



ปัญหาพิเศษ

การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกกล้วยหอม

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM BANANA PEEL

โดย
นางสาวณัฐกมล อยู่คำ

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
พ.ศ. 2562



ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์บัณฑิต (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)

ปริญญา

วิทยาศาสตร์ชีวภาพ
สาขา

วิทยาศาสตร
ภาควิชา

เรื่อง การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกกล้วยหอม
UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM BANANA PEEL

นามผู้วิจัย.....นางสาวณัฐกมล อยู่คำ.....

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ.....

(...อาจารย์พุทธพร ส่องศรี, D.Eng...)

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(...ผู้ช่วยศาสตราจารย์ แต่งอ่อน พรหมมิ, ป.ร.ด...)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์

วันที่.....เดือน.....พ.ศ. 2562

การใช้ประโยชน์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเปลือกกล้วยหอม

ณัฐกมล อยู่คำ และ พุทธิพร สองศรี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 เท่ากับ 16.85 ± 1.48 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด เป็นค่าที่เหมาะสมที่สุด ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH scavenging assay พบว่า สารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดร้อยละ 75.09 ± 2.16 รองลงมาเป็นสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจาง 1:10 ร้อยละ 74.57 ± 0.87 ส่วนฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome โดยใช้ L-DOPA เป็นสารตั้งต้น พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 มีฤทธิ์ยับยั้งสูงที่สุด เท่ากับ 76.92% ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกอาจเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ซึ่งสามารถศึกษาเพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส, เปลือกกล้วย

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

UTILIZATION OF BIOACTIVE COMPOUNDS FROM BANANA PEEL

Natkamol yukham and Puttaporn Songsri

ABSTRACT

This research aimed to determine total phenolic contents, antioxidant activity and tyrosinase inhibitory activity of mature green and ripe banana peel extracts by using methanol as solvent. The results of Folin-Ciocalteu assay showed that the total phenolic content from ripe banana peel extracts at 1:100 dilution was 16.85 ± 1.48 mg of gallic acid equivalent (GAE) /g extract. The antioxidant activity was assessed using DPPH assay. The results showed percent of free radical scavenging of ripe banana peel extracts at 1:100 dilution was $75.09 \pm 2.16\%$ and mature green banana peel extracts at 1:10 dilution was $74.57 \pm 0.87\%$ respectively. Tyrosinase inhibitory activity was examined using L-DOPA as substrate. The results showed percent tyrosinase inhibitory activity of ripe banana peel extracts at 1:100 dilute was 76.92%. This research reveals that ripe banana peel extracts may be a source of natural antioxidant and tyrosinase inhibitory activity, which can be used in cosmetic product development

Keywords: antioxidant activity, tyrosinase inhibitory activity, banana peel

Student's signature

Advisor's signature

____/____/____

บทนำ

กล้วยหอมทองหรือกล้วยหอม (*Musa paradisiaca* L.) อยู่ในวงศ์ Musaceae เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย ซึ่งเป็นผลไม้ที่คนไทยรู้จักกันเป็นอย่างดี มีการเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายมากขึ้นเกือบทุกภาคและสามารถส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ กล้วยหอมเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นผลไม้ที่หาได้ง่าย สามารถนำมารับประทานได้ทั้งผลดิบและผลสุกและหารับประทานได้ทุกช่วง นอกจากนี้ยังนำมาแปรรูป รวมถึงการนำส่วนต่างๆ มาใช้ประโยชน์ เช่น หยวกกล้วยนำมาทำเชือก ใบตองนำมาห่ออาหารหรือทำกระทง ยางกล้วยสามารถรักษาแผลสดและทาแก้แมลงกัดต่อย เป็นต้น แต่หลังจากบริโภคหรือการแปรรูปจะมีเปลือกกล้วยหอมเหลือทิ้งจำนวนมากทำให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม ในปัจจุบันเปลือกกล้วยปริมาณมากมีการนำกลับมาใช้ประโยชน์เพียงเล็กน้อยโดยแปรรูปเป็นปุ๋ยและอาหารสัตว์ ได้มีการศึกษาเปลือกกล้วยหอมพบว่ามีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและเป็นแหล่งของสารสำคัญ เช่น เพกทิน เซลลูโลส และสารประกอบฟีนอล (นวลกมล และคณะ, 2561) รวมทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุ เช่น โพแทสเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียมและแคลเซียม (Waghmare and Kurhade, 2014)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยรายงานว่าในเปลือกกล้วยมีเส้นใยอาหารสูง ประกอบไปด้วยโปรตีน กรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid) กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids) และอุดมไปด้วยธาตุโพแทสเซียม (Emaga et al., 2007; Rebello et al., 2013) และยังมีสารประกอบโดพามีน (dopamine) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น glutathione, butylated hydroxyanisole, hydroxytoluene, flavone luteolin, flavonol quercetin, catechin โดยโดพามีนจะพบมากในเปลือกและปลีกล้วยรวมถึงกล้วยสุก (Kanazawa and Sakakibara, 2000) และมีรายงานว่าในสารสกัดเปลือกกล้วยมีสารต้านอนุมูลอิสระ gallocatechin โดยในเปลือกกล้วยจะมีปริมาณสูงกว่าในปลี (Someya et al., 2002)

จากรายงานวิจัยของสุจิตใจและสุปรียา (2537) พบสารแทนนินในเปลือกกล้วย สามารถนำมาประยุกต์ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมฟอกหนัง เครื่องสำอางและยา เป็นต้น และจากงานวิจัยของ (Kanazawa and Sakakibara, 2000) พบสารฟลาโวนอยด์ เช่น anthocyanin, delphinidin, cyanidin, catecholamines และพบ starch cellulose เพกทิน และกัม (ยางของพืช) มีคุณสมบัติเป็นสารให้ความชุ่มชื้น (ปีนอนงค์ และ ปัญญวัฒน์, 2558)

คนไทยในสมัยโบราณมีการใช้ประโยชน์จากเปลือกกล้วยเป็นสมุนไพร โดยใช้สมานแผลและทาส่วนเท้าเพื่อรักษาอาการส้นเท้าแตก เนื่องจากบริเวณด้านในเปลือกกล้วยมีเส้นใยเซลลูโลส หรือสารกลุ่มพอลิแซ็กคาไรด์ที่ให้ความชุ่มชื้นผิวทำให้ช่วยรักษาอาการส้นเท้าแตกได้ ซึ่งมีการวิจัยระบุว่าสารสกัดจากกล้วย มีสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต สารประกอบฟีนอลิก เช่น chyrsin, quercetin และ catechin ทำให้เปลือกกล้วยเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Aboul-Enein et al., 2016) ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ ทางเครื่องสำอาง เช่น ครีมบำรุงผิวรักษามือเท้าแตก ครีมกันแดด เป็นต้น

ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้ศึกษาการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบและสุก เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสกัดสารจากเปลือกกล้วยหอม

นำตัวอย่างเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ มาบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งน้ำหนักเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกอย่างละ 50 กรัม เติมน้ำทำละลายเมทานอล 100 ml สกัดทิ้งไว้เป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง whatman เบอร์ 1 แล้วนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง water bath ที่อุณหภูมิ 70-80 องศา รอจนสารระเหยหมด นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกโดยดัดแปลงตามวิธีการของ Basker et al. (2011) โดยการนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบและสุกที่อัตราเจือจางต่างๆ เติมลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol reagent จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำสารสกัดที่ได้วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ Gallic acid เป็นสารมาตรฐาน (ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 0-100 mg/ml) ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก แสดงในหน่วย มิลลิกรัมสมมูลต่อกรัมสารสกัด (mg gallic acid equivalent (GAE) /g Extract)

3. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Mokbel et al. (2005); Fatemeh et al. (2012) นำสารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบและสุกที่อัตราเจือจางต่างๆ เติมลงในหลอดทดลองและเติมเมทานอลลงไป จากนั้นเติมสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ผสมให้เข้ากัน บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้สารบิวทิลไฮดรอกซีโทลูอิน (Butylated hydroxytoluene, BHT) เป็นสารเทียบมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%DPPH free radical inhibition)

4. การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase)

การวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสด้วยวิธี Dopachrome โดยดัดแปลงวิธีบางส่วนจาก Neagu et al. (2016) นำสารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบและสุกที่อัตราเจือจางต่างๆ มาทดสอบ

ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer ณ เวลา 0 5 10 และ 15 นาที หลังเกิดปฏิกิริยา ใช้กรดโคจิก (Kojic acid) เป็นสารเทียบมาตรฐาน และคำนวณหาร้อยละของการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (%Tyrosinase inhibition)

5.การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกกล้วยจะทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n = 3) และใช้โปรแกรมสำเร็จรูปวิเคราะห์ผลทางสถิติ Microsoft Excel 2016 เพื่อแสดงร้อยละ (percentage) ของข้อมูล ค่าเฉลี่ย(mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

ผลการศึกษา

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมด้วยเมทานอลโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu method เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก พบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 48.02 ± 0.81 6.81 ± 0.17 และ 2.67 ± 0.29 mgGAE/g ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 108.93 ± 2.14 16.85 ± 1.48 และ 3.33 ± 0.50 mgGAE/g ตามลำดับ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 จะเห็นว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่เหมาะสม คือ สารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงที่วัดด้วยเครื่อง UV-visible Spectrophotometer อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 พบว่า สารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 มีค่าสูงที่สุด

ตารางที่ 1 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเปลือกกล้วย

ตัวอย่าง	ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด			ปริมาณฟีนอลทั้งหมดเฉลี่ย (mg GAE/ g) \pm SD
	1	2	3	
เปลือกกล้วยดิบ 1:10	47.73	47.40	48.93	48.02 ± 0.81
เปลือกกล้วยดิบ 1:100	6.85	6.96	6.63	6.81 ± 0.17
เปลือกกล้วยดิบ 1:1000	2.45	2.56	3.00	2.67 ± 0.29
เปลือกกล้วยสุก 1:10	110.58	106.52	109.70	108.93 ± 2.14
เปลือกกล้วยสุก 1:100	15.20	17.29	18.05	16.85 ± 1.48
เปลือกกล้วยสุก 1:1000	2.78	3.44	3.77	3.33 ± 0.50

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมด้วยเมทานอล โดยใช้วิธี DPPH scavenging activity พบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจาง 1:10 และ 1:100 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 74.57 ± 0.87 และ 3.11 ± 6.31 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจาง 1:10 1:100 และ 1:1000 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 75.09 ± 2.16 33.13 ± 18.88 และ 1.06 ± 4.40 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานBHT ที่ความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 80 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 0, 39.73, 62.01, 67.76, 73.31 และ 76.90 ตามลำดับ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:10 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด รองลงมาคือสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจาง 1:10 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าสารละลายมาตรฐานBHTที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการหา % ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วย

ตัวอย่าง	%การต้านอนุมูลอิสระ			ค่าเฉลี่ย%การต้านอนุมูลอิสระ \pm SD
	1	2	3	
เปลือกกล้วยดิบ 1:10	75.56	74.23	73.92	74.57 ± 0.87
เปลือกกล้วยดิบ 1:100	10.06	-2.26	1.54	3.11 ± 6.31
เปลือกกล้วยสุก 1:10	72.59	76.39	76.28	75.09 ± 2.16
เปลือกกล้วยสุก 1:100	12.63	49.79	36.96	33.13 ± 18.88
เปลือกกล้วยสุก 1:1000	6.06	-2.26	-0.62	1.06 ± 4.40

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมด้วยเมทานอล โดยใช้วิธี Dopachrome พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 มีฤทธิ์ยับยั้งสูงที่สุด เท่ากับ 76.92% รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบที่อัตราเจือจาง 1:100 เท่ากับ 30.77% ดังแสดงใน ตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการหา % การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกกล้วย

ตัวอย่าง	%การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส
ดิบ1:10	38.46
ดิบ:100	30.77
ดิบ1:1000	15.38
สุก1:10	76.92
สุก1:100	76.92
สุก1:1000	53.85

วิจารณ์ผลการศึกษา

สารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกด้วยเมทานอลที่อัตราเจือจาง 1:100 พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด สอดคล้องกับงานวิจัยของวลัยพรและพัชรภรณ์ (2561) ได้รายงาน ว่า ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยเล็บมือนาง โดยเปลือกกล้วยเล็บมือนางมีค่าระหว่าง 29.48-193.54 มิลลิกรัม Gallic acid/100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดยสารสกัดจากเปลือกกล้วยเล็บมือนางสุกที่สกัดด้วยน้ำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบที่สกัดด้วยคลอโรฟอร์ม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกกล้วยจะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลายและวิธีการที่ใช้ในการสกัดและมีรายงานว่าในเปลือกกล้วยสุกยังพบเซลลูโลส ซึ่งโครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส (D-glucose) โดยน้ำตาลกลูโคสเป็นน้ำตาลที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล (เหรียญทอง และคณะ, 2553)

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบ อาจเนื่องมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอล ซึ่งสารประกอบฟีนอลและฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในพืช (Rice-Evan et al., 1997) และยังมีรายงานว่าในเปลือกกล้วยมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น gallic acid catechin epicatechin และ gallocatechin

ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 ดีที่สุด เนื่องจากมีปริมาณฟีนอลและมีสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ โดยสารประกอบฟีนอลที่พบในตัวอย่างพืชหลายชนิด เช่น kojic acid, flavonoids, quercetin จัดเป็นสารยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสที่สำคัญ (อินทิรา และ พัชรภรณ์, 2561)

สรุปผลการศึกษา

สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสุกที่อัตราเจือจาง 1:100 พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ได้ดีกว่าที่สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบที่อัตราเจือจางต่างๆ การศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานของเปลือกกล้วยหอมเพื่อใช้ในอนาคตทางด้านการใช้เพื่อผลิตยารักษาโรค การใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ด้านเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลได้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์ และ ฝ่ายกิจการนิสิต คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนที่ให้ความสนับสนุนทุนการทำวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีวเคมีและห้องปฏิบัติการเคมีที่อำนวยความสะดวกในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- นวลกมล อำนวยสิน, ญัฐญาภรณ์ เสือชุมแสง และ เทพปัญญา เจริญรัตน์. 2561. การหาสารสกัดที่เหมาะสมในการสกัดเพกทินจากเปลือกกล้วยหอมทองด้วยกรดไฮโดรคลอริกและกรดซิตริก. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี** 7(5): 481-490
- ปิ่นอนงค์ คงดำ และ ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง. 2558. การพัฒนาสารสกัดจากเปลือกกล้วยเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้นผิว. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง, มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- วลัยพร มัชฌิม และ พัชราภรณ์ นาคเทวัญ. 2561.ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยเล็บมือนางและกล้วยหิน ในการต้านการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหาร. **วารสารแก่นเกษตร** 46:1236-1241
- สุดใจ คงทอง และ สุปรียา ยืนยงสวัสดิ์. 2537. การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จากเปลือกกล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอม. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- เหรียญทอง สิงห์จามูนสงค์, กนกกานต์ วีระกุล, วิจิตร อุดอ้าย และ สัมฤทธิ์ ไม้พวง. 2553. การสกัดและการใช้ประโยชน์ทางอาหารของใยอาหารและเซลลูโลสจากเปลือกกล้วย. คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- อินทิรา ชุตแก้ว และ พัชรพรรณ สุขन्छขจร. 2561. สมบัติต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของลำต้น ใบ ดอก และเมล็ดจากเทียนบ้าน. **วารสารแก่นเกษตร** 46:1242-1247
- Aboul-Enein, A.M., Z.A. Salama, A.A. Gaafar, H.F. Aly, F. Abou-Elella and H.A. Ahmed. 2016. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research** 8(4): 46-55.
- Baskar, R., S. Shrisakthi, B. Sathyapriya, R. Sathyapriya, R. Nithya and P. Poongodi. 2011. Antioxidants potential of peel extracts of banana varieties (*Musa sapientum*). **Food and Nutrition Sciences** 2: 1128 –1133.
- Emaga, T.H., R.H. Andrianaivo, B. Wathelet and M. Paquot. 2007. Effects of the stage of maturation and varieties on the chemical composition of banana and plantain peels. **Food Chemistry** 103: 590–600.
- Kanazawa, K. and H. Sakakibara. 2000. High content of dopamine a strong antioxidant in Cavendish banana. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48: 844–848.
- Mokbel, M.S. and F. Hashinaga. 2005. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa*, AAA cv. Cavandish) fruits peel. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology** 3: 125-131.

- 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.
- Rice-Evans, C., N. Miller, and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. **Trends in Plant Science** 2: 152-159.
- Waghmare, J.S and A.H. Kurhade. 2014. GC-MS analysis of bioactive components from banana peel (*Musa sapientum* peel). **European Journal of Experimental Biology** 4(5): 10-15.
- Someya, S., Y. Yoshiki and K. Okubo. 2002. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). **Food Chemistry** 79: 351–354.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สารเคมีและวิธีการเตรียมสาร

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu (FC)
2. sodium carbonate
3. gallic acid
4. เมทานอล (Methanol)
5. 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)
6. butylated hydroxytoluene (BHT)
7. kojic acid
8. L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA)
9. mushroom tyrosinase
10. sodium phosphate dibasic heptahydrate
11. sodium phosphate monobasic monohydrate

ตารางภาคผนวก ก1 การเตรียมสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid) เตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

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

ตารางภาคผนวก ก2 การเตรียม butylated hydroxytoluene (BHT)

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

ภาคผนวก ข
วิธีการทดลองและผลการทดลอง

การเจือจางสารสกัดจากเปลือกกล้วย

1. ปิเปตสารสกัดจากเปลือกกล้วยมา 1 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 9 ml จะได้สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่อัตราเจือจาง 1:10
2. ปิเปตสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่อัตราเจือจาง 1:10 มา 1 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 9 ml จะได้สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่อัตราเจือจาง 1:100
3. ปิเปตสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่อัตราเจือจาง 1:100 มา 1 ml แล้วเติมน้ำกลั่น 9 ml จะได้สารสกัดจากเปลือกกล้วยที่อัตราเจือจาง 1:1000

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

โดยวิธี Folin- Ciocalteu Colorimetric Method

1. นำสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกที่ละลายด้วยเมทานอลที่อัตราเจือจางต่างๆ จำนวน 1 ml
2. เติม Folin- Ciocalteu reagent จำนวน 1 ml เขย่าผสมให้เข้ากัน
3. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7% w/v) จำนวน 2 ml ผสมให้เข้ากัน
4. เติมน้ำกลั่น 5 ml พร้อมเขย่า
5. จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ยในรูป mg gallic acid equivalent (GAE) /g เทียบจากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของกรดแกลลิก

วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

โดยวิธี DPPH scavenging assay

1. นำสารสกัดเปลือกกล้วยหอมดิบและสุกที่ละลายด้วยเมทานอลที่อัตราเจือจางต่างๆ จำนวน 1 ml
2. เติมเมทานอลตัวอย่างละ 3 ml
3. เติม 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 1 mmol/L ในเมทานอล ปริมาตร 0.5 ml แล้วเขย่าให้สารเข้ากัน
4. จากนั้นบ่มตัวอย่าง 20 นาที ในที่มืด และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) ใช้ BHT เป็นสารเทียบมาตรฐาน

สูตรการคำนวณ เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging activity, RSA%) โดยคำนวณดังนี้

$$(RSA, \%) = [(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100$$

เมื่อ A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารตัวอย่างผสมกับสารละลาย

DPPH

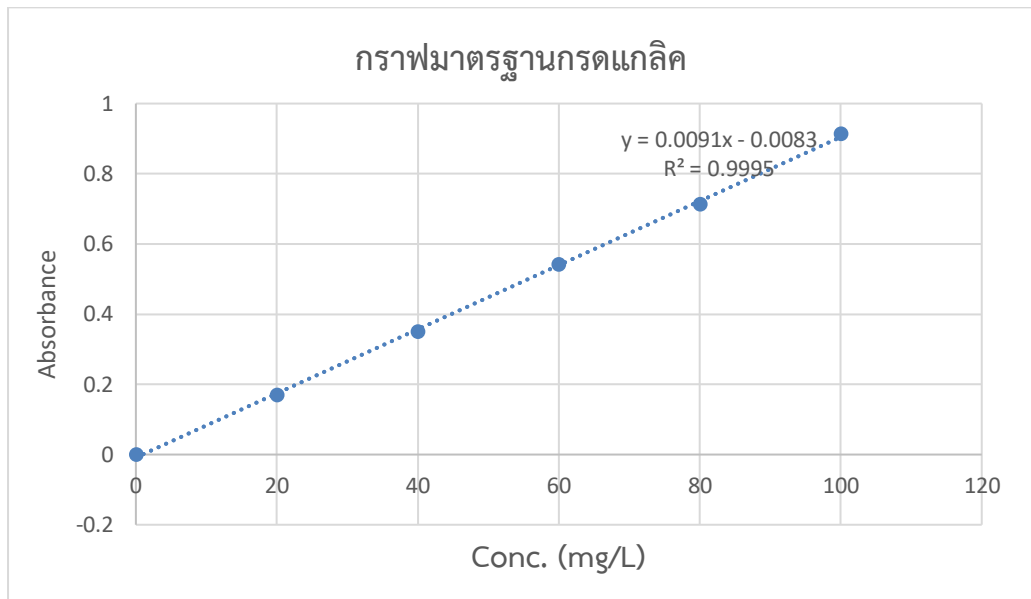
วิธีการวิเคราะห์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

- ชั้นแรกเติมสารละลายเอนไซม์ไทโรซิเนส 12 ยูนิตต่อ 100 μ l ปริมาตร 500 μ l
- จากนั้นเติมสารสกัดที่สกัดด้วยเมทานอลที่อัตราเจือจาง 1:10 1:100 1:1000 ปริมาตร 100 μ l
- ตามด้วยเติม สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.1 M พีเอช 6.8 ปริมาตร 4 ml ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 นาที
- จากนั้นเติมสารละลาย L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) ความเข้มข้น 2.5 mM ปริมาตร 200 μ l
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 475 nm โดยทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 0 5 10 และ 15 นาที โดยใช้ kojic acid เป็นสารมาตรฐาน

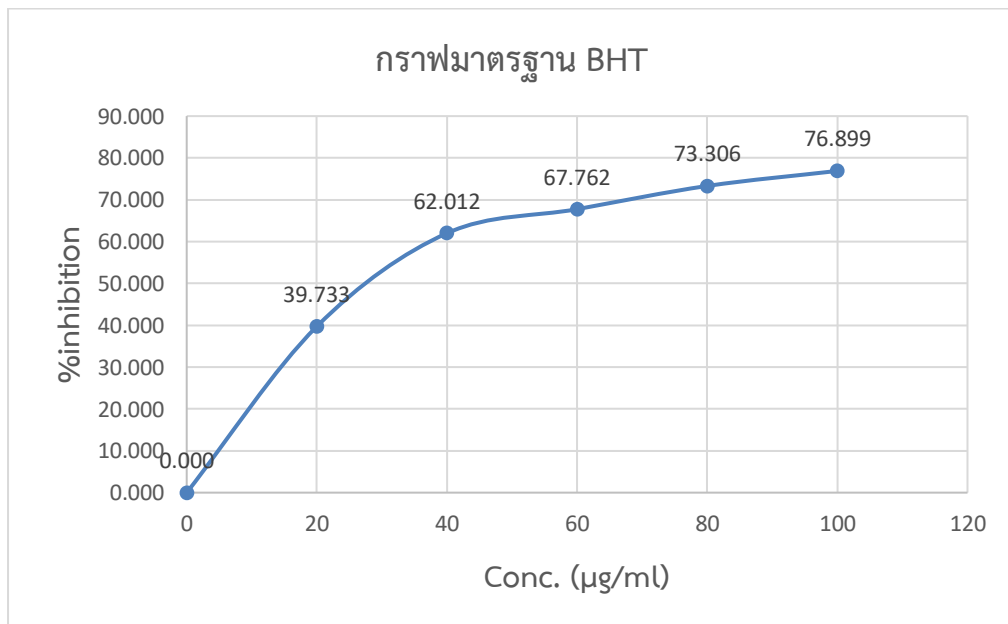
คำนวณหาค่า tyrosinase inhibition activity จากสูตรคำนวณดังนี้

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

เมื่อ ΔA control คือค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุมที่เวลา 0 และ 15 นาที และ ΔA sample คือค่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืน แสงของตัวอย่างพืชที่เวลา 0 และ 15 นาที



ภาพผนวกที่ 1 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (gallic acid)

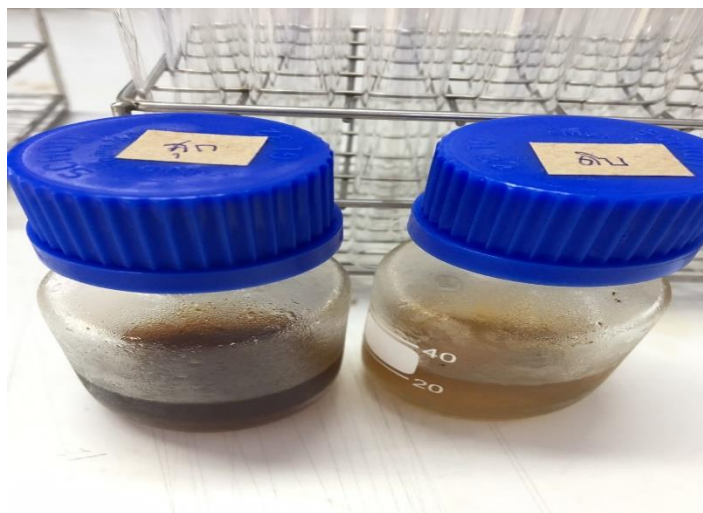


ภาพผนวกที่ 2 กราฟมาตรฐานของสาร butylated hydroxytoluene (BHT)

ภาคผนวก ค
ภาพการทดลอง



ก

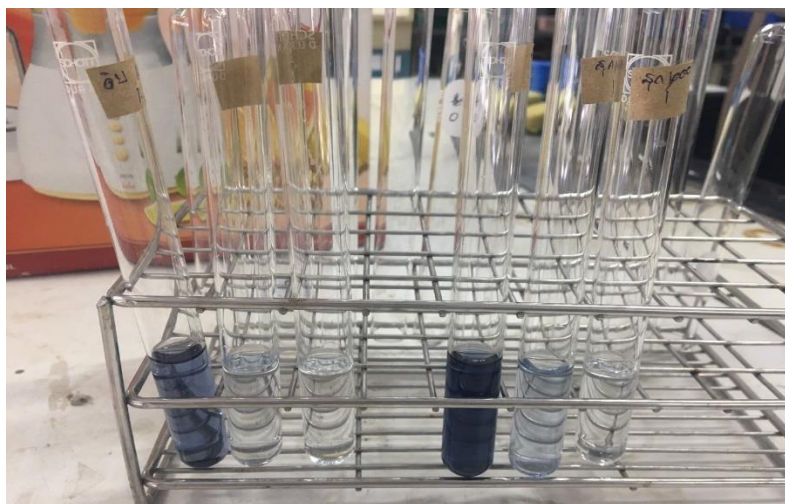


ข

ภาคผนวกที่ ๑ ภาพการทดลองสกัดสารจากเปลือกกล้วย
ก. การกรองสารสกัดด้วย Whatman No.
ข. สารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบและสุก



ก



ข

ภาคผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก(ก.)และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(ข.)



ภาคผนวกที่ค 3 ผลของฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส