



ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่าง ๆ ของกล้วยหอมทอง และปัจจัยการสกัดที่เกี่ยวข้อง

จรรย์ เจริญธีรบูรณ์^{1,*}, ธนะเศรษฐ์ จ้าวหิรัญพัฒน์², อมรรัตน์ ไชยเดชกำจร³, พนิดา อัสวพิชยนต์²,
จงจันทน์ มหาดเล็ก⁴, ศรัณย์ ตันตะราวงศา⁴

¹ ภาควิชาชีวเภสัชศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

² ภาควิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

³ ภาควิชาเภสัชเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

⁴ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ นครปฐม

* ติดต่อผู้พิมพ์: charoenteeraboo_j@su.ac.th

บทคัดย่อ

กล้วยหอมทองเป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคส่วนผล และส่วนอื่น ๆ สามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยาได้ ประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากการสกัดส่วนต่าง ๆ ของกล้วยหอมทอง โดยหาสภาวะการสกัดและส่วนของกล้วยที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS ส่วนต่าง ๆ ของกล้วยหอมทองที่นำมาศึกษาได้แก่ ใบกล้วย ก้านใบ ต้นกล้วย ก้านเครือ เปลือกกล้วยสุก และเปลือกกล้วยดิบ จากการศึกษาเบื้องต้น ส่วนของกล้วยที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดคือ ใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบ จึงนำไปศึกษาเปรียบเทียบสภาวะการสกัดต่าง ๆ ต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าสภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดคือการสกัดด้วยเอทานอล 70% ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง สารสกัดเปลือกกล้วยดิบให้ปริมาณฟีนอลิกรวม 55.94 mgGAE/g และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 59.58, 138.63 และ 276.60 mgAE/g เมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดจากใบกล้วย จึงสรุปได้ว่าสารสกัดเปลือกกล้วยดิบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและเหมาะสมที่จะนำไปพัฒนาต่อไป

คำสำคัญ: กล้วยหอมทอง, ปริมาณฟีนอลิกรวม, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, FRAP, DPPH, ABTS

รับต้นฉบับ: 6 ธันวาคม 2561; แก้ไข: 19 มีนาคม 2562; ตอรับตีพิมพ์: 20 มีนาคม 2562

TOTAL PHENOLIC CONTENT AND ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF DIFFERENT PARTS OF HOM THONG BANANA EXTRACT AND EXTRACTION RELATED FACTORS

Juree Charoenteeraboon^{1,*}, Tanasait Ngawhirunpat², Amornrat Chaiedgumjorn³,
Panida Asavapichayont², Jongjan Mahadlek⁴, Sarun Tuntarawongsa⁴

¹ Department of Biopharmacy, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakhon Pathom

² Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakhon Pathom

³ Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakhon Pathom

⁴ Faculty of Pharmacy, Silpakorn University, Sanamchandra Palace Campus, Nakhon Pathom

* Corresponding author: charoenteeraboo.j@su.ac.th

ABSTRACT

Hom Thong Banana is a popular edible fruit with all of its parts having medicinal applications. It contains a variety of biologically active phenolic compounds and flavonoids which exhibit excellent antioxidant and antimicrobial activities. The objective of this study was to determine total phenolic content (TPC) and antioxidant activities from different parts of Hom Thong Banana by various extraction conditions. The antioxidant activities were determined by FRAP, DPPH and ABTS methods. Parts of banana used in this study were leaves, leaf stems (petioles), pseudostems, stalks, ripe and unripe peels. In the initial study process, it was found that the parts that contained the highest TPC were the leaves and the unripe peels. These 2 parts were then used in the comparison of the extraction conditions. The optimal extraction condition that gave the highest total phenolic content and antioxidant capacity by FRAP, DPPH and ABTS tests was using 70% ethanol as an extracting solvent at 55°C for 4 hours. The unripe banana peels extract had a TPC of 55.94 mgGAE/g and an antioxidant capacity of 59.58, 138.63 and 276.60 mgAE/g from FRAP, DPPH and ABTS tests, respectively, which was higher than those values from the banana leaves extract. The unripe banana peels demonstrated superior antioxidant activities, which would be worth selecting for further development.

Keywords: Hom Thong Banana, total phenolic content, FRAP, DPPH, ABTS

Received: 6 December 2018; Revised: 19 March 2019; Accepted: 20 March 2019

บทนำ

กล้วยเป็นพืชที่มีหลากหลายสายพันธุ์ โดยแบ่งตามลักษณะทางพันธุกรรมจากบรรพบุรุษ 2 ชนิด คือ กล้วยป่าและกล้วยตานี สถาบันวิจัยปากช่อง จังหวัดนครราชสีมาได้จำแนกและรวบรวมสายพันธุ์กล้วยที่พบในประเทศไทยมีจำนวน 323 สายพันธุ์และจำแนกชนิดได้ถึง 72 พันธุ์ หากจำแนกตามสารพันธุกรรมจะมี 8 กลุ่ม คือ กลุ่ม AA, AAA, BB, BBB, AAB, ABB, ABBA และ AABA¹ จากการทบทวนวรรณกรรมของคณะผู้ศึกษาวิจัยอื่น ๆ เกี่ยวกับกล้วยในหลากหลายสายพันธุ์ พบว่าส่วนต่าง ๆ ของกล้วยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ทางยาได้ ดอกกล้วยสามารถใช้รักษาโรคหลอดลมอักเสบ ยางกล้วยมีฤทธิ์ผดผาม รากและเมล็ดกล้วยใช้รักษาโรกระบบทางเดินอาหารผลและเปลือกกล้วยมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์และอุดมไปด้วยสารสื่อประสาทพวก norepinephrine, serotonin และ dopamine โดยในส่วนของผลกล้วยที่นิยมรับประทานนั้นอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโพแทสเซียม วิตามิน A, B₆, C และ D² และพบว่าในเปลือกกล้วยอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่ม ฟีนอลิกเป็นแหล่งที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ³

ในปัจจุบันมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ เช่น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความน่าสนใจอย่างมากในการศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรหรือพืชพรรณต่าง ๆ โดยหนึ่งในสารต้านอนุมูลอิสระที่พบว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ คือ สารในกลุ่มฟีนอลิก ซึ่งมีรายงานว่าส่งผลต่อดีต่อภาวะโรคต่าง ๆ ในแง่ของการป้องกันและลดการดำเนินไปของโรค เช่น โรคหัวใจและหลอดเลือด มะเร็งกระดูกพรุน โรคที่เกี่ยวข้องกับเสื่อมสลายของระบบประสาทและสมอง ตลอดจนโรคเบาหวาน^{4,5} นอกจากนี้ยังส่งผลดีต่อผิว ช่วยชะลอการเสื่อมของเซลล์ผิว ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้อีกด้วย⁶ จากการศึกษาในกล้วยสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่พบมากคือสารในกลุ่มฟีนอลิก³ การศึกษาเปลือก

กล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวม (Total phenolic content : TPC) เท่ากับ 0.91 - 6.85 mgGAE/g (มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง) ของน้ำหนักผงเปลือกกล้วยแห้ง ผลกล้วยมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 0.75 - 3.73 mgGAE/g ของน้ำหนักผลกล้วยแห้ง⁷ การศึกษาในกล้วย 2 สายพันธุ์ คือ *Musa acuminata* และ *Musa paradisiaca* พบว่าเปลือกกล้วยมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 892 - 2,298 mgQE/g (มิลลิกรัมเทียบเท่าควอซิทินต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง) ของน้ำหนักผงเปลือกกล้วยแห้ง เนื้อกล้วยมีปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 744 - 1,190 mgQE/g ของน้ำหนักเนื้อกล้วยแห้ง⁸ โดยปริมาณฟีนอลิกรวมจะพบในกล้วยดิบ (เปลือกกล้วยมีสีเขียวทั้งใบ) มากกว่ากล้วยสุก (เปลือกกล้วยมีสีเหลืองทั้งใบแต่ยังไม่พบจุดสีน้ำตาล) และพบในเปลือกมากกว่าในเนื้อกล้วย^{7,8} อย่างไรก็ตาม มีรายงานการศึกษาในกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* ว่าเมื่อกล้วยสุกมากจนเกินไป จนเปลือกแสดง จุดสีน้ำตาลจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับผลสุก⁹ และเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca* จะมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสายพันธุ์ *Musa acuminata* อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่ากล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca* ให้ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 12.00 - 70.92 ในขณะที่สายพันธุ์ *Musa acuminata* ให้ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50.68 - 85.78⁸ ในส่วนของใบกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata*, *Musa paradisiaca* และ *Musa sapientum* พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 3.72 - 5.55 mgGAE/g โดยการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี phosphomolybdenum พบว่าสารสกัดจากใบกล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca* ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด รองลงมาคือ *Musa acuminata* และ *Musa sapientum* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากใบกล้วยทั้งสามสายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (*Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus*) โดย

สายพันธุ์ *Musa paradisiaca* แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีที่สุด¹⁰ นอกจากนี้ยังมีการศึกษากล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca* เพื่อศึกษาหาปริมาณ ฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP โดยทำการศึกษาในส่วนของผลดิบ ปลี และต้นพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในช่วง 33.63 - 537.93 mgTAE/g (มิลลิกรัมเทียบเท่าโพลีฟีนอลต่อกรัมของน้ำหนักสารสกัดแห้ง) โดยผลดิบจะมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมาคือ ปลีและต้น ตามลำดับ ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH อยู่ในช่วง 5,200.67 - 8,929.65 mgTAE/g เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS อยู่ในช่วง 3,488.13 - 34,297.85 mgTAE/g และเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 13,105.40 - 14,138.0 mmole Fe (II)/g¹¹ นอกจากนี้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแล้วยังมีรายงานฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เช่น ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดในหนูทดลองของสารสกัดต้นกล้วยสายพันธุ์ *Musa sapientum*¹² สารสกัดจากเปลือกดิบของกล้วยสายพันธุ์ *Musa sapientum*, *Musa paradisiaca*, *Musa cavendish* และ *Musa acuminata*¹³⁻¹⁵ และสารสกัดจากใบของกล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca*^{16,17} ฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดในหนูทดลองของสารสกัดต้นกล้วยสายพันธุ์ *Musa sapientum*^{12,18} และสารสกัดรากกล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca*¹⁹ ฤทธิ์ลดเลือนริ้วรอย (Anti-wrinkle) ชลอวัย (Anti-aging) และช่วยให้ผิวกระจ่างใส (Whitening) ของสารสกัดใบกล้วยสายพันธุ์ *Musa sapientum*²⁰⁻²²

กล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อยู่ในกลุ่ม AAA ตัวอย่างกล้วยในกลุ่มนี้คือ กล้วยนาถ กล้วยครั่ง กล้วยหอมทอง กล้วยหอมเขียว กล้วยหอมแมว กล้วยไข่ พระตะบอง กล้วยคลองจิ่ง เป็นต้น ซึ่งมีรายงานว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งในส่วนของเปลือกดิบ เปลือกสุก ผลดิบ ผลสุกและใบ⁷⁻¹⁰ โดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกล้วยสาย

พันธุ์ *Musa acuminata* คือ ตัวทำละลาย ระยะเวลาในการสกัด และอุณหภูมิที่ใช้²³ กล้วยหอมทอง (Gros Michel หรือ Hom Thong Banana) จัดเป็นกล้วยชนิดหนึ่งในสายพันธุ์ *Musa acuminata* กลุ่ม AAA ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 33¹ พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ใช้ผลสุกในการรับประทานสด เมื่อสุกจะให้เปลือกเป็นสีเหลืองทองและเนื้อมีสีเหลืองเข้ม มีกลิ่นหอมรสหวาน ในปัจจุบันกล้วยหอมทองนับเป็นหนึ่งในพืชเศรษฐกิจของไทยที่ได้รับความนิยมอย่างมากทั้งในและต่างประเทศ จึงนับเป็นกล้วยอีกหนึ่งสายพันธุ์ที่มีความน่าสนใจในการศึกษาเพื่อพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงต่อไปในอนาคต การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากการสกัดส่วนต่าง ๆ ของกล้วย โดยหา สภาวะการสกัด และส่วนของกล้วยที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS

วิธีการศึกษา

สารเคมีที่ใช้ในการศึกษา

กรดแกลลิก (Gallic acid) (Purity > 98%), โพลินซีโอเคาฟูรีเอเจนต์ (Folin Ciocalteu's reagent), 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) สั่งซื้อจาก Sisco Research Laboratory อินเดีย กรดแอสคอร์บิก (L-ascorbic acid), 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) สั่งซื้อจาก Sigma สหรัฐอเมริกา โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate), เฟอริกคลอไรด์ (Ferric chloride : FeCl₃), โพแทสเซียมเปอร์ออกไซด์ไดซัลเฟต (Potassium peroxodisulfate : K₂S₂O₈), เอทานอล (Ethanol), แอนไฮไดรัสโซเดียมอะซิเตต (Anhydrous sodium acetate) และ กรดอะซิติก (Acetic Acid) สั่งซื้อจาก PC drug ประเทศไทย

การเตรียมตัวอย่างกล้วย

ส่วนต่าง ๆ ของกล้วยหอมทองที่ใช้ในการศึกษา ประกอบด้วย ใบกล้วย ก้านใบ ต้นกล้วย เปลือกกล้วยสุก เปลือกกล้วยดิบ และก้านเครือ ได้รับความอนุเคราะห์จากสหกรณ์การเกษตรบ้านลาด จำกัด จังหวัดเพชรบุรี โดยทำความสะอาดตัวอย่างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งลมให้แห้ง และหั่นตัวอย่างให้มีขนาดเล็กลงเพื่อให้แห้งเร็วขึ้น จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน ในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) และติดตามน้ำหนักของตัวอย่าง จนน้ำหนักคงที่ นำตัวอย่างแห้งที่ได้ไปลดขนาดอีกครั้งด้วยเครื่องปั่นแห้งจนได้เป็นผงละเอียด เก็บตัวอย่างในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง จนถึงเวลาสกัด โดยเก็บไว้ไม่เกิน 2 สัปดาห์

การศึกษาขั้นต้นเพื่อคัดเลือกส่วนของกล้วยสำหรับทำการศึกษา

ซึ่งผงแห้งจากชิ้นส่วนต่างๆ ของกล้วยประมาณ 10 g ลงในขวดแก้วปิดสนิทขนาด 500 mL เติมน้ำปริมาตร 200 mL นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชม. จากนั้นกรองสารละลายที่ได้ด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ทำแห้งสารสกัดด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Lyophilization) และนำมาตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ โดยนำสารสกัดแห้งมาละลายด้วยน้ำ 25 mL และเติม 95% เอทานอล 75 mL นำสารละลายไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 ชม. เมื่อครบเวลา นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนใสมาระเหยแห้งโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศแล้วระเหยแห้งบนจานระเหย ในตู้ดูดควันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ ทำการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกและเลือกส่วนของกล้วยที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดสองลำดับแรกไปใช้ในการศึกษาหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่าง ๆ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกกับ

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในวิธีทดสอบที่แตกต่างกัน และการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดตัวอย่างต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อไป

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

วิธีวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวมดัดแปลงจากการศึกษาของ Katsampa²⁴ โดยซึ่งสารสกัดแห้งอย่างละเอียด 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยน้ำจนได้สารละลายตัวอย่างความเข้มข้นประมาณ 1000 µg/mL ปิเปต 50% Folin Ciocalteu's reagent 50 µL ลงในสารละลายตัวอย่างปริมาตร 100 µL ทิ้งไว้ 5 นาที เติม 20% sodium carbonate 250 µL ทิ้งไว้ 45 นาทีในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 nm คำนวณเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกช่วงความเข้มข้น 10 - 100 µg/mL แล้วรายงานเป็นค่า mgGAE/g (มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง) โดยคำนวณจาก

$$\text{mgGAE/g} = C \times V \times \text{DF} / m$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นกรดแกลลิกที่ได้รับจากการแทนที่ใน

สมการสารละลายมาตรฐาน (mgGAE/mL)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างก่อนเจือจาง (mL)

DF = Dilution factor

m = น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)

การสกัดตัวอย่าง

ซึ่งผงแห้งจากชิ้นส่วนต่าง ๆ ของกล้วยประมาณ 10 g ลงในขวดแก้วปิดสนิทขนาด 500 mL เติมน้ำทำละลาย (น้ำหรือ 70% เอทานอล) ปริมาตร 200 mL นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (30 หรือ 55 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 ชม. กรองสารสกัดละลายที่ได้ด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองซ้ำด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 นำสารสกัดที่ได้ไปทำแห้งและตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ต่อไป

การทำแห้งสารสกัดและการตกตะกอน พอลิแซ็กคาไรด์

ตัวอย่างที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย สำหรับตัวอย่างที่ไม่ตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ทำแห้งสารสกัดด้วยเทคนิคการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จนน้ำหนักคงที่ สำหรับตัวอย่างที่ตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์เตรียมตัวอย่างด้วยวิธีเดียวกับการศึกษาขั้นต้นเพื่อคัดเลือกส่วนของกล้วยสำหรับทำการศึกษา

ตัวอย่างที่ใช้ 70% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 12 ชม. เมื่อครบเวลา นำสารละลายไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที นำส่วนใสมาระเหยแห้งโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศ แล้วระเหยแห้งบนจานระเหย ในตู้ดูดควันที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และเก็บตัวอย่างในภาชนะปิดสนิท ในช่องแช่แข็ง (อุณหภูมิประมาณ -18 °C ถึง -20 °C) จนถึงเวลาวิเคราะห์ โดยเก็บไว้ไม่เกิน 1 สัปดาห์

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP

ปรับปรุงวิธีการจากการศึกษาของ Rebaya²⁵ เตรียม FRAP reagent โดยการผสม 20 mM เฟอริกคลอไรด์ 2 mL 10 mM TPTZ 2 mL 300 mM อะซิเตตบัฟเฟอร์ พีเอช 3.6 (Acetate buffer pH 3.6) 20 mL และน้ำบริสุทธิ์ 2.2 mL อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสอย่างน้อย 1 ชม. ก่อนนำมาใช้ เตรียมตัวอย่างโดยชั่งสารสกัดแห้งอย่างละเย็ด 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยน้ำจนได้ความเข้มข้นสารละลายตัวอย่างประมาณ 1000 µg/mL ปิเปต 50 µL ของสารละลายตัวอย่างลง 96-wells plate เติม FRAP reagent ปริมาตร 150 µL ผสมและทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm คำนวณเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ช่วงความเข้มข้น 5 - 100 µg/mL แล้วรายงานเป็นค่า mgAE/g

(มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง)

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ทำการวิเคราะห์โดยการปรับปรุงวิธีการจากการศึกษาของ Chuenchom²⁶ ชั่งสารสกัดแห้งอย่างละเย็ด 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยเมทานอลจนได้ความเข้มข้นสารละลายตัวอย่างประมาณ 1000 µg/mL ผสมสารละลายตัวอย่างที่ได้ 100 µL กับสารละลาย 0.2 mM DPPH 100 µL ใน 96-wells plate ทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm คำนวณเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ช่วงความเข้มข้น 1 - 20 µg/mL แล้วรายงานเป็นค่า mgAE/g

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS

วิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ปรับปรุงจากการศึกษาของ Chuenchom²⁶ เตรียมตัวอย่างโดยชั่งสารสกัดแห้งอย่างละเย็ด 20 mg ละลายในเมทานอล 1 mL เจือจางสารละลายที่ได้ด้วยเมทานอล จนได้ความเข้มข้นสารละลายตัวอย่างประมาณ 100 µg/mL เตรียมสารละลาย ABTS⁺ โดยการผสม 7 mM ABTS 1 mL กับ 2.4 mM K₂S₂O₈ 1 mL ทิ้งไว้ 14 ชม. แล้วเจือจางด้วยเมทานอลจนได้ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm เท่ากับ 0.8 ± 0.02 AU ผสมสารละลายตัวอย่าง 50 µL กับสารละลาย ABTS⁺ 100 µL ใน 96-wells plate ทิ้งไว้ในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm คำนวณเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ช่วงความเข้มข้น 1 - 10 µg/mL แล้วรายงานเป็นค่า mgAE/g

การคำนวณมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแอสคอร์บิกต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดแห้ง (mgAE/g)

มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแอสคอร์บิกต่อกรัม น้ำหนักสารสกัดแห้งสามารถคำนวณได้จาก

$$\text{mgAE/g} = C \times V \times \text{DF} \times 1000 / m$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นกรดแอล-แอสคอร์บิกที่ได้รับจาก

การแทนที่ในสมการสารละลายมาตรฐาน

($\mu\text{gAE/mL}$)

V = ปริมาตรสารละลายตัวอย่างก่อนเจือจาง (mL)

DF = Dilution factor

m = น้ำหนักสารสกัดแห้ง (g)

การศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดตัวอย่างต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การสกัดตัวอย่างในการศึกษานี้มีปัจจัยในการศึกษา คือ ส่วนของกล้วย ตัวทำละลายที่ใช้ (น้ำหรือ 70% เอทานอล) อุณหภูมิในการสกัด (30 หรือ 55 องศาเซลเซียส) และการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ (การศึกษาผลของการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ทำการศึกษาในตัวอย่างที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเท่านั้น) ทำการศึกษาผลของปัจจัยต่าง ๆ ต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในวิธีทดสอบที่แตกต่างกัน

ทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน (FRAP, DPPH และ ABTS) โดยใช้ข้อมูลจากสารสกัดเปลือกดิบและใบในการคำนวณค่า Pearson's correlation

สถิติที่ใช้ในการศึกษา

สถิติพรรณนาได้แก่ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) การเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมในขั้นการคัดเลือกส่วนของกล้วยใช้การทดสอบ ANOVA ร่วมกับการทดสอบความแตกต่างรายคู่ด้วย Turkey's HSD test ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายสกัด อุณหภูมิที่ใช้สกัด การตกตะกอน พอลิแซ็กคาไรด์ และเปรียบเทียบปริมาณระหว่างสารสกัดใช้

การทดสอบ Paired T-test ค่าทางสถิติที่ใช้ทั้งหมด รายงานที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

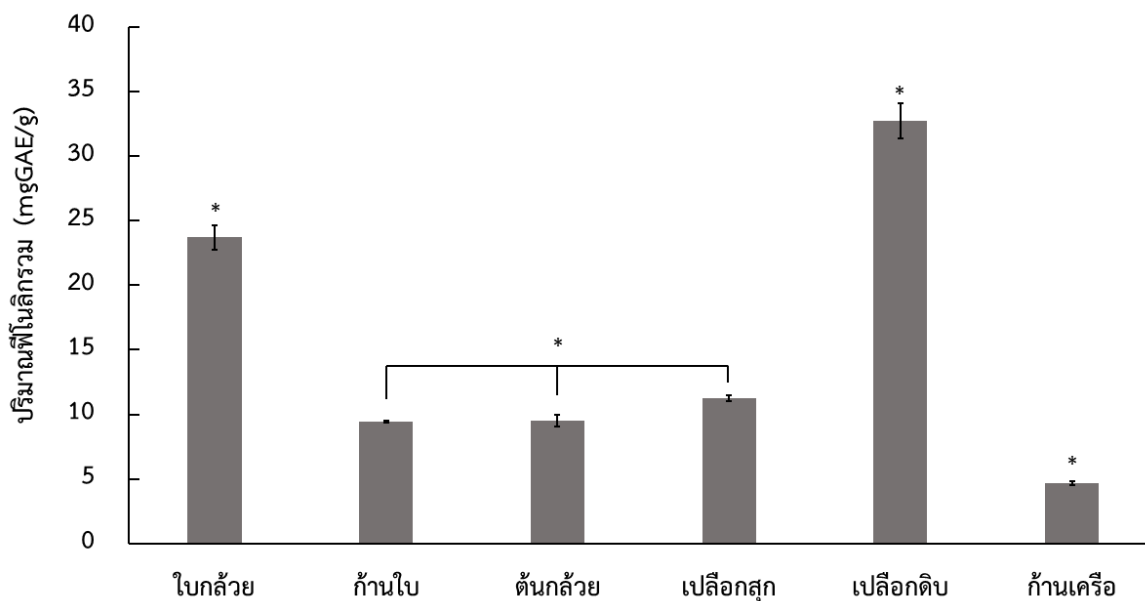
ผลการศึกษา

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

การศึกษานี้ทางคณะผู้วิจัยได้รับความอนุเคราะห์ตัวอย่างกล้วยหอมทองจากสหกรณ์การเกษตรบ้านลาด จำกัด จังหวัดเพชรบุรี โดยใช้ตัวอย่างที่ได้มาในครั้งเดียวกันสำหรับการสกัด และทำการสกัดเพียงครั้งเดียวสำหรับการศึกษาในครั้งนี้ เพื่อลดความแปรปรวนของผลการศึกษาที่ได้ โดยส่วนของกล้วยที่นำมาใช้ในการศึกษาประกอบด้วย ใบกล้วย ก้านใบ ต้นกล้วย เปลือกกล้วยสุก เปลือกกล้วยดิบ และก้านเครือ ผลการศึกษาพบว่า ส่วนที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด คือ เปลือกกล้วยดิบ (32.76 mgGAE/g) รองลงมา คือใบกล้วย (23.71 mgGAE/g) และก้านเครือมีปริมาณฟีนอลิกรวมต่ำที่สุด (4.67 mgGAE/g) ($p < 0.05$) สำหรับสารสกัดจากก้านใบ ต้นกล้วย และเปลือกกล้วยสุก มีปริมาณฟีนอลิกรวมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยมีปริมาณ ฟีนอลิกรวมอยู่ในช่วง 9.42 - 11.27 mgGAE/g (รูปที่ 1) ดังนั้นเฉพาะส่วนของใบกล้วย และเปลือกกล้วยดิบถูกนำไปศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากวิธีวิเคราะห์ต่าง ๆ ตลอดจนการศึกษาผลของปัจจัยในการสกัดตัวอย่างต่อไป

การศึกษาตัวทำละลายสกัด

ใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบ ถูกสกัดเปรียบเทียบกับระหว่างตัวทำละลายสองชนิด ได้แก่ น้ำ และ 70% เอทานอล ที่สองสถานะได้แก่ อุณหภูมิ 30 และ 55 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดจากใบกล้วย และเปลือกกล้วยดิบที่สกัดด้วย 70% เอทานอลมีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP สูงกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญทั้งสองอุณหภูมิ ดังแสดงในตารางที่ 1 ยกเว้นสาร



รูปที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในส่วนต่าง ๆ ของกล้วย (* $p < 0.05$) ($n = 3$)

สกัดจากเปลือกกล้วยดิบที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS สูงกว่าสารสกัดที่ได้จาก 70% เอทานอล (ตารางที่ 1)

การศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

สารสกัดใบกล้วยที่สกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ FRAP น้อยกว่าสารสกัดที่สกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นวิธี ABTS ที่แสดงฤทธิ์น้อยกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญ ซึ่งตรงข้ามกับการสกัดด้วย 70% เอทานอล โดยที่การสกัดด้วยอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS มากกว่าการสกัดด้วยอุณหภูมิต่ำ (p -value เท่ากับ 0.052, 0.335 และ 0.010 ตามลำดับ) ยกเว้นวิธี DPPH ที่การสกัดด้วยอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่า ส่วนผลการวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP นั้นให้ผลไม่แตกต่างกันเมื่อใช้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน (ตารางที่ 1)

สารสกัดเปลือกกล้วยดิบ พบว่าเมื่อสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิสูง จะได้สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP, ABTS และ DPPH ต่ำกว่าการสกัดด้วยน้ำที่อุณหภูมิต่ำ (p -value เท่ากับ 0.034, 0.000, 0.089 และ 0.011 ตามลำดับ) ในขณะที่การสกัดด้วย 70% เอทานอลที่อุณหภูมิสูง จะได้สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบทั้งสามวิธีสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิต่ำ ยกเว้นวิธี DPPH ที่สูงกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

การศึกษาผลการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์

สารสกัดใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบให้ผลเหมือนกัน กล่าวคือเมื่อตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ จะทำให้ได้สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงกว่าสารสกัดที่ไม่ตกตะกอน ยกเว้นปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดเปลือกกล้วยดิบที่สูงกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลการวิเคราะห์ด้วยวิธีทดสอบ DPPH พบว่าสารสกัดหลังตกตะกอน

พอลิแซ็กคาไรด์ของใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การทดสอบ ABTS พบว่าหลังตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์สารสกัดจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าก่อนตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ (ตารางที่ 1)

เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดจากใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบ

เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยสกัดในสภาวะที่ให้ปริมาณสูงสุดคือ 70% เอทานอล และที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส พบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยดิบ ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 55.94 mgGAE/g และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS เท่ากับ 59.58, 138.63 และ 276.60 mgAE/g ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดใบกล้วย ที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมเท่ากับ 45.66

mgGAE/g และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการทดสอบด้วยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS เท่ากับ 42.86, 69.01 และ 250.15 mgAE/g ตามลำดับ แต่เฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากวิธี ABTS ให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในวิธีทดสอบที่แตกต่างกัน

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในวิธีทดสอบที่แตกต่างกันแสดงโดยค่า Pearson's correlation (ตารางที่ 2) พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งสามวิธี โดยมีความสัมพันธ์กับวิธี FRAP มากที่สุด รองลงมา คือ DPPH และ ABTS นอกจากนี้วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ยังแสดงความสัมพันธ์เชิงบวกกับวิธี FRAP ในขณะที่วิธีทดสอบ ABTS ไม่พบความสัมพันธ์กับวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP

ตารางที่ 1 ปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในสารสกัดใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบภายใต้สภาวะการสกัดต่าง ๆ (mean $\pm$ SD) (n = 3)

ส่วนของกล้วย	ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (°C)	การตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์	TPC (mgGAE/g)	FRAP (mgAE/g)	DPPH (mgAE/g)	ABTS (mgAE/g)
ใบ	น้ำ	30	ตกตะกอน	23.71 $\pm$ 0.94 ^{a,f,v}	18.10 $\pm$ 0.03 ^{b,h,w}	19.85 $\pm$ 0.20 ^{j,x}	64.91 $\pm$ 1.48 ^{d,l}
			ไม่ตกตะกอน	14.92 $\pm$ 0.81 ^a	13.91 $\pm$ 0.15 ^b	21.19 $\pm$ 0.03	92.41 $\pm$ 0.00 ^d
		55	ตกตะกอน	16.09 $\pm$ 0.52 ^{g,v}	14.63 $\pm$ 0.25 ^{i,w}	16.23 $\pm$ 0.00 ^{k,x}	56.77 $\pm$ 1.09 ^m
			ไม่ตกตะกอน	39.35 $\pm$ 1.34 ^f	42.48 $\pm$ 0.42 ^h	85.09 $\pm$ 0.28 ^{j,y}	53.37 $\pm$ 1.10 ^{l,z}
เปลือกดิบ	70% เอทานอล	30	ตกตะกอน	45.66 $\pm$ 1.61 ^{g,gg}	42.86 $\pm$ 0.39 ^{i,hh}	69.01 $\pm$ 0.50 ^{k,y,ii}	250.15 $\pm$ 3.46 ^{m,z}
			ไม่ตกตะกอน	32.03 $\pm$ 0.75 ^{n,aa}	43.84 $\pm$ 0.08 ^{c,p,cc}	67.00 $\pm$ 0.82 ^{r,ee}	118.17 $\pm$ 4.67 ^{e,t}
	น้ำ	30	ตกตะกอน	25.86 $\pm$ 0.00	42.34 $\pm$ 0.38 ^c	68.55 $\pm$ 0.33	140.15 $\pm$ 4.83 ^e
			ไม่ตกตะกอน	20.47 $\pm$ 0.14 ^{o,aa}	29.14 $\pm$ 0.09 ^{q,cc}	51.64 $\pm$ 0.44 ^{s,ee}	99.78 $\pm$ 1.01 ^u
		55	ตกตะกอน	43.40 $\pm$ 0.17 ^{n,bb}	59.03 $\pm$ 0.35 ^{p,dd}	136.21 $\pm$ 1.22 ^r	75.97 $\pm$ 1.11 ^{t,ff}
			ไม่ตกตะกอน	55.94 $\pm$ 1.19 ^{o,bb,gg}	59.58 $\pm$ 0.53 ^{q,dd,hh}	138.63 $\pm$ 1.15 ^{s,ii}	276.60 $\pm$ 2.37 ^{u,ff}

หมายเหตุ ตัวเลขที่ยกกำลังด้วยตัวอักษรเดียวกันหมายความว่าต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยทดสอบ paired t-test

ตารางที่ 2 ค่า Pearson's correlation แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากวิธีทดสอบที่แตกต่างกันในตัวอย่างสารสกัดเปลือกดิบและใบ

	TPC	FRAP	ABTS
FRAP	0.888*		
ABTS	0.667**	0.524 ^{ns}	
DPPH	0.878*	0.965*	0.467 ^{ns}

หมายเหตุ * $p < 0.01$, ** $p < 0.05$, ns=non-significant

อภิปรายผลการศึกษา

ในขั้นตอนการศึกษาเบื้องต้นได้คัดเลือกส่วนของกล้วยที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด เนื่องจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะสอดคล้องกับปริมาณ ฟีนอลิกรวมอย่างมีนัยสำคัญ²⁷ โดยพบว่าสารสกัดกล้วยหอมทองที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุดสองอันดับแรกคือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยดิบและใบกล้วย สอดคล้องกับผลการศึกษาในผลกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ ซึ่งเป็นกล้วยในสายพันธุ์เดียวกับกล้วยหอมทอง ซึ่งให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกรวมพบในเปลือกมากกว่าในเนื้อกล้วย และพบในกล้วยดิบมากกว่าในกล้วยสุก โดยพบปริมาณฟีนอลิกรวมในเปลือกดิบที่ 1.60 - 6.86 mgGAE/g ในเปลือกสุก 0.92 - 5.85 mgGAE/g ในเนื้อกล้วยดิบ 0.91 - 3.74 mgGAE/g และในเนื้อกล้วยสุก 0.75 - 2.30 mgGAE/g^{7,8} อย่างไรก็ตามยังไม่พบรายงานการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกรวมในส่วนอื่น ๆ ของกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* แต่มีรายงานการศึกษาปริมาณฟีนอลิกรวมในใบของกล้วยสายพันธุ์ดังกล่าว โดยให้ปริมาณฟีนอลิกรวมที่ 3.72 - 5.55 mgGAE/g ซึ่งให้ปริมาณฟีนอลิกรวมใกล้เคียงกับส่วนของเปลือกดิบที่มีรายงานจากการศึกษาอื่น¹¹ ดังนั้นเฉพาะเปลือกกล้วยดิบและใบกล้วยจะถูกนำมาศึกษาผลของสภาวะการสกัดต่าง ๆ ต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดโดยวิธี FRAP, DPPH และ ABTS

ผลของตัวทำละลายพบว่า การสกัดด้วย 70% เอทานอลจะได้สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ ทั้งในเปลือกกล้วยดิบและใบกล้วย เนื่องจากความสามารถในการสกัดสารของตัวทำละลายอินทรีย์กลุ่มแอลกอฮอล์ หรือตัวทำละลายร่วมของแอลกอฮอล์กับน้ำสูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเดียว^{23,28} ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการสกัดเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ ด้วยตัวทำละลายร่วมระหว่างแอลกอฮอล์กับน้ำ ที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ 70 - 90 % จะให้ปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่า สำหรับผลของอุณหภูมิในการสกัด พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะได้ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งตรงข้ามกับการสกัดด้วย 70% เอทานอล ที่เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะทำให้ได้ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* ก่อนหน้า ซึ่งพบว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 25 องศาเซลเซียสเป็น 55 องศาเซลเซียส จะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลกับน้ำ เมื่อเพิ่มอุณหภูมิจะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น²⁹ ซึ่งทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ จากเอนไซม์ polyphenol oxidase ซึ่งทำงานได้ดีขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น²⁹ ดังนั้นการสกัดโดยเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 องศาเซลเซียสเป็น 55 องศาเซลเซียสในตัวทำละลายน้ำจะเป็นการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของสารพอลิฟีนอลเนื่องจากเอนไซม์

polyphenol oxidase ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase ได้^{29,30} ผลของการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ต่อคุณภาพสารสกัดพบว่าการสกัดใบกล้วยและเปลือกกล้วยดิบที่ผ่านการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์แล้วจะมีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดที่ไม่ได้ตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งสามารถอธิบายได้โดยการเกิดอันตรกิริยาระหว่างสารในกลุ่มพอลิฟีนอล พอลิแซ็กคาไรด์ และเอนไซม์ polyphenol oxidase เป็นสารประกอบเชิงซ้อน³¹ ส่งผลให้มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อเทียบกับสารสกัดที่ตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ออก โดยจากผลการศึกษาในครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าปัจจัยที่มีผลมากที่สุดต่อปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบและเปลือกกล้วยดิบของกล้วยหอมทอง คือ ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด

จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากสมุนไพรมีความสัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกรวม โดยจะมีความสัมพันธ์มากน้อยเพียงใดขึ้นกับคุณสมบัติของสารสกัดและวิธีวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เลือกใช้²⁷ นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่ต่างกัน อาจให้ผลการศึกษาที่ทิศทางที่แตกต่างกันได้ ซึ่งความสัมพันธ์ในการศึกษานี้พบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมมีความสัมพันธ์สูงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP และ DPPH ($r = 0.888$ และ 0.878 ตามลำดับ) และมีความสัมพันธ์ปานกลางกับวิธี ABTS ($r = 0.667$) นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีความสัมพันธ์สูงกับ FRAP ($r = 0.965$) แต่วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ไม่มีความสัมพันธ์กับวิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งสองวิธี โดยข้อจำกัดหนึ่งของการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS คือความคงตัวของสารละลายอนุมูลอิสระ $ABTS^+$ เนื่องจากอนุมูลอิสระ $ABTS^+$ มีความว่องไวในการเกิดปฏิกิริยาสูง โดยหลังจากสร้างสารละลายอนุมูล

อิสระแล้ว ต้องใช้สารละลายนั้นภายใน 4 ชม. ซึ่งการทดสอบแต่ละครั้ง ระยะเวลาที่วางสารละลายอนุมูลอิสระ $ABTS^+$ บนชั้นปฏิบัติการจนถึงเวลานำมาทดสอบอาจไม่เท่ากัน จึงส่งผลกระทบต่อความสามารถในการทำซ้ำ (reproducibility) ของวิธีทดสอบ ABTS สังเกตได้จากผลการทดสอบที่ขาดความสม่ำเสมอ^{32,33} โดยบางหัวข้อทดสอบให้ผลไปในทางเดียวกันกับวิธีทดสอบ DPPH และ FRAP ในขณะที่บางหัวข้อทดสอบให้ผลขัดแย้ง เช่น ผลของตัวทำละลาย หรือผลของการตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้มีรายงานศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการทดสอบผลิตภัณฑ์อาหารด้วยวิธี ABTS พบว่าผลการทดสอบด้วยวิธี ABTS ให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าความเป็นจริง (underestimated) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในตัวอย่างที่มีความซับซ้อน หรือมีส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระหลายประเภท ทั้งนี้เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละกลุ่มก็มีกลไกการเกิดปฏิกิริยากับแต่ละวิธีการทดสอบแตกต่างกันไป³⁴ ซึ่งจากงานวิจัยนี้พบว่าผลที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี ABTS ขาดความสามารถในการทำซ้ำ และไม่สอดคล้องกับผลการทดสอบที่ได้จากวิธี DPPH และ FRAP ดังนั้นควรเลือกใช้วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP และ DPPH สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกล้วยหอมทองต่อไปในอนาคต

จากผลการศึกษาพบว่า สภาวะการสกัดที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือการสกัดด้วย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชม. และตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ รองลงมา คือ การสกัดด้วย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชม. และตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ ชี้ให้เห็นว่า 70% เอทานอล เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารจากกล้วยหอมทอง ซึ่งสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่าสารสกัดใบกล้วยหอมทอง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาในกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ ที่ชี้ให้เห็นว่าปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

จากเปลือกกล้วยดิบจะให้ฤทธิ์ที่ค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับส่วนของใบ^{7,8,10} โดยปริมาณฟีนอลิกรวมที่พบในสารสกัดเปลือกกล้วยดิบและใบกล้วยที่สกัดด้วย 70% เอทานอล อยู่ในช่วง 43.40 - 55.94 mgGAE/g และ 39.35 - 45.66 mgGAE/g โดยให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH ในช่วง 136.21 - 136.63 mgAE/g และ 69.01 - 85.09 mgAE/g ตามลำดับ และพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมของเปลือกกล้วยดิบและใบกล้วยที่ได้จากกล้วยหอมทองในการศึกษาครั้งนี้มีค่าสูงกว่าการศึกษาในส่วนต่าง ๆ ของกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ ซึ่งให้ปริมาณ ฟีนอลิกรวมในช่วง 0.91 - 6.85 mgGAE/g^{7,10} ซึ่งชี้ให้เห็นถึงช่องทางในการพัฒนากล้วยหอมทองโดยใช้ของเหลือทางการเกษตรเพื่อให้เกิดมูลค่าเพิ่ม โดยนำมาสกัดเป็นสารที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพเพื่อต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เครื่องสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและผลิตภัณฑ์ยาต่อไปในอนาคตได้

สรุปผลการศึกษา

ส่วนของกล้วยหอมทองที่มีความน่าสนใจในการนำมาศึกษาต่อยอดคือส่วนของเปลือกดิบและใบ โดยสารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ สารสกัดเปลือกกล้วยดิบ ที่สกัดด้วย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชม. และตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ สำหรับในส่วนของใบกล้วยหอมทองสารสกัดที่ให้ปริมาณฟีนอลิกรวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ สารสกัดที่สกัดด้วย 70% เอทานอล ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชม. เช่นเดียวกัน ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่พบในสายพันธุ์กล้วยหอมทองในการศึกษานี้ มีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดจากกล้วยสายพันธุ์อื่น ๆ ในหลายการศึกษาก่อนหน้า ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสารสกัดเปลือกกล้วยดิบและใบจากกล้วยหอมทองมีศักยภาพที่จะนำไปศึกษาและพัฒนาต่อไป อันจะช่วยลดปริมาณเศษขยะเหลือทิ้ง และรักษาสภาพแวดล้อมอีกด้วย

แม้ว่ากล้วยหอมทองจะเป็นผลไม้ที่นิยมทานสุก แต่ในปัจจุบันพบว่าการแปรรูปกล้วยหอมทองดิบเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ เช่น การทำแปงกล้วยและกล้วยทอดกรอบ ดังนั้นเปลือกกล้วยหอมทองดิบจึงนับเป็นอีกหนึ่งวัตถุดิบที่มีความน่าสนใจ นอกจากนี้ใบกล้วยหอมทองเองก็เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่เหมาะสมในการพัฒนาต่อยอด โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์ในกลุ่มเครื่องสำอางที่มีการรายงานฤทธิ์ที่ดีในใบกล้วยสายพันธุ์อื่น ทั้งนี้ควรทำการศึกษาฤทธิ์ในทางเครื่องสำอางและความปลอดภัยเพิ่มเติมของสารสกัดก่อนการนำไปใช้พัฒนาต่อยอดในระดับอุตสาหกรรมต่อไป โดยวิธีการควบคุมคุณภาพเบื้องต้นที่เหมาะสมคือการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกรวมและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ DPPH เนื่องจากให้ความสัมพันธ์ที่ดีในการศึกษาสารสกัดจากกล้วยหอมทอง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ได้รับการสนับสนุนเป็นอย่างดีจากคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สหกรณ์การเกษตรบ้านลาด จำกัด จังหวัดเพชรบุรี สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร และหน่วยภูมิปัญญาทางเภสัชศาสตร์ “ประโชติ เปล่งวิทยา” คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร เจ้าหน้าที่ของหน่วยภูมิปัญญาทางเภสัชศาสตร์ “ประโชติ เปล่งวิทยา” และคุณกริชอมร จิตรรังศรี

เอกสารอ้างอิง

1. Silayoi B. Banana. 2nd ed. Bangkok: Kasetsart University Press; 2002. (in Thai)
2. Kumar KPS, Bhowmik D, Duraivel S, Umadevi M. Traditional and medicinal uses of banana. J Pharmacogn Phytochem. 2012;1(3):51-63.
3. Vu HT, Scarlett CJ, Voung QV. Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: a review. J Funct Foods. 2018;40:238-48.

4. Yadav A, Kumari R, Yadav A, Mishra JP, Srivatsa S, Prabha S. Antioxidants and its functions in human body - a review. *Res Environ Life Sci*. 2016;9(11):1328-31.
5. Wilson DW, Nash P, Buttar HS, Griffiths K, Singh R, De Meester F, et al. The role of food antioxidants, benefits of functional foods, and influence of feeding habits on the health of the older person: an overview. *Antioxidants*. 2017;6(4):81.
6. Masaki H. Role of antioxidants in the skin: anti-aging effects. *J Dermatol Sci*. 2010;58:85-90.
7. Fatemeh SR, Saifullah R, Abbas FMA, Azhar ME. Total phenolics, flavonoids and antioxidant activity of banana pulp and peel flours: influence of variety and stage of ripeness. *Int Food Res J*. 2012;19(3):1041-6.
8. Chauhan A, Nagar A, Bala K, Sharma Y. Comparative study of different parts of fruits of *Musa* Sp. on the basis of their antioxidant activity. *Pharm Lett*. 2016;8(15):88-100.
9. Thaiphani S, Anprung P. Physicochemical and flavor changes of fragrant banana (*Musa acuminata* AAA Group "Gross Michel") during ripening. *J Food Process Preserv*. 2010;34:366-82.
10. Karuppiyah P, Mustaffa M. Antibacterial and antioxidant activities of *Musa* sp. leaf extracts against multidrug resistant clinical pathogens causing nosocomial infection. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013;3(9):737-42.
11. Sahaa RK, Acharyaa S, Shovon SSH, Royb P. Medicinal activities of the leaves of *Musa sapientum* var. *sylvestris* in vitro. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2013;3(6):476-82.
12. Dikshit P, Shukla K, Tyagi MK, Garg P, Gambhir JK, Shukla R. Antidiabetic and antihyperlipidemic effects of the stem of *Musa sapientum* Linn. in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Diabetes*. 2012;4:378-85.
13. Navghare VV, Dhawale SC. In vitro antioxidant, hypoglycemic and oral glucose tolerance test of banana peels. *Alexandria J Med*. 2017;53(3):237-43.
14. Murthy SSN, Felicia C. Antidiabetic activity of *Musa sapientum* fruit peel on STZ induced diabetic rats. *Int J Pharma Bio Sci*. 2015;6(1):537-43.
15. Vijai Lakshmi SK, Jamal Akhtar Ansari A, Ali Mahdi A, Kumar Srivastava A. Antidiabetic potential of *Musa paradisiaca* in streptozotocin- induced diabetic rats. *J Phytopharmacol*. 2014;3(2):77-81.
16. Kappel VD, Cazarolli LH, Pereira DF, Postal BG, Madoglio FA, Buss FS, et al. Beneficial effects of banana leaves (*Musa x paradisiaca*) on glucose homeostasis: multiple sites of action. *Rev Bras Farmacogn*. 2013;23(4):706-15.
17. Silvestre MP, Acero LH. Hypoglycemic potential of banana leaves (*Musa paradisiaca*) in albino rats. *Int J Food Eng*. 2016;2(1):71-4.
18. Dikshit P, Tyagi MK, Shukla K, Gambhir JK, Shukla R. Antihypercholesterolemic and antioxidant effect of sterol rich methanol extract of stem of *Musa sapientum* (banana) in cholesterol fed wistar rats. *J Food Sci Technol*. 2016;53(3):1690-7.
19. Mallick C, Maiti R, Ghosh D. Comparative study on antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of separate and composite extract of seed of *Eugenia jambolana* and root of *Musa paradisiaca* in streptozotocin-induced diabetic male albino rat. *Iran J Pharmacol Ther*. 2006;5(1):27-33.
20. Yoo DS, Jeon JM, Choi MJ, Lee HS, Cheon JW, Kim SH, et al. Potential anti-wrinkle effects of *M. sapientum* L. leaves extract. *BioEvolution*. 2015;2(2):56-61.
21. Yoo DS, Jang SJ, Park YJ, Kim SH, Hwang H. Antiaging effects of *Musa sapientum* L. (banana) leaf extract. *Korean Soc Biotechnol Bioeng J*. 2016;31(2):126-34.
22. Hwang HS, Yoo DS, Shim JH. Whitening effect of banana leaf extract. *J Soc Cosmet Sci Korea*. 2016;42(1):37-43.
23. Toh PY, Leong FS, Chang SK, Khoo HE, Yim HS. Optimization of extraction parameters on the antioxidant properties of banana waste. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. 2016;15(1):65-78.
24. Katsampa P, Valsamedou E, Grigorakis S, Makris DP. A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box- Behnken experimental design and kinetics. *Ind Crops Prod*. 2015;77:535-43.
25. Rebaya A, Belghith SI, Baghdikian B, Leddet VM, Mabrouki F, Olivier E, et al. Total phenolic, total flavonoid, tannin content, and antioxidant capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae). *J Appl Pharm Sci*. 2015;5(1):52-7.
26. Chuenchom P, Swatsitang P, Senawong T, Jogloy S. Antioxidant capacity and phenolic content evaluation on peanut skins from 3 peanut types. *Chiang Mai J Sci*. 2016;43(1):123-37.

27. Fan R, Li N, Jiang X, Yuan F, Gao Y. HPLC–DAD–MS/MS identification and HPLC–ABTS•+ on-line antioxidant activity evaluation of bioactive compounds in liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch.) extract. *Eur Food Res Technol*. 2015;240:1035-48.
28. Shian TE, Abdullah A, Musa KH, Maskat MY, Abd. Ghani MA. Antioxidant properties of three banana cultivars (*Musa acuminata* ‘Berangan’, ‘Mas’ and ‘Raja’) extracts. *Sains Malays*. 2012;41:319-24.
29. Rafaela G, Lobo GM, Mónica G. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chem*. 2010;119:1030-9.
30. Valero E, Varon R, Garcia-Carmona F. Inhibition of grape polyphenol oxidase by several natural aliphatic alcohols. *J Agric Food Chem*. 1990;38:1097-1100.
31. Renard CMGC, Watrelot AA, Le Bourvellec C. Interactions between polyphenols and polysaccharides: mechanisms and consequences in food processing and digestion. *Trends Food Sci Technol*. 2017;60:43-51.
32. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J Food Compos Anal*. 2006;19:669-75.
33. Shah P, Modi HA. Comparative study of DPPH, ABTS and FRAP assays for determination of antioxidant activity. *Int J Res Appl Sci Eng Technol*. 2015;3(6):636-41.
34. Zulueta A, Esteve MJ, Frigola A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chem*. 2009;114:310-6.