

Research article

ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกแตงโม

Biological Activities of Extract from Watermelon rind *Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai

สถาพร สัตย์เชื้อ^{1*}, วิไลลักษณ์ สุขใส¹, สุธาสิณี ทัพพสารพงศ์²
Sathaporn Satsue^{1*}, Wilailak Suksai¹, Suthasinee Thapphasaraphong²

¹ภาควิชาการแพทย์แผนไทย วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนภิเษก

¹Department of Thai Traditional Medicine, Kanchanabhishek Institute of Medical and Public Health Technology

²คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author, e-mail : satha.arm@gmail.com

Received: 23 February 2022; Revised: 9 May 2023; Accepted: 9 May 2023

บทคัดย่อ

บทนำ: เปลือกแตงโม เป็นส่วนเหลือทิ้งที่ไม่ถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ซึ่งมีสารสำคัญในกลุ่มของ วิตามินซี ไฟเบอร์ และสารซีทรูลีน ซึ่งสารดังกล่าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและมีประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์

วัตถุประสงค์: เพื่อตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเปลือกแตงโม (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 85% เอทานอล **วิธีการศึกษา:** การศึกษาเป็นแบบการทดสอบในหลอดทดลอง (in vitro test) โดยทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP การเพิ่มจำนวนของเซลล์เพาะเลี้ยงไฟโบรบลาสต์จากหน้าผากมนุษย์ (Human Forehead Fibroblast cells, HFF) ด้วยวิธี MTT assay และการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนด้วยวิธี Hydroxyproline Assay จากอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ถูกทดสอบด้วยสารสกัด **ผลการศึกษา:** สารสกัดเปลือกแตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล มีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ $32.60 \pm 0.84 \mu\text{g GAE/mg extracts}$ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 833.40 ± 2.46 และ $1655.48 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$ ตามลำดับ และมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) เท่ากับ $0.23 \pm 0.03 \text{ mM Fe (II)/mg}$ และพบว่าจำนวนของเซลล์เพาะเลี้ยง HFF เพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกแตงโมเพิ่มขึ้นที่ความเข้มข้น 62.5-500 $\mu\text{g/ml}$ แต่ลดลงเมื่อความเข้มข้นมากกว่า 500 $\mu\text{g/ml}$ และมีปริมาณคอลลาเจนอยู่ในช่วง 19.75 – 256.79 $\mu\text{g/ml}$ และสูงสุดที่ความเข้มข้น 1000 $\mu\text{g/ml}$

บทสรุป: สารสกัดเปลือกแตงโมพบปริมาณฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์เพาะเลี้ยง HFF ซึ่งข้อมูลเบื้องต้นดังกล่าวสามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ สารสกัดเปลือกแตงโม

Abstract

Background: Watermelon rind is a waste that is not utilized, contains important groups of vitamin C, fiber, and citrulline, which is an antioxidant and has a significant benefit to

the human body. **Objectives:** The aim of this study was to investigate the biological activities of the 85% ethanolic extracts of watermelon rind (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) **Methods:** These study were in vitro test. The total phenolic content and antioxidant activity were evaluated according to DPPH, ABTS and FRAP assays. Human Forehead Fibroblast Cells (HFF) of cell proliferation by MTT assay and collagen content analysis by Hydroxyproline Assay from cell culture media with extracts. **Results:** The results showed that 85% ethanolic extracts of watermelon rind (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) had total phenolic content was $32.60 \pm 0.84 \mu\text{g GAE/mg}$ extracts, antioxidant activities by DPPH and ABTS calculated in IC_{50} 833.40 ± 2.46 , $1655.48 \pm 0.05 \mu\text{g/ml}$, respectively. The FRAP value was $0.23 \pm 0.03 \text{ mM Fe (II)/mg}$. The HFF cell viability increased with increasing concentration of watermelon rind extract at 62.5-500 $\mu\text{g/ml}$ but cell viability will be decreased at than 500 $\mu\text{g / ml}$. The highest collagen content was $256.79 \pm 24.69 \mu\text{g/ml}$ and concentration at 1000 $\mu\text{g/ml}$ showed the highest collagen **Conclusions:** The extracts of watermelon rind (*Citrullus Lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) had total phenolic compounds, antioxidant activity and collagen stimulating activity in HFF cell culture, therefore these extracts the develop for cosmeceutical products in the future.

Keywords: Biological Activities, Watermelon rind

บทนำ (Introduction)

ปัจจุบันพบว่ามนุษย์มีความใส่ใจในเรื่องสุขภาพมากขึ้น เห็นได้จากการนำพืชสมุนไพรหรือผลิตภัณฑ์ที่มีส่วนประกอบของสารจากธรรมชาติมาใช้ในชีวิตประจำวันมากขึ้น ทั้งนี้เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงจากสารเคมีหรือสารสังเคราะห์ที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายและเพื่อเสริมสุขภาพ ซึ่งในผลไม้ถือเป็น

แหล่งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลายชนิด อาทิ กลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ที่ช่วยดูแลผิวกาย เสริมสร้างความแข็งแรงด้านรื้อรอยและบำรุงให้ผิวมีสุขภาพดีสม่ำเสมอ¹ ในงานวิจัยจำนวนมาก พบว่าในเนื้อผลไม้ เปลือกผลไม้เป็นแหล่งที่ดีของสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ² ซึ่งผลไม้ที่นิยมชนิดหนึ่งในประเทศไทย คือ แตงโม (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum. & Nakai rind)³ ถือเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ Cucurbitaceae ในทางแพทย์พื้นบ้าน สรรพคุณทางยาของแตงโม จะช่วยลดอาการปวด ไข้ คอแห้ง บรรเทาแผลในปาก ในส่วนของเนื้อแตงโมมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ เบต้าแคโรทีน ไสโคเฟน วิตามินซี และฟลาโวนอยด์⁴ นิยมนำมาทำเป็นน้ำผลไม้เพื่อส่งเสริมสุขภาพ อีกทั้งยังนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อบำรุงผิวกาย ผิวหน้า และส่วนของเปลือก นำไปต้มเดือดแล้วเติมน้ำตาลทราย ต้มเพื่อป้องกันอาการเจ็บคอ และใช้ทารักษาแผล ด้วยการใช้เปลือกแตงโมล้างสะอาด นำมาผิงไฟหรือตากให้แห้งแล้วนำมาบดให้เป็นผง นำมาทาบริเวณแผล และส่วนใหญ่ จะนำเปลือกแตงโมที่เป็นส่วนเหลือทิ้งมาพัฒนาเป็นอาหารสำหรับสัตว์ และผลิตภัณฑ์ทางชีวภาพ² ในเปลือกแตงโมยังพบ วิตามินซี ไฟเบอร์³ และมีสารชิทรูลิน ซึ่งมีมากกว่าเนื้อแตงโมแห้ง สารชิทรูลินในธรรมชาติถูกใช้ในระบบไนตริกออกไซด์ในร่างกายมนุษย์และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ⁵ จากรายงานจะเห็นได้ว่าส่วนใหญ่น้ำตาลสำคัญในเปลือกแตงโมเป็นกลุ่มโพลีฟีนอล และนำเปลือกมาอบให้แห้งและบดเป็นผงใช้รักษาแผลในช่องปาก⁴ ช่วยขับปัสสาวะ บรรเทาอาการโรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ช่วยต้านการอักเสบ⁶ ลดกระบวนการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันที่อาจเป็นสาเหตุในการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคหัวใจ⁷ ป้องกันการสูญเสียมวลกระดูกเนื่องจากอายุมากขึ้น มะเร็งในช่องปาก³ นอกจากนี้ยังพบว่าสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี มีบทบาทสำคัญที่ช่วยในการกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน และยังช่วยในการสมานบาดแผลได้อีกด้วย⁸ จากข้อมูลข้างต้นเห็นได้ว่าการศึกษเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพในเปลือกแตงโมที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางยังมีน้อย

ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะนำสารสกัดเปลือกแตงโมพันธุ์จินตหรา เนื่องจากเป็นพืชที่มีศักยภาพในการปลูกในประเทศไทย มีความสำคัญต่อการส่งเสริมคุณภาพและความปลอดภัยให้กับผลิตภัณฑ์เวชสำอางในการผลิตเชิงพาณิชย์ในประเทศและต่างประเทศ⁹

มาตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์เพาะเลี้ยง งานวิจัยครั้งนี้จะทำให้ทราบข้อมูลพื้นฐานเบื้องต้นเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพของเปลือกแดงไม้ซึ่งข้อมูลเบื้องต้นดังกล่าวสามารถนำมาเป็นแนวทางในการคัดเลือกพืชผัก ผลไม้ที่จะนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางต่อไป

วิธีการศึกษา (Method)

1. การเตรียมตัวอย่างสมุนไพร

แดงไม้พันธุ์จินตหรา จากไร่แดงโมตาเหงียม ยายแมว บ้านกลุ่มพะยา ต.บึงอ้อ อ.ขามทะเลสอ จ.นครราชสีมา

นำเปลือกแดงไม้หน้าหั่นสด 1 กิโลกรัม มาล้างทำความสะอาด และหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และนำหมักด้วย 85% เอทานอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยหมักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บส่วนใส (ทำ 3 ครั้ง) ที่ได้รวมกัน นำส่วนใสไปกรองด้วยกระดาษกรอง นำสารสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ (rotary evaporator) และทำให้แห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze-dryer)¹⁰

2. การศึกษาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total phenolic compounds)¹¹

เตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และสารละลาย โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 765 มิลลิโมลาร์ ผสมสารสกัดเปลือกแดงไม้ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และสารละลาย Na_2CO_3 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบ คำนวณหาปริมาณ Total phenolic compound จากกราฟมาตรฐานของ gallic acid

2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.2.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay¹²

เตรียมสารละลาย 2,4-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล ผสมสารสกัดเปลือกแดงไม้ที่ความเข้มข้นในช่วง

150-350 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร กับสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนของแสงที่ 517 นาโนเมตร ใช้กรดแอสคอร์บิกเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 50% (IC_{50})

จากสมการ % Inhibition = $\frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100$

A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง

2.2.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay¹³

เตรียมสารละลาย 2,2-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ผสมกับสารสกัดเปลือกแดงไม้ที่ความเข้มข้นในช่วง 40-600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ ABTS reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนของแสงที่ 734 นาโนเมตร โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ คำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ABTS ที่ 50% (IC_{50})

2.2.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay¹⁴

เตรียมสารละลาย FRAP reagent ที่ประกอบด้วย Acetate buffer pH 3.6, 10 มิลลิโมลาร์ 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) ใน HCl 40 มิลลิโมลาร์ และ Ferric chloride 20 มิลลิโมลาร์ ผสมในสัดส่วน 10:1:1 (v/v) แล้วนำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 40 นาที ผสม FRAP reagent ปริมาตร 150 ไมโครลิตร กับสารสกัดเปลือกแดงไม้ ที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 40 นาที วัดค่าการดูดกลืนของแสง ที่ 593 นาโนเมตร คำนวณค่า FRAP value (mM Fe (II)/mg) เทียบกับสารสกัด 1 มิลลิกรัม โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

2.3 การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์¹⁵

บ่มเซลล์ Human Forehead Fibroblast cells (HFF) ปริมาณ 10,000 cells/well ใน 96-well ในอาหารเลี้ยงเซลล์ D-MEM 90 %, Fetal Bovine Serum (FBS) 10%, Antibiotic 1% เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ในตู้ CO_2 incubator ที่มี 5% CO_2 อุณหภูมิ 37°C เตรียมสารสกัดเปลือกแดงไม้ที่

ความเข้มข้นในช่วง 62.5 – 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม บ่มเซลล์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ดูดสารละลายส่วนใสเก็บไว้ (เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณ คอลลาเจนในข้อ 2.4)

หลังจากนั้นเติม สาร Methyl tetrazolium 3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เพื่อทดสอบการมีชีวิตรอดของเซลล์ (cell viability) หลุมละ 50 ไมโครลิตร บ่มในที่มืด 30 นาที ดูด supernatant ที่ละลายส่วนที่เหลือด้วย Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิตของเซลล์ (%cell viability)

จากสูตร %cell viability = Absorbance of treated cell /

Absorbance of control cell x100

Absorbance of treated cell คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มตัวอย่าง

Absorbance of control cell คือ ค่าการดูดกลืนแสงของกลุ่มควบคุม

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนโดย Hydroxyproline Assay¹⁵

สร้างกราฟมาตรฐาน Hydroxyproline โดยเตรียมสารละลายมาตรฐาน Hydroxyproline ที่ความเข้มข้น ช่วง 1-5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมสารละลายมาตรฐาน hydroxyproline 20 ไมโครลิตรกับ 2N NaOH 20 ไมโครลิตร และ chloramine-T ปริมาตร 90 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 25 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และเติม Ehrlich's aldehyde reagent 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 65°C เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร จากนั้นนำสารสกัดเปลือกเต็งโมเพียงอย่างเดียว (ไม่มีเซลล์เจริญ HFF) และ supernatant ที่เก็บไว้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจน โดยผสมกับ 2N NaOH 20 ไมโครลิตร นำไป autoclave ที่ 121°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำมาผสมกับ chloramine-T ปริมาตร 90 ไมโครลิตร บ่มเป็นเวลา 25 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และเติม Ehrlich's aldehyde reagent 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 65°C เป็นเวลา 20 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณคอลลาเจน (µg/ml) จากกราฟมาตรฐานของ Hydroxyproline

จากสูตร Collagen level = Hydroxyproline level (µg/ml) x 100 /13.5

การวิเคราะห์ทางสถิติ การตรวจสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเปลือกเต็งโมแสดงผลเป็นค่า mean ± SD และวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ One-way ANOVA ค่า p<0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา (Results)

จากการสกัดสารเปลือกเต็งโม ด้วย 85% เอทานอล พบว่ามีร้อยละของผลผลิต (%yield) เท่ากับ 13.49

1. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ผลการวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดเปลือกเต็งโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล พบว่ามีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ $32.60 \pm 0.84 \mu\text{g GAE/mg extracts}$ และการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay และ ABTS assay พบว่า สารสกัดเปลือกเต็งโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 833.40 ± 2.46 และ 1655.48 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สารมาตรฐานมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 5.02 ± 0.28 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP) เท่ากับ $0.23 \pm 0.03 \text{ mM Fe (II)/mg}$ เมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานพบว่า สารมาตรฐานมีการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า Total phenolic compound ($\mu\text{g GAE/mg extracts}$), DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$), ABTS IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$), FRAP value (mM Fe (II)/mg) ของสารสกัดเปลือกเต็งโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล (mean $\pm$ SD)

สารสกัด	Total phenolic ($\mu\text{g GAE/mg extracts}$)	DPPH IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	ABTS IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)	FRAP value (mM Fe (II)/mg)
สารสกัดเปลือกเต็งโม	32.60 $\pm$ 0.84	833.40 $\pm$ 2.46	1655.48 $\pm$ 0.05	0.23 $\pm$ 0.03
Ascorbic acid	-	5.02 $\pm$ 0.28*	-	-
Trolox	-	-	16.40 $\pm$ 0.43*	1.86 $\pm$ 0.02*

(* $p < 0.05$)

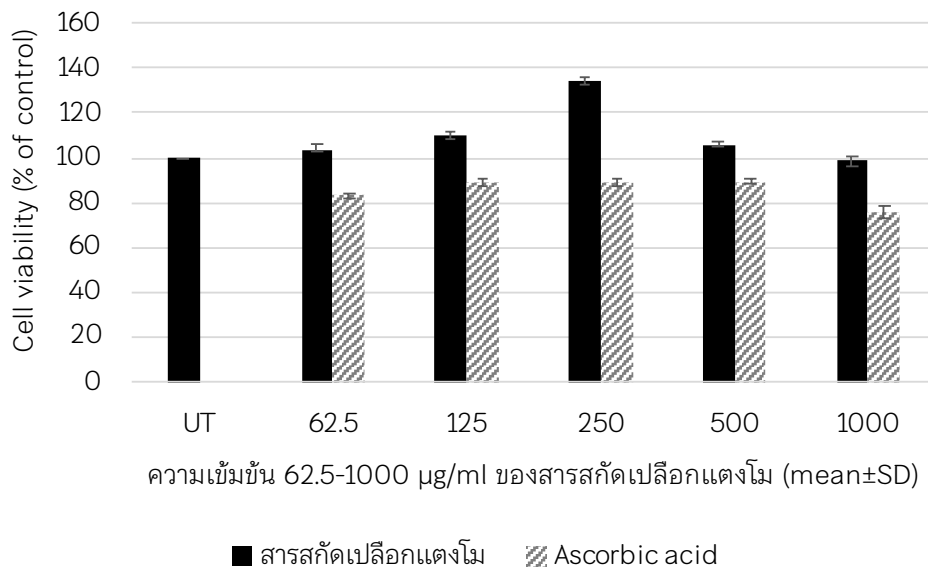
2. การทดสอบฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์

กระตุ้นฤทธิ์การเพิ่มจำนวนของเซลล์จากสารสกัดเปลือกเต็งโม 85% เอทานอลต่อเซลล์เพาะเลี้ยง Human Forehead Fibroblast cells (HFF) พบว่าสารสกัดเปลือกเต็งโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HFF ที่ความเข้มข้น 62.5 – 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร แต่ที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร มีจำนวนเซลล์ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกเต็งโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานการมีชีวิตรอดของเซลล์ เท่ากับ 70-80% ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยง (cell viability) Human Forehead Fibroblast cells ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกเต็งโม 85% เอทานอล (mean $\pm$ SD)

การทดสอบครั้งที่	ร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ ที่ความเข้มข้น 62.5-1000 $\mu\text{g/ml}$ ของสารสกัดเปลือกเต็งโม (mean $\pm$ SD)				
	62.5	125	250	500	1000
1	98.86 $\pm$ 4.49	100.74 $\pm$ 1.45	113.91 $\pm$ 1.65	107.47 $\pm$ 1.57	100.52 $\pm$ 1.33
2	107.47 $\pm$ 3.49	116.94 $\pm$ 2.55	129.04 $\pm$ 1.57	112.67 $\pm$ 2.76	111.86 $\pm$ 1.94
3	128.79 $\pm$ 1.92	127.259 $\pm$ 1.01	161.61 $\pm$ 1.10	83.56 $\pm$ 1.10	92.80 $\pm$ 1.83
4	99.89 $\pm$ 1.14	115.619 $\pm$ 1.33	128.09 $\pm$ 1.77	103.95 $\pm$ 1.86	75.80 $\pm$ 1.04
5	82.59 $\pm$ 2.86	91.54 $\pm$ 2.04	135.89 $\pm$ 2.57	122.00 $\pm$ 2.00	115.47 $\pm$ 1.99
ค่าเฉลี่ย	103.52 $\pm$ 2.78*	110.42 $\pm$ 1.68*	133.75 $\pm$ 1.73*	105.93 $\pm$ 1.86*	99.29 $\pm$ 1.63*
Ascorbic acid	83.31 $\pm$ 1.16	89.51 $\pm$ 1.71	88.75 $\pm$ 1.44	89.45 $\pm$ 1.08	75.89 $\pm$ 2.74
UT (กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกเต็งโม)	100				

(* $p < 0.05$)



ภาพที่ 1 กราฟแสดงร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์เพาะเลี้ยง (cell viability) Human Forehead Fibroblast cells ที่ทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกแตงโม 85% เอทานอล

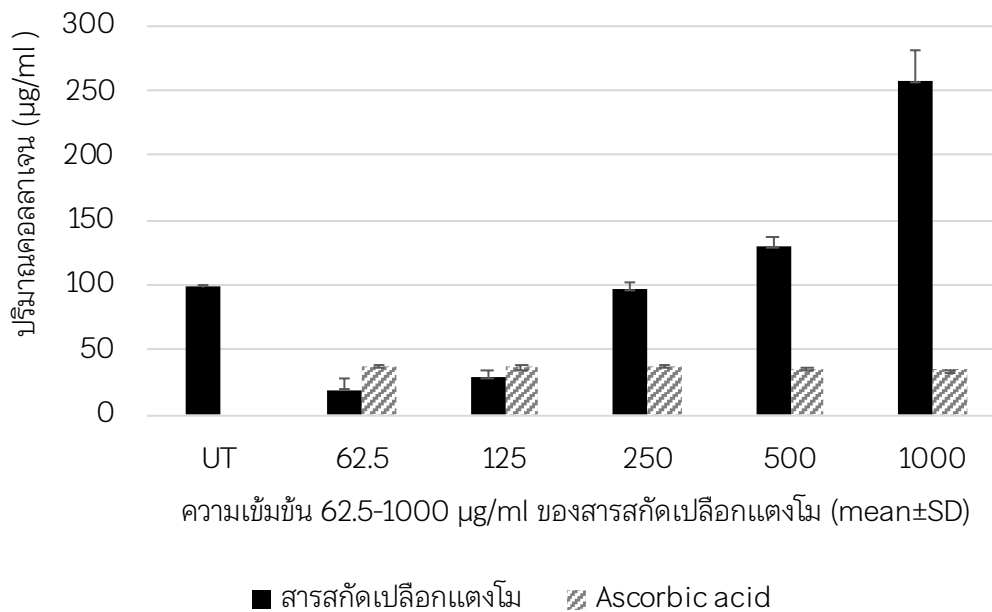
3. การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนโดยวิธี Hydroxyproline Assay

การวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง Human Forehead Fibroblast cells (HFF) ของสารสกัดเปลือกแตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล โดยวิธี hydroxyproline assay พบว่า สารสกัดเปลือกแตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล ที่ความเข้มข้น 62.5 - 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง HFF เท่ากับ 19.75 - 256.79 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งที่ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของสารสกัด มีปริมาณคอลลาเจนสูงสุด เท่ากับ 256.79 ± 24.69 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารมาตรฐาน Ascorbic acid มีปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง HFF เท่ากับ 34.75 - 37.75 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง HFF ของสารสกัดเปลือกแตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล แต่ละความเข้มข้น (62.5-1000 µg/ml) และเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกแตงโม และ สารมาตรฐาน Ascorbic acid มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ระดับ 0.005

ตารางที่ 3 ปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง Human Forehead Fibroblast cells (HFF) ของสารสกัดเปลือกแตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล (mean±SD)

ครั้งที่	ปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง ที่ความเข้มข้น 62.5-1000 µg/ml ของสารสกัดเปลือกแตงโม (mean±SD)				
	62.5	125	250	500	1000
1	29.63±0.13	34.57±0.15	93.83±0.14	138.27±0.11	232.10±0.27
2	14.81±0.09	24.69±0.10	93.83±0.11	128.40±0.10	256.79±0.09
3	14.81±0.10	29.63±0.13	103.70±0.11	123.46±0.09	281.48±0.09
ค่าเฉลี่ย	19.75±8.55	29.63±4.94	97.12±5.70*	130.04±7.54*	256.79±24.69*
Ascorbic acid	37.75±0.43	36.52±1.96	37.51±0.43	35.04±0.74	34.79±0.43
UT (กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการทดสอบด้วยสารสกัดเปลือกแตงโม 85% เอทานอล)					31.58±0.86

(*p< 0.05)



ภาพที่ 2 กราฟแสดงปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง Human Forehead Fibroblast cells (HFF) ของสารสกัดเปลือกเตงโมที่สกัดด้วย 85% เอทานอล

อภิปรายผล (Discussion)

จากการศึกษาพบสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดเปลือกเตงโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล ซึ่งเป็นสารสกัดหยาบ และในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยแบบจำลอง การทดสอบในหลอดทดลอง (In vitro) ด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 833.40 ± 2.46 และ 1655.48 ± 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสารสกัดเปลือกเตงโมมีสารในกลุ่มโพลีฟีนอลิก⁴ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁵ และจากการศึกษานี้ยังพบว่าสารสกัดเปลือกเตงโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล มีประสิทธิภาพในการเกิดการรีดิวซ์ของสารประกอบเชิงซ้อนของเหล็ก Ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+} -TPTZ) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกเตงโมมีความสามารถในการเป็นตัวรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ¹⁶ และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่ากลุ่มสารมาตรฐานมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง มีการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัด

และจากการศึกษาการมีชีวิตรอดของเซลล์พบว่า มีฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์ HFF ที่ช่วงความเข้มข้น 62.5-500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารสกัดเปลือกเตงโมแบบแปรผกผัน เมื่อปริมาณสารสกัดที่เพิ่มขึ้น ค่าการรอดชีวิตจะลดลงตั้งแต่ 500 – 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

การมีชีวิตรอดของเซลล์ เท่ากับ 70-80% นั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกเตงโม ไม่มีความเป็นพิษของเซลล์¹⁷ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับสารสกัดเปลือกเตงโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล และ ascorbic acid ซึ่งในอุตสาหกรรมต่างๆ รวมถึงบรรจุภัณฑ์และชีวการแพทย์ได้มีการเตรียมฟิล์มสารสกัดเตงโมเพื่อรักษาบาดแผล โดยแผ่นฟิล์มที่ได้ไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์¹⁸

ในส่วนการวิเคราะห์ปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยง HFF พบว่าสารสกัดเปลือกเตงโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล มีปริมาณคอลลาเจนที่เกิดจากการกระตุ้นในเซลล์เพาะเลี้ยงในช่วงความเข้มข้น 250-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดีกว่ากลุ่มควบคุมและสารมาตรฐาน ascorbic acid และจะเห็นได้ว่าสารสกัดเปลือกเตงโมเพียงอย่างเดียว (ไม่มีเซลล์เจริญ HFF) มีสารซึ่งทำปฏิกิริยาให้ผลเช่นเดียวกับ hydroxyproline ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) นั้นแสดงให้เห็นว่าพืชที่มีฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจนมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลิกรวม¹⁵

บทสรุป (Conclusion)

จากการศึกษาครั้งนี้เห็นได้ว่าสารสกัดเปลือกเตงโม ที่สกัดด้วย 85% เอทานอล ซึ่งเป็นสารสกัดหยาบ พบสารประกอบฟีนอลิก และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์กระตุ้นการเพิ่มจำนวนของเซลล์

เพาะเลี้ยง Human Forehead Fibroblast cells (HFF) อีกทั้งยังพบว่าในสารสกัดเปลือกแตงโมมีปริมาณคอลลาเจน

กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgements)

ขอขอบคุณ วิทยาลัยเทคโนโลยีทางการแพทย์และสาธารณสุข กาญจนาคึก ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยและคณะกรรมการมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือสถานที่ให้งานวิจัยครั้งนี้ประสบความสำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sadeh Y, Javed T, Javed R, et al. Nutritional status, antioxidant activity and total phenolic content of different fruits and vegetables' peels. *PLoS One*. 2022;17(5):e0265566. Published 2022 May 12. doi:10.1371/journal.pone.0265566
2. Ho LH, Ramli N, Tan TC, Muhamad N, Haron MN. Effect of Extraction Solvents and Drying Conditions on Total Phenolic Content and Antioxidant Properties of Watermelon Rind Powder. *Sains Malaysiana*. 2018;47:99-107. doi:10.17576/jsm-2018-4701-12
3. Olayinka U, Etejere EO. Proximate and chemical compositions of watermelon (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai cv red and cucumber (*Cucumis sativus* L. cv Pipino). *International Food Research Journal*. 2018;25:1060-1066.
4. Manivannan A, Lee ES, Han K, Lee HE, Kim DS. Versatile Nutraceutical Potentials of Watermelon—A Modest Fruit Loaded with Pharmaceutically Valuable Phytochemicals. *Molecules*. 2020;25:5258. doi:10.3390/molecules25225258
5. Gu I, Balogun O, Brownmiller C, Kang HW, Lee S-O. Bioavailability of Citrulline in Watermelon Flesh, Rind, and Skin Using a Human Intestinal Epithelial Caco-2 Cell Model. *Applied Sciences*. 2023;13(8):4882. <https://doi.org/10.3390/app13084882>
6. Purwidyaningrum I, Iswandi, Billi J. Diuretic activity of water melon rind extract (*citrullus vulgaris*) and its influence on sodium and potassium levels. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res.* 2018;10(5):213-215.doi: 10.25258/phyto.10.5.6
7. Maoto M, Beswa D, Jideani A. Watermelon as a potential fruit snack. *International Journal of Food Properties*. 2019;22:355-370. doi:10.1080/10942912.2019.1584212
8. Aderiye BI, David OM, Fagbohun ED, et al. Immunomodulatory and phytomedicinal properties of watermelon juice and pulp (*Citrullus lanatus* Linn): A review. *GSC biol. pharm. sci.* 2020;11(02):153–165. doi:10.30574/gscbps. 2020.11.2.0079
9. Ministry of Agriculture and Cooperatives. Thai agricultural standard TAS 20-2012 watermelon. Published 2012 Nov 16.
10. Ahn J, Choi W, Kim S, Ha TY. Anti-diabetic effect of watermelon (*Citrullus vulgaris* Schrad) on Streptozotocin-induced diabetic mice. *Food science and biotechnology*. 2011;20:251-254. doi:10.1007/s10068-011-0034-5
11. Moeiklang N, Ruangviriyachai C, Determination of phenolic compounds and antioxidant potential in fruit beverages. *KKU Res J (GS)*. 2014;14(4):69-79.
12. Musa KH, Abdullah A, Kuswandi B, Hidayat MA. A novel high throughput method based on the DPPH dry reagent array for determination of antioxidant activity. *Food Chem*. 2013;141(4):4102-4106. doi:10.1016/j.foodchem.2013.06.112
13. Berker KI, Güçlü K, Tor I, Apak R. Comparative evaluation of Fe(III) reducing power-based antioxidant capacity assays in the presence of phenanthroline, batho-phenanthroline, tripyridyltriazine (FRAP), and ferricyanide reagents. *Talanta*. 2007;72(3):1157-1165. doi:10.1016/j.talanta.2007.01.019

14. Duan XJ, Zhang WW, Li XM, et al. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, polysiphonia urceolata. *Food Chem.* 2005;95(1):37-43.
15. สถาพร สัตย์เชื้อ, สุธาสินี ทัพพสารพงค์, วีระศักดิ์ ดำรงรุ่งเรือง.ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์กระตุ้นการสร้างคอลลาเจนในเซลล์ไฟโบรบลาสต์จากช่องปากของสารสกัดจากพืช. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน.* 2557;9:38-43.
16. Kim CH, Park MK, Kim SK, et al. Antioxidant capacity and anti-inflammatory activity of lycopene in watermelon. *Int J Food Sci Technol.* 2014;49:2083–2091.
17. Wanichpakorn S, Kedjarune-Laggat U. Primary cell culture from human oral tissue: Gingival keratinocytes, gingival fibroblasts and periodontal ligament fibroblasts. *Songklanakarin Journal of Science and Technology.* 2010;32:327-331.
18. Łopusiewicz Ł, Maciejka S, Sliwiński M, et al. Alginate biofunctional films modified with melanin from watermelon seeds and zinc oxide/silver nanoparticles. *Materials.* 2022;15(2381):1-23.doi:10.3390/ma15072381

Online Access

<https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/256307>



การอ้างอิง

สถาพร สัตย์เชื้อ, วิไลลักษณ์ สุขใส และสุธาสินี ทัพพสารพงค์. ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกแตงโม. *วารสารวิชาการราชวิทยาลัยจุฬาภรณ์* 2566; 5(3): 113-121. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/256307>

Satsue S., Suksai W., Thapphasaraphong S. Biological Activities of Extract from Watermelon rind Citrullus Lanatus (Thunb.) Matsum and Nakai. *J Chulabhorn Royal Acad.* 2023; 5(3): 113-121. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/jcra/article/view/256307>