รายงานวิจัย

สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินสำหรับการตั้งตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส

Antioxidant Activity and Tyrosinase Inhibitory Activity from Banana Peel Extracts for Brightening Skin Lotion Formulation

ชื่อโครงการวิจัยภายใต้ชุดโครงการ : การนำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์เพื่อมุ่งสู่ยะลาเมืองน่าอยู่

นิสาพร มูหะมัด

อุบล ตันสม

ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย

ได้รับทุนอุดหนุนจากงบประมาณบำรุงการศึกษาประจำปี 2563

มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

หัวข้อวิจัย	สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินสำหรับการตั้งตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส
ชื่อคณะวิจัย	นิสาพร มูหะมัด
	อุบล ตันสม
	ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย
คณะ/หน่วยงาน	วิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
มหาวิทยาลัย	ราชภัฏยะลา
ปีงบประมาณ	2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้ทำการศึกษาสารต่างๆ คือ ปริมาณโปรตีน เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ที่มีอยู่ในเปลือกของกล้วยหิน โดยใช้วิธีการสกัดที่อัตราส่วนที่แตกต่างกัน คือ 1:2 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักของตัวอย่าง : extraction buffer) โดยวิธีการสกัดที่ดีที่สุดที่ให้ปริมาณโปรตีน และปริมาณฟลาโวนอยด์ คือ การสกัดด้วยน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1:2 และวิธีการสกัดที่ดีที่สุดที่ให้ค่าปริมาณของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกคือ การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 นอกจากนี้ ในการหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสนั้น ต้องใช้การสกัดด้วยตัวทำละลาย Ethanol แทนการสกัดด้วยวิธีอื่นๆ โดยค่าที่ได้สามารถมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ มากว่า 60% และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสอยู่ที่ประมาณ 40% เมื่อนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินไปประยุกต์เป็นส่วนประกอบของการตั้งตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส พบว่า เนื้อโลชั่นที่ได้มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ pH 7.0-7.5 และเมื่อทดสอบความคงสภาพของโลชั่น พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ เอนไซม์ไทโรซิเนส เปลือกกล้วยหิน โลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส

Research Title	Antioxidant activity and Tyrosinase inhibition activity from banana peel extracts for Brightening Skin Lotion Formulation
Researchers	Nisaporn Muhamad
	Ubol Tansom
	Piyasiri Soontornnon Sinchai
Faculty/Section	Science Technology and Agriculture
University	Yala Rajabhat University
Year	2563

Abstract

This research has investigated substances such as protein content, enzyme, polyphenol oxidase, antioxidant, phenolic compounds and Tyrosinase inhibition activity in the Banana peel. Extraction methods were performed at different ratios of 1: 2, 1: 5 and 1:10 (g fresh weight: extraction buffer). By the maximum extraction method that provides protein content and the flavonoid content is extraction with distilled water at a ratio of 1: 2 and 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 is the best extraction buffer for polyphenol oxidase activity and the amount of phenolic compound. In addition, Ethanol solvent extraction is required instead of other extraction methods for determined the amount of antioxidants more than 60% and tyrosinase activity inhibition about 40%. The application of banana peel extract in brightening skin lotion formulation found that its texture has white flash color, proper pH range 7.0-7.5 and test for stability the product appear that the lotion did not change the texture.

Keyword : Antioxidant activity, Tyrosinase, Banana peel, Brightening Skin Lotion Formulation

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุบล ตันสม และอาจารย์ปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย ผู้ร่วมวิจัย ที่กรุณาถ่ายทอดวิชาความรู้ เสียสละเวลาให้คำปรึกษา และแนะนำแนวทางในการแก้ไขปัญหาต่างๆ ตลอดจนตรวจสอบและแก้ไขข้อบกพร่องแก่ผู้วิจัยเสมอมา

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาชายแดนใต้ มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยเพื่อการวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายผู้วิจัยขอขอบพระคุณกำลังใจอันยิ่งใหญ่ของคุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัว ขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกคน ที่มิได้กล่าวนามซึ่งเป็นกำลังใจสำคัญในการทำวิจัยตลอดมาจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ดร.นิสาพร มูหะมัด

หัวหน้าโครงการวิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	**ก**
Abstract	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญ	**ง**
สารบัญตาราง	**ฉ**
สารบัญภาพ	**ช**
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย	3
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 กรอบแนวคิด	3
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ	4
2.2 สารประกอบฟีนอกลิก	6
2.3 ฟลาโวนอยด์	9
2.4 การสังเคราะห์เมลานิน	10
2.5 เอนไซม์ไทโรซิเนส	11
2.6 เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส	12
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	13
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง	17
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	17
3.3 ขั้นตอนการวิจัย	19
บทที่ 4 ผลการวิจัย	
4.1 ผลของการหาปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วย Extraction buffer ต่างๆ	24

สารบัญ(ต่อ)

เรื่อง **หน้า**

4.2 ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 26
4.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ 27
4.4 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 32
4.5 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 34
4.6 ผลการศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน 36

บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 ผลของการหาปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วย Extraction buffer ต่างๆ 38
5.2 ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส 38
5.3 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ 39
5.4 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 39
5.5 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส 40
5.6 ผลการศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน 40
5.7 ข้อเสนอแนะ 41

บรรณานุกรม 42
ประวัติคณะผู้วิจัย 47

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	25
4.2	ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	26
4.3	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	28
4.4	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ	30
4.5	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm และ % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	31
4.6	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	33
4.7	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ	35
4.8	ตำรับผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน	36

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กลไกการต้านอนุมูลอิสระแบบ Free radical scavenging	6
2.2	สารประกอบฟีนอลิกจาก 2 รูปแบบ คือ อนุพันธ์จากกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก และอนุพันธ์กรดไฮดรอกซีซินนามิก	7
2.3	แสดงตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกในพืช	8
2.4	แสดงตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในพืช	10
2.5	กลไกการสังเคราะห์เมลานิน	11
2.6	กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง	12
2.7	การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยมีไทโรซีนเป็นสับสเตรต	13
4.1	เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	25
4.2	ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	27
4.3	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	29
4.4	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ	30
4.5	ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm และ % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	32
4.6	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ	34
4.7	ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ	35
4.8	โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน	37
4.9	โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินภายหลังการทดสอบการคงสภาพ	37

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

กล้วยเป็นผลไม้ที่มีการบริโภคมากที่สุดชนิดหนึ่งของโลก และในพื้นที่จังหวัดยะลา การทำผลิตภัณฑ์จากกล้วยหินเป็นจำนวนมาก ไม่ว่าจะเป็น กล้วยทอด กล้วยฉาบ และกล้วยเชื่อม เป็นต้น ส่งผลให้มีเปลือกกล้วยซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้เป็นจำนวนมาก นอกเหนือจากการนำไปใช้สำหรับเลี้ยงสัตว์แล้ว ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ต่างๆ ได้เพราะในเปลือกกล้วยมีแทนนินเป็นส่วนประกอบ ซึ่งสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท ได้แก่ อุตสาหกรรมฟอกหนัง ทำหมึกพิมพ์ สีย้อมผ้า หรือยา เป็นต้น จากงานวิจัยของ Vinson และคณะ (2001) พบว่า เปลือกกล้วยอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอล เช่น chyrsin, quercetin และ catechin ทำให้เปลือกกล้วยเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Aboul-Enein et al., 2016) ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ได้ เช่น การใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง นอกจากนี้ ยังมีสารประกอบโดพามีน (dopamine) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH- ได้ดีกว่าสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น glutathione, butylated hydroxyanisole, hydroxytoluene, flavone luteolin, flavonol quercetin, catechin โดยโดพามีนจะพบมากบริเวณเปลือกและปลีกล้วย รวมถึงกล้วยสุก (Kanazawa and Sakakibara, 2000) และจากงานวิจัยของ ศุภิสรา และคณะ (2561) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณของสารโดปามีนในกล้วยหอมทองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างกัน พบว่า ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส สามารถชะลอการสุกของผลกล้วยให้อยู่ในระยะสุกที่ 2 (ผลสีเขียวอ่อน) ได้เป็นเวลา 21 วัน ซึ่งเป็นระยะที่พบปริมาณโดปามีนสูงสุด คือ 379 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม ส่วนการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน ผลกล้วยสุกในระยะที่ 2 และมีปริมาณสารโดปามีนเพียง 48.04 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม ซึ่งน้อยกว่าปริมาณที่พบในผลสุกระยะที่ 4 และ 6 (65.45 และ 87.99 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม) นอกจากสารโดปามีนที่มีอยู่ในเปลือกกล้วยแล้วนั้น ยังพบว่า ในเปลือกกล้วยยังคงมีสารอื่นๆ อีกด้วย ดังเช่นงานวิจัยของ Wuyts และคณะ (2007) ที่พบว่า ในเปลือกกล้วยมีสารโพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) และ เปอร์ออกซิเดส (peroxidase) เป็นจำนวนมาก สอดคล้องกับ

งานวิจัยของ นิสาพร และคณะ (2560) ที่ได้ทำการศึกษาปริมาณโปรตีน เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส และสารประกอบฟีนอลิก ที่มีอยู่ในส่วนของเปลือกนอกและเยื่อในของเปลือกกล้วยหิน โดยหาวิธีการสกัดที่ดีที่สุดเพื่อให้ได้ปริมาณของสารต่างๆ ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ยังมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดสีน้ำตาลซึ่งนิยมนำไปเพิ่มสีสำหรับชา และยังเป็นสารในกลุ่มที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้นกันของพืชภายหลังการได้รับเชื้อได้อีกด้วย (Muhamad et al., 2012)

แสงแดด มลภาวะ และสารเคมีที่เพิ่มมากขึ้นในปัจจุบัน ทำให้ผิวพรรณเกิดความหมองคล้ำ ผิวไหม้จากแดด เกิดปัญหาผิวต่างๆ ตามมา ยิ่งไปกว่านั้นอาจส่งผลให้เกิดมะเร็งผิวหนังได้ คนส่วนใหญ่มักจะแสวงหาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เพื่อใช้บำรุงผิวและป้องกันผิวจากแสงแดด รวมถึงมลภาวะต่างๆ จากการศึกษาพบว่า เอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นเอนไซม์ตัวแรกในวิถีการสร้างเมลานิน ซึ่งเมลานินนี้มีหน้าที่สำคัญในการป้องกันผิวหนังจากแสงแดด แต่อย่างไรก็ตามการผลิตเมลานินที่มากเกินความจำเป็นทำให้เกิดโรคความผิดปกติของการสร้างเม็ดสี (hyperpigmentation) อาทิ การเกิดฝ้า กระ จุดด่างดำในมนุษย์ หรือการเกิดสีคล้ำในพืช ผักและผลไม้ ซึ่งมีผลต่ออุตสาหกรรมเหล่านั้นอีกด้วย (Chang, 2009) จากงานวิจัยของ นุตติยา วีระวัธนชัย และ ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ (2555) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสในสารสกัดเมธานอลของใบกระดังงาจีนและแยกสารด้วยเทคนิคทางโครมาโตกราฟีและพิสูจน์เอกลักษณ์โครงสารที่แยกได้ด้วยวิธีทางสเปคโตรสโคปี ได้เป็นฟลาโวนอยด์ 3 ชนิด เมื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า quercetin 3-*O*-α-L-rhamnopyranosyl-(1$\rightarrow$6)-β-D-glucopyranoside (3) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 11.25 µM ส่วน apigenin 7-*O* -β-D-glucopyranoside (2) ออกยับยั้งไทโรซิเนสได้ที่ดีที่สุด แสดงค่า IC50 เท่ากับ 23.15 µM ดังนั้น เพื่อเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าให้เปลือกกล้วยหินที่เหลือใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาการใช้ประโยชน์จากเปลือกกล้วยหิน โดยพัฒนาเป็นสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินเพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเพื่อผิวกระจ่างใสในผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

1.2 วัตถุประสงค์การวิจัย

1.2.1 เพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน

1.2.2 เพื่อศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน

1.2.3 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นผิวกระจ่างใสที่มีสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินเป็นส่วนผสม

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ศึกษาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสจากสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน

1.3.2 พัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นผิวกระจ่างใสที่มีสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินเป็นส่วนผสม

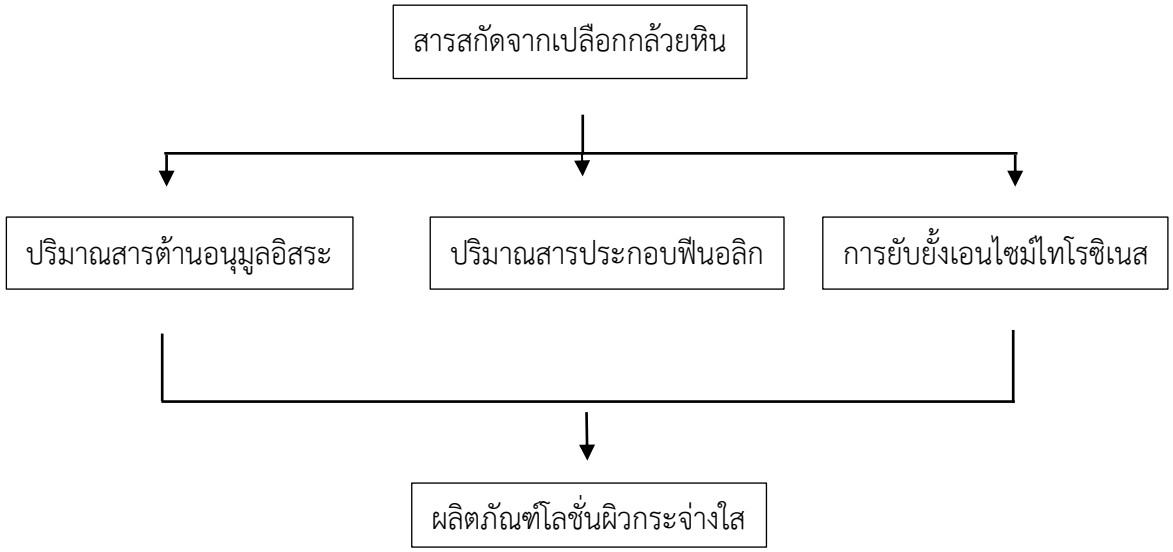
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้องค์ความรู้เกี่ยวกับปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสที่ได้จากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน

1.4.2 เป็นการเพิ่มมูลค่าของเปลือกกล้วยหินที่เหลือทิ้งในชุมชน

1.4.3 ได้ตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใสที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน

1.5 กรอบแนวคิดงานวิจัย



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารอนุมูลอิสระ (Free radical) คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออนที่ไม่เสถียรที่เกิดขึ้นจากระบบภายในร่างกายมีการหลั่งสารอนุมูลอิสระออกมาเองหรือได้รับจากปัจจัยภายนอก เช่น ความเครียด การพักผ่อนน้อย มลพิษในอากาศ รังสีUV อาหารที่ไม่มีประโยชน์ต่อร่างกาย อาหารทอด ปิ้ง ย่าง และฟาสฟู้ด ฯลฯ สารอนุมูลอิสระเหล่านี้จึงเข้าไปทำลายภูมิคุ้มกันและกัดกร่อนเซลล์ให้เสื่อมสภาพเร็ว จึงเป็นสาเหตุทำให้ร่างกายอ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย ผิวหมองคล้ำได้ แต่ถ้าหากร่างกายเผชิญกับปัจจัยดังกล่าวมากขึ้นเรื่อยๆ อนุมูลอิสระก็จะมีปริมาณสูงขึ้น ส่งผลให้ผิวหนังมีริ้วรอยเหี่ยวย่น แก่ก่อนวัยอันควร เกิดโรคภัยต่างๆได้ง่ายขึ้น จนไปถึงเกิดอาการเสื่อมของเซลล์อวัยวะต่างๆ เช่น ความเสื่อมของ เซลล์ประสาท ความชรา โรคเบาหวาน โรคมะเร็งและโรคหัวใจและหลอดเลือด ความรุนแรงของโรคเกิดขึ้นจาก ระดับของสารอนุมูลอิสระสูงกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจน ร่างกายไม่สามารถควบคุมสมดุลได้ทำให้เกิดสภาวะ ความเครียดของออกซิเจน เรียกว่า “Oxidative stress” กระทบต่อกระบวนการเมตาบอไลท์ธาตุออกซิเจนใน ร่างกายจนเกิดอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวที่วงนอกสุด และ กลายเป็นอนุมูลอิสระที่ไม่เสถียร มีความว่องไวต่อการ เกิดปฏิกิริยา โดยพยายามเข้าแย่งดึงอิเล็กตรอนจาก โมเลกุลข้างเคียง ส่งทำให้โมเลกุลข้างเคียงขาด อิเล็กตรอนถัดไปเรื่อยๆแบบปฏิกิริยาลูกโซ่ ท้ายที่สุดส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสารชีวโมเลกุลในร่างกายทั้งสารไขมัน โปรตีนและ DNA (Lobo V. *et al.*, 2010)

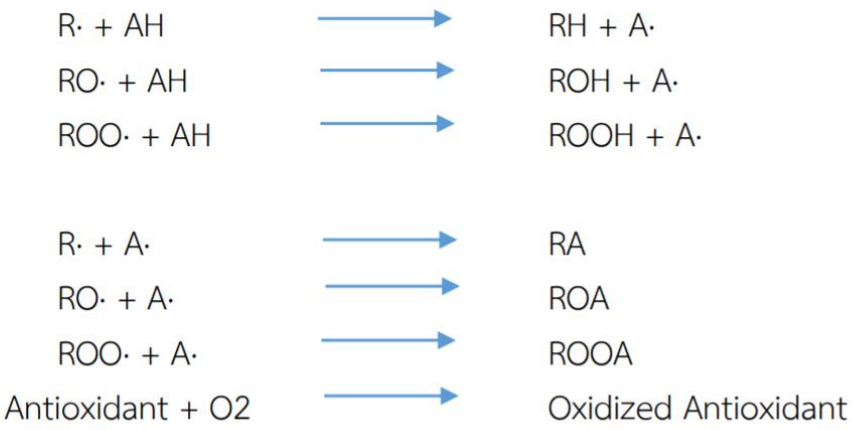
แม้ว่าปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญต่อสิ่งมีชีวิต หากแต่ก็ยังเกิดโทษเช่นกัน ดังนั้น พืชและสัตว์จึงรักษาสมดุลด้วยระบบอันซับซ้อนของปฏิริยาโดยสารต้านอนุมูลอิสระดังเช่น กลูตาไธโอน วิตามินซี และวิตามินอี เช่นเดียวกับเอนไซม์อย่างตัวเร่งปฏิกิริยาและเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ รวมถึงเพอรอกซิเดสต่าง ๆ ระดับสารต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำหรือเอนไซม์ที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มากเกินไปจะยังผลให้เกิดภาวะออกซิเดชันที่มากเกินไป (oxidative stress) นำมาซึ่งการทำลายหรือสร้างความเสียหายแก่เซลล์ได้ โดยในภาวะที่ออกซิเดชันมากเกินไปจะทำให้เกิดโรคในมนุษย์หลายโรค การใช้สารต้านอนุมูลอิสระในทางเภสัชวิทยาได้รับการศึกษาอย่างละเอียดในการรักษาภาวะโรคหลอดเลือดสมองและโรค neurodegenerative disease อย่างไรก็ดี ยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าออกซิเดชันที่มากเกินไปนั้นเป็นสาเหตุการเกิดโรคหรือไม่ ในภาวะปกติ ร่างกายของคนเราจะมีกลไกในการกำจัดอนุมูลอิสระได้หลายทาง เช่น การสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ที่เรียกว่า กลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (glutathione peroxidase) และ ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) ซึ่งเป็น

กลไกที่เข้ามาช่วยควบคุมให้ปริมาณอนุมูลอิสระอยู่ในภาวะที่สมดุล แต่การเลือกรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเป็นประจำ เช่น อาหารที่ให้โคเอนไซม์คิวเทน วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน หรือแอสตาแซนธิน ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระประสิทธิภาพสูง ก็เป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่จะคอยทำลายผิวพรรณและเซลล์ต่างๆ ในร่างกายได้อย่างต่อเนื่อง

สารอนุมูลอิสระ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) กลุ่มที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ (Radical reactive oxygen species: ROS) ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์ (Superoxide anion radical:$O_2^{\bullet -}$) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogenperoxide: H_2O_2) ไฮดรอกซิล (Hydroxyl radical: OH•) และเพอร์รอกไซด์ (Peoxide radical: ROO•) 2) กลุ่มที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ (Reactive nitrogen species: RNS) ได้แก่ ไนตริกออกไซด์ (Nitric oxide radical; NO) เพอร์รอกซีไนเตรท (Peroxy nitrate: $ONOO^-$) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Peroxy nitrate: NO_2) และไดไนโตรเจนไตรออกไซด์ (Dinitrogen trioxide: N_2O_3) (Mah S.H. *et al.*, 2017) ในแต่ละวันร่างกายได้รับปัจจัยเสี่ยงต่างๆ มากมายที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระและมีผลทำลายสุขภาพ ของมนุษย์ดังนั้น การศึกษาวิจัยเพื่อหาสารต้านอนุมูล อิสระจากพืชธรรมชาติ (Natural antioxidants) จึงเข้ามามีบทบาทที่สำคัญเนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระหลาย ชนิดที่พบในพืชสามารถเข้ากำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูป อนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังมีผลข้างเคียง ต่ำต่อสุขภาพมนุษย์เมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูล อิสระสังเคราะห์ จำพวกฟีนอลิก ได้แก่ Butylated hydroxytoluene (BHT) และ Butylated hydroxyanisole (BHA) ที่นิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องสำอาง และการรักษา เนื่องจากพบว่ากระบวนการเมตาบอไลท์ สาร BHT และ BHA ก่อให้เกิดสารที่มีคุณสมบัติเป็นสาร ก่อมะเร็ง และหากได้รับสารในปริมาณที่สูงเกินไปจะ สะสมในร่างกายจนเป็นพิษต่อ ปอด ตับและไต (Papas A.M. *et al.*, 1999)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ 1) สารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ (Enzyme) ได้แก่ superoxide dismutase, catalase, และ glutathione peroxidase 2) สารต้านอนุมูลอิสระ ที่ไม่ใช่เอนไซม์ (Non enzymatic) โดยส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม ที่มักพบในพืชธรรมชาติ ได้แก่ ascorbic acid หรือ วิตามินซีและกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) จำพวกฟีนอล (phenol) ฟีนอลิก (phenolic acids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) แทนนิน (tannins) ไกลโคไซด์ (glycosides) อัลคาลอยด์ (alkaloids) ลิกนิน (lignins) และอื่นๆ (Lobo V. *et al.*, 2010) กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจากการที่สารต้านอนุมูลอิสระจะให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระและทำให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น เมื่อสารต้านอนุมูลอิสระได้ให้ ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนไปแล้วก็จะเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ซึ่งมีความรุนแรงน้อยกว่าอนุมูลอิสระเดิม อาจจะไปรวมตัวกันกับอนุมูลอิสระอีกโมเลกุลหนึ่งเกิดผลิตภัณฑ์ที่เสถียร หรือมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่นๆมาให้อิเล็คตรอนหรือไฮโดรเจนเพื่อเกิดผลิตภัณฑ์ที่

เสถียรต่อไปดังแสดงในภาพที่ 2.1 สารที่มีกลไกการออกฤทธิ์ผ่านกลไกนี้ เช่น Butylated hydroxyl anisole(BHA), Vitamin E (alpha-tocopherol) เป็นต้น โดยเมื่อสารเข้าไปชะลอเวลาหรือยับยั้งการทำลายเซลล์ผ่านกระบวนให้ อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระในระบบหรือเข้ากำจัดสาร อนุมูลอิสระ โดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ให้ได้ก่อนที่โมเลกุลสำคัญจะถูกทำลาย (Bakkalbasi E. *et al.*, (2009) และ Fantini M. *et al.*, (2015)) จากงานวิจัยทางการแพทย์ พบว่า พืชสมุนไพรไทยหลายชนิดมีสรรพคุณทางเภสัช วิทยาในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ยกตัวอย่างเช่น ขี้เหล็ก (*Senna siamea*) (Kaur G. *et al.*, (2006)) พลูคาว (*Houttuynia cordata*) (Toda S. (2005)) กำลังวัวเถลิง (*Anaxagorea luzonensis A. Gray*) (Gonda R. (2000)) พริกไทย (*Piper nigrum*) (Gulcin I. (2005)) และอื่นๆ นอกจากนี้ ยังมีพืชสมุนไพรของไทยอีกหลายชนิดที่ยังไม่ มีรายงานศึกษาวิจัยทั้งที่ชาวบ้านนิยมนำมาปรุงอาหาร เพื่อรับประทาน เช่น สะค้าน (*Piper ribesioides*) และ มะแขว่น (*Zanthoxylum limonella*) จัดเป็นพืชท้องถิ่น ที่พบมากเขตภาคเหนือของประเทศไทย มีการนำพืชไปใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย แต่กลับพบว่ายังขาดข้อมูลพื้นฐานในแง่มุมของการต้านอนุมูลอิสระจาก ส่วนประกอบต่างๆในพืช โดยส่วนใหญ่จะเน้นศึกษาฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชทั้งสองชนิดในรูปแบบน้ำมันหอมระเหย (essential oil) เท่านั้น (Salehi B. *et al.*, (2015))

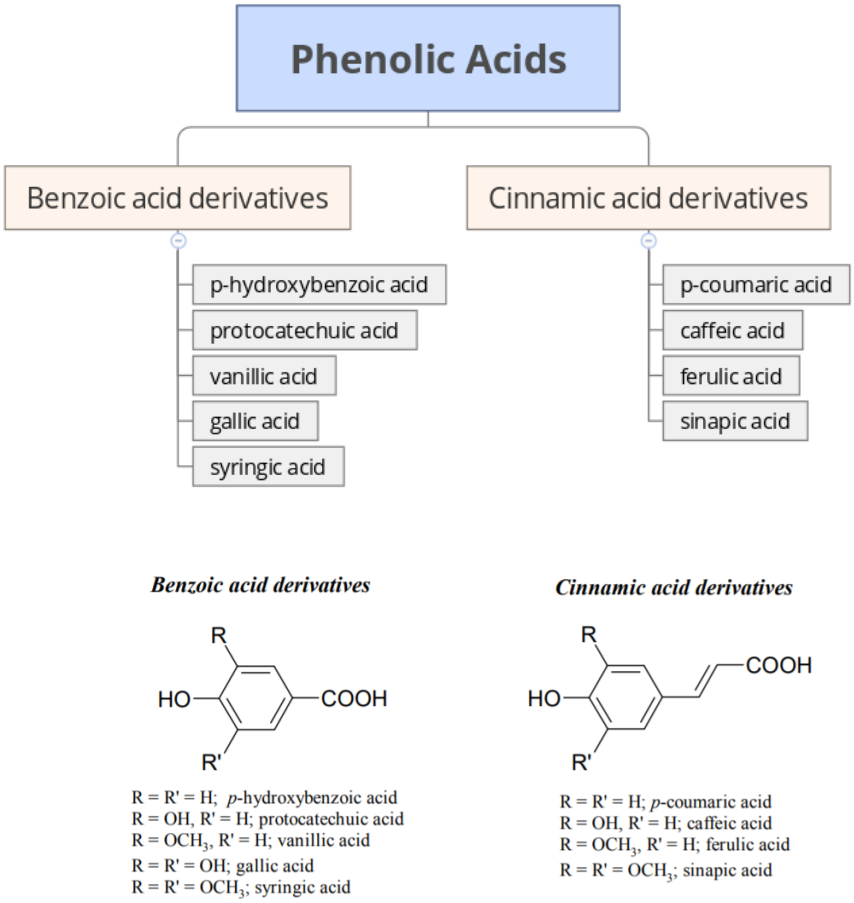


ภาพที่ 2.1 กลไกการต้านอนุมูลอิสระแบบ Free radical scavenging
(ที่มา Silvia V. *et al.* (2004))

2.2 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) เป็นสารผลิตภัณฑ์จากกระบวนการเมแทบอลิสมของพืช ซึ่งมีอนุพันธ์หลายตัว เช่น เพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate) ชิคิเมท (shikimate) และ ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) โดย David M. และคณะ(2009) แบ่งสารประกอบฟีนอลิกเป็น 2 รูปแบบตามโครงสร้างทางเคมี คือ รูปแบบอนุพันธ์ของกรดกรดไฮดรอกซี

ซินนามิก (hydroxycinnamic acids) ได้แก่ caffeic acid, chlorogenic acid, ferulic acid, p-coumaricacid และ sinapic acid กับอีกแบบหนึ่งคือ อนุพันธ์ของ ไฮดรอกซีเบนโซอิก (hydroxybenzoic acids) ซึ่งได้แก่ gallic acid, vanillic acid,p-hydroxybrnzoic acid, protocatechuic acid, และ syringic acid (**ภาพที่ 2.2)** โดยสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Anti-oxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ (Anti-mutagens)



ภาพที่ 2.2 สารประกอบฟีนอลิกจาก 2 รูปแบบ คือ อนุพันธ์จากกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก และอนุพันธ์กรดไฮดรอกซีซินนามิก

(ที่มา David M. *et al.* (2009))

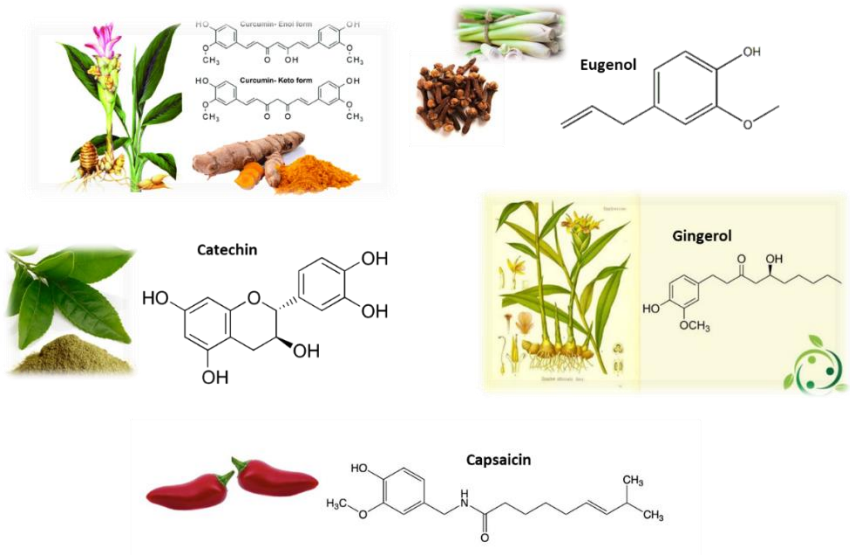
สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิก และ แอนโธไซยานิน พบได้ทั่วไปในใบ ลำต้นและเปลือกของพืช กลไกในการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะอยู่ในรูปของการกำจัดอนุมูลอิสระ การให้ไฮโดรเจนอะตอม และการกำจัดออกซิเจนที่ขาดอิเลคตรอน รวมทั้ง

การรวมตัวกับโลหะ Rubin และ Artsikhcoskays (1964) ได้อธิบายถึงความแตกต่างของสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสะสมในพืชที่เป็นโรคว่ามีหน้าที่ให้หรือรับไฮโดรเจน ในปฏิกิริยา oxidation-reduction จะสร้าง lignin เป็น antiauxin ในการยับยั้งการเจริญเติบโต ซึ่งสามารถแสดงปฏิกิริยาร่วมกับ auxin ในการกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน ของ sulfhydryl group ได้

ปฏิกิริยาที่ทำให้เกิดสีน้ำตาลเป็นปฏิกิริยาที่เกิดจากการกระทำของเอนไซม์ ปฏิกิริยาชนิดนี้พบได้ในผักผลไม้หลายชนิด เช่น กล้วยอ่อน เห็ด มันฝรั่ง แอปเปิล เมื่อปอกเปลือก ผัก ผลไม้นี้ทิ้งไว้จะเกิดสีน้ำตาลขึ้นที่ผิวนอก อันเป็นผลมาจากเอนไซม์ภายในเซลล์ของผลไม้มีโอกาสสัมผัสและสร้างสารประกอบพวกฟีนอลิก เกิดเป็นสารประกอบพวกเมลานิน (melanin) ซึ่งมีสีน้ำตาล เอนไซม์ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลมีอยู่หลายตัว เช่น ฟีนอเลส (phenolase) โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenoloxidase) ฯลฯ

ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลิกที่พบตามธรรมชาติในพืช (ภาพที่ 2.3) เช่น

- จินเจอรอล (gingerol) พบใน ขิง
- ยูจินอล (eugenol) ใน กานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา
- แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก
- เคอคิวมิน (Curcumin) ในขมิ้น
- แคทีชิน (catechin) ในชา ฯลฯ

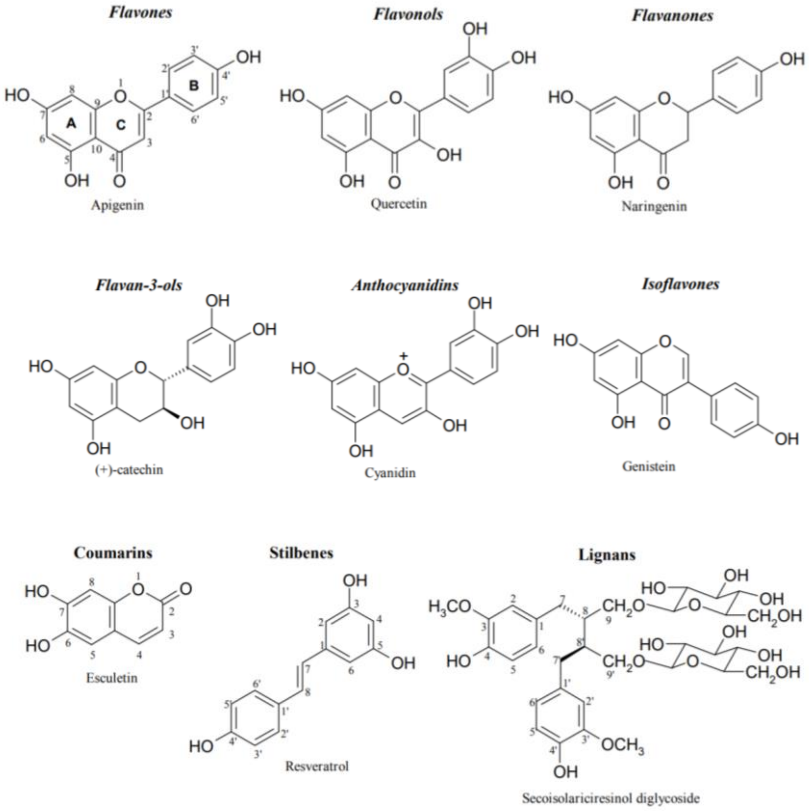


ภาพที่ 2.3 แสดงตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกในพืช

(ที่มา http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compounds)

2.3 ฟลาโวนอยด์ (flavonoid)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ประเภทโพลีฟีนอล (polyphenol) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 ตัว (C6 -C3 -C6) จัดเรียงเป็น 3 ring เรียกเป็น ring A, B, และ C โดย ring A และ B เป็นวงเบนซีน (benzene ring) ส่วน ring C เป็น heterocyclic pyran ring ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (วิภพ สุทธนะ, 2556) ธรรมชาติสารประกอบฟลาโวนอยด์มีมากกว่า 4,000 ชนิด ส่วนใหญ่สามารถละลายในน้ำได้ มักพบอยู่รวมกับน้ำตาล ในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลหนึ่งหมู่ หรือมากกว่าในโมเลกุลของสารประกอบฟลาโวนอยด์ จะเกิดพันธะกับโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น กลูโคส (glucose) แรมโนส (rhamnose) อะราบิโนส (arabinose) และไซโลส (xylose) (Narikawa *et al*., 2000) โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์สามารถพบได้ในส่วนของใบ ดอก ผล และเกสรดอกไม้ของพืช เป็นสารสี (soluble pigments) ที่พบในส่วนต่างๆ ของพืช โดยเฉพาะในดอกทำให้มีสีสวยงาม ส่วนใหญ่จะออกไป ทางสีแดง สีเหลือง สีม่วง และสีน้ำเงิน สารประกอบฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้าง พื้นฐาน ได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ 1) ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซิติ (quercetin), แคมป์เฟอรอล (kaempferol), ไมริซิติน (myricetin) 2) ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin), ไครซิน (chrysin) 3) ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin), นารินจินิน (naringenin), อีริโอดิคทิออล (eriodictyol) 4) ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทิชิน (catechin), แกลโลแคทิชิน (gallocatechin), อีพิแคทิชิน (epicatechin), อีพิแกลโลแคทิชิน (epigallocatechin), อีพิแคทิชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate), อิพิแกลโลแคทิชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate) 5) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลิน (taxifolin) 6) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein), จีนิสตีน (genistein), ไกลซิตีน (glycitein), ฟอร์โมโนเนติน (formononetin) 7) แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไซยานิดิน (cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin) มาลวิดิน (malvidin), พีลาร์โกนิดิน (pelargonidin), พีโอนิดิน (peonidin), พีทูนิดิ (petunidin) ดังแสดงตัวอย่างในภาพที่ 2.4



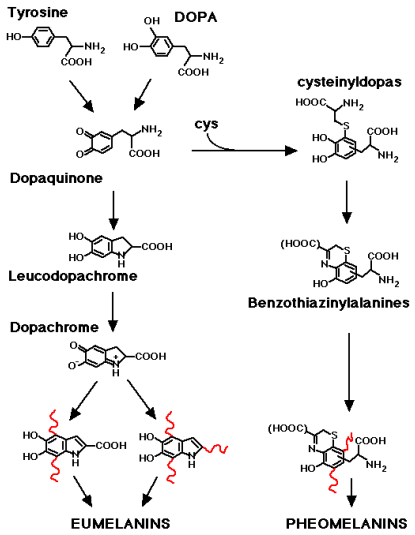
ภาพที่ 2.4 แสดงตัวอย่างโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกในพืช

(ที่มา David M. *et al.* (2009))

2.4 การสังเคราะห์เมลานิน (Melanogenesis) (มูฮำหมัด นิยมเดชา และ ดวงพร โลหะวิทยานันท์, 2559)

กระบวนการสังเคราะห์เมลานินในผิวหนังเริ่มจากสารตั้งต้นที่มีในร่างกายคือ ไทโรซีน (tyrosine) ถูกเปลี่ยนให้เป็น dihydroxyphenylalanine (3,4-dihydroxyphenylalnine; L-DOPA) ด้วยเอนไซม์ tyrosine hydroxylase หรือ monophenolase หรือเรียกโดยรวมว่า tyrosinase ซึ่งขั้นตอนแรกนี้จะเป็นขั้นตอนกำหนดปฏิกิริยา เนื่องจากขั้นตอนหลังจากนี้จะสามารถเกิดขึ้นได้เองในสภาวะ pH ของร่างกายปกติ หลังจากที่ tyrosine ถูกเปลี่ยนให้เป็น L-DOPA แล้ว L-DOPA จะถูกเปลี่ยนแปลงต่อไป เป็น DOPA quinone (3,4-dihydroxyphenylalanine quinone) ซึ่งเป็นสารตัวกลางในการสร้าง eumelanin หรือ pheomelanin ต่อไป กรณีที่ร่างกายอยู่ในสภาวะขาดสารประกอบที่มี sulfur (thiol compound) DOPA quinone จะถูกเปลี่ยนต่อเป็น DOPA chrome ด้วย กระบวนการ auto-oxidation หรือ เรียกว่าการเกิด cyclization และมีเอนไซม์ TRP-2 (tyrosinase-related protein 2) หรือ DOPA chrome tautomerase กระตุ้นให้ DOPA chrome เกิดการ tautomerize ขึ้นต่อได้เป็น 5,6-dihydroxyindole (DHI) melanin ซึ่งมีสีดำ หรือ 5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid (DHICA) melanin ซึ่งมีสีน้ำตาล ตามลำดับ จากนั้นอาศัย

เอนไซม์ TRP-1 (DHICA oxidase) ซึ่งอาจเรียกรวมเป็น tyrosinase ในการเปลี่ยน DHI ไปเป็น indole-5,6-quinone เพื่อนาไปสร้าง eumelanin (brownblack pigment) ต่อไป แต่ในสภาวะที่ร่างกายมี cysteine หรือ กลูตาไธโอน DOPA quinone จะเข้าไป รวมตัวกับสารดังกล่าวกลายเป็น cysteinyl DOPA หรือ glutathione DOPA และเปลี่ยนต่อเป็น alanylhydroxyl-benzothiazine หรือ 1,4-benzothiazinylalanine เพื่อนำไปสร้างต่อเป็น pheomelanin ดังแสดงในภาพที่ 2.5

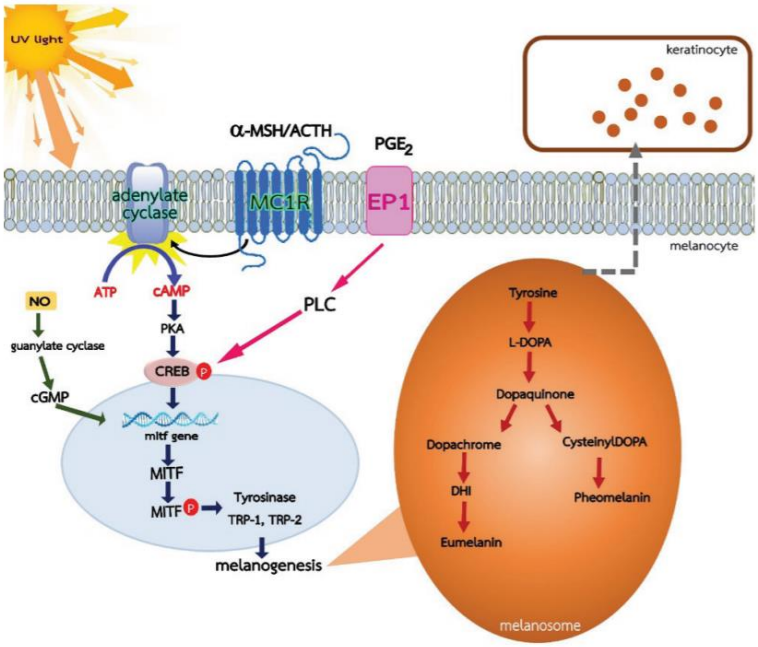


ภาพที่ 2.5 กลไกการสังเคราะห์เมลานิน

(ที่มา https://omlc.org/spectra/melanin/)

2.5 เอนไซม์ไทโรซิเนส (มูฮำหมัด นิยมเดชา และ ดวงพร โลหะวิทยานันท์, 2559)

เอนไซม์ไทโรซีเนส (Tyrosinase) มีบทบาทมากที่สุดในการสังเคราะห์เม็ดสีเมลานิน ทำหน้าที่เปลี่ยนไทโรซีน (Tyrosine) ไปเป็นสาร intermediate (DOPA, DOPA quinone, DOPA chrome, DHI) จนกระทั่งได้ยูเมลานิน (Eumelanin) ซึ่งมีสีเข้ม (น้ำตาล-ดำ) ถ้าเอนไซม์นี้ทำงานมากเกินไป ก็จะทำให้เมลานินถูกสร้างได้มากขึ้นและอาจจะได้เม็ดสีสีดำแบบยูเมลานินมากขึ้น ทาให้เกิดรอยดำหรือ สีผิวเข้มได้ โดยเอนไซม์ tyrosinase หมายถึง oxidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่กำหนดอัตราการทำงานสำหรับการควบคุมการผลิตเมลานิน โดยเกี่ยวข้องในสองปฏิกิริยาที่แตกต่างกันของการสังเคราะห์เมลานินคือ 1) ปฏิกิริยา hydroxylation ของไทโรซีน ซึ่งเกิดเป็น L-DOPA 2) เปลี่ยน L-DOPA ไปเป็น DOPA quinone ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่ง tyrosinase เป็นเอนไซม์ที่มี copper 2 อะตอมที่เชื่อมกันด้วย Histidine พบในพืชและเนื้อสัตว์ที่กระตุ้นการผลิตเมลานินและสีอื่น ๆ จาก tyrosine ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน

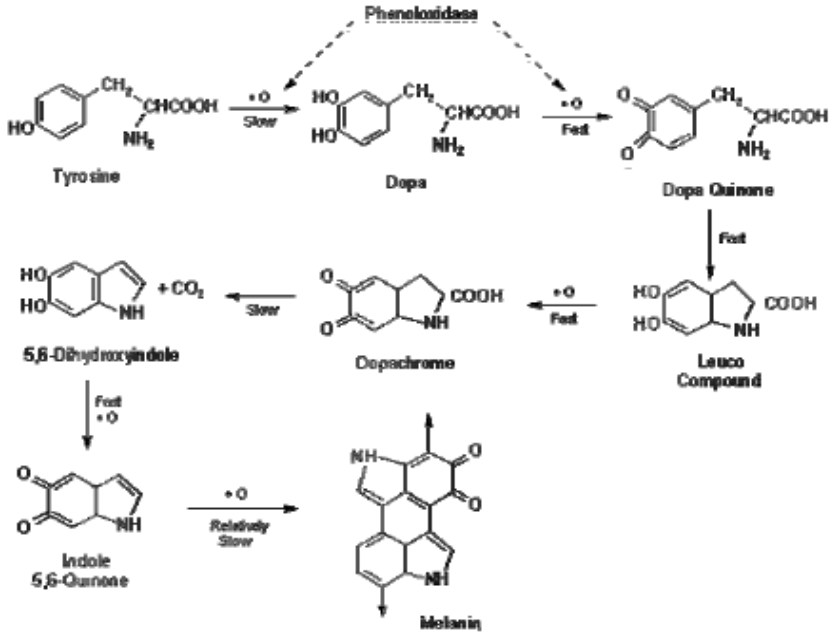


ภาพที่ 2.6 กระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินภายในผิวหนัง

(ที่มา ประไพพิศ อินเสน (2561))

2.6 เอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (Polyphenol oxidase: PPO)

จัดเป็นเอนไซม์ที่สำคัญของปฏิกิริยาสีน้ำตาล เนื่องจากเอนไซม์มีทองแดงเป็นองค์ประกอบ ซึ่งเอนไซม์พอลีฟีนอลออกซิเดสมักมีชื่อตามสับสเตรท เช่น tyrosinase, diphenoloxidase, catecholase, phenolase (Martinez and Whitaker, 1995) โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์มี 2 ปฏิกิริยา คือ ปฏิกิริยา hydroxylation ซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ monophenols ไปเป็น *o*-diphenols (monophenolase และ cresolase activity) และปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเปลี่ยนสารประกอบ *o*-diphenols ไปเป็น *o*-quinones (diphenolase และ catecholase activity) ซึ่ง *o*-quinones เป็นสารประกอบที่สามารถเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแบบไม่ใช้เอนไซม์ต่อไปเป็น melanins ซึ่งเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีสีเข้มขึ้น



ภาพที่ 2.7 การเกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลจากเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยมีไทโรซีนเป็นสับสเตรต

(ที่มา Marshall *et al.* (2000))

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รัตนา ม่วงรัตน์ และคณะ (2559) ได้ศึกษาศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้งด้วยเทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ และปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย (เอทานอลน้ำ และตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1:1) อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองต่อตัวทำละลาย (1:7.5, 1:15, 1:25 และ 1:30) อุณหภูมิ (60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส) และเวลา (5, 15, 30 และ 60 นาที) ผลการศึกษา พบว่าปัจจัยดังกล่าวมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ตัวทำละลายผสมน้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนัก 1: 1 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ในปริมาณที่มาก เมื่อปริมาณตัวทำละลายผสมที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้เพิ่มขึ้น อุณหภูมิและเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้มีค่าสูงขึ้น อย่างไรก็ตามปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่ออุณหภูมิและเวลาในการสกัดมากกว่า 100 องศาเซลเซียส และนานกว่า 15 นาที ตามลำดับ สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้ในปริมาณมากที่สุดจากเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง

ด้วยเทคนิคการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ คือ ที่อัตราส่วนโดยน้ำหนักของเปลือกกล้วยหอมทองแห้งต่อตัวทำละลายผสม (น้ำและเอทานอลในอัตราส่วนโดยน้ำหนักเท่ากับ 1:1) เท่ากับ 1:25 อุณหภูมิและเวลาในการสกัดเท่ากับ 100 องศาเซลเซียส และ 15 นาที ตามลำดับ สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 59.23 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิคต่อกรัมของเปลือกกล้วยหอมทองแห้ง ความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระดีพีพีเอชที่ร้อยละ 50 มีค่าประมาณ 1.40 มิลลิกรัมต่อ 1 มิลลิลิตร

ศุภิสรา จันทราอภิรักษ์ และคณะ (2561) ได้วิเคราะห์หาปริมาณสารโดปามีนในเนื้อกล้วยหอมทองที่เก็บรักษาแบบทั้งหวี ณ อุณหภูมิ 14 และ 25 องศาเซลเซียส ณ ระยะเวลาการเก็บรักษาต่างๆ โดยใช้โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) พบว่าอุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ชะลอการสุกของผลกล้วยให้อยู่ในระยะสุกที่ 2 (ผลสีเขียวอ่อน) ได้เป็นเวลา 21 วัน ซึ่งเป็นระยะที่พบปริมาณโดปามีนสูงสุด คือ 379 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม ผลกล้วยที่ผ่านการเก็บรักษาที่ 14 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 และ 51 วัน ไม่สุกในระยะที่ 4 6 (ผลสีเหลืองอมเขียว เหลืองทั้งผล) ส่วนการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซียลเซียส พบว่า หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 วัน ผลกล้วยสุกในระยะที่ 2 และมีปริมาณสารโดปามีนเพียง 48.04 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม ซึ่งน้อยกว่าปริมาณที่พบในผลสุกระยะที่ 4 6 (65.45 87.99 มิลลิกรัม/เนื้อกล้วย 1 กิโลกรัม)

ปิยตา อารี และ วิชนี มีโต (2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระรวมจากเนื้อมะม่วงน้ำดอกไม้สุก(Mangiferaindica Linn.) ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำกลั่น เอทานอล95%และเมทานอล95% ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดได้แก่ 1 2 3 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับโดยควบคุมอุณหภูมิในการสกัดให้คงที่ที่ 25 องศาเซลเซียส และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี3 วิตามินซี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Compounds) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส จากการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดจากมะม่วงน้ำดอกไม้สุกคือตัวทำละลายเมทานอล 95% ที่เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25องศาเซลเซียส ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี3 วิตามินซี และสารประกอบฟีนอลิก พบว่าเท่ากับ0.97, 51.04 และ 192 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด ตามลำดับ การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS พบว่า

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเป็น 88.37 % และ 75.23 % ตามลำดับ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส พบว่า สารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเท่ากับ 69.33 %

ประไพพิศ อินเสน (2561) ศึกษาเกี่ยวกับเมลานินเป็นเม็ดสีที่สร้างมาจากเมลาโนไซต์โดยมีแสงยูวีเป็นตัวกระตุ้นผ่านกระบวนการเมลาโนเจนนิสิส โดยเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเปลี่ยนแอล-ไทโรซีนเป็นแอล-โดปาและโดปาควิโนน แล้วสังเคราะห์เป็นเม็ดสีเมลานินสองชนิดได้แก่ ยูเมลานินและฟีโอเมลานิน โดยมีเอนไซม์ไทโรซิเนสเป็นกุญแจที่สำคัญของกระบวนการนี้ หากเอนไซม์ชนิดนี้ทำงานมากเกินจะส่งผลให้เกิดความผิดปกติทางผิวหนังได้แก่ รอยด่างดำ ฝ้าและกระ ปัจจุบันสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติถูกนำมาใช้เป็นสารช่วยให้ผิวขาวใส เนื่องจากมีความปลอดภัยและราคาถูก อาทิพืชในกลุ่มตระกูลเบอร์รีไทยรวมถึงหม่อนหรือมัลเบอร์รี มะเม่า มะขามป้อม มะยม เป็นต้น พืชกลุ่มนี้จะให้สารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสามารถในการลดกระบวนการชีวสังเคราะห์เมลานิน อาทิ มัลเบอร์โรไซด์ เอ เรสเวอราทรอล ออกซีเรสเวอราทรอลแอนโธไซยานิน ไฮโดรไลซ์แทนนิน สารเหล่านี้มีกลไกการยับยั้งได้หลายกลไก ได้แก่ ต้านการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยการจับกับคอปเปอร์ที่บริเวณเร่ง ยับยั้งการสังเคราะห์เอนไซม์โดยยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างเมลานิน และอาศัยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่ถูกกระตุ้นจากแสงแดดซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดการทำลายเซลล์เกิดความหมองคล้ำและความชราของเซลล์ ปัจจุบันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้จึงเป็นที่สนใจและถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์สุขภาพเพื่อให้ผิวความจ่างใส ชะลอความแก่ และลดฝ้ากระ

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย และคณะ (2554) ได้ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้เหลือทิ้ง 10 ชนิดได้แก่ ส้มเขียวหวาน (Citrus reticulata) ส้มโอ (Citrus maxima Merr.) กล้วยน้ำว้า (Musa sapientum Linn.) มะไฟ (Baccaurea ramiflora Lour.) แตงโม (Citrullus vulgaris) สับปะรด (Ananas comosus Merr.) แคนตาลูป (Cucumis melo var.) มะละกอ (Carica papaya L.) มะม่วงดิบ และมะม่วงสุก (Mangifera indica L.) นำมาวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (1,-1 diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging และ total antioxidant capacity) และสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าเปลือกมะม่วงดิบและมะม่วงสุก มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (IC50 เท่ากับ 2.32 และ 2.31 กรัม/ มิลลิลิตร ตามลำดับ) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระรวม (เทียบกับกรดแอสคอบิก และแกลลิก) สูงสุด ในทำนองเดียวกัน เมื่อทำการศึกษา

สารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าเปลือกมะม่วงดิบมีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 72.8 mg GAE/ กรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นเปลือกมะม่วงดิบจึงเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบ

สุวดี โพธิ์วิจิตร และคณะ (2019) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรท้องถิ่นเขตภาคเหนือของประเทศไทยภายใต้ตัวทำละลายต่างขั้ว คือ ลำต้นสะค้าน ส่วนก้านและส่วนเมล็ดมะแขว่น ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สารอนุมูลอิสระ 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (DPPH) พร้อมวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธีโฟลินซิโอแคลตู (Folin Ciocalteau) และวิธีอลูมิเนียมคลอไรด์ (Aluminium chloride) ตามลาดับ สารสกัดหยาบทั้งสองชนิดในเมทานอลมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด รองลงมาคือในเอทิล อะซีเตท สารสกัดจากลำต้นสะค้านในเมทานอลออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด มีค่า IC50 = 0.2 mg/ml มีปริมาณฟีนอลิกสูงสุด (68.83 ± 0.38 mgGAE/g) และปริมาณฟลาโวนอยด์สูงสุด (37.13 ± 0.47 mgQE/g) ขณะที่สารสกัดจากก้านและเมล็ดมะแขว่นในเมทานอลสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ มีค่า IC50 = 0.26 และ 0.37 mg/ml ตามลำดับ โดยก้านมะแขว่นมีปริมาณฟีนอลิก (53.67 ± 0.45 mgGAE/g) มากกว่าเมล็ดมะแขว่น (24.15 ± 0.48 mgGAE/g) สอดคล้องกับปริมาณ ฟลาโวนอยด์ของก้าน (25.76 ± 0.43 mgQE/g) และเมล็ดมะแขว่น (10.25 ± 0.63 mgQE/g) ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณรวม ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่เพิ่มขึ้นและให้ผลที่ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วสูง ข้อมูลการศึกษานี้จะเป็นองค์ความรู้พื้นฐานในการพัฒนาสมุนไพรพื้นบ้านให้เกิดมูลค่าต่ออุตสาหกรรมการรักษาต่อไปในอนาคต

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

เปลือกกล้วยหินที่เหลือใช้ในอำเภอเมือง จังหวัดยะลา โดยนำมาล้างให้สะอาดและนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 วัสดุอุปกรณ์

1. เครื่องเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (Centrifuge)
2. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-Visible Spectroscopy)
3. เครื่องบดละเอียดไฟฟ้า (Blender)
4. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Balance)
5. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Balance)
6. ไมโครปิเปต (Micropipette)
7. บีกเกอร์ (Beaker)
8. แท่งแก้วคน (Glass Rob)
9. กระบวกตวง (Cylinder)
10. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer Flask)
11. หลอดทดลอง (Test Tube)
12. ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)
13. อะลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium Foil)
14. เครื่องเขย่า (Vortex)
15. เครื่องปั่น (Blender)
16. ช้อนตักสาร (Spatula)
17. พาราฟิล์ม (Parafilm)
18. คิวเวต (Cuvett)
19. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด ด่าง (pH meter)

3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. การสกัดสารจากเปลือกกล้วยหิน

- Tris-Hcl (Merck)
- Di-sodium hydrogen phosphate-2-hydrate (Fluka)
- Sodium dihydrogen phosphate (Fluka)
- Polyvinylpolypyrolidone (PVPP) (sigma)
- TritonX (J.T.Breaker)
- Ammonium sulfate (Merck)

2. การหาปริมาณโปรตีน

- Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck)
- Commassie brilliant blue G-250 (Sigma)
- Ethanol (Merck)
- 85% Phosphoric acid (Merck)
- BSA (sigma)

3. การวิเคราะห์ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO)

- Tris-Hcl (Merck)
- Di-sodium hydrogen phosphate-2-hydrate (Fluka)
- Sodium dihydrogen phosphate (Fluka)
- Catechol (Sigma)

4. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

- Aluminium chloride
- Potassium acetate
- Ethanol (Merck)

- Methanol (Merck)
- Quercetin (Sigma)
- DPPH (Sigma)
- Trolox (Sigma)

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิคทั้งหมด

- Ethanol (Merck)
- Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Merck)
- Gallic acid monohydrate (Fluka)
- Sodium carbonate (Merck)

6. การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

- Tyrosine (Sigma)
- L-Dopa (Sigma)
- DMSO (Sigma)
- Kojic acid (Merck)

3.3 ขั้นตอนการวิจัย

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างเปลือกกล้วยหิน

นำเปลือกกล้วยหิน ล้างทำความสะอาดก่อนนำมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ จากนั้น ชั่งเปลือกกล้วยที่หั่นแล้วปริมาณ 100 กรัม นำมาสกัดใน น้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer ที่มีค่า pH ที่แตกต่างกัน คือ pH 6.0 pH 6.5 และ pH 7.5 ในอัตราส่วน 1:2 1:5 และ 1:10 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้น แยกส่วนกากและส่วนใส โดยนำส่วนที่เป็นกากทิ้งไป วัดปริมาตรส่วนใสที่แล้วนำสารสกัดส่วนใสที่ได้ไปเก็บไว้เพื่อหาปริมาณโปรตีน ปริมาณฟีนอลิก ปริมาณเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส สารต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส แล้วนำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดอีก 1 วิธี คือ นำเปลือกกล้วยตัวอย่าง มาประมาณ 200 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาสกัดด้วย Absolute Ethanol เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง และนำสารสกัดที่ได้ 1000

มิลลิลิตร มาระเหย Ethanol ด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบหมุน (Rotary Evaporator) จนมีปริมาตรเหลือประมาณ 10% ของสารละลายเริ่มต้น แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

3.3.2 การหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford

สารละลาย Bradford : ละลาย Coomassie Brilliant Blue G-250 100 มิลลิกรัมใน ethanol 50 mL และ 85% phosphoric acid 100 mL คนให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1 ลิตร กรองก่อนนำไปใช้

โปรตีนมาตรฐาน : ละลาย Bovine serum albumin (BSA) จำนวน 0.5 มิลลิกรัม ในน้ำกลั่น 1 mL จะได้โปรตีน BSA ที่มีความเข้มข้น 0.5 mg/mL หลังจากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายที่มีปริมาณของ BSA เท่ากับ 10, 20, 30,40 ,60, 80 ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรลิตร ตามลำดับ

วิธีวัดปริมาณโปรตีน : ใช้สารละลายโปรตีนมาตรฐาน BSA ความเข้มข้นละ 100 µL และสารตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณ (ตัวอย่างที่ได้จากการสกัด ข้อ 3.1) ตัวอย่างละ 100 µL (ที่เจือจางให้เหมาะสม) ทำปฏิกิริยากับสารละลาย Bradford 1 mL เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน BSA

3.3.3 ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส (PPO activity)

ใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 6.5 ปริมาตร 2.360 mL ผสมกับ 0.1 M catechol ซึ่งเป็นสับสเตรท ปริมาตร 0.6 mL และ สารตัวอย่าง 0.04 mL โดยทำการทดลองในคิวเวท (cuvette) ขนาด 3 mL จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 420 nm โดย 1 หน่วยความว่องไวของเอนไซม์ PPO หมายถึง การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป 0.001 OD. ต่อ 1 นาที

3.3.4 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

3.3.4.1 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของสาร Quercetin ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg QE/1 g สารสกัด) เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร มาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของ Quercetin ที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ (25, 50, 75, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลิตร) ซึ่งได้ค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.059, 0.013, 0.021, 0.029, และ 0.036 ตามลำดับ จะได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี liner regression equation ของกราฟมาตรฐาน คือ y = 0.0002x และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.997

3.3.4.2 การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการสารสกัดตัวอย่าง ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงในคิวเวต จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Methanol 2.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น blank คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

วิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง UV

เติมสารละลายมาตรฐาน หรือสารสกัดตัวอย่าง ที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 6.25 12.5 25 50 และ 100 µg/ml มาตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงในคิวเวต จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Methanol 2.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น blank คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และรายงานผลในรูป IC50 โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox

3.3.5 ศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมตามวิธีของ Folin-Ciocalteau method (Torres และคณะ, 1987) โดยการนำสารตัวอย่างที่สกัดได้ตามวิธีข้อ 3.1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 1N Folin-Ciocalteau's phenol reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2-5 นาที จากนั้นเติม 20% w/v Na_2CO_3 ปริมาตร 2 mL ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไป

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 nm โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน gallic acid (20, 40, 60 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งรายงานเป็นหน่วย มิลลิกรัมของแกลลิค/กรัม)

3.3.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

การวิเคราะห์ความสามารถฤทธิ์ในการยับยั้งการทางานของเอนไซม์ไทโรซิเนส ทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method โดยใช้สาร Tyrosine เป็นสารตั้งต้น โดยการเตรียมความเข้มข้น 0.01 – 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้ DMSO เป็นตัวทำละลาย และใช้สารสกัด 50 ไมโครลิตร ผสมกับ Tyrosinase mushroom โดยใช้ความเข้มข้น 100 ยูนิตในสารละลาย 0.1 โมลาร์ และ 50 ไมโครลิตร ของบัฟเฟอร์ฟอสเฟต pH 6.8 ปริมาตร ตามลำดับ และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไป คำนวณค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยใช้กรดโคจิกเป็นสารมาตรฐาน

วิธีการคำนวณ

$$\text{Tyrosinase inhibition activity (\%)} = [(A-B)/A \times 100]$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่เติมสารสกัด

และ B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารสกัด

3.3.7 ศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดเปลือกกล้วย

3.3.7.1 การเตรียมโลชั่น

เตรียมโลชั่นจำนวน 2 ตำรับโดยปรับปรุงสูตรจาก Hand and body Lotion (BF Goodrich Specialty Chemicals, 2009) ตำรับละ 3 ซ้ำ โดยทดลองใช้ปริมาณสารสกัดเปลือกกล้วยหินในปริมาณ 3 % และ 5 % ตามปริมาณของวิตามินซี ที่ใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง คือ 0.5 – 10 % (Making Cosmetics, 2015)

3.3.7.2 ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดเปลือกกล้วย

ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากเปลือกกล้วย ได้แก่ ค่า pH และทดสอบความคงสภาพ (อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช. 551/2553)) โดยเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 4 ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบลักษณะทั่วไป สีและกลิ่นเปรียบเทียบกับสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์

บทที่ 4

ผลการดำเนินการวิจัยและอภิปราย

จากวัตถุประสงค์ของการวิจัย คือ เพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน เพื่อศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน และเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นผิวกระจ่างใสที่มีสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินเป็นส่วนผสม โดยผลการวิจัยมีดังนี้

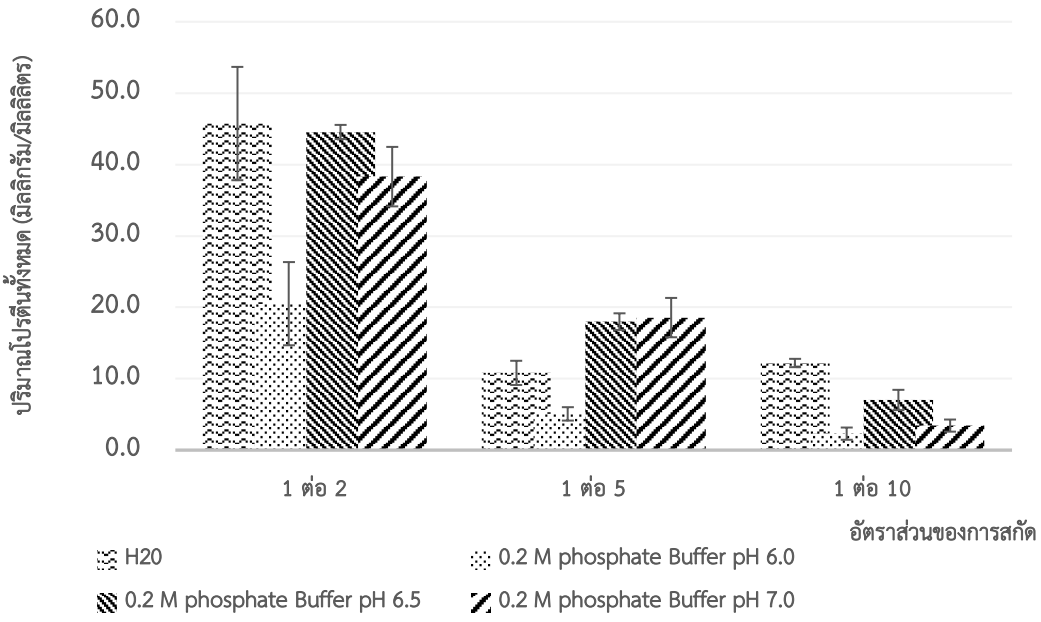
4.1 ผลของการหาปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

นำเปลือกกล้วยหินมาสกัดด้วย Extraction buffer ต่างๆ คือ น้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:2 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักตัวอย่าง : extraction buffer) ปรากฏว่า ปริมาณโปรตีนที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 และ 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันมากในอัตราส่วนการสกัดที่ 1: 2 คือ มีค่าเท่ากับ 45.744±7.937 44.564±0.989 และ 38.308±4.165 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนที่สกัดแล้วนั้น พบว่า ค่าปริมาณโปรตีนมีผลที่แตกต่างกันเพิ่มมากขึ้น โดยการสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.0 ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่น้อยที่สุดในทุกอัตราส่วนของการสกัด และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วย 0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 และ 0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 พบว่า การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 สามารถให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ดีที่สุดกว่า การสกัดด้วย Extraction buffer อื่นๆ (ตารางที่ 4.1 และ ภาพที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

อัตราส่วน/ Extraction Buffer	H_20 (mg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (mg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (mg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (mg/mL)
1 ต่อ 2	45.744±7.937	20.513±5.825	44.564±0.989	38.308±4.165
1 ต่อ 5	10.821±1.695	5.077±0.936	18.000±1.162	18.564±2.754
1 ต่อ 10	12.205±0.582	2.308±0.857	7.026±1.421	3.436±0.847

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

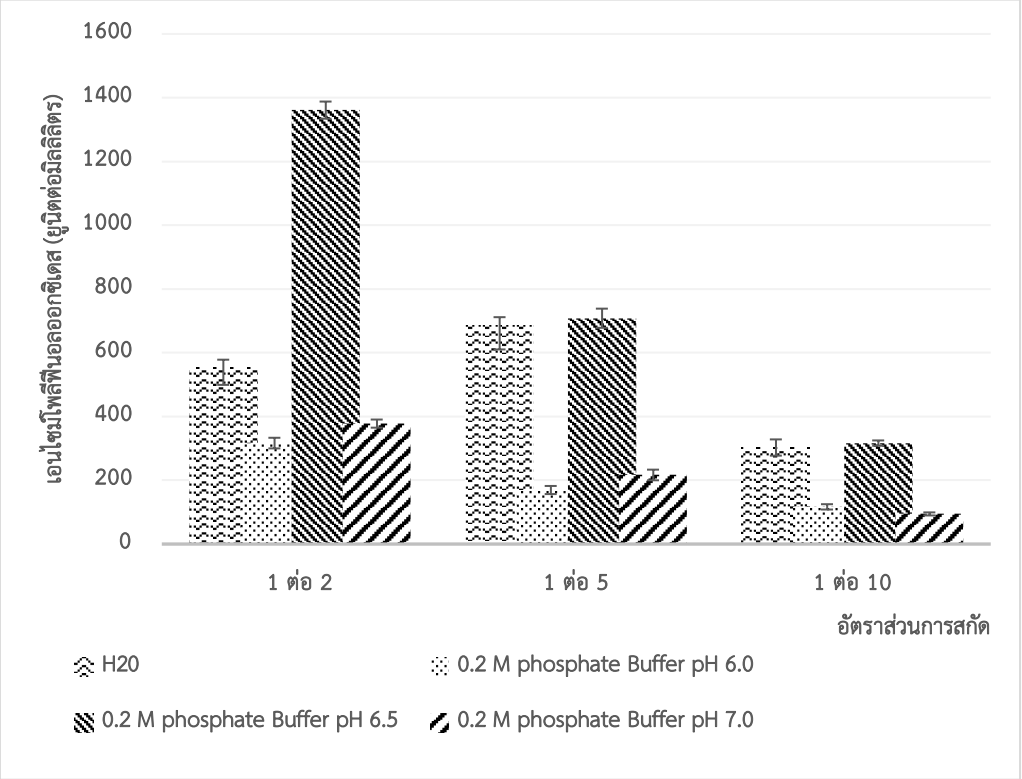
4.2 ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

นำเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ คือ น้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:2 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักตัวอย่าง : extraction buffer) มาหาปริมาณของความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส โดยใช้ 0.1 M phosphate buffer pH 6.5 ปริมาตร 2.360 mL ผสมกับ 0.1 M catechol ซึ่งเป็นสับสเตรท ปริมาตร 0.6 mL และ สารตัวอย่าง 0.04 mL โดยทำการทดลองในคิวเวท (cuvette) ขนาด 3 mL จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 nm โดย 1 หน่วยความว่องไวของเอนไซม์ PPO หมายถึง การดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนแปลงไป 0.001 OD. ต่อ 1 นาที พบว่า เปลือกของกล้วยหินที่สกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่อัตราส่วน 1:2 จะมีปริมาณของความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด คือเท่ากับ 1361.111±26.788 unit และสูงกว่าการที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 0.2 M phosphate buffer pH 6.0 และ 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 คิดเป็น 2.46 4.30 และ 3.6 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 ที่อัตราส่วนของการสกัด 1:10 จะให้ปริมาณความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสต่ำที่สุด คือเท่ากับ 94.444±4.811unit ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

อัตราส่วน/ Extraction Buffer	H_20 (unit/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (unit/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (unit/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (unit/mL)
1 ต่อ 2	552.778±53.576	316.667±16.667	1361.111±26.788	377.778±12.729
1 ต่อ 5	686.111±75.615	169.444±12.729	708.333±30.046	216.667±16.667
1 ต่อ 10	302.778±25.459	116.667±8.333	316.667±8.333	94.444±4.811

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4.2 ความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

4.3 ผลการศึกษาการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ

4.3.1 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของสาร Quercetin ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg QE/1 g สารสกัด) เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร มาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของ Quercetin ที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ (25, 50, 75, 100, 150 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรลิตร) ซึ่งได้ค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.059, 0.013, 0.021, 0.029, และ 0.036 ตามลำดับ จะได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี liner regression equation ของกราฟมาตรฐาน คือ y = 0.0002x และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.997

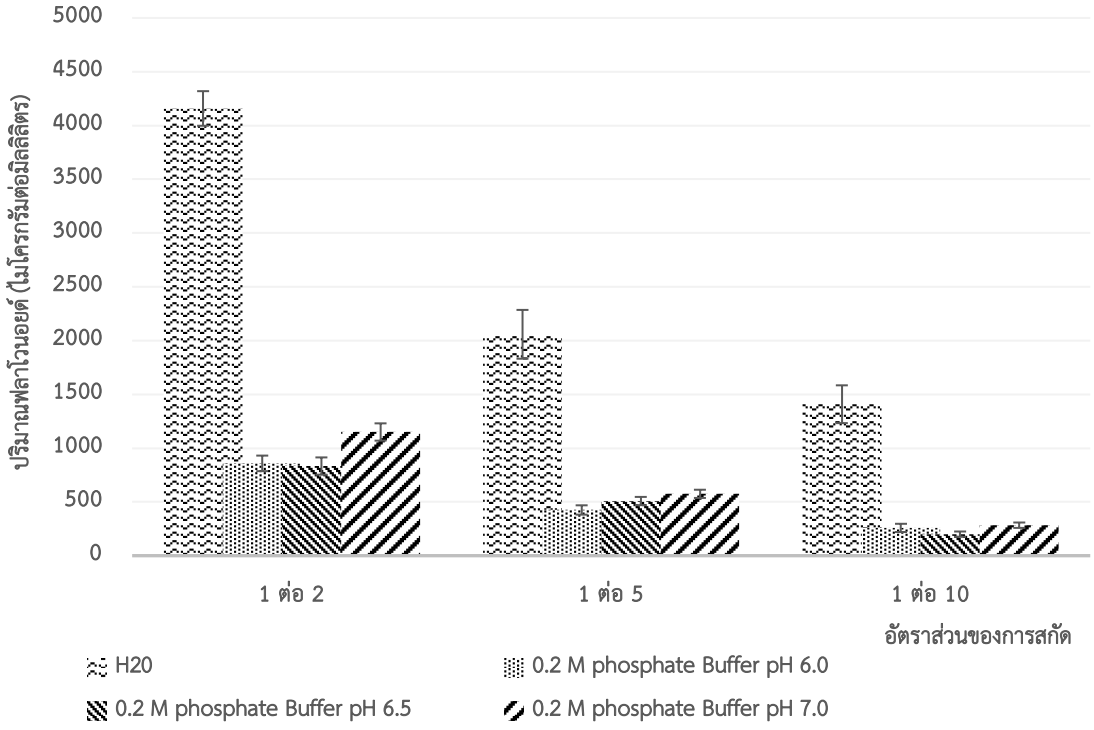
เมื่อศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินด้วยสารสกัดที่แตกต่างกันนั้น พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อัตราส่วน 1:2 มีค่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าการสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ถึง

4.8 5.0 และ 3.6 เท่า ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3) เนื่องจาก ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารประกอบฟินอลิก (Phenolic Compound) ประเภทโพลีฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic Ring) ที่มีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl Group) รวมอยู่ในโมเลกุล ตั้งแต่ 2 วงขึ้นไปทำให้สามารถละลายน้ำได้ดีและส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) สารประกอบ flavonoids ได้แก่ flavonol, flavonone, flavone, isoflavone, flavonol catechin, anthocyanins อีกทั้งสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ จัดเป็น nutraceutical มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยทำหน้าที่ในการหน่วงเหนี่ยวหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) จึงช่วยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระได้ แหล่งอาหารที่พบฟลาโวนอยด์มาก ได้แก่ พืช ผักและผลไม้ เช่น ยอ ถั่วเหลือง กระชายดำ สารสกัดจากเมล็ดองุ่นรวมทั้งเครื่องดื่มต่างๆ เช่น ชา ไวน์ เป็นต้น (ปริญญา มูลสิน และอมรรัตน์ วงษ์กลม, 2556)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

อัตราส่วน/ Extraction Buffer	H_20 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (µg/mL)
1 ต่อ 2	4158.333±160.728	858.333±72.169	833.333±80.364	1150.000±66.144
1 ต่อ 5	2058.333±226.844	425.000±43.301	508.333±38.188	575.000±25.000
1 ต่อ 10	1408.333±175.594	258.333±38.188	200.000±25.000	283.333±14.434

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

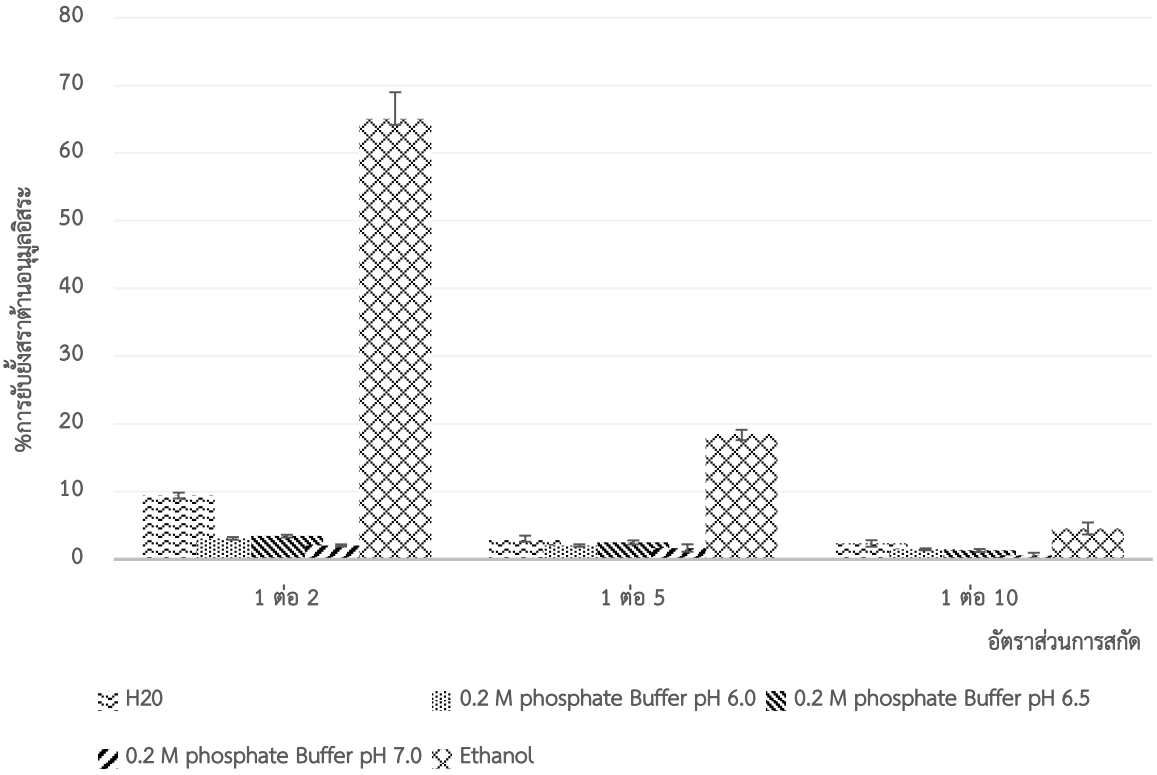
4.3.2 ผลการทดสอบสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการสารสกัดตัวอย่าง ที่เตรียมไว้แต่ละความเข้มข้นมาตัวอย่างละ 100 ไมโครลิตร ลงในคิวเวต จากนั้นเติมสารละลายมาตรฐาน DPPH 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร แล้วเติม Methanol 2.8 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรที่เวลา 5 20 30 40 และ 60 นาที ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้เมทานอลเป็น blank คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ คือ น้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:2 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักตัวอย่าง : extraction buffer) ให้ค่าการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้ไม่เกิน 10% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วย Ethanol พบว่า ค่าการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระให้ค่าสูงถึง 65.06±3.94% ในอัตราส่วนของการสกัดที่ 1:2

(ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.4) ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีการสกัดที่นิยมใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับธรรมชาติของตัวทำละลาย เนื่องจากองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระและความเป็นขั้วของสารประกอบที่แตกต่างกัน (Sultana, *et al*., 2009) จึงทำให้ความเข้มข้นของตัวทาละลายที่ใช้สกัดมีผลต่อความสามารถต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 4.4 ฤทธิ์การยับสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

Extraction buffer/อัตราส่วน	H_20 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (%inhibition)	Ethanol (%inhibition)
1 ต่อ 2	9.42±0.43	3.08±0.19	3.42±0.20	2.05±0.15	65.06±3.94
1 ต่อ 5	3.04±0.45	2.03±0.17	2.49±0.29	1.67±0.55	18.48±0.65
1 ต่อ 10	2.33±0.48	1.48±0.14	1.29±0.22	0.54±0.42	4.55±0.88

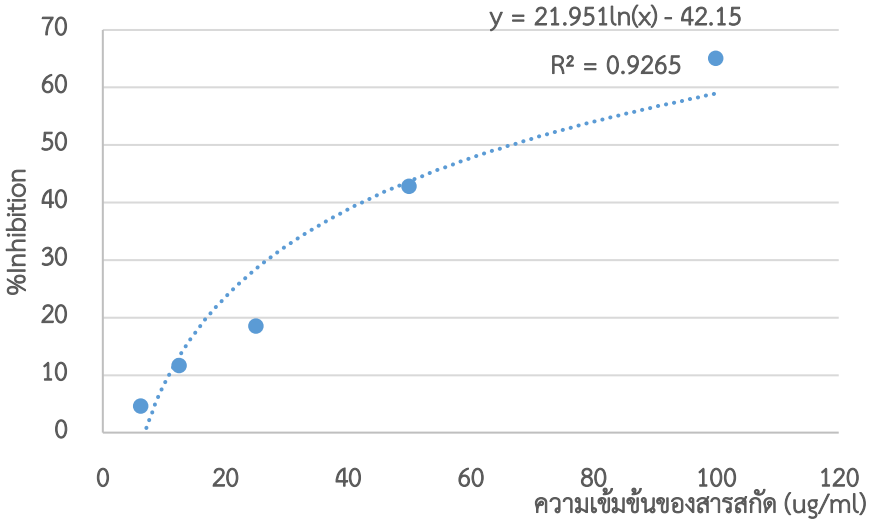


ภาพที่ 4.4 ฤทธิ์การยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

จากผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของการสกัดเปลือกกล้วยหินด้วย Extraction Buffer ต่างๆ แล้วได้ว่า การสกัดด้วย Ethanol ให้ผลของการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด จากนั้น จึงได้นำสารสกัดทั้ง 5 ความเข้มข้น (6.25 12.5 25 50 และ 100 µg/ml) มาทดสอบการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ ที่เวลา 30 นาที แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ % Inhibition พบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้นจนกระทั่งคงที่ในที่สุด จากนั้นจึงนำผลการศึกษาที่ได้มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ 50% (IC_{50}) พบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 61.559 µg /ml ดังแสดงในตารางที่ 4.5 และ ภาพที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm และ % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

$A_{control}$	[Extract] (µg/ml)	เวลา 30 นาที		สมการ	IC_{50} (µg /ml)
		A_{sample}	%IHB		
0.395	100	0.138	65.063	y = 21.951ln(x) - 42.151	61.559
	50	0.226	42.784		
	25	0.322	18.481		
	12.5	0.349	11.646		
	6.25	0.377	4.557		



ภาพที่ 4.5 % Inhibition ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

4.4 ผลการศึกษาการปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

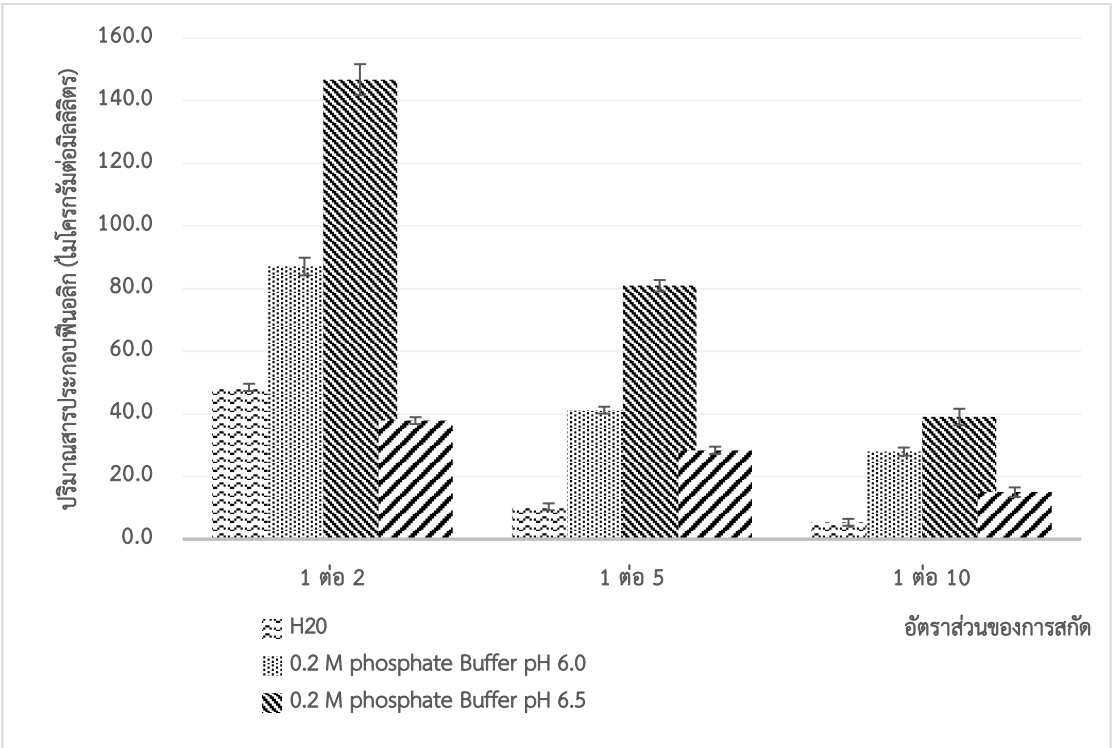
จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu phenol test และคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในรูปของ gallic acid equivalents ต่อสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/1 g สารสกัด) เมื่อนำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร มาสร้างกราฟเทียบกับความเข้มข้นของกรดแกลลิกที่มีระดับความเข้มข้นต่างๆ (20, 40, 60 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งได้ค่าการดูดกลืนแสงคือ 0.748, 1.727, 2.754 และ 3.751 นาโนเมตร ตามลำดับ จะได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงมี liner regression equation ของกราฟมาตรฐาน คือ y = 0.0458x และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) = 0.995

เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกกล้วยหินด้วย Extraction Buffer ที่แตกต่างกันนั้น พบว่า เมื่อทำการสกัดโดยการใช้น้ำกลั่นในอัตราส่วนของการสกัดคือ 1 : 2 (ตัวอย่างต่อสารสกัด) จะให้ปริมาณฟีนอลิกที่สูงกว่า การสกัดด้วยอัตราส่วนอื่นๆ ในขณะที่เมื่อทำการสกัดโดยใช้ 0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 ในอัตราส่วนของการสกัดคือ 1 : 2 (ตัวอย่างต่อสารสกัด) จะสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้สูงกว่าการสกัดด้วย 0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 และ 0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 ถึง 40.67% และ 74.21% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถของ Extraction Buffer ที่เลือกใช้ จะพบว่า 0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 จะให้ผลของการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าการสกัดด้วย Extraction Buffer อื่นๆ ในทุกๆ อัตราส่วน (ตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.6) เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืช โดยตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแกลลิค คาทิชิน ควอซิทิน ฟลาโวนอยด์ เบต้าแคโรทีนและวิตามินซี ซึ่งโครงสร้างหลักประกอบด้วย aromatic ring แทนที่ด้วย hydroxyl group โดยส่วนมากเป็นสารที่มีขั้ว ละลายในตัวทำละลายจำพวก alcohol ได้ดี กลไกของสารจำพวกฟินอลที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดึงอิเล็กตรอนไป แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง ทำให้โครงสร้างเสถียรและไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป (ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และ ทรงพร จึงมั่นคง, 2549)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

อัตราส่วน/ Extraction Buffer	H_20 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (µg/mL)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (µg/mL)
1 ต่อ 2	48.472±1.155	87.045±2.841	146.725±4.960	37.846±1.099
1 ต่อ 5	10.335±1.099	41.192±1.099	80.932±1.818	28.384±1.155
1 ต่อ 10	5.386±1.099	27.948±1.310	39.010±2.632	14.993±1.534

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

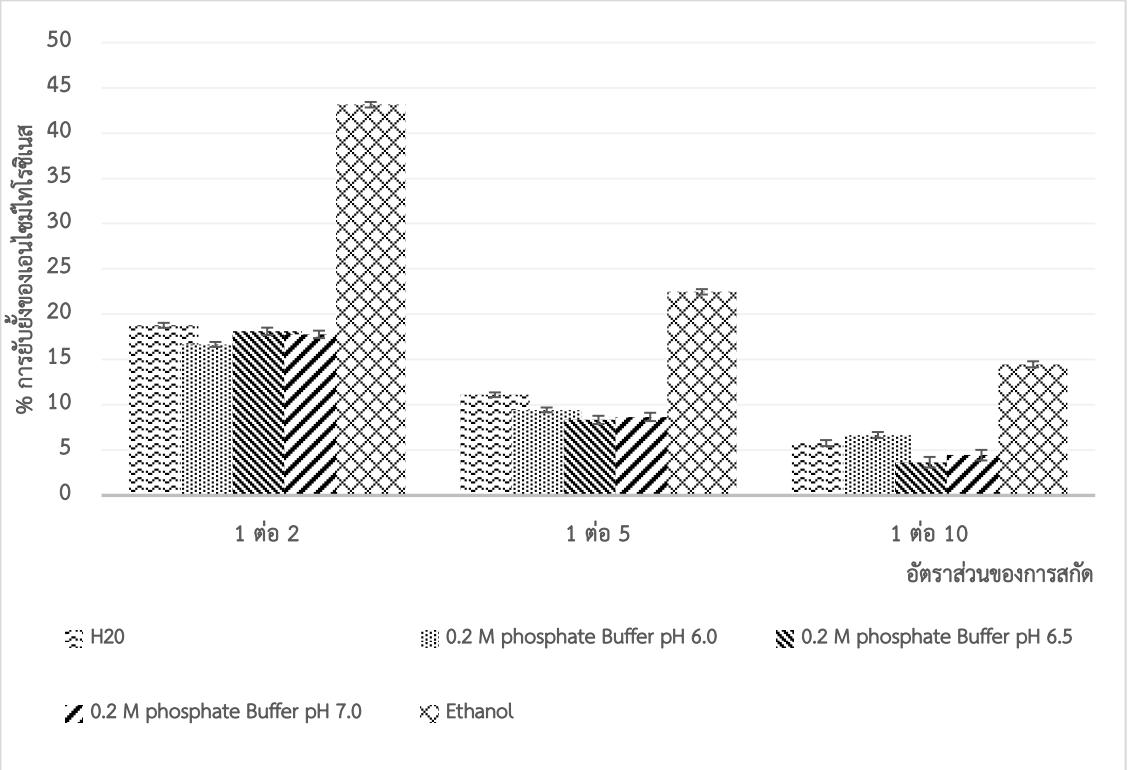
4.5 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทางานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (กรดโคจิก) โดยแสดงค่าการยับยั้งหรือ %inhibition ทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method และใช้สารไทโรซีนเป็นสารตั้งต้น ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer ต่างๆ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ไม่แตกต่างกันในทุกๆ Extraction buffer โดยได้ผลการยับยั้งอยู่ที่ประมาณไม่เกินร้อยละ 20 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยหินมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 40 (ตารางที่ 4.7 และ ภาพที่ 4.7) เนื่องด้วยกลไกหนึ่งของการออกฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดเกิดจากการเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงทำให้วิธีการสกัดโดยใช้ Extraction buffer ต่างๆ ให้ค่าของการยับยั้งได้ต่ำกว่าการสกัดด้วย Ethanol

ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

Extraction buffer/อัตราส่วน	H_20 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 (%inhibition)	0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 (%inhibition)	Ethanol (%inhibition)
1 ต่อ 2	18.77±1.15	16.66±1.09	18.11±1.15	17.77±1.15	43.16±1.09
1 ต่อ 5	11.11±1.09	9.44±1.15	8.33±2.63	8.66±1.09	22.51±1.15
1 ต่อ 10	5.77±1.53	6.66±2.63	3.66±1.53	4.44±2.84	14.47±2.84

หมายเหตุ : ตัวเลขที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย 3 การทดลอง ± SD



ภาพที่ 4.7 ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสจากเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วยวิธีต่างๆ

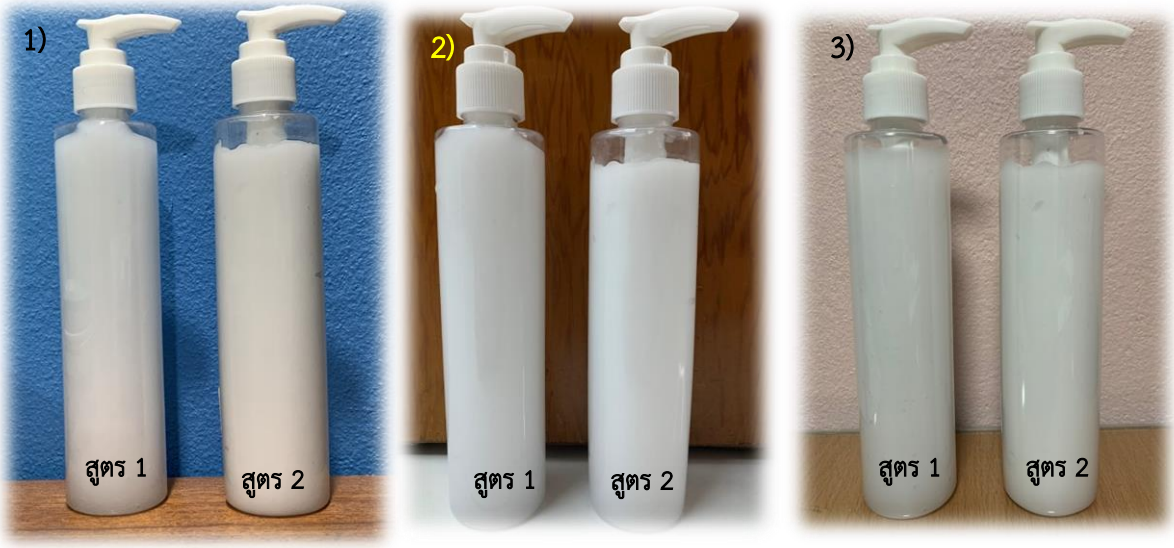
4.6 ผลการศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดเปลือกกล้วยหิน

จากการศึกษาเพื่อให้ได้ตำรับของโลชั่นที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานโดย อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช.551/2553) ซึ่งได้ทำการตั้งตำรับโลชั่นด้วยกัน 2 สูตร จากนั้นได้นำโลชั้นที่ได้ (ตารางที่ 4.8) มาทดสอบเบื้องต้นโดยการนำผลิตภัณฑ์โลชั่นจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน มาทดสอบคุณลักษณะทั่วไปของโลชั่น พบว่า โลชั่นทั้ง 2 สูตรมีลักษณะเนื้อครีมขาวขุ่น ไม่จับตัวเป็นก้อนและไม่แยกชั้น ปราศจากสิ่งเจือปนจากสิ่งแปลกปลอมอื่น (ภาพที่ 4.8) และเมื่อนำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของโลชั่น ปรากฏว่า ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 7.0-7.5 จากนั้น นำมาทดสอบความคงสภาพของโลชั่น โดยการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 4 ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง พบว่า โลชั่นทั้ง 2 สูตรที่ได้ยังคงมีสภาพไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์ (ภาพที่ 4.9)

ตารางที่ 4.8 ตำรับผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน

Phase	ส่วนผสม	ปริมาณ (%)	
		สูตรที่ 1	สูตรที่ 2
เฟสน้ำ	น้ำสะอาด	80	85
	Propylene glycol	0.7	0.5
	Glycerin	3	1.5
	Pro polymer	0.1	0.1
	November EC-2	3	2
	สารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน	5	5
เฟสน้ำมัน	Jojoba oil	3	2
	E-wax	0.5	1
	Stearic acid	0.5	0.7
	Lexfeel D-5	3	1
	Lanolin	1	1
	Fragrance	0.2	0.2

ภาพที่ 4.8 โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน



ภาพที่ 4.9 โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินภายหลังการทดสอบการคงสภาพ
1) เริ่มต้น 2) หลังการทดสอบ 2 ครั้ง 3) หลังการทดสอบ 4 ครั้ง

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากวัตถุประสงค์ของการวิจัย คือ เพื่อหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน เพื่อศึกษาการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส โดยสารสกัดที่ได้จากเปลือกกล้วยหิน และเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นผิวกระจ่างใสที่มีสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินเป็นส่วนผสม โดยสรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะดังนี้

5.1 ผลของการหาปริมาณโปรตีนของเปลือกกล้วยหินจากการสกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ

ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณโปรตีนที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ในอัตราส่วนการสกัดที่ 1: 2 (น้ำหนักสารตัวอย่าง : ปริมาตรของสารสกัด) ให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ไม่แตกต่างกันมาก คือ 45.744±7.937 และ 44.564±0.989 ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนที่สกัดแล้วนั้น พบว่า การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.0 ให้ค่าปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดในทุกๆอัตราส่วน และเมื่อนำ Extraction Buffer ต่างๆ มาเปรียบเทียบกัน พบว่า การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 สามารถให้ค่าปริมาณโปรตีนที่ดีที่สุดกว่า การสกัดด้วย Extraction buffer อื่นๆ

5.2 ผลการศึกษาความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 6.5 ที่อัตราส่วน 1:2 จะมีปริมาณของความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสสูงที่สุด คือเท่ากับ 1361.111±26.788 unit และสูงกว่าการที่สกัดด้วยน้ำกลั่น 0.2 M phosphate buffer pH 6.0 และ 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 คิดเป็น 2.46 4.30 และ 3.6 เท่า ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer pH 7.5 ที่อัตราส่วนของการสกัด 1:10 จะให้ปริมาณความว่องไวของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสต่ำที่สุด คือเท่ากับ 94.444±4.811unit

5.3 ผลการศึกษาการวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินด้วยสารสกัดที่แตกต่างกันนั้น พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วยน้ำกลั่น ที่อัตราส่วน 1:2 มีค่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าการสกัดด้วย 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ถึง 4.8 5.0 และ 3.6 เท่า ตามลำดับ

นำสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีต่างๆ มาดังกล่าว มาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสารสกัดด้วยวิธี DPPH assay โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm พบว่า เปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction Buffer ต่างๆ คือ น้ำกลั่น และ 0.2 M phosphate buffer ที่ pH ต่างๆ คือ pH 6.0 6.5 และ 7.5 ในอัตราส่วน 1:2 1:5 และ 1:10 (น้ำหนักตัวอย่าง : extraction buffer) ให้ค่าการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้ไม่เกิน 10% และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับการสกัดด้วย Ethanol พบว่า ค่าการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระให้ค่าสูงถึง 65.06±3.94% ในอัตราส่วนของการสกัดที่ 1:2 และจากนั้น จึงได้นำสารสกัดที่สกัดด้วย Ethanol มาแบ่งเป็น 5 ความเข้มข้น คือ 6.25 12.5 25 50 และ 100 µg/ml มาทดสอบการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ ที่เวลา 30 นาที แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรูปของ % Inhibition พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ทำให้ความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระได้มากขึ้นจนกระทั่งคงที่ในที่สุด จากนั้นจึงนำผลการศึกษาที่ได้มาคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งได้ 50% (IC_{50}) พบว่า ความเข้มข้นของสารที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ที่ 61.559 µg /ml

5.4 ผลการศึกษาการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

เมื่อนำสารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกกล้วยหินด้วย Extraction Buffer ที่แตกต่างกันนั้น พบว่า เมื่อทำการสกัดโดยการใช้น้ำกลั่นในอัตราส่วนของการสกัดคือ 1 : 2 (ตัวอย่างต่อสารสกัด) จะได้ปริมาณฟีนอลิกที่สูงกว่าวิธีการสกัดด้วยอัตราส่วนอื่นๆ ในขณะที่เมื่อทำการสกัดโดยใช้ 0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 ในอัตราส่วนของการสกัดคือ 1 : 2 (ตัวอย่างต่อสารสกัด) จะสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้สูงกว่าการสกัดด้วย 0.2 M phosphate Buffer pH 6.0 และ 0.2 M phosphate Buffer pH 7.0 เท่ากับ 40.67% และ 74.21% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถของ Extraction Buffer ที่เลือกใช้ จะพบว่า 0.2 M phosphate Buffer pH 6.5 จะ

ให้ผลของการสกัดเพื่อให้ได้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าการสกัดด้วย Extraction Buffer อื่นๆ ในทุกๆอัตราส่วน

5.5 ผลการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

จากการนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินมาทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสเมื่อเทียบกับสารมาตรฐานเชิงบวก (กรดโคจิก) โดยแสดงค่าการยับยั้งหรือ %inhibition ทดสอบด้วยวิธี Dopachrome method และใช้สารไทโรซีนเป็นสารตั้งต้น ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยหินที่สกัดด้วย Extraction buffer ต่างๆ มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ไม่แตกต่างกันในทุกๆ Extraction buffer โดยได้ผลการยับยั้งอยู่ที่ประมาณไม่เกินร้อยละ 20 ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวสกัด พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยหินมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 40

5.6 ผลการศึกษาการผลิตผลิตภัณฑ์โลชั่นผสมสารสกัดเปลือกกล้วยหิน

จากการศึกษาเพื่อให้ได้ตำรับของโลชั่นที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานโดย อ้างอิงจาก สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2553 (มผช.551/2553) ซึ่งได้ทำการตั้งตำรับโลชั่นด้วยกัน 2 สูตร จากนั้นได้นำโลชั้นที่ได้ (ตารางที่ 4.7) มาทดสอบเบื้องต้นโดยการนำผลิตภัณฑ์โลชั่นจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหิน มาทดสอบคุณลักษณะทั่วไปของโลชั่น พบว่า โลชั่นทั้ง 2 สูตรมีลักษณะเนื้อครีมขาวขุ่น ไม่จับตัวเป็นก้อนและไม่แยกชั้น ปราศจากสิ่งเจือปนจากสิ่งแปลกปลอมอื่น (ภาพที่ 4.7) และเมื่อนำมาวัดค่าความเป็นกรด-ด่างของโลชั่น ปรากฏว่า ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 7.0-7.5 เป็นไปตามมาตรฐาน จากนั้น นำมาทดสอบความคงสภาพของโลชั่น โดยการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 45 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำเช่นนี้จนครบ 4 ครั้ง นำมาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง พบว่า โลชั่นทั้ง 2 สูตรที่ได้ยังคงมีสภาพไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสภาพเดิมของผลิตภัณฑ์

5.9 ข้อเสนอแนะ

1. ในการสกัดสารต่างๆ จากเปลือกกล้วยหิน ควรใช้ไนโตรเจนเหลวร่วมในการสกัดเพื่อให้เซลล์แตกอย่างสมบูรณ์ ทำให้ได้ปริมาณโปรตีนและเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้น

2. ระยะเวลาในการทำวิจัยค่อนข้างสั้น และงบประมาณค่อนข้างน้อย จึงทำให้ยังขาดผลการวิจัยบางส่วนที่จะสนับสนุนการพัฒนาไปเป็นผลิตภัณฑ์จากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินได้

3. ในงานวิจัยต่อยอดจะนำสารสกัดและตำรับโลชั่นที่ได้ ไปทดสอบหาปริมาณสารปนเปื้อนต่างๆ และเข้าสู่กระบวนการทดสอบอาการแพ้ เพื่อพัฒนาเป็นตำรับโลชั่นที่นำออกสู่ท้องตลาดต่อไป

บรรณานุกรม

นิสาพร มูหะมัด สมภพ เภาทอง อุบล ตันสม และ ปิยศิริ สุนทรนนท์. (2560). การกำจัดสีย้อมโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพและการดูดซับจากเปลือกกล้วยหิน. รายงานวิจัย. มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

นุตติยา วีระวัธนชัย และ ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์. (2555). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งไทโรซิเนสของฟลาโวนอยด์จากกระดังงาจีน. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี* , 14(1), 23-29.

ประไพพิศ อินเสน. (2561). การยับยั้งกระบวนการสร้างเม็ดสีเมลานินจากพืชกลุ่มเบอร์รีไทย. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย*, 12(2), ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 69-82.

ปิยตา อารี และ วิชนี มีโต. (2557). การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดมะม่วงน้ำดอกไม้สุก (*Mangiferaindica Linn.*). ใน *การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ* ครั้งที่ 1 (The 1st RUSNC). พระนครศรีอยุธยา หันตรา.

~~ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย ทิพวรรณ ผาสกุล และราตรี มงคลไทย. (2554). เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมของเปลือกผลไม้. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 42(2) (พิเศษ), 385-388.~~

ปริญญา มูลสิน และ อมรรัตน์ วงษ์กลม. (2556). การศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากสาหร่ายเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. ทุนสนับสนุนการวิจัยจากคลินิกเทคโนโลยี กระทรวงวิทยาศาสตร์, ประจำปีงบประมาณ 2556

มูฮำหมัด นิยมเดชา และ ดวงพร โลหะวิทยานันท์.. (2559). การสังเคราะห์อนุพันธ์โอเซลทามิเวียร์เพื่อใช้ยับยั้งการทางานของเอนไซม์ไทโรซิเนส (ทำให้ผิวขาว). *Veridian E-Journal, Science and Technology Silpakorn University*, 3(5). 66-81

ระวิวรรณ แก้วอมตวงศ์ และ ทรงพร จึงมั่นคง. (2549). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี*, 8(2), 76-88.

รัตนา ม่วงรัตน์ พงศธร ถ้ำทอง และจรัสศรี หลวงพันธ์. (2559). การสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติ. *วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี)*, 8(15), 54-65.

วิภพ สุทธนะ. (2556). ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์: กลไกการออกฤทธิ์. *ศรีนครินทร์เวชสาร*, 28(4), 567-582.

สุวดี โพธิ์วิจิตร ปิยานี รัตนชานอง อุดมลักษณ์ มาตย์สถิตย์ และ วีระศักดิ์ อัศววงศ์อารยะ. (2019). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ของสารสกัดจากสมุนไพรไทยพื้นบ้านสะค้านและมะแขว่นในเขตท้องถิ่นภาคเหนือ. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi, 18(1),* 25-39.

~~ศุภิสรา จันทราอภิรักษ์ ธีรนุต ร่มโพธิ์ภักดิ์ จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์ และอาทร ถอยสรวงสิน. (2561). ปริมาณสารโดปามีนในกล้วยหอมทองที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 14 และ 25 องศาเซลเซียส. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา*, 3(2), 88-93.~~

Aboul-Enein, A. M., Salama, Z. A., Gaafar, A. A., Aly, H. F., Abou-Elella, F. and Ahmed, H.A. (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.

Asharuddin, S.M., Othman, N., Zin, N.S.M., Tajarudin, H.A., Din, M.F.M. and Kumar V. (2018). Performance assessment of cassava peel starch and alum as dual coagulant for turbidity removal in dam water. *International Journal of Integrated Engineering*, 10(4), 185-192.

Baillie, J. K. (2009). Oral antioxidant supplementation does not prevent acute mountain sickness: double blind, randomized placebo-controlled trial. *QJM: Monthly Journal of the Association of Physicians*, 102(5), 341–348.

Bakkalbasi E. Mentes O. Artik N. (2 0 0 9). Food ellagitannins-occurrence, effects of processing and storage. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 49(3), 283-298.

Bjelakovic G. Nikolova, D. Gluud, L.L. Simonetti, R.G. and Gluud, C. (2007). Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA*, 297(8), 842–857.

Chang, T. (2009). An update review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 2440-2475.

Choy, S.Y., Prasad, K.M.N., Wu, T.Y., Raghunandan, M.E. and Ramanan, R.N. (2016). Performance of conventional starches as natural coagulants for turbidity removal. *Ecological Engineering*, 94, 352-364.

David M. P. Patrícia V. José A. P. and Paula B. A. (2009). Phenolics: From Chemistry to Biology. *Molecules journal*, 14(6), 2202–2211.

Fantini M. Benvenuto M. Masuelli L. Frajese G.V. Tresoldi I. Modesti A. et al. (2015). In vitro and in vivo antitumoral effects of combinations of polyphenols, or polyphenols and anticancer drugs: perspectives on cancer treatment. *Int J Mol Sci*, 24;16(5), 9236-9282.

Gonda R, Takeda T, Akiyama T. (2000). Studies on the constituents of *Anaxagorea luzonensis* A. GRAY. *Chem Pharm Bull (Tokyo),* 48(8), 1219-1222.

Gulcin I. (2005). The antioxidant and radical scavenging activities of black pepper (*Piper nigrum*) seeds. *Int J Food Sci Nutr*, 56(7), 491-499.

Kakoi, B., Kaluli, J.W., Ndiba and P., Thiong'o, G. (2016). Banana pith as a natural coagulant for polluted river water. *Ecological Engineering*, 95, 699-705.

Kanazawa K. and Sakakibara H. (2000). High Content of Dopamine, a Strong Antioxidant, in Cavendish Banana. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3), 844-848.

Kaur G. Alam M.S. Jabbar Z. Javed K. and Athar M. (2006). Evaluation of antioxidant activity of *Cassia siamea flowers*. *Journal of Ethnopharmacol*. 108(3), 340-348.

Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*, 4(8), 118-126.

Mah S.H. Teh S.S. and Ee G.C. (2017). Anti inflammatory, anti-cholinergic and cytotoxic effects of Sida rhombifolia. *Pharm Biol.* 55(1), 920-928.

Muhamad, N., Chirapongsatonkul, N., Churngchow, N., (2012). Defense-related polyphenol oxidase from Hevea brasiliensis cell suspension: purification and characterization. *Applied Biochemistry and Biotechnology,* 167(1), 177-89.

Muthuraman G. and Sasikala, S. (2014). Removal of turbidity from drinking water using natural coagulants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 20, 1727-1731.

Narikawa, Shinoyama and Fujii. (2000). A α-rutinosidase from Penicillium ruglosum IFO 7242. *That is a Peculiar Flavonoid Glycosidase*, 64, 1317-1319.

Papas A.M. (1999). Diet and antioxidant status. *Food Chem Toxicol*. 37(9-10), 999-1007.

Salehi B, Zakaria ZA, Gyawali R, Ibrahim SA, Rajkovic J, Shinwari ZK, et al. (2019). Piper Species: A Comprehensive Review on Their Phytochemistry, Biological Activities and Applications. *Molecules*, 24(7), 1-118.

Sies H. (1997). Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, 82 (2), 291–295.

Sultana, B., Anwar, F., Ashraf, M. (2009). Effect of Extraction Solvent/Technique on the Antioxidant Activity of Selected Medicinal Plant Extracts. *Molecules*, 14(6), 2167- 2180.

Teh, C.Y., Wu, T.Y. and Juan J.C. (2014). Potential use of rice starch in coagulation–flocculation process of agro-industrial wastewater: Treatment performance and flocs characterization. *Ecological Engineering*, 71, 509-519.

Toda S. (2005). Antioxidative effects of polyphenols in leaves of *Houttuynia cordata* on protein fragmentation by copper-hydrogen peroxide in vitro. *Journal of Medical Food*, 8(2), 266-268.

Vertuani S., Angusti A., and Manfredini S. (2004). The antioxidants and pro-antioxidants network: an overview. *Current Pharmaceutical Design*, 10 (14), 1677–94.

Vinson, J. A., Su, X., Zubik, L., and Bose, P. (2001). Phenol Antioxidant Quantity and Quality in Foods: Fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(11), 5315-5321.

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

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย)	นางสาวนิสาพร มูหะมัด (หัวหน้าโครงการ)
ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)	Miss Nisaporn Muhamad
2. ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์
3. หน่วยงานและสังกัด	หลักสูตรวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางและความงาม สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
4. ที่อยู่	4 ถ.ผังเมือง 4 ซ.แสนสุข ต.สะเตง อ.เมือง จ. ยะลา 95000
5. โทรศัพท์	081-3883515
6. โทรสาร	073-299628/073-299629
7. อีเมล์	nisaporn.m@yru.ac.th

8. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วิทยาศาสตร์ทั่วไป (เคมี-ชีววิทยา)) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา
ปริญญาโท	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา
ปริญญาเอก	ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

9. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- ชีวเคมีทางด้านพืช
- เอนไซม์และโปรตีน
- การสกัดสารจากธรรมชาติ
- กระบวนการบำบัดน้ำเสียโดยวิธีชีวภาพ

10. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

10.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

10.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสในสารสกัดจากเปลือกกล้วยหินสำหรับการตั้งตำรับโลชั่นสูตรผิวกระจ่างใส

10.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

- การกำจัดสีย้อมโดยใช้กระบวนการทางชีวภาพและการดูดซับจากเปลือกกล้วยหิน (2560) งบแผ่นดิน มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

- การดูดซับสีย้อมโดยใช้กากชา (2559) งบบำรุงการศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏยะลา

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวอุบล ตันสม (ผู้ร่วมวิจัย1)

ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Ubol Tansom

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสังกัด หลักสูตรเคมี สาขาวิชาเคมี
คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร

4. ที่อยู่ 31/4 ถนนสันติสุข ต.สะเตง อ.เมือง จ.ยะลา

5. โทรศัพท์ 0815478922

6. โทรสาร 073-299628/073-299629

7. อีเมล์ ubol.t@yru.ac.th

8. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี การศึกษาบัณฑิต สาขาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ สงขลา

ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ (ชีวเคมี)
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จ.สงขลา

9. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- พลังงานทดแทนแก๊สชีวภาพ
- การสกัด น้ำมันหอมระเหย
- ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ

10. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

10.1 ผู้อำนวยการแผนงานวิจัย : ไม่มี

10.2 หัวหน้าโครงการวิจัย : ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดคำแสด

10.3 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

2553 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาหลา

2553 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในเห็ดนางฟ้า เห็ดนางรมและเห็ดฟาง

2554 การวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในดอกดาหลา

2555 ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกมังคุดต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์

2557 ฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเมล็ดคำแสด

ประวัติผู้วิจัย

1. ชื่อ นามสกุล (ภาษาไทย)	นางสาวปิยศิริ สุนทรนนท์ สินไชย (ผู้ร่วมวิจัย 2)
ชื่อ นามสกุล (ภาษาอังกฤษ)	Ms Piyasiri Soontornnon Sinchai
2. ตำแหน่งปัจจุบัน	อาจารย์
3. หน่วยงานและสังกัด	หลักสูตรวิทยาศาสตร์ทั่วไป สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและการเกษตร
4. ที่อยู่	31/4 ถนนสันติสุข ต.สะเตง อ.เมือง จ.ยะลา
5. โทรศัพท์	084-0654076
6. โทรสาร	073-299628/073-299629
7. อีเมล์	babysoontornnon@gmail.com

8. ประวัติการศึกษา

ปริญญาตรี	ปริญญาตรี (วท.บ.เคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จ.สงขลา
ปริญญาโท	ปริญญาโท (วท.ม. ชีวเคมี) มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จ.สงขลา

9. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

- การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

10. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ

2551 สารต้านอนุมูลอิสระในดอกดาหลา

2553 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากดอกดาหลา

2554 การวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบฟีนอลิกในดอกดาหลา

2555 การวิเคราะห์ชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระจากผลพิลังกาสา

2556 การผลิตถ่านเชื้อเพลิงอัดแท่งจากเศษผักผลไม้