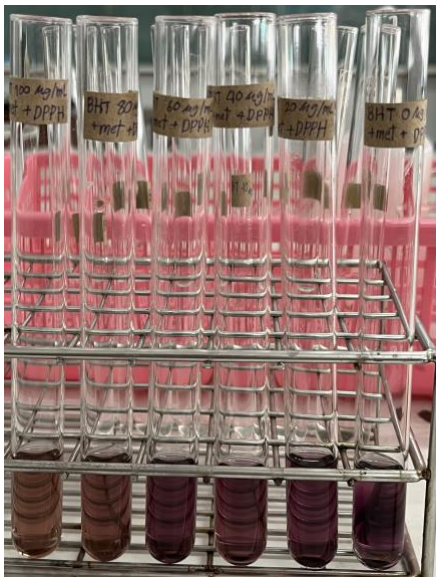


ภาพผนวกที่ ค1 การเตรียมตัวอย่าง ล้างทำความสะอาด (A), ปอกเปลือกมะละกอและหั่นเปลือกมะละกอเป็นชิ้นเล็กๆ(B)นำเปลือกมะละกอใส่ในถาดที่มีฟอยล์นำไปเข้าตู้อบลมร้อน ,(C), เปลือกมะละกอหลังอบ(D

ภาพผนวกที่ ค2 การเตรียมสารสกัดด้วย 95% เอทานอล

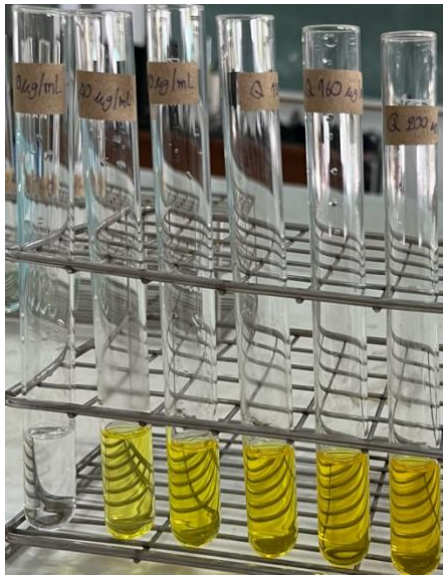
ภาพผนวกที่ ค3 สารละลายมาตรฐานแกลลิก

ภาพผนวกที่ ค4 ผลการทดสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดตัวอย่างที่เจือจางความเข้มข้นที่อัตราส่วน 1:10, 1:100, 1:1000 ตามลำดับ

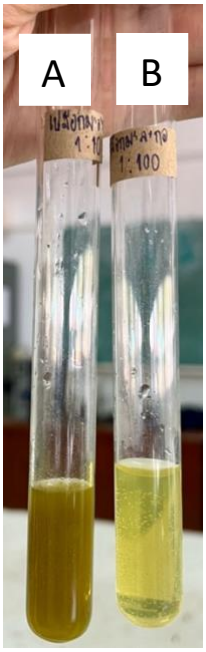


ภาพผนวกที่ ค5 สารละลายมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT)

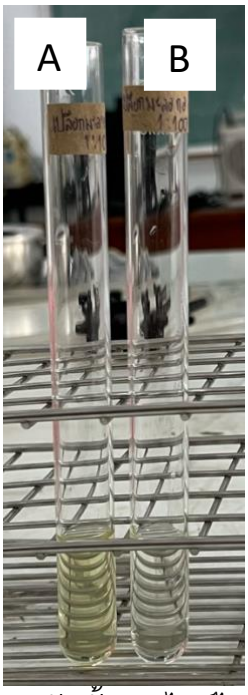
ภาพผนวกที่ ค6 ผลการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 (A), สารสกัดตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 (B)



ภาพผนวกที่ ค7 สารละลายมาตรฐาน Quercetin



ภาพผนวกที่ ค8 ผลการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 (A),สารสกัดตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 (B)



ภาพผนวกที่ ค9 ผลการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารตัวอย่างที่เจือจาง 1:10 (A),สารสกัดตัวอย่างที่เจือจาง 1:100 (B)