

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษ ต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร AGS ของน้ำมันเมล็ดแตงโม

อาภา เพชรสัมฤทธิ์¹, ซาฟิยะห์ สะอะ², กุลธิดา อัมพานนท์¹, ธนพร สุวินัย³, แววลี โชคแสวงการ^{3,4*}

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

² ฝ่ายโภชนาการและสุขภาพ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

³ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

⁴ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

*ติดต่อผู้พิมพ์: แววลี โชคแสวงการ อีเมล: waeowalee@go.buu.ac.th โทรศัพท์: +66-38-103-058

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมัน ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร AGS ของน้ำมันเมล็ดแตงโม

อาภา เพชรสัมฤทธิ์¹, ซาฟิยะห์ สะอะ², กุลธิดา อัมพานนท์¹, ธนพร สุวินัย³, แววลี โชคแสวงการ^{3,4*}

ว. เกษตรศาสตร์อีสาน 2564; 17(3) : 49-58

รับบทความ : 4 กุมภาพันธ์ 2564

แก้ไขบทความ: 31 มีนาคม 2564

ตอบรับ: 20 เมษายน 2564

แตงโมสายพันธุ์กินรีเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมมากในประเทศไทย เนื่องจากความรู้อยู่สูงลิ้นหลังได้บริโภค เมล็ดแตงโมสายพันธุ์นี้ไม่สามารถรับประทานได้และจัดเป็นวัสดุเหลือใช้จากอุตสาหกรรมแปรรูปแตงโม อย่างไรก็ตามเมล็ดแตงโมอุดมไปด้วยน้ำมันที่มีประโยชน์สูงและยังไม่มีรายงานการศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร **วิธีดำเนินการวิจัย:** ศึกษาวิธีที่เหมาะสมสำหรับสกัดน้ำมันจากเมล็ดแตงโม วิเคราะห์ชนิดของกรดไขมันด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดอนุมูล 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และอนุมูล 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) และศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS cells) ด้วยวิธี 3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay ผลการวิจัย: จากการศึกษาพบว่าร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากน้ำมันเมล็ดแตงโมมีค่าสูงสุดเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันแสดงให้เห็นว่ามีกรดไขมัน 8 ชนิด ได้แก่ myristic acid, palmitic acid, stearic acid, arachidic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid และ linolenic acid โดย linoleic acid เป็นกรดไขมันที่มีปริมาณสูงที่สุดที่พบในน้ำมันเมล็ดแตงโม คิดเป็น $11.23 \pm 0.59\%$ ของน้ำหนักเมล็ดแตงโมแห้ง น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดแตงโมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยมีค่า half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) เท่ากับ 3.11 ± 1.49 mg/mL ส่วนฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} มีค่า IC₅₀ มากกว่า 500 mg/mL นอกจากนี้ น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดแตงโมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร AGS โดยมีค่า IC₅₀ 453.7 ± 5.70 µg/mL หลังจากทดสอบเป็นเวลา 24 hr สรุปผลการวิจัย: น้ำมันจากเมล็ดแตงโมสายพันธุ์กินรีมี linoleic acid ปริมาณมาก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร AGS ผลการศึกษานี้เป็นการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของน้ำมันเมล็ดแตงโม เพื่อการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคตให้สามารถเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของเมล็ดแตงโมได้

คำสำคัญ: แตงโม, เมล็ด, ต้านอนุมูลอิสระ, ความเป็นพิษต่อเซลล์, เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร



Analysis of Fatty Acid Composition, Antioxidant Activity and Cytotoxicity against AGS Human Gastric Adenocarcinoma Cells of Watermelon Seed Oil

Arpa Petchsomrit¹, Safiah Saah², Kuntida Oumpanon¹, Thanaporn Suwinai³, Waeowalee Choksawangarn^{3,4*}

¹ Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Science, Burapha University, Chonburi 20131

² Department of Nutrition and Health, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900

³ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

⁴ Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131

* **Corresponding author:** Waeowalee Choksawangarn, Department of Biochemistry and Center of Excellence for Innovation in Chemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi 20131. Tel: +66-38-103-058 Email: waeowalee@go.buu.ac.th

Abstract

Analysis of Fatty Acid Composition, Antioxidant Activity and Cytotoxicity against AGS Human Gastric Adenocarcinoma Cells of Watermelon Seed Oil

Arpa Petchsomrit¹, Safiah Saah², Kuntida Oumpanon¹, Thanaporn Suwinai³, Waeowalee Choksawangarn^{3,4*}

IJPS, 2021; 17(3) : 49-58

Received: 4 February 2021

Revised: 31 March 2021

Accepted: 20 April 2021

Watermelon, Kinnaree variety, is a popular fruit in Thailand due to the feeling of freshness after consuming. The Kinnaree watermelon seeds are inedible parts and considered as waste from watermelon processing industry. However, the watermelon seeds are rich in beneficial oil. And the effects of watermelon seed oil on cytotoxicity against gastric cancer cells have not been reported. **Methods:** The watermelon seed oil extraction methods was optimized. Fatty acid composition was evaluated by gas chromatography. Antioxidant activities were determined by 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) radical scavenging activities. And cytotoxicity against gastric cancer cells (AGS cells) was investigated by 3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. **Results:** The results showed that the highest percent yield of watermelon seed oil was obtained using hexane extraction. The analysis of fatty acid composition showed eight types of fatty acids: myristic acid, palmitic acid, stearic acid, arachidic acid, palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid, and linolenic acid. Linoleic acid was the most abundant fatty acid in watermelon seed oil, accounting for 11.23 ± 0.59 % (w/w) of dried seed weight. The watermelon seed oil contained DPPH radical scavenging activity with the half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) value of 3.11 ± 1.49 mg/mL; while the IC₅₀ against ABTS^{•+} was higher than 500 mg/mL. Moreover, the watermelon seed oil showed cytotoxicity against AGS cells with the IC₅₀ value of 453.7 ± 5.70 µg/mL after 24 hr of treatment. **Conclusion:** Kinnaree watermelon seed oil had high linoleic acid content, antioxidant capacity, and the ability to inhibit AGS cells proliferation. However, this study was a preliminary study on the properties of the watermelon seed oil, which might help improving economic value of the watermelon seed in the future.

Keywords: Watermelon, Seed, Antioxidant, Cytotoxicity, Gastric cancer cells



บทนำ

แตงโม (*Citrullus lanatus*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2563 มีรายงานการเพาะปลูกแตงโมเนื้อบนพื้นที่ 77450.95 ไร่ คิดเป็นผลผลิตทั้งหมด 158,623,618.52 kg (Agricultural Production Information System, Department of Agricultural Extension Ministry of Agricultural and Cooperatives, 2021) แตงโมเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมในกลุ่มผู้บริโภค เนื่องจากมีรสหวาน เนื้อฉ่ำน้ำ ช่วยดับกระหาย และให้พลังงานต่ำ นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกไลโคปีนและเบตาแคโรทีน (Adetutu *et al.*, 2015) จากความนิยมในการบริโภคและอุตสาหกรรมแปรรูปเนื้อแตงโม ส่งผลให้มีเมล็ดแตงโมที่เหลือทิ้งเป็นจำนวนมาก จากการศึกษาพบว่าเมล็ดแตงโมมีน้ำมันเป็นองค์ประกอบสูงถึงร้อยละ 10-35 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งในแตงโมต่างสายพันธุ์จะมีปริมาณน้ำมันที่แตกต่างกัน (Mahla *et al.*, 2018)

น้ำมันที่สกัดจากเมล็ดแตงโมมีทั้งกรดไขมันอิ่มตัวและกรดไขมันไม่อิ่มตัวซึ่งเป็นแหล่งสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ปริมาณของสารสำคัญในน้ำมันเมล็ดแตงโมขึ้นอยู่กับวิธีการสกัดน้ำมัน โดยกรดไขมันที่พบปริมาณสูงที่สุดจากน้ำมันเมล็ดแตงโมทุก ๆ สายพันธุ์คือ linoleic acid ส่วนกรดไขมันกลุ่มที่พบในปริมาณมากและแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ palmitic acid, stearic acid, oleic acid และ linolenic acid นอกจากนี้ ยังอุดมไปด้วยวิตามินอี วิตามินเอ ไรโบฟลาวิน สารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์หลากหลายชนิด (Ouassor *et al.*, 2020; Petchsomrit *et al.*, 2020; Ziyada and Elhussien, 2008)

มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลายของน้ำมันเมล็ดแตงโม ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย เป็นต้น (Atolani *et al.*, 2012; Bello *et al.*, 2016; Jorge *et al.*, 2015; Madhavi *et al.*, 2012; Thongtha *et al.*, 2017) นอกจากนี้ ยังมีรายงานวิจัยระบุว่าสารสกัดจากใบแตงโมและน้ำแตงโมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปากมดลูกและมะเร็งเต้านม (Sueakham *et al.*, 2018; Rahmat *et al.*, 2002) แต่ยังไม่มีการรายงานฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งจากน้ำมันเมล็ดแตงโม โดยเฉพาะมะเร็งกระเพาะอาหารซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญในหลายประเทศ พบได้มากในประเทศแถบเอเชีย ในปี 2017 มีจำนวนรวมของอุบัติการณ์การเกิดโรคและเสียชีวิตเพิ่มขึ้นทั่วโลก แม้ว่าจะเป็นโรคมะเร็งที่พบบ่อยเป็นอันดับ 7 แต่กลับเป็นสาเหตุการตายอันดับ 3 รองจากมะเร็งปอดและมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Fitzmaurice *et al.*, 2018)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายที่มีขั้วแตกต่างกัน ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม และระยะเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณน้ำมันเมล็ดแตงโมสายพันธุ์นี้เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคและแปรรูปผลิตภัณฑ์ และศึกษาวิเคราะห์ชนิดของกรดไขมัน รวมทั้งฤทธิ์ทางชีวภาพของน้ำมันเมล็ดแตงโม ได้แก่ ฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งโดยใช้เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารชนิด AGS เป็นโมเดลในการศึกษาและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการเพิ่มมูลค่าเมล็ดแตงโมที่เหลือทิ้งจากการบริโภค

วิธีดำเนินการวิจัย

1. สารเคมี

สารมาตรฐาน fatty acid methyl ester (FAME) (TraceCERT[®] Cat. Number: CRM18918) และ α -tocopherol (CAS Number: 10191-41-0), 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) และ boron trifluoride ซื้อจากบริษัท Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, USA) เฮปแทน, เมทานอล, เฮกเซน, ไดคลอโรมีเทน, คลอโรฟอร์ม, dimethyl sulfoxide (DMSO), sodium hydroxide และ sodium chloride ซื้อจากบริษัท Merck (Darmstadt, Germany).

2. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดน้ำมันเมล็ดแตงโม

เมล็ดแตงโมสายพันธุ์นี้จากนิชาฟาร์ม จ.ชลบุรี ถูกนำมาตากแห้งเป็นระยะเวลา 7 วัน แล้วนำเข้าตู้อบลมร้อน (Memmert[®] CTC256, Buchenbach, Germany) ที่อุณหภูมิ 60 °C เพื่อไล่ความชื้นเป็นระยะเวลา 24 hr ก่อนที่จะนำเข้าเครื่องปั่นบดเพื่อเพิ่มพื้นที่ผิว จากนั้นเมล็ดแตงโมถูกนำไปศึกษาวิธีที่เหมาะสมสำหรับการสกัดน้ำมัน โดยเปรียบเทียบ ร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ที่อัตราส่วนเมล็ดแตงโม 5 g ต่อตัวทำละลาย 10 mL จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 2, 6, 12, 24 และ 48 hr เมื่อครบตามระยะเวลาที่กำหนด ตัวอย่างทั้งหมดถูกนำไปประเหยในสภาวะสุญญากาศ จนได้น้ำมันคงที่ โดยร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สามารถคำนวณได้จากสมการที่ 1

ร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ = (น้ำหนักของน้ำมันเมล็ดแตงโม/ น้ำหนักแห้งของเมล็ดแตงโม) x 100 สมการที่ 1

3. การวิเคราะห์ชนิดกรดไขมันในน้ำมันเมล็ดแตงโมด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี

น้ำมันที่สกัดได้จากเมล็ดแตงโมปริมาณ 100 μL ถูกนำมาทำปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชัน โดยผสมกับสารละลาย 0.5 M methanolic NaOH ปริมาตร 800 μL บ่มที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 7 min แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดต่ำลงเป็นอุณหภูมิห้อง จากนั้นเติม methanolic boron trifluoride ปริมาตร 900 μL และบ่มที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 2 min จากนั้นเติม heptane ปริมาตร 400 μL ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 min และเติม saturated sodium chloride ปริมาตร 1500 μL ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้จนสารละลายแยกชั้น โดยชั้นบนจะเป็นชั้นเฮปแทนที่มี FAME (Yurchenko *et al.*, 2016)

FAME จากน้ำมันเมล็ดแตงโมถูกวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน fatty acid methyl ester 14 ชนิด ได้แก่ caprylic acid (C8:0), capric acid (C10:0), lauric acid (C12:0), myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), arachidic acid (C20:0), linolenic acid (C18:3), behenic acid (C22:0), erucic acid (C22:1), and lignoceric acid (C24:0) (Sigma Aldrich, Saint-Louis, MO, USA) ที่ความเข้มข้นของสารมาตรฐานผสมอย่างละเท่ากับ 1, 10, 20, 40, 60 และ 100 mg/mL สารละลายตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน ปริมาตร 1 μL ถูกแยกด้วยคอลัมน์ HP-FFAP (30 m $\times$ 0.25 mm i.d. $\times$ 0.25 μm) ที่ต่ออยู่กับเครื่อง Agilent HP 6890 Gas chromatograph (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) โดยใช้ splitless injection mode ที่อุณหภูมิของ injector เท่ากับ 200 °C แก๊สตัวพาที่ใช้คือฮีเลียม อุณหภูมิของ oven เริ่มต้นที่ 150 °C จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 4 °C ต่อ min เป็นระยะเวลา 17.5 min จากนั้นให้อุณหภูมิคงที่ที่ 220 °C เป็นเวลา 20 min สารที่ออกจากคอลัมน์ถูกตรวจวัดด้วย flame ionization detector (FID) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกบันทึกเป็นโครมาโทแกรมด้วยโปรแกรม Agilent ChemStation (Agilent Technologies, Palo Alto, CA)

4. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.1 DPPH radical scavenging assay

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการให้อะตอมไฮโดรเจนถูกตรวจสอบโดยใช้สารละลาย DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีของ Molyneux (2004) น้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mg/mL ปริมาตร 50 μL ในสารละลายเฮกเซน

ถูกนำไปผสมกับสารละลาย 0.2 mM DPPH ในเมทานอล ปริมาตร 100 μL แล้วบ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 min จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง VersaMax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 2 โดย α -tocopherol ถูกใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / (A_{\text{Control}}) \times 100 \quad \text{สมการที่ 2}$$

เมื่อ A_{control} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH และเมทานอล และ A_{sample} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ผสมกับสารละลายตัวอย่าง

4.2 ABTS radical cation decolorization assay

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระผ่านกลไกการให้อิเล็กตรอนถูกตรวจสอบโดยใช้สารละลาย ABTS โดยดัดแปลงจากวิธีของ Re *et al.*, 1999. อนุมูล $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ถูกเตรียมโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันระหว่างสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 mM และสารละลาย $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$ ความเข้มข้น 2.45 mM เป็นระยะเวลา 16 hr จากนั้นเจือจางสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ 20 เท่า ด้วยเอทานอล หลังจากนั้นตัวอย่างน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้น 12.5, 25, 50, 100 และ 500 mg/mL ในสารละลายไดคลอโรมีเทน ปริมาตร 10 μL ถูกนำไปผสมกับสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ที่ผ่านการเจือจางแล้ว ปริมาตร 1000 μL บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 min แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm ด้วยเครื่อง VersaMax microplate reader (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, USA) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสามารถคำนวณได้จากสมการที่ 3 โดย α -tocopherol ถูกใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

$$\% \text{ inhibition} = (A_{\text{Control}} - A_{\text{Sample}}) / (A_{\text{Control}}) \times 100 \quad \text{สมการที่ 3}$$

เมื่อ A_{control} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ และสารละลายไดคลอโรมีเทน และ A_{sample} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย $\text{ABTS}^{\bullet+}$ ที่ผสมกับสารละลายตัวอย่าง

5. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร

การเตรียมเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS cells (passages 63), American Type Culture Collection CRL-1739TM, Manassas, VA, USA) ใน T-75 flask ด้วยอาหารเลี้ยง



เซลล์ คือ DMEM (Dulbecco's modified eagle medium) โดยในอาหารเลี้ยงเซลล์จะเสริมด้วย 10 % fetal bovine serum และ 1 % Penicillin-Streptomycin (Gibco, Gibthai, Thailand) บ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 37 °C ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ 5 % โดยทำการเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเซลล์ทุก ๆ 2-3 วัน จนกระทั่งมีปริมาณของเซลล์ประมาณ 80 % ของพื้นที่ในขวดเลี้ยงเซลล์ จากนั้นทำการแยกเซลล์โดยใช้เอนไซม์ทริปซิน-อีดีทีเอ (Trypsin EDTA) ที่ความเข้มข้น 0.25 % แล้วทำการนับจำนวนเซลล์และนำไปใส่ลงในหลุมเลี้ยงเซลล์ ก่อนนำไปทดสอบกับตัวอย่างต่อไป

6. การทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันเมล็ดแตงโมต่อความเป็นพิษของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร

ทดสอบโดยใช้วิธี 3,(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) ซึ่งเป็นวิธีวัดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ การทดสอบเริ่มโดยเลี้ยงเซลล์ AGS จำนวน 2×10^4 cells/100 μ L ใน 96-well plate ทำการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 24 hr จากนั้นเตรียมตัวอย่างน้ำมันเมล็ดแตงโมในตัวอย่างละลาย DMSO และเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์เพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่าง ๆ (25-750 μ g/mL) โดยทุกตัวอย่างมีความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO อยู่ที่ร้อยละ 0.1 ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ เติมตัวอย่าง 100 μ L ลงไปในเซลล์และบ่มในตู้

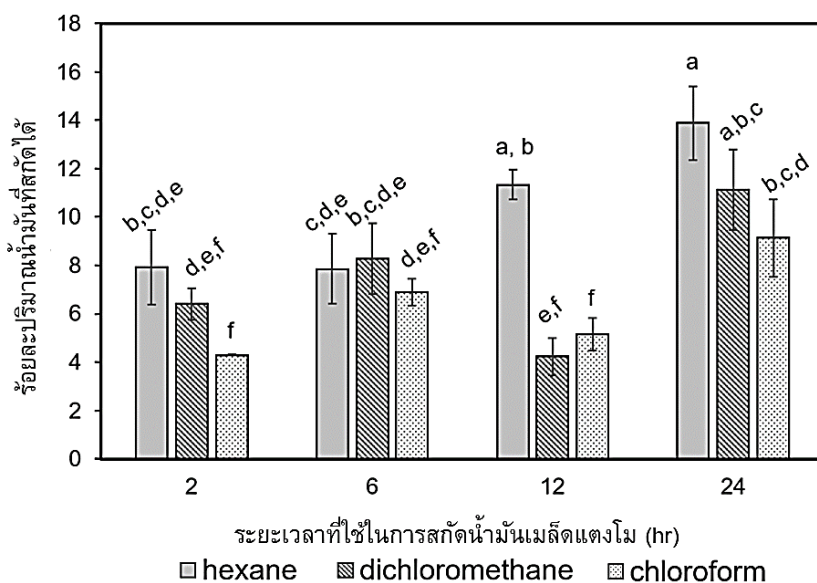
เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 24 hr หลังจากนั้นนำตัวอย่างออกจากเซลล์เพาะเลี้ยง แล้วเติม MTT ความเข้มข้น 5 mg/mL ปริมาตร 10 μ L ลงในแต่ละหลุมเลี้ยงเซลล์ และนำไปบ่มในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์ อุณหภูมิ 37 °C และ 5% CO₂ เป็นเวลา 4 hr แล้วจึงละลายผลึกฟออร์มาซานด้วย DMSO 100 μ L ทำการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm ด้วยเครื่อง microplate readers (Infinite M200 PRO Tecan, Mannedorf, Switzerland) นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (ชุดที่เลี้ยงด้วยอาหารเลี้ยงเซลล์อย่างเดียว) แล้วคำนวณหา % cell viability ได้จากสมการที่ 4

$$\% \text{ cell viability} = (A_{\text{Sample}} / A_{\text{Control}}) \times 100 \quad \text{สมการที่ 4}$$

เมื่อ A_{sample} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ และ A_{control} หมายถึงค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

7. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง 3 ชุดการทดลองที่เป็นอิสระต่อกัน ถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี one-way analysis of variance (ANOVA) และ Tukey's post-tests โดยใช้โปรแกรม Minitab 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA) ค่าระดับนัยสำคัญถูกกำหนดที่ $P < 0.05$



รูปที่ 1 ผลของชนิดตัวทำละลายและระยะเวลาในการสกัดที่มีต่อร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ (% yield) ค่าที่แสดงในกราฟเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=3$) และตัวอักษร (a-f) ที่แตกต่างกันแสดงถึงชุดข้อมูลที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

1. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับสกัดน้ำมันเมล็ดแตงโม

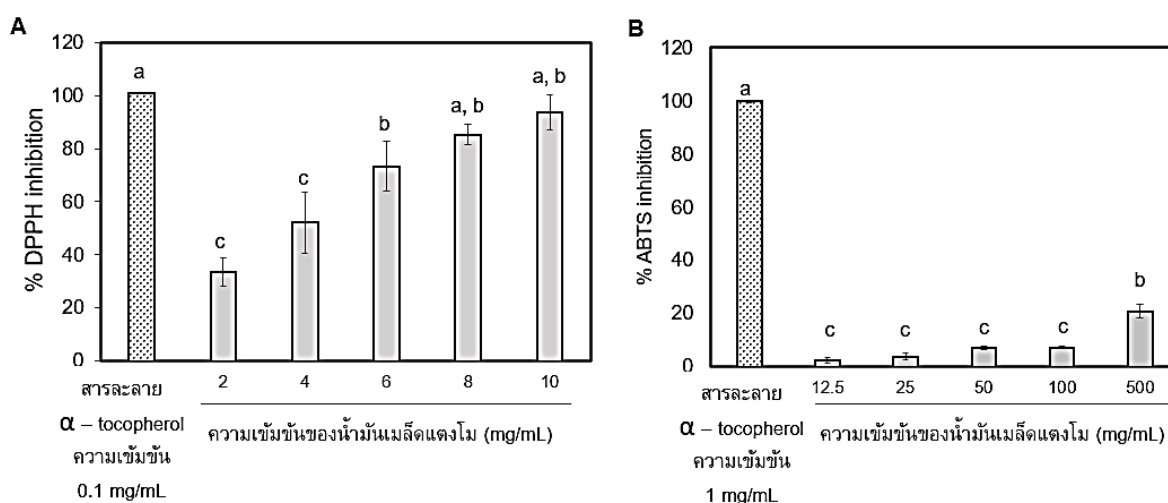
จากการศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับสกัดน้ำมันเมล็ดแตงโมสายพันธุ์กินรี พบว่า เฮกเซนมีประสิทธิภาพในการสกัดที่สูงกว่า ไดคลอโรมีเทน และคลอโรฟอร์ม ตามลำดับ (รูปที่ 1) และระยะเวลาในการสกัดที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้นด้วย โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนเป็นระยะเวลา 24 hr ให้ร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงที่สุด ($13.88 \pm 1.52\%$) อย่างไรก็ตาม ร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้เพิ่มมากขึ้นอาจไม่ได้เป็นตัวชี้วัดโดยตรงถึงปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mahla *et al.* (2018) ซึ่งรายงานเกี่ยวกับการใช้เฮกเซนสำหรับสกัดน้ำมันเมล็ดแตงโมสายพันธุ์ต่าง ๆ โดยใช้อุณหภูมิและความดันสูง โดยสายพันธุ์ของแตงโมส่งผลต่อร้อยละปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ที่แตกต่างกัน ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 10.0 ถึง 31.0%

2. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบของน้ำมันเมล็ดแตงโม

กรดไขมันในน้ำมันเมล็ดแตงโม ถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี ที่มีเครื่องตรวจวัดเป็น flame ionization detector โดยกรดไขมันถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูป FAME ก่อนที่จะนำไปทำการวิเคราะห์ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยใช้สารมาตรฐานเป็น FAME ของกรดไขมัน 14 ชนิด ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ค่า retention time ของสารมาตรฐาน มีลำดับจากน้อยไปมาก ดังนี้ caprylic acid (C8:0), capric acid (C10:0), lauric acid (C12:0), myristic acid (C14:0), palmitic acid (C16:0), palmitoleic acid (C16:1), stearic acid (C18:0), oleic acid (C18:1), linoleic acid (C18:2), arachidic acid (C20:0), linolenic acid (C18:3), behenic acid (C22:0), erucic acid (C22:1) และ lignoceric acid (C24:0) (ตารางที่ 1) สำหรับในตัวอย่างน้ำมันเมล็ดแตงโม พบกรดไขมันอิ่มตัว 4 ชนิด ที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 14-20 อะตอม ได้แก่ myristic acid, palmitic acid, stearic acid and arachidic acid และกรดไขมันไม่อิ่มตัว 4 ชนิด ที่มีจำนวนคาร์บอนตั้งแต่ 16-18 อะตอม ได้แก่ palmitoleic acid, oleic acid, linoleic acid และ linolenic acid (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่า retention time ของสารมาตรฐาน FAME 14 ชนิด และ FAME ที่ได้จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของน้ำมันเมล็ดแตงโม

สารมาตรฐาน FAME	Retention time ของสารมาตรฐาน FAME	Retention time ของ FAME ที่ได้จากปฏิกิริยาเอสเทอร์ฟิเคชันของน้ำมันเมล็ดแตงโม
caprylic acid (C8:0)	1.497	-
capric acid (C10:0)	2.186	-
lauric acid (C12:0)	3.548	-
myristic acid (C14:0)	5.849	5.855
palmitic acid (C16:0)	9.049	9.123
palmitoleic acid (C16:1)	9.547	9.551
stearic acid (C18:0)	12.779	12.848
oleic acid (C18:1)	13.192	13.323
linoleic acid (C18:2)	14.129	14.393
arachidic acid (C20:0)	15.438	15.456
linolenic acid (C18:3)	16.673	16.675
behenic acid (C22:0)	21.138	-
erucic acid (C22:1)	21.777	-
lignoceric acid (C24:0)	28.254	-



รูปที่ 2 (A) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (B) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้นต่าง ๆ %inhibition ที่แสดงในกราฟเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=3$) และตัวอักษร (a, b, c) ที่แตกต่างกัน แสดงถึงชุดข้อมูลที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 2 ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่มีในน้ำมันเมล็ดแตงโม ที่สกัดด้วยเฮกเซน

ชนิดกรดไขมัน	ปริมาณกรดไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไขมัน ในเมล็ดแตงโมแห้ง)
Myristic acid	0.002 ± 0.004
Palmitic acid	0.914 ± 0.973
Palmitoleic acid	0.918 ± 0.011
Stearic acid	0.918 ± 0.443
Oleic acid	2.685 ± 1.275
Linoleic acid	11.23 ± 0.589
Arachidic acid	0.034 ± 0.030
Linolenic acid	0.023 ± 0.019

ในการวิเคราะห์เชิงปริมาณ FAME มาตรฐานแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 1, 10, 20, 40, 60 และ 100 mg/mL ถูกใช้ในการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ FAME กับพื้นที่ใต้กราฟ ซึ่งกราฟมาตรฐานของ FAME ทุกชนิดที่นำมาใช้ในการทดลองมีค่า $R^2 > 0.97$ เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไขมันในรูปร้อยละโดยน้ำหนักของกรดไขมันต่อเมล็ดแตงโมแห้งทั้งต้นพบว่า linoleic acid มีปริมาณสูงที่สุด โดยคิดเป็นร้อยละ 11.23 ± 0.589 ของน้ำหนักเมล็ดแตงโมแห้ง และรองลงมาคือ oleic acid, stearic acid, palmitoleic acid, palmitic acid, arachidic

acid, linolenic acid, myristic acid ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณอยู่ในช่วงร้อยละ 0.002 ± 0.004 ถึง 2.685 ± 1.275 ของน้ำหนักเมล็ดแตงโมแห้ง (ตารางที่ 2) ผลการทดลองมีความสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Petchsomrit *et al.* (2020) ซึ่งรายงานถึงชนิดของกรดไขมันที่พบในเปลือกและเมล็ดแตงโมสายพันธุ์กินรีและยังสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Biswas *et al.* (2017) ซึ่งรายงานว่าปริมาณกรดไขมันที่พบมากที่สุดในการสกัดเมล็ดแตงโมสายพันธุ์อื่น ๆ คือ linoleic acid และ oleic acid ตามลำดับ

3. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดแตงโม

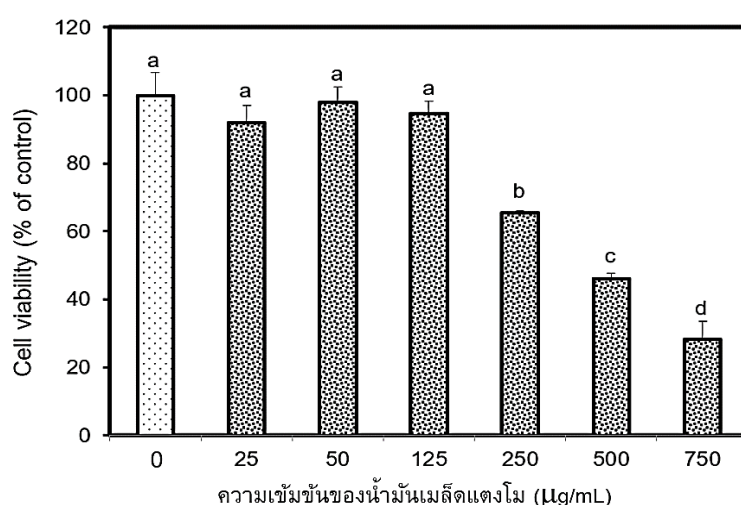
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดแตงโม ถูกตรวจสอบด้วย DPPH radical scavenging assay และ ABTS radical cation decolorization assay เพื่อวิเคราะห์ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ตามลำดับ พบว่า น้ำมันเมล็ดแตงโมความเข้มข้น 10 mg/mL มีความสามารถในการยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ $93.68 \pm 6.7\%$ ใกล้เคียงกับ α -tocopherol ความเข้มข้น 0.1 mg/mL ซึ่งเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (รูปที่ 2(A)) นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแปรผันตรงกับความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดแตงโม โดยมีค่า half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) ต่ออนุมูล DPPH เท่ากับ 3.11 ± 1.49 mg/mL ซึ่งสอดคล้องกับค่า IC_{50} ของน้ำมันเมล็ดแตงโมที่มีรายงานในงานวิจัยก่อนหน้า โดยมีค่า IC_{50} ที่อยู่ระหว่าง 0.31 mg/mL และ 7.07 mg/mL (Atolani *et al.*, 2012; Jorge *et al.*, 2015) ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากสายพันธุ์ของแตงโมและวิธีการสกัดน้ำมันเมล็ดแตงโมที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ ผลการทดลองยัง

แสดงให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดแตงโมมีความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS^{•+} ที่น้อยกว่าอนุมูล DPPH โดยมีค่า IC₅₀ มากกว่า 500 mg/mL รูปที่ 2(B) แสดงให้เห็นว่าน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้นระหว่าง 12.5 และ 500 mg/mL มีความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS^{•+} อยู่ระหว่าง $2.28 \pm 1.1\%$ และ $20.91 \pm 2.65\%$ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า α -tocopherol ความเข้มข้น 1 mg/mL ที่ใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวก ผลการทดลองจากทั้งสองวิธีแสดงให้เห็นแนวโน้มว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดแตงโมน่าจะมาจากกลไกการให้ห่อหุ้มไฮโดรเจนมากกว่ากลไกการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ

4. การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS cells) ของน้ำมันเมล็ดแตงโมด้วยวิธี MTT assay

วิธี MTT อาศัยหลักการวัดการทำงานของเอนไซม์ไมโทคอนเดรีย ดีไฮโดรจีเนส (mitochondrial dehydrogenase) ในเซลล์ที่มีชีวิตโดยการเปลี่ยนสาร MTT ซึ่งมีสีเหลืองให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ฟอรมาซาน (formazan) ที่มีสีม่วง จากผลการทดสอบฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารด้วยน้ำมันเมล็ดแตงโมความเข้มข้น 25 ถึง 750 $\mu\text{g/mL}$ ดังแสดงในรูปที่ 3 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารของน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้น 25 - 750 $\mu\text{g/mL}$ หลังสัมผัสเป็นเวลา 24 hr พบว่าน้ำมันเมล็ดแตงโมความเข้มข้นตั้งแต่ 25 ถึง 125 $\mu\text{g/mL}$ ส่งผลให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (cell viability) ของเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารมีค่ามากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งหมายถึงน้ำมันเมล็ดแตงโมความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร แต่เมื่อทดสอบด้วยน้ำมันเมล็ด

แตงโมความเข้มข้นสูง 250, 500 และ 750 $\mu\text{g/mL}$ เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารมีเปอร์เซ็นต์ของการรอดชีวิตเท่ากับ 64.47 ± 0.49 , 46.10 ± 1.57 และ 28.09 ± 5.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ การที่เซลล์มีการรอดชีวิตลดลงต่ำกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าน้ำมันเมล็ดแตงโมมีความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร โดยความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดแตงโมซึ่งมีกรดไขมัน linoleic acid เป็นองค์ประกอบหลัก ผลการทดลองนี้มีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kwon *et al.* (2008) ที่รายงานว่าความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ linoleic acid นอกจากนี้ยังวิเคราะห์หาค่าระดับความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ทำให้เซลล์ตาย 50% (IC₅₀) เท่ากับ 453.7 ± 5.70 $\mu\text{g/mL}$ สอดคล้องกับผลการศึกษารสชาติน้ำมันจากเทียนดำ (*Nigella sativa* seed methanolic extract) ซึ่งมีปริมาณของ linoleic acid สูง (ร้อยละ 9.41) เช่นเดียวกับน้ำมันเมล็ดแตงโม โดยสารสกัดน้ำมันจากเทียนดำมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 480 $\mu\text{g/mL}$ หลังจากทดสอบกับเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหาร (AGS) เป็นเวลา 24 hr (Czajkowska *et al.*, 2017) และ Choi *et al.* (2014) อธิบายกลไกความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งว่า linoleic acid ชักนำให้เซลล์ตายแบบ apoptosis โดยทำให้เกิดความผิดปกติของไมโทคอนเดรีย รวมทั้งยับยั้งการสังเคราะห์พรอสตาแกลนดิน อี 2 (PGE₂) และลดระดับการแสดงออกของเอนไซม์ไซโคลออกซีจีเนส-2 เอ็มอาร์เอ็นเอ (COX-2 mRNA) อีกด้วย นอกจากนี้ linoleic acid อาจชักนำให้เซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารตายผ่าน Fas/Fas ligand pathway (Kwon *et al.*, 2008)



รูปที่ 3 ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารของน้ำมันเมล็ดแตงโมที่ความเข้มข้น 25 - 750 $\mu\text{g/mL}$ หลังสัมผัสเป็นเวลา 24 hr % cell viability ที่แสดงในกราฟเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3) และตัวอักษร (a, b, c, d) ที่แตกต่างกัน แสดงถึงชุดข้อมูลที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)



สรุปผลการวิจัย

เมล็ดแตงโมสามารถนำมาสกัดน้ำมันได้โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน สกัดเป็นเวลา 24 hr เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันสูงสุด โดย linoleic เป็นกรดไขมันที่พบมากที่สุด นอกจากนี้ น้ำมันเมล็ดแตงโมยังมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (IC₅₀ เท่ากับ 3.11 ± 1.49 mg/mL) ซึ่งมีประสิทธิภาพที่สูงกว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} (IC₅₀ มากกว่า 500 mg/mL) แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันเมล็ดแตงโมน่าจะมาจากกลไกการให้อะตอมไฮโดรเจน รวมทั้งมีฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งกระเพาะอาหารที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 250 µg/mL ขึ้นไป ผลการศึกษานี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานในการสกัดและวิเคราะห์คุณสมบัติของสารสกัดจากส่วนเหลือทิ้งในการบริโภค ซึ่งอาจนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจของเมล็ดแตงโมได้ต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการค้นคว้า วิจัย รวมถึงการสนับสนุนด้านสถานที่และเครื่องมือในการวิจัย จากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา (สัญญาเลขที่ Rx 1/2564) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา และศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี (PERCH-CIC) กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม รวมทั้งบริษัท นิซซาฟาร์ม อำเภอบ้านมิ่ง จังหวัดชลบุรี ที่สนับสนุนตัวอย่างแตงโมที่ใช้ในการวิจัยในครั้งนี้

References

Adetutu A, Olorunnisola OS, Owoade OA. Nutritive values and antioxidant activity of *Citrullus lanatus* fruit extract. *Food Nutr Sci* 2015; 6(11): 1056–1064.

Agricultural production information system, Department of Agricultural Extension Ministry of Agricultural and Cooperatives. Crop production report [Online]. 2021 [cited 2021 Jan 15]. Available from: <https://production.doae.go.th/service/data-state-location/index>.

Atolani O, Omere J, Adewuyi OA. Antioxidant and cytotoxicity effects of seed oils from edible fruits. *J Acute Dis* 2012; 1(2): 130-134.

Bello HS, Ismail HY, Goje MH, Mangga HK. Antimicrobial activity of *Citrullus lanatus* (watermelon) seeds on some selected bacteria. *J Biotechnol Res* 2016; 2(6): 39-43.

Biswas R, Ghosal S, Chattopadhyay A, Datta S. A comprehensive review on watermelon seed oil – an underutilized product. *IOSR J Pharm* 2017; 7(11): 1-7.

Choi YH. Linoleic acid-induced growth inhibition of human gastric epithelial adenocarcinoma AGS cells is associated with down-regulation of prostaglandin E2 synthesis and telomerase activity. *J Cancer Prev* 2014; 19(1): 31–38.

Czajkowska A, Gornowicz A, Pawłowska N, Czarnomys R, Nazaruk J, Szymanowski W, *et al.* Anticancer effect of a novel octahydropyrazino[2,1-a:5,4-a']diisoquinoline derivative and its synergistic action with *nigella sativa* in human gastric cancer cells. *BioMed Res Int* 2017; 2017: 9153403.

Fitzmaurice C, Global Burden of Disease Cancer Collaboration. Global, regional, and national cancer incidence, mortality, years of life lost, years lived with disability, and disability-adjusted life-years for 29 cancer groups, 1990 to 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. *JAMA Oncol* 2018; 4(11): 1553–1568.

Jorge N, da Silva AC, Malacrida CR. Physicochemical characterisation and radical-scavenging activity of Cucurbitaceae seed oils. *Nat Prod Res* 2015; 29(24): 2313–2317.

Kwon JI, Kim GY, Park KY, Ryu CH, Choi YH. Induction of apoptosis by linoleic acid is associated with the modulation of Bcl-2 family and Fas/FasL system and activation of caspases in AGS human gastric adenocarcinoma cells. *J Med Food* 2008; 11(1): 1-8.



- Madhavi P, Rao M, Vakati K, Rahman H, Eswaraiah MC. Evaluation of anti-inflammatory activity of *Citrullus lanatus* seed oil by in-vivo and in-vitro models. *Int Res J Pharm App Sci* 2012; 2(4): 104–108.
- Mahla, HR, Rathore SS, Venkatesan K, Sharma R. Analysis of fatty acid methyl esters and oxidative stability of seed purpose watermelon (*Citrullus lanatus*) genotypes for edible oil. *J Food Sci Tech* 2018; 55(4): 1552–1561.
- Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J Sci Technol* 2004; 26(2): 211–219.
- Ouassor I, Aqil Y, Belmaghraoui W, Hajjaji SE. Characterization of two Moroccan watermelon seeds oil varieties by three different extraction methods. *OCL Oils Fat Crop Li* 2020; 27: 13.
- Petchsomrit A, McDermott MI, Chanroj S, Choksawangkar W. Watermelon seeds and peels: fatty acid composition and cosmeceutical potential. *OCL Oils Fat Crop Li* 2020; 27: 54.
- Rahmat A, Rosli R, Zain W, Endrini S, Sani HA. Antiproliferative activity of pure lycopene compared to both extracted lycopene and juices from watermelon (*Citrullus vulgaris*) and papaya (*Carica papaya*) on human breast and liver cancer cell lines. *J Med Sci* 2002; 2: 55-58.
- Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med* 1999; 26(9-10): 1231–1237.
- Sueakham T, Chantaramanee C, lawsipo P. Anti-proliferative effect of Thai watermelon leaf extracts on cervical and breast cancer cells. *NU Int J Sci* 2018; 15(1): 89-95.
- Thongtha S, Sawai P, Srisook K. A comparative study on antioxidant and nitric oxide-inducing activity of some watermelon cultivars grown in Thailand. *Burapha Sci J* 2017; 22(special issue): 14-22.
- Yurchenko S, Sats A, Poikalainan V, Karus A. Method for determination of fatty acid in bovine colostrum using GC-FID. *Food Chem* 2016; 212: 117–122.
- Ziyada AK, Elhussien SA. Physical and chemical characteristics of *Citrullus lanatus* var Colocynthoide seed oil. *J Phys Sci* 2008; 19(2): 69-75.