การวัดปริมาณคอลลาเจนและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

Measurement of Collagen Content and Anti-Tyrosinase Activity in Petal Extracts of Nelumbo nucifera Gaertn

ฉัตรดนัย อุประวรรณา[1], ธัญญะ พรหมศร[2]
Chatdanai Uparawanna[1], Thanya Promsorn[2]
[1]บัณฑิตวิทยาลัย หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
[2]อาจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการแพทย์แผนไทยประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา
[1]Graduate School, Master's Degree Program in Applied Thai Traditional Medicine, Suan Sunandha Rajabhat University, Thailand
[2]Curriculum Lecturer, Master's Degree Program in Applied Thai Traditional Medicine, Suan Sunandha Rajabhat University, Thailand
Corresponding Author: Email: chatdanai8560@gmail.com
(Received: September 11, 2024; Revised: October 10, 2024; Accepted: November 9, 2024)

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวัดปริมาณคอลลาเจนและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ด้วยวิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) ในการหาปริมาณคอลลาเจน และวิธีโดพาครอม (dopachrome method) ในการหาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ผลการทดลองพบว่า สารสกัดกลีบดอกบัวหลวงตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 µg/mL ให้ปริมาณสารคอลลาเจน เท่ากับ 33.94±2.85 µg of collagen/mL และมีแนวโน้มการให้ปริมาณสารคอลลาเจนไปในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 µg/mL พบว่า ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 52.34±0.13 µg/mL และมีแนวโน้มของฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้นเช่นกัน จึงเห็นได้ว่า สารสกัดกลีบดอกบัวหลวงมีสารคอลลาเจนและมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่มีฤทธิ์ในการลดการสร้างเม็ดสีผิวและช่วยบำรุงผิวพรรณ ดังนั้นข้อมูลดังกล่าวจึงสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวงที่ช่วยให้ผิวกระจ่างใส และลดการทำงานของเม็ดสี รวมทั้งเพื่อเป็นข้อมูลให้ผู้บริโภคประกอบการตัดสินในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนผสมของสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง และเพิ่มคุณค่าของสมุนไพรไทย

คำสำคัญ: ปริมาณคอลลาเจน; ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส; สารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

Abstract

This study aimed to quantify the collagen content and evaluate the anti-tyrosinase activity of extracts from the petals of Nelumbo nucifera Gaertn using the hydroxyproline assay for collagen quantification and the dopachrome method for assessing anti-tyrosinase activity. The findings indicated that the petal extract of Nelumbo nucifera Gaertn, at a concentration of 200 µg/mL, contained 33.94±2.85 µg of collagen/mL, with a positive correlation observed between higher extract concentrations and increased collagen content. Additionally, the anti-tyrosinase activity of the extract, measured at 200 µg/mL, demonstrated an inhibitory effect of 52.34±0.13 µg/mL, with a similar trend of enhanced inhibition at higher concentrations. These results suggest that the petal extract of Nelumbo nucifera Gaertn possesses significant

collagen content and anti-tyrosinase activity, potentially contributing to reduced melanin synthesis and improved skin nourishment. Consequently, this extract holds promise for development into cosmeceutical products aimed at skin brightening and melanin reduction. Furthermore, the data provided can inform consumer choices and enhance the value of Thai herbal products.

Keywords: Collagen Content; Anti-Tyrosinase Activity; Nelumbo nucifera Gaertn Petal Extract

1. บทนำ

คอลลาเจน (collagen) จัดเป็นโปรตีนที่พบในร่างกายร้อยละ 20-30 และจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่สำคัญของชั้นผิวหนังแท้ และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน โดยคอลลาเจนชนิด 1 และชนิด 3 เป็นชนิดที่พบมากในผิวหนังชั้นไฟโบรบลาสต์ (fibroblasts) โครงสร้างของคอลลาเจนมีลักษณะเป็นเกลียวเป็นสายพอลิเปปไทด์ 3 สาย เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน โดยมีโครงสร้างทั่วไป คือ Gly-Xaa-Yaa (วิไลลักษณ์ สุกใส, 2557) อีกทั้งคอลลาเจนช่วยสร้างความสมบูรณ์ของโครงสร้างชั้นผิวแท้ให้มีความหนาแน่นมากขึ้น และหน้าที่หลักของคอลลาเจน คือ การผลิตเซลล์ผิวใหม่อยู่ตลอดเวลา ช่วยเพิ่มความหนาแน่น และขนาดของเส้นใยคอลลาเจน ด้วยเหตุนี้คอลลาเจนจึงเป็นที่นิยมใช้ในการแพทย์ความงามและเวชสำอางซึ่งการสกัดคอลลาเจนส่วนใหญ่ได้มาจากสัตว์ แต่เนื่องด้วยข้อจำกัดบางประการจากแหล่งที่มาของคอลลาเจนที่ได้จากสัตว์ เช่น ปัญหาด้านโรคจากสัตว์ซึ่งอาจจะถ่ายทอดสู่มนุษย์ได้ รวมทั้งข้อจำกัดทางด้านศาสนา ทำให้เกิดการทางเลือกใหม่ของการสกัดหาสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นในการสร้างคอลลาเจน (นรินทร์ ทาหอม และวรางคณา สมพงษ์, 2558) ซึ่งพืชสมุนไพรนับเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก โดยเฉพาะพืชสมุนไพรที่มีสารในการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันหรือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจะมีฤทธิ์ช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน จำพวกสารประกอบฟีนอลฟลาโวนอยด์ และแคโรทีนอยด์ เช่น มะขามป้อม หม่อน ดอกดาวเรือง พริก ขิง งา ส้ม บัวหลวง เป็นต้น นอกจากนี้สารคอลลาเจนที่ช่วยให้ผิวมีความยืดหยุ่นแข็งแรงแล้ว องค์ประกอบที่ทำให้ผิวมีสุภาพที่ดี คือ ความกระจ่างใส ซึ่งปัจจัยที่เข้ามารบกวนทำให้ผิวเกิดความหมองคล้ำที่สำคัญ คือ เอนไซม์ไทโรนิเนส (ศศมล ผาสุข และฉัตร เจนชัย, 2554)

เอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) เป็นเอนไซม์ที่สามารถพบได้ในเนื้อสัตว์ และพืช ถูกสังเคราะห์ขึ้นใน rough endoplasmic reticulum ภายในโครงสร้างของเอนไซม์มีทองแดงทำงานร่วมกับออกซิเจน ในการทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยากระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานิน (melanogenesis) โดยมีปัจจัยที่เป็นตัวกระตุ้นในการสร้างเม็ดสีเมลานิน ได้แก่ แสงแดด รังสีอัลตราไวโอเลตหรือรังสียูวี ความร้อน เป็นต้น อาศัยสารตั้งต้นจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ L-tyrosine และ 3, 4-dihydroxy-L-phenylalanine (L-DOPA) ให้เป็น DOPA quinone (ณพัฐอร บัวฉุน, 2562) ซึ่งกระบวนการดังกล่าวทำให้ผิวหนังเกิดสีหมองคล้ำ ดังนั้นเอมไซม์ไทโรซิเนสจึงเป็นเอมไซม์ ที่สำคัญต่อการเกิดสีผิวของมนุษย์ รวมถึงการเกิดความผิดปกติของผิวหนังอื่น ๆ เช่น ฝ้า กระ จุดด่างดำ มะเร็งผิวหนัง เป็นต้น ดังนั้นการยับยั้งกระบวนการการทำงานของเอมไซม์ชนิดนี้ได้จะทำให้ผิวหนังขาวขึ้น และลดความผิดปกติของผิวหนังลงได้ (ศศมล ผาสุข และฉัตร เจนชัย, 2554) และจากการศึกษาสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส พบว่า มีโครงสร้างเป็นสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสามารถพบได้ในพืชหลากหลายชนิด เช่น ฝรั่ง เทียนบ้าน ชะเอมไทย พิลังกาสา บัวหลวง อีกทั้งการใช้สารประกอบจากพืชทดแทนสารสังเคราะห์เป็นการลดต้นทุนการผลิตและไม่มีผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (สถาพร สัตย์ซื่อ, วิไลลักษณ์ สุกใส และฉัตรดนัย อุประวรรณา, 2563)

บัวหลวง ชื่อวิทยาศาสตร์ Nelumbo nucifera Gaertn. จัดเป็นพืชน้ำล้มลุก และถือว่าเป็นราชินีแห่งพันธุ์ไม้น้ำ ส่วนประกอบของบัวหลวงสามารถนำมาประกอบอาหาร และมีสรรพคุณทางยา และการใช้ประโยชน์ในแทบทุกส่วนของบัวหลวงนั้น มีสรรพคุณทางเภสัชวิทยา เช่น ดีบัวอุดมไปด้วย methylcorypalline มีฤทธิ์ขยายหลอดเลือดที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจ และยังนำมาเป็นส่วนผสมของยาในหลาย ๆ ชนิด อาทิ ยาเขียวหอม ยาตรีเกสรมาศ จากการศึกษาในหลอดทดลอง และสัตว์ทดลอง พบว่า สารแอลลาลอยด์ที่สามารถพบในเหง้าบัว มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เกี่ยวกับการสดอาการปวด และแก้อักเสบ นอกจากนี้การศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากส่วนประกอบต่าง ๆ ของบัวหลวง พบว่า กลีบดอกบัวให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด และมีการศึกษาสารสกัดเอทานอล ร้อยละ 95 จากกลีบดอกบัวหลวง พบสารพฤกษเคมี 5 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ คูมาริน ซาโปนิน แทนนิน และเทอร์ปีนอยด์ และมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด ทั้งนี้สารพฤษเคมีจำพวกฟลาโวนอยด์ และปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด มีคุณสมบัติฤทธิ์ช่วยกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรสิเนส ตามลำดับ (ณพัฐอร บัวฉุน, 2563)

จากการทบทวนวรรณกรรมและข้อมูลที่เกี่ยวข้อง ผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญ และมีความสนใจในการศึกษาปริมาณคอลลาเจนและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรสิเนส จากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง เพื่อนำข้อมูลที่ได้จากการวิจัยไปเป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ในทางเวชสำอาง ตลอดจนเป็นทางเลือกการใช้สารสกัดจากธรรมชาติทดแทนสารสังเคราะห์เพื่อลดต้นทุนการผลิต ลดการเกิด ผลข้างเคียงที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค อีกทั้งเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับพืชสมุนไพรของไทย และต่อยอดในเชิงพานิชย์ต่อไปในอนาคต

2. วัตถุประสงค์

2.1 เพื่อศึกษาปริมาณคอลลาเจนของสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

3. สมมติฐานของการวิจัย

3.1 สารสกัดกลีบดอกบัวหลวงจากตัวทำลายละลายเอทานอลมีปริมาณคอลลาเจน

3.2 สารสกัดกลีบดอกบัวหลวงจากตัวทำลายละลายเอทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งเอมไซม์ไทโรซิเนส

4. วิธีดำเนินการ

4.1 การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำกลีบดอกบัวหลวง นำมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วนำไปอบลมร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง หรือจนกว่าพืชตัวอย่างจะแห้ง นำมาบดให้เป็นผงละเอียด และนำมาสกัดโดยวิธีการแช่หมัก ด้วยตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 โดยใช้พืชตัวอย่าง 25 กรัม เติมตัวทำละลาย 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการกรองสารสะลายของสารตัวอย่าง นำสารสารสะละลายที่ได้ไประเหยสุญญากาศแบบหมุน ชั่งน้ำหนักสารสกัดหยาบและเก็บรักษาสารสกัดหยาบในภาชนะปิดทึบแสงที่อุณหภูมิไม่เกิน 4 องศาเซลเซียส

4.2 การทดสอบปริมาณคอลลาเจน

การทดสอบปริมาณคอลลาเจน ด้วยวิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) ซึ่งสามารถคำนวณผลเป็นปริมาณไมโครกรัมต่อมิลลิตร (µg/mL) (ดัดแปลงจากวิไลลักษณ์ สุกใส สถาพร สัตย์ซื่อ เกศริน ดรศรีจันทร์ และสุวิมล พรมมนัส, 2561) โดยปิเปต 10 ไมโครลิตร ของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีนที่ความเข้มข้น 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 µg/mL และสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 µg/mL ลงในไมโคร

เพลตจากนั้น เติม 90 ไมโครลิตร ของ chloramine-T ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 25 นาที จากนั้นเติม 100 ไมโครลิตร ของ Ehrlich's reagent และนำไปอุ่น ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณคอลลาเจนโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานไฮดรอกซีโพรลีนโดยใช้ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน จากสูตร

ปริมาณคอลลาเจน = (ปริมาณไฮดรอกซีโพรลีน/ 13.5) x 100

4.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส วิธีโดพาครอม (dopachrome method) ซึ่งสามารถหาปริมาณการสร้างเมลานินในระดับไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (µg/mL) (ดัดแปลงจาก ชฎาพร เกลี้ยงจันทร และสุวรรณ ผลใหม่, 2560) โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 200, 400, 600, 800 และ 1000 µg/mL ในเอทานอล นำสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร มาผสมกับสารละลายผสมของ 0.1 โมลาร์ Sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ 1 มิลลิโมลาร์ L-DOPA ปริมาตร 40 ไมโครลิตร อุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม 200 ยูนิตต่อมิลลิลิตรของเอนไซม์ไทโรซิเนส (ที่ละลายใน 0.1 โมลาร์ Sodium phosphate buffer (pH 6.8) ปริมาตร 40 ไมโครลิตร และอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 492 นาโนเมตร โดยใช้ arbutin เป็นสารมาตรฐาน คำนวณหาร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากสูตร

ร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส = $[(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$

เมื่อ $A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในถาดหลุมควบคุม

และ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในถาดหลุมที่มีสารตัวอย่าง

5. ผลการศึกษา

5.1. สารสกัดหยาบจากกลีบดอกบัวหลวง

การวิจัยในครั้งนี้ได้นำกลีบดอกบัวหลวง มาผ่านกระบวนการการสกัดโดยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ซึ่งทำให้ได้สารสกัดหยาบกลีบดอกบัวหลวงมีลักษณะและปริมาณร้อยละของผลผลิต แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะสารสกัดหยาบและปริมาณร้อยละของผลผลิต (%yield) ของกลีบดอกบัวหลวง

พืชตัวอย่าง	ลักษณะสารสกัดหยาบ	ร้อยละของผลผลิต (%yield)
กลีบดอกบัวหลวง	ลักษณะเป็นของเหลวที่มีความเข้มข้น สีน้ำตาลอมเหลืองมีความเหนียวและหนืดเล็กน้อย	13.89

จากตารางที่ 1 พบว่า สารสกัดหยาบที่ได้จากกลีบดอกบัวหลวงซึ่งสกัดโดยวิธีการแช่หมัก(maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% มีลักษณะเป็นของเหลวที่มีความเข้มข้น สีน้ำตาลอมเหลือง มีความเหนียวและหนืดเล็กน้อย และปริมาณร้อยละของผลผลิต (%yield) เท่ากับ 13.89

5.2 ผลการทดสอบปริมาณคอลลาเจนจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง วิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay)

การทดสอบปริมาณสารคอลลาเจนจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง วิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) ที่ได้จากการสกัดโดยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่ความเข้มข้น 200-1000 µg/mL ที่วัดดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารคอลลาเจนจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง (n=3)

ชนิดสารสกัด /ระดับความเข้มข้น	**ปริมาณสารคอลลาเจน (µg of collagen/mL) ($\bar{x}$±S.D.)**
สารสกัดกลีบดอกบัวหลวง	
200	33.94±2.85
400	57.38±1.24
600	80.51±3.64
800	97.86±2.22
1000	147.71±1.18
สารมาตรฐาน ascorbic acid	131.16±0.72

จากตางรางที่ 2 การศึกษาปริมาณสารคอลลาเจนจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ที่ได้จากการสกัดโดยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% วิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) ที่ความเข้มข้น 200-1000 µg/mL พบว่า ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 µg/mL ให้ปริมาณสารคอลลาเจน เท่ากับ 33.94±2.85 µg/mL และมีแนวโน้มการให้ปริมาณสารคอลลาเจนไปในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น ส่วนสารมาตรฐาน ascorbic acid ให้ปริมาณสารคอลลาเจน เท่ากับ 131.16±0.72 µg/mL ดังตารางที่ 2

5.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ด้วยวิธีโดพาครอม (dopachrome method) เปรียบเทียบกับ arbutin พบว่า ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 µg/mL ของสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 52.34±0.13 µg/mL และมีแนวโน้มของฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น และคำนวณหาความเข้มของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 44.14 µg/mL เมื่อเทียบสารมาตรฐาน arbutin ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 8.94 µg/mL จะเห็นได้ว่าสารสกัดกลีบดอกบัวหลวงฤทธิ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสน้อยกว่าสารมาตรฐาน arbutin ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

ชนิดสาร	**IC_{50} (µg/mL)**
สารสกัดกลีบดอกบัวหลวง	44.14
สารมาตรฐาน arbutin	8.94

6. การอภิปรายผล

จากการทดสอบวิเคราะห์ปริมาณสารคอลลาเจน วิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) และการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ด้วยวิธีโดพาครอม (dopachrome method) จากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 สามารถยืนยันได้ว่า สารสกัดกลีบดอกบัวหลวงที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 นั้นมีประสิทธิผลในการให้ปริมาณคอลลาเจนและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้จริง เนื่องจากกลีบดอกบัวหลวงนั้นอุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำพวกสารประกอบปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณแทนนินรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมกันในปริมาณที่สูง ซึ่งในสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารที่มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างปริมาณสารคอลลาเจนและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสารฟลาโวนอยด์มีโครงสร้างพื้นฐานฟีนิลเบนโซไพโรนประกอบไปด้วยกลุ่มย่อย ๆ หลายกลุ่ม เช่น flavones flavanones flavonols flavanols isoflavones และ anthocyanidin ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (ณพัฐอร บัวฉุน, 2562) นอกจากนี้สารสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์ยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ช่วยเพิ่มคอลลาเจน ปรับสมดุลธาตุ บำรุงผิวพรรณ และฟื้นฟูร่างกายองค์รวมทุกระบบให้แข็งแรงทำงานประสานกันได้ (วิไลลักษณ์ สุกใสและคณะ, 2562) เมื่อร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระส่งผลให้การทำลายโมเลกุลอื่น ๆ ลดลง ทำให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย ริ้วรอยบนใบหน้า รอบดวงตา และผิวพรรณลดลงตามมา (ณพัฐอร บัวฉุน, 2563) ซึ่งส่งผลให้ปริมาณคอลลาเจนในร่างกายเพิ่มขึ้น ปัจจุบันจึงได้นำสารสกัดที่มีส่วนประกอบสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางและผลิตภัณฑ์บริโภคจากสมุนไพร เช่น ผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากแก่นมะหาด และชะเอมไทย (กัลยาภรณ์ จันตรี, 2558; ณพัฐอร บัวฉุน และปิยะพัฒน์ สุนทรศาสตร์, 2558) สารสกัดหยาบลูกยอ (ณพัฐอร บัวฉุน, 2563) และผลิตภัณฑ์ตรีผลาในรูปแบบน้ำและรูปแบบผง (วิไลลักษณ์ สุกใสและคณะ, 2562) เป็นต้น ทั้งนี้ผลการวิจัยนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานทางพฤกษศาสตร์ เภสัชวิทยา หรือใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ทางด้านเวชสำอางอื่น ๆ หรือนำไปใช้ศึกษาเชิงคลินิกเพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพของสารสกัดจากกลีบดอกบัวหลวงได้ในอนาคต

7. สรุปและข้อเสนอแนะ

7.1 สรุปผล

การทดสอบหาปริมาณสารคอลลาเจนจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ที่ได้จากการสกัดโดยวิธีการแช่หมัก (maceration) ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% วิธีวิเคราะห์ไฮดรอกซีโพรลีน (hydroxyproline assay) ที่ความเข้มข้น 200-1000 µg/mL พบว่า ตั้งแต่ระดับความเข้มข้น 200 µg/mL ให้ปริมาณสารคอลลาเจน เท่ากับ 33.94±2.85 µg/mLและมีแนวโน้มการให้ปริมาณสารคอลลาเจนไปในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่สูงขึ้น ส่วนสารมาตรฐาน ascorbic acid ให้ปริมาณสารคอลลาเจน เท่ากับ 131.16±0.72 µg/mLและการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง ด้วยวิธีโดพาครอม (dopachrome method) เปรียบเทียบกับ arbutin และคำนวณหาความเข้มของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 44.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

7.2 ข้อเสนอแนะ

7.2.1 ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้งาน จากการวิจัยครั้งนี้สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปเป็นข้อมูลพื้นฐานทางพฤกษศาสตร์ได้ แต่ยังไม่สามารถระบุผลในการกระตุ้นการสร้างชนิดของคอลลาเจน หรือมีผลต่อการเพิ่มของปริมาณคอลลาเจน อีกทั้งการเก็บรักษาเอนไซม์ไทโรซิเนสต้องเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสและมีการนำออกมาใช้งานในการวิจัยบ่อยครั้งทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลงได้

7.2.2 ข้อเสนอแนะเพื่อการวิจัยต่อไป ผลจากการวิจัยสามารถนำข้อมูลไปพัฒนาต่อยอดในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง หรือนำไปทดสอบในเชิงคลินิก เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของสารสกัดกลีบดอกบัวหลวง

8. เอกสารอ้างอิง

กัลยาภรณ์ จันตรี. (2558). การตั้งตำรับสูตรเครื่องสำอางที่ทำให้ผิวขาวจากสารสกัดมะหาด. **วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 8(1); 1-23.

ชฎาพร เกลี้ยงจันทร และสุวรรณ ผลใหม่. (2560). **ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของปาล์มสาคู (รายงานการวิจัย)**. สงขลา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย.

ณพัฐอร บัวฉุน และปิยะพัฒน์ สุนทรศาสตร์. (2558). การพัฒนาโลชั่นจากสารสกัดหยาบชะเอมไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี),** 10(2); 97-106.

ณพัฐอร บัวฉุน. (2562). การวิเคราะห์พฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งการทำงาน ของเอนไซม์แอลฟา-กลูโคซิเดสของบัวหลวง. **วารสารวิจัย มทร.กรุงเทพ.** 14(1); 125-136

ณพัฐอร บัวฉุน. (2563). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลลิกรวมของสารสกัดหยาบลูกยอ. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี;** 15(2); 67-76.

นรินทร์ ทาหอม และวรางคณา สมพงษ์. (2558). สมบัติของคอลลาเจนที่ละลายด้วยกรดจากหนังปลาสลาด. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 23(2); 257-267.

วิไลลักษณ์ สุกใส และสุธาสินี ทัพพสารพงศ์. (2557). การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ปริมาณคอลลาเจนด้วยการวิเคราะห์โดยการวัดสี. **ในการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ.** ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วิไลลักษณ์ สุกใส, สถาพร สัตย์ซื่อ, เกศริน ดรศรีจันทร์ และสิริวิมล พรมนัส. (2562). การตรวจสอบสารสำคัญเบื้องต้นและวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนของผลิตภัณฑ์ตรีผลาในรูปแบบน้ำและรูปแบบผง. **วารสารวิจัยราชภัฏพระนคร สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,** 14(2); 109-119.

สถาพร สัตย์ซื่อ, วิไลลักษณ์ สุกใส และฉัตรดนัย อุประวรรณา. (2563). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและพัฒนาผลิตภัณฑ์ครีมทาส้นเท้าแตกจากสารสกัดแกนสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง. **วารสารการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก,** 18(3); 560-572.