วิธีการสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่เหมาะสมในเปลือกกล้วย 3 ชนิดเพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง
The appropriate extraction of Phenolic compound in 3 types of Banana Peels for cosmetic applications

นิสาพร มูหะมัด[1], ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย[2] และ อุบล ตันสม[3]
Nisaporn Muhamad[1*], Piyasiri Soontornnon Sinchai [2] and Ubol Tansom[3]
[1,2,3] สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*
**ผู้ประสานงานหลัก อีเมล: nisaporn.m@yru.ac.th*

บทคัดย่อ

ใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ได้มีการปลูกกล้วยกันอย่างแพร่หลาย และสามารถนำไปทำผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลายชนิด ส่งผลให้มีเปลือกกล้วยซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้เป็นจำนวนมาก โดยในเปลือกกล้วยมีสารสำคัญต่างๆ ที่มีประโยชน์มากมาย โดยงานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการศึกษาสารต่างๆ คือ ปริมาณโปรตีน สารประกอบฟีนอลิก และเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล คือ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ที่มีอยู่ในส่วนของเปลือกกล้วย 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม โดยวิธีสกัดที่ดีที่สุดที่ให้ปริมาณของสารต่างๆ ในเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดได้ดีที่สุด คือ สารสกัด (extraction buffer) 0.2 โมลาร์ phosphate buffer ที่มี pH 6.5 ที่มี 3 % PVPP และ 0.25 % TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:5 (extraction buffer : น้ำหนักของตัวอย่าง) โดยมีค่า ปริมาณโปรตีน เท่ากับ 1.467±0.015 1.662±0.029 และ 1.524±0.019 mg/g ตามลำดับ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 196.78±6.71 228.27±12.17 และ 214.51±8.83 mg ตามลำดับ และกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เท่ากับ 1,533.33±199.19 2,645.00±315.78 และ 1,695.43±223.25 unit ตามลำดับ จากผลการวิจัยนี้สามารถนำไปต่อยอดในการนำสารสกัดที่ไปเป็นส่วนผสมในการตั้งตำรับเครื่องสำอางต่อไป

คำหลัก: เปลือกกล้วย สารประกอบฟีนอลิก เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

Abstract

In local community of the three southern border provinces, Bananas are grown widely and can be used to make various kinds of products. It cause the Banana peel to be a lot of waste material. The peels of banana can be applied to various types. The components in the banana peel are known to be useful. Protein contents, total phenolic compounds and enzymatic of browning (polyphenol oxidase) enzyme in 3 types (Kluaynamwa, Kluayhin and Kluayhom) of banana peel were studied. The optimum extraction buffer are 0.2M phosphate buffer pH 6.5 with 3 % PVPP and 0.25 % TritonX-100 in the ratio of 1:5 for highest protein, polyphenol oxidase and peroxidase activity in peel and pulp. With protein contents are 1.467±0.015 1.662±0.029 and 1.524±0.019 mg/g, respectively. With total phenolic compounds are 196.78±6.71 228.27±12.17 and 214.51±8.83 mg, respectively. And with polyphenol oxidase activity are 1,533.33±199.19

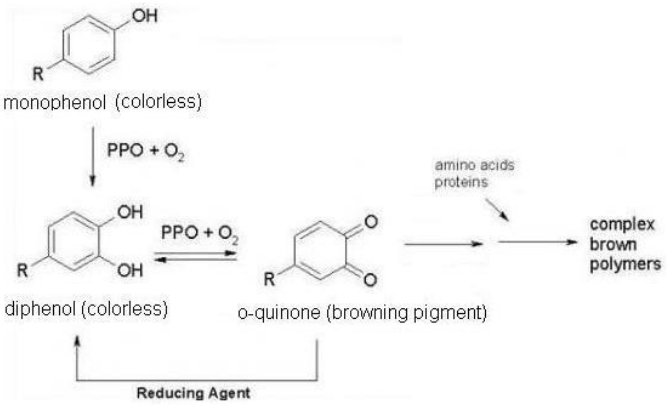
2,645.00±315.78 and 1,695.43±223.25 unit, respectively. From this results, the cosmetic formulation could be applied in the future.

Keywords: banana peels phenolic compound polyphenol oxidase

บทนำ

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมแทบอลิสมของพืช ซึ่งมีอนุพันธ์หลายชนิด เช่น เพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate) และ ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีความสำคัญต่อระบบสัณฐานวิทยา สรีระ การสืบพันธุ์ และการเจริญเติบโตของพืช จากงานวิจัยของ Macheix และคณะ (1990) ได้ศึกษาว่า ในพืชแต่ละชนิดจะพบสารประกอบฟีนอลิกที่แตกต่างกัน ซึ่งจะเป็นสาเหตุของการทำให้เปลี่ยนสีจากสีปกติเป็นสีน้ำตาลในผักและผลไม้ และยังคงเป็นสาเหตุสำคัญของการเปลี่ยนรสจากรสปกติให้เป็นรสขม โดยสารประกอบฟีนอลิกที่พบได้ทั่วไปในใบ ลำต้นและเปลือกของพืช ได้แก่ ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิก และ แอนโธไซยานิน โดยกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอม และการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเลคตรอน รวมทั้งการรวมตัวกับโลหะ ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการกระทำของเอนไซม์ ปฏิกิริยาชนิดนี้พบได้ในผักผลไม้หลายชนิด เช่น กล้วย มันฝรั่ง แอปเปิล ซึ่งเมื่อมีการปอกเปลือก ผัก ผลไม้นี้ทิ้งไว้จะเกิดสีน้ำตาลขึ้นที่ผิวนอก อันเป็นผลมาจากเอนไซม์ภายในเซลล์ของผลไม้มีโอกาสสัมผัสและสร้างสารประกอบพวกฟีนอลิก เกิดเป็นสารประกอบพวกเมลานิน (melanin) ซึ่งมีสีน้ำตาล เอนไซม์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลมีอยู่หลายตัว เช่น ไทโรซิเนส (tyrosinase) ฟีนอเลส (phenolase) หรือ โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) ฯลฯ

เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase: PPO) จัดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญของปฏิกิริยาสีน้ำตาล เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสมักมีชื่อเรียกตามสับสเตรท เช่น tyrosinase, diphenoloxidase, catecholase, phenolase (Martinez and Whitaker, 1995) โดยมีปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลซึ่งเป็นผลมาจากเอนไซม์ฟีนอเลส (phenolase) และเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) ที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน และเข้าย่อยสลายสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) ให้เล็กลงจนได้เป็น complex brown polymers ตามมา ซึ่งเรียกปฏิกิริยานี้ว่า ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์ (enzymatic browning reaction) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (ที่มา Marshall et al. (2000))

เมลานิน (Melanin) เป็นรงควัตถุทางธรรมชาติที่มีมวลโมเลกุลสูง พบได้ในสิ่งมีชีวิตซึ่งมีทั้งสีดำ สีน้ำตาล และสีเหลือง เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยใช้เอนไซม์ (enzymatic oxidation) ของฟีนอล เมลานินสามารถพบได้ในผักผลไม้หลายชนิด เช่น กล้วย องุ่น เห็ด แอปเปิล เป็นต้น หลังจากเกิดการช้ำหรือเกิดแผลบริเวณเปลือกจะเกิดเมลานินขึ้น ซึ่งจะสังเกตเห็นเป็นสีน้ำตาลหรือสีคล้ำขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อเวลาผ่านไป ทั้งนี้ เมลานินยังมีคุณสมบัติต้านทานต่อการย่อยสลายด้วยกรดที่มีความเข้มข้นสูง รวมทั้งถูกออกซิไดส์ได้ด้วยสารฟอกขาว นอกจากนี้ยังพบว่า เมลานินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนทางชีวภาพ (biopolymer) ที่มี free radical ที่คงที่ (stable) และยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย จากคุณสมบัติที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำให้ในปัจจุบันมีการใช้เมลานินในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่างๆ ได้แก่ ครีมนวดผมที่มีเมลานินเป็นส่วนผสม เพื่อปกป้องเส้นผมจากสิ่งแวดล้อม รวมถึงมีใช้เมลานินเป็นส่วนผสมในแทนนิ่งโลชั่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของโลชั่นอีกด้วย

ใน 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้มีนำกล้วยชนิดต่างๆ มาทำแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้เปลือกกล้วยกลายเป็นวัสดุเหลือใช้ นอกจากการนำไปใช้สำหรับทำเป็นอาหารสัตว์แล้ว ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ ได้เพราะในเปลือกกล้วยมีแทนนินและสารประกอบฟีนอลิกเป็นส่วนประกอบ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ ทำหมึกพิมพ์ สีย้อมผ้า ยา หรือแม้กระทั่งส่วนประกอบในเครื่องสำอาง เป็นต้น จากการวิจัยที่ผ่านมาของ Wuyts et al. (2006) พบว่า ในเปลือกกล้วยมีสารโพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) และ เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นจำนวนมากซึ่งสารนี้มีคุณสมบัติในการทำให้เกิดสีน้ำตาลซึ่งนิยมนำไปเพิ่มสีสำหรับชา และยังเป็นสารในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้นกันของพืชภายหลังการได้รับเชื้อได้อีกด้วย ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาสารสกัดที่มีอยู่ในเปลือกกล้วยชนิดต่างๆ คือ เปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอมที่เหลือใช้เหล่านี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเปลือกกล้วยหิน กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า
2. เพื่อศึกษาเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสที่เป็นสาเหตุของการเกิดสีน้ำตาลจากเปลือกกล้วยหิน กล้วยหอม และกล้วยน้ำว้า

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การหาสารสกัดในสภาวะที่เหมาะสม

นำเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด มาสกัดใน 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3% PVP, 3% PVP+0.25% Triton X-100, 3% PVPP หรือ 3% PVPP+0.25% Triton X-100 ในอัตราส่วน 1:5 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C นาน 30 นาที จากนั้น แยกส่วนกากและส่วนใส่ โดยนำส่วนที่เป็นกากทิ้งไป วัดปริมาตรส่วนใสที่แล้วนำสารสกัดที่ได้ไปเก็บไว้เพื่อหาปริมาณโปรตีน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาลต่อไป

2. การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

การเตรียมสารละลาย Bradford : ละลาย Coomassie Brilliant blue G-250 ขนาด 100 มิลลิกรัมใน ethanol 50 mL และ 85% phosphoric acid 100 mL คนให้เข้ากันแล้วจึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร ทำการกรองก่อนนำไปใช้ทุกครั้ง

การเตรียมโปรตีนมาตรฐาน : ละลายโปรตีนมาตรฐาน Bovine serum albumin (BSA) จำนวน 0.5 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 1 mL ได้ปริมาณโปรตีนมาตรฐาน BSA ที่มีความเข้มข้น 0.5 mg/mL หลังจากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10, 20, 30, 40, 60, 80 µg/100 µL ตามลำดับ

วิธีวัดปริมาณโปรตีน : ใช้สารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA แต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 µL และสารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณ ตัวอย่างละ 100 µL (ที่เจือจางให้เหมาะสม) ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Bradford 1 mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้ง

ไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

3. ศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

ศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมตามวิธีของ Folin-Ciocalteau method (Torres และคณะ, 1987) โดยการนำสารตัวอย่าง ปริมาตร 0.1 mL ผสมกับ 1N Folin-Ciocalteau's phenol reagent ปริมาตร 1 mL ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 mL ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 nm โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid (0-0.12 กรัมต่อลิตร)

4. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล (เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส)

นำสารละลาย 0.1M phosphate buffer pH 6.5 ปริมาตร 2.360 mL ผสมกับ 0.1M L-Dopa ซึ่งเป็นสับสเตรท ปริมาตร 0.6 mL และ สารตัวอย่าง 0.04 mL โดยทำการทดลองในคิวเวท (cuvette) ขนาด 3 mL จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 420 nm บันทึกผลทุก 15 วินาที เป็นเวลา 2 นาที โดย 1 หน่วยความว่องไวของเอนไซม์ PPO หมายถึง การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป 0.001 OD. ต่อ 1 นาที

ผลการวิจัย

1. ผลของการหาสารสกัดในสภาวะที่เหมาะสม

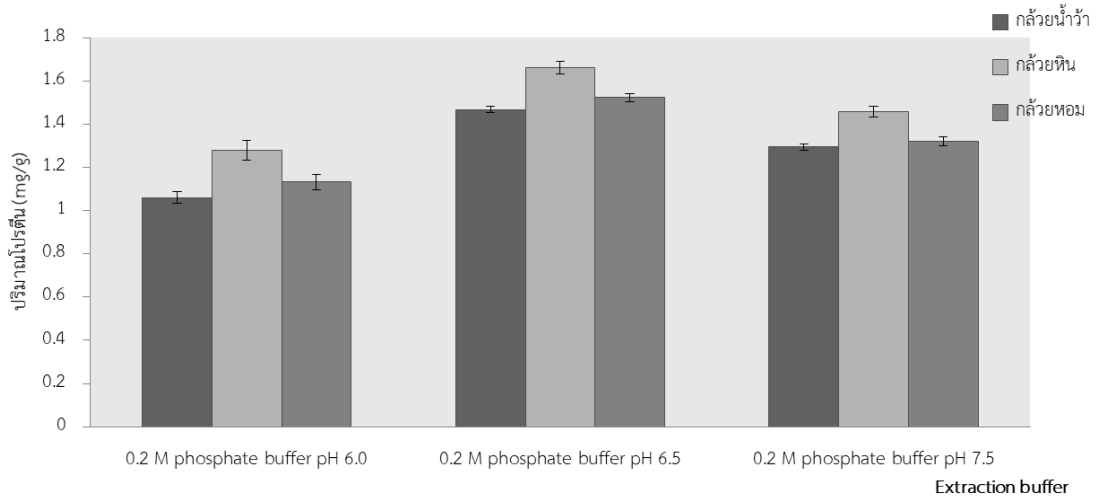
จากการนำเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม มาสกัดด้วย 0.2M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0, 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:5 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า ปริมาณโปรตีนของกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีปริมาณที่ใกล้เคียงกันและพบปริมาณโปรตีนที่มากที่สุดจากการสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer ที่ pH 6.5 โดยมีค่าปริมาณโปรตีนที่เท่ากับ คือ 1.467±0.015 1.662±0.029 และ 1.524±0.019 mg/g ในเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม ตามลำดับ รองลงมาคือ 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 และ 0.2 M phosphate buffer pH 6.0 (ตารางที่ 1 และ ภาพที่ 2)

หลังจากนำเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม มาสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3% PVP, 3% PVP+0.25% Triton X-100, 3% PVPP, 3% PVPP+0.25% Triton X-100 ในอัตราส่วน 1:5 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า การสกัดโปรตีนจากเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดได้ปริมาณโปรตีนสูงที่สุด คือ การใช้ 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3% PVPP และ 0.25% Triton X-100 แต่ในเปลือกกล้วยหินพบปริมาณโปรตีนมากที่สุดเมื่อเทียบกับเปลือกกล้วยอีก 2 ชนิด คือ มีค่าปริมาณโปรตีน เท่ากับ 1.662±0.029 mg/g (ตารางที่ 2 และ ภาพที่ 3)

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม ที่สกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ

0.2 M phosphate Buffer	กล้วยน้ำว้า	กล้วยหิน	กล้วยหอม
pH 6.0	1.059±0.027	1.279±0.044	1.132±0.034
pH 6.5	1.467±0.015	1.662±0.029	1.524±0.019
pH 7.5	1.294±0.015	1.454±0.026	1.321±0.021

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD

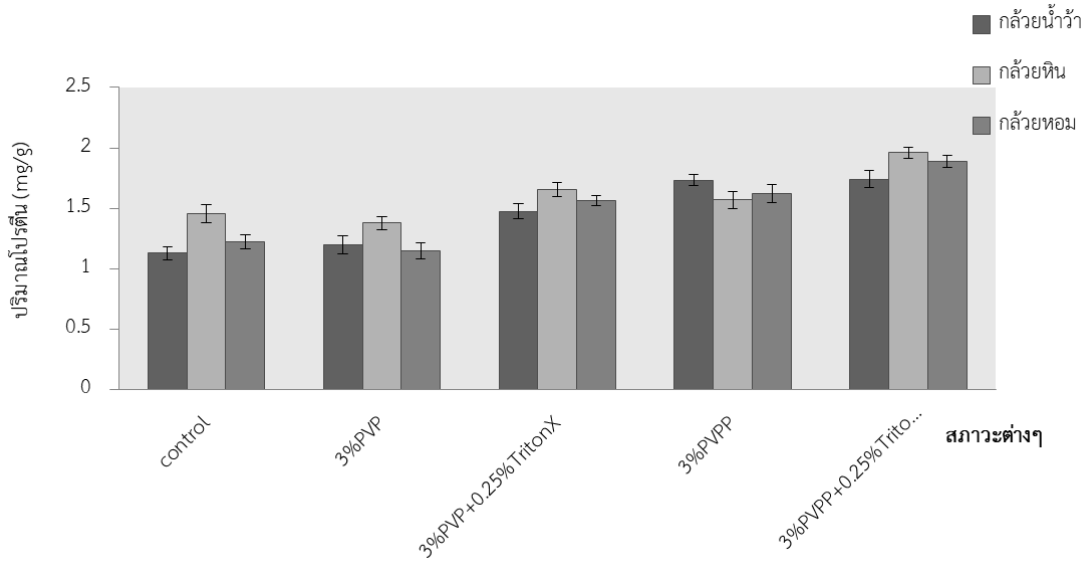


ภาพที่ 2 ปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม ที่สกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ

ตารางที่ 2 ปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม ที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ

Condition	กล้วยน้ำว้า	กล้วยหิน	กล้วยหอม
Control	1.127±0.052	1.454±0.076	1.223±0.056
3% PVP	1.198±0.072	1.379±0.054	1.149±0.068
3% PVP+0.25% Triton X-100	1.476±0.065	1.654±0.059	1.567±0.041
3% PVPP	1.733±0.047	1.569±0.068	1.621±0.072
3% PVPP+0.25% Triton X-100	1.741±0.069	1.962±0.046	1.891±0.051

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 3 ปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม ที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ

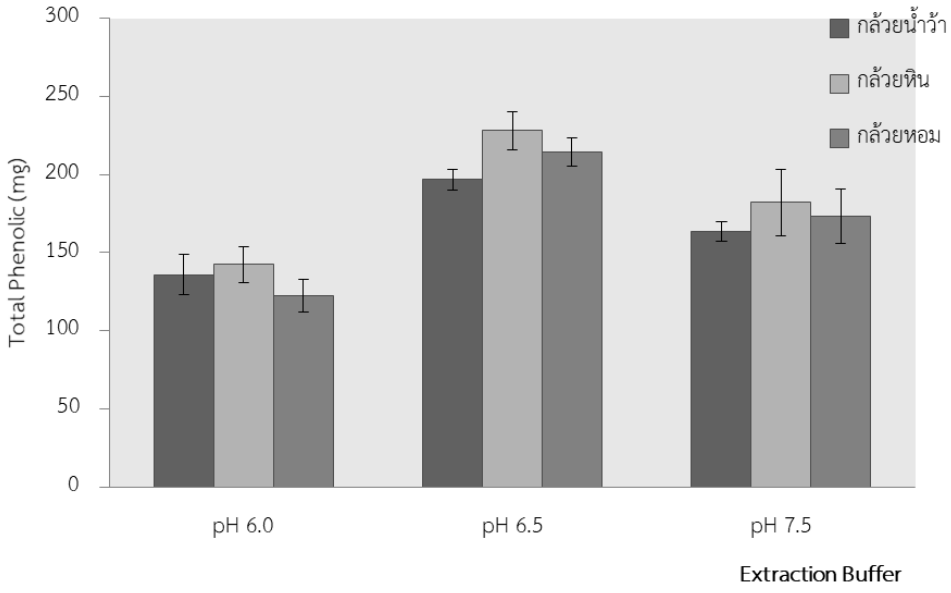
2. ผลการศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

ในการศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกในเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม มาสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.0, pH 6.5 และ pH 7.5 ที่มี 3% PVPP และ 0.25% Triton X-100 (จากนี้ ผู้วิจัยจะเรียกสารสกัด 0.2 M phosphate buffer pH 6.0, pH 6.5 และ pH 7.5 ที่มี 3% PVPP และ 0.25% Triton X-100 ว่า Extraction buffer ที่ pH 6.0, pH 6.5 และ pH 7.5) พบว่า เปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิดมีค่าการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกที่สกัด Extraction buffer ที่ pH 6.5 สูงกว่า Extraction buffer ที่ pH อื่นๆ คือ 196.78±6.71 228.27±12.17 และ 214.51±8.83 g ตามลำดับ โดยเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer pH 6.0, 6.5 และ 7.5 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเปลือกกล้วยอีก 2 ชนิดที่สกัดด้วย Extraction buffer เดียวกัน คือ 142.43±11.50, 228.27±12.17 และ 182.08±21.22 mg ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ ภาพที่ 3)

ตารางที่ 3 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม ด้วยการสกัดที่ pH ต่างๆ

Extraction Buffer	กล้วยน้ำว้า	กล้วยหิน	กล้วยหอม
pH 6.0	135.98±13.11	142.43±11.50	122.42±10.45
pH 6.5	196.78±6.71	228.27±12.17	214.51±8.83
pH 7.5	163.51±6.10	182.08±21.22	173.37±17.23

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4 การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม จากการสกัดที่ pH ต่างๆ

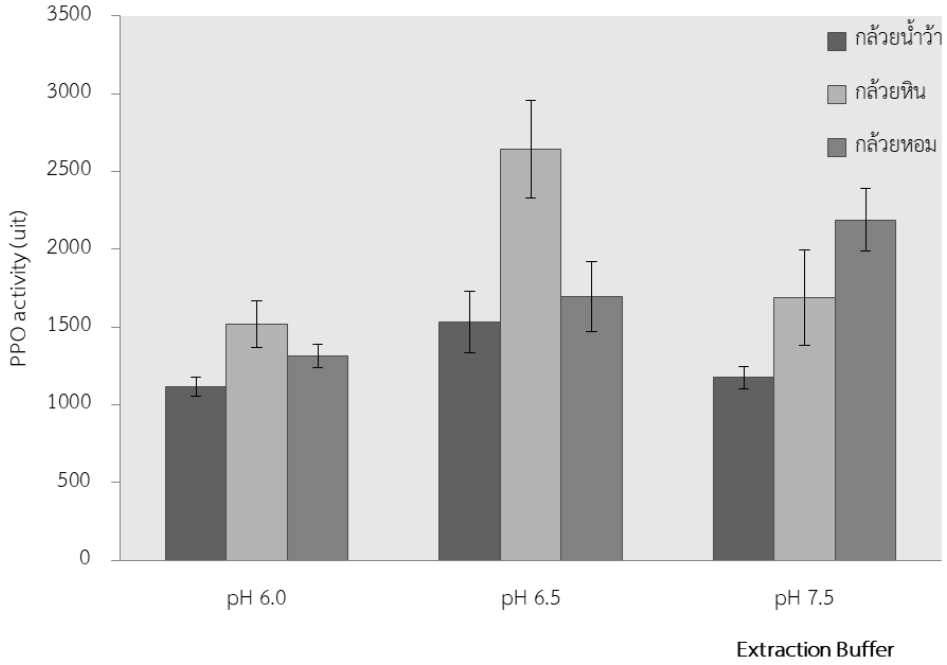
3. ผลการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล

จากการนำเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม มาสกัดเพื่อหาปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดสีน้ำตาล ในการศึกษานี้เลือกหาเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยนำมาสกัดด้วย Extraction buffer ที่ pH 6.0, pH 6.5 และ pH 7.5 พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer pH 6.5 มีปริมาณของความกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด คือ เท่ากับ 2,645±315.7 unit และสูงกว่าเปลือกกล้วยชนิดอื่นๆ ที่สกัดด้วย Extraction buffer ที่ pH เดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่ 4

ตารางที่ 4 ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม จากการสกัดที่ pH ต่างๆ

Extraction Buffer	กล้วยน้ำว้า	กล้วยหิน	กล้วยหอม
pH 6.0	1,118.33±62.20	1,518.89±146.98	1,313.72±76.83
pH 6.5	1,533.33±199.19	2,645.00±315.78	1,695.43±223.25
pH 7.5	1,176.94±72.63	1,689.44±306.98	2,189.87±201.40

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 5 ปริมาณความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสบริเวณของเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหิน และกล้วยหอม จากการสกัดที่ pH ต่างๆ

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาปริมาณโปรตีน สารประกอบฟีนอลิกและเอนไซม์ที่เกี่ยวกับข้องกับการเกิดสีน้ำตาลของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม โดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน คือ 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:5 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า ปริมาณโปรตีน การสังเคราะห์สารประกอบฟี

นอลิก กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับข้องกับการเกิดสีน้ำตาล คือ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ของเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ กล้วยน้ำว้า กล้วยหินและกล้วยหอม ที่สกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ให้ค่าที่มากที่สุด เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีองค์ประกอบต่างๆ ที่เพิ่มขึ้นจึงเพิ่มสารที่ช่วยในการสกัด คือ นำมาสกัดใน 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVP, 3%PVP+0.25%TritonX-100, 3%PVPP, 3%PVPP+0.25%TritonX-100 ในอัตราส่วน 1:5 (extraction buffer : น้ำหนักตัวอย่าง) พบว่า สภาวะที่เหมาะสมที่ให้ ปริมาณโปรตีน การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวกับข้องกับการเกิดสีน้ำตาล คือ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ของเปลือกกล้วยทั้ง 3 ชนิด คือ การใช้ 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่มี 3%PVPP และ 0.25%TritonX-100 ซึ่งสอดคล้องจากรายงานของ นิสาพร (2551) ซึ่งได้ศึกษาการกำจัดสีในใบยางพาราโดยใช้ PVP ที่ 1%, 3% และ 5% พบว่า สามารถป้องกันการเกิดสีได้เพียงบางส่วนเท่านั้น และเนื่องจาก PVP มีคุณสมบัติในการใช้กำจัดสารฟีนอลิก สามารถละลายน้ำได้ ดังนั้น จึงไม่สามารถเอา PVP ออกจากสารสกัดก่อนวัดค่าต่างๆ ได้ ทำให้ PVP ไปบดบังการทำงานของ กิจกรรมของเอนไซม์ต่างๆ ดังนั้น จึงเปลี่ยนมาใช้ ส่วน PVPP ซึ่งเป็นตัวจับกับสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดสีน้ำตาล และป้องกันกระบวนการพอลิเมอร์ไรซ์ (polymerization) ระหว่างขั้นตอนการสกัด ดังนั้น เมื่อนำสารสกัดมาวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส จึงให้ผลที่ดีกว่าการใช้ PVP รวมถึง PVPP เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้น จึงสามารถปั่นแยก PVPP รวมกับกากทิ้งไปได้โดยไม่รบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องดังกล่าว (Mayer, 1979) และในการทดลองครั้งนี้ได้มีการ นำ TritonX-100 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิวชนิด nonionic มาร่วมใช้ในการสกัดทำให้มีค่าปริมาณโปรตีน การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เพิ่มขึ้นอีกด้วย (Nicolas et al., 1994)

ข้อเสนอแนะ

1. ในการศึกษาเอนไซม์ควรมีการศึกษาเอนไซม์ไทโรซิเนสเพิ่มเติม ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดเม็ดสีโดยตรง
2. ในการศึกษาต่อยอดจะมีนำสารสกัดที่ได้ไปเป็นส่วนผสมสำหรับการตั้งตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นิสาพร มูหะมัด (2551). การสะสมของเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิ- เดสและสารประกอบฟีนอลิกในยางพาราหลังติดเชื้อรา. วิทยานิพนธ์หลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Macheix, I., Fleuriet, A. and Billot, J., 1990. Fruit Phenolics, Florida, CRC Press, p. 398.

Marshall, M.R., J. Kim and C. Wei., 2000. Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods. FAO, Rome. 49 p.

Martinez, M. V. & Whitaker, J. R. (1995). The biochemistry and control of enzymatic browning. Trends of Food Science and Technology, 6, 195-200.

Mayer, A. M. & Harel, E. (1979). Polyphenol oxidases in plants. Phytochemistry, 18, 193–215.

Nicolas, J., Richard-Forget, F. C., Goupy, P. M., Amiot, M. J. & Aubert, S. Y. (1994). Enzymatic browning reactions in apple and apple products. Critical Review Food Science Nutrition, 34, 109-157.

Wuyts N., Waele D. D. & Swennen R., (2006). Extraction and partial characterization of polyphenol oxidase from banana (Musa acuminata Grande naine) roots. Plant Physiology and Biochemistry, 44, 308-314