

การเตรียมเอทโธโซมสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทอง เพื่อพัฒนาเป็นเครื่องสำอาง

ETHOSOMES PREPARATION OF HOM THONG BANANA PEEL EXTRACT FOR DEVELOPMENT OF COSMETICS

วัชรภรณ์ ทาหาร* นภาพร วรรณพรม เยาวลักษณ์ ชันหวัทอน และณรงค์ฤทธิ์ ตี๋คำป้อ
Watcharaporn Thaharn*, Napaporn Wannaprom, Yaowalak Khanhuathon
and Narongrit Tipcompor

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ และกักเก็บด้วยด้วยอนุภาคเอทโธโซมเพื่อพัฒนาเป็นเวชสำอาง สารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่เมื่อสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลตด้วยตัวทำละลาย 70% เอทิลแอลกอฮอล์มีปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงตามระยะดิบ ห่าม และสุก สารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบมีปริมาณสารฟีนอลิก (243.00 ± 0.39 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัม น้ำหนักแห้ง) ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (920.31 ± 0.00 มิลลิกรัมสมมูลของเคอซีทินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (308.82 ± 2.05 มิลลิกรัมสมมูลของโทรออกซ์ต่อ 1 กรัม น้ำหนักแห้ง) มากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดเปลือกกล้วยไข่ดิบ (58.60 ± 9.07 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 1 กรัม น้ำหนักแห้ง, 545.31 ± 0.00 มิลลิกรัม สมมูลของเคอซีทินต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง, 25.98 ± 1.02 มิลลิกรัมสมมูลของโทรออกซ์ต่อ 1 กรัม น้ำหนักแห้ง) สารสกัดเปลือกกล้วยไข่สุกให้ปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด เตรียมเอทโธโซมสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบ (0.25% w/w) โดยใช้เครื่องผสมไฮโมจิโนเซอร์ความเร็วสูง

คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย 57100

Faculty of Education, Chiang Rai Rajabhat University, Muang District, Chiang Rai Province 57100

*corresponding author e-mail: watcharaporn.thaharn@gmail.com

Received: 10 April 2023; Revised: 30 May 2023; Accepted: 2 June 2023

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2023.23>

ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเอทโธโซม (Z-Average) เท่ากับ 179.4 ± 3.60 นาโนเมตร ประจุบนผิวอนุภาคก็ยี่ด้า (Zeta-potential) -43.5 ± 0.72 มิลลิโวลต์ ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PDI) 0.256 ± 0.02 ประสิทธิภาพการกักเก็บของเอทโธโซมสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบ มีค่าเท่ากับ $68.70 \pm 0.95\%$

คำสำคัญ: สารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เอทโธโซม เปลือกกล้วย กล้วยหอมทอง

Abstract

The purpose of this research was to analyze the total phenolic, flavonoid contents and antioxidant activity of Hom Thong and Kluay Khai banana peel extracts and encapsulated with ethosomes particles for application in cosmeceuticals. Hom Thong and Kluai Khai peel banana extracts were extracted by soxhlet extraction using 70% ethanol that showed a decrease in total phenolic flavonoid contents and antioxidant activity according to unripe, semi-ripe and ripe stages. Unripe Hom Thong banana peel extract contained the highest amount of total phenolic content (243.00 ± 0.39 mg GA/g), flavonoids (920.30 ± 0.00 mg QE/100g), and antioxidant activity (308.82 ± 2.05 mg TE/g) followed by unripe Kluai Khai banana peel extract (58.60 ± 9.07 mg GA/g, 545.31 ± 0.00 mg QE/100g, 25.98 ± 1.02 mg TE/g). Ripe Kluai Khai banana peel extract exhibited the least amount of phenolic and flavonoids contents. The Hom Thong unripe banana peel extract (0.25% w/w) was prepared ethosomes using a high speed mixer homogenizer. The particle size of ethosomes (Z-Average) was 179.4 ± 3.60 nm on the surface charge (Zeta-potential) -43.5 ± 0.72 mV with a polydispersity index (PDI) 0.256 ± 0.02 . The entrapment efficiency of ethosomes loading Hom Thong unripe banana peel extract was 68.70 ± 0.95 .

Keywords: Phenolic and flavonoid, Antioxidant activity, Ethosomes, Banana peel, Hom Thong banana

บทนำ

กล้วยหอมทอง (ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Musa acuminata* (AAA Group) จัดเป็นกล้วยชนิดหนึ่งในสายพันธุ์ *Musa acuminata* กลุ่ม AAA พบได้ทั่วไปในประเทศไทย ใช้ผลสุกในการรับประทานสด เมื่อสุกจะให้เปลือกเป็นสีเหลืองทองและเนื้อมีสีเหลืองเข้ม มีกลิ่นหอม รสหวาน กล้วยไข่ (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Musa sapientum* Linn.) เป็นผลไม้ที่มีผลที่ค่อนข้างเล็ก เปลือกบาง ผลสุกสีเหลือง เมื่อผลอมอาจมีจุดดำ ๆ ประปราย รสชาติหวานอร่อย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เปลือกกล้วยอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิก

(Aboul-Enein et al., 2016) dopamine, L-dopa, และ catecholamines (González-Montelongo, et al., 2010) และพบว่าเปลือกกล้วยมีปริมาณฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์รวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สูงมากกว่าผล กล้วย และใบกล้วย (Charoenteeraboon et al., 2019)

ปัจจุบันได้มีการพัฒนาตำรับเวชสำอางให้มีประสิทธิภาพดียิ่งขึ้นด้วยการใช้ระบบนำส่ง สารสำคัญเข้าสู่ชั้นผิวหนังให้มีประสิทธิภาพตรงกับความต้องการ เพื่อส่งเสริมการออกฤทธิ์ และ ประสิทธิภาพของสารสำคัญได้ดียิ่งขึ้น ระบบขนส่งสารพหุขเคมีซึ่งเป็นที่นิยมในปัจจุบันสามารถจำแนก ได้ 6 ระบบ ได้แก่ ลิโปโซม เอทโรโซม นิโอโซม ทรานสเฟอโซม ไฟโตโซม และเดนไดรเมอร์ ระบบนำส่ง จะเพิ่มความสามารถในการละลาย และพัฒนาสารสำคัญให้มีเสถียรภาพ ทั้งทางกายภาพ เคมี และ ชีวภาพ ต่อการนำไปใช้ ป้องกัน รักษาต่อไป (Bhokare et al., 2006) ระบบนำส่งเอทโรโซมพัฒนามา จากลิโปโซม เนื่องจากลิโปโซมมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถนำส่งยาหรือสารเข้าสู่ผิวหนังในชั้นลึกได้เอทโรโซม มีส่วนประกอบของเอทิลแอลกอฮอล์ในปริมาณสูง (20-45% โดยน้ำหนัก) โครงสร้างของเอทโรโซม ประกอบด้วยโมเลกุลของไขมันเรียงตัวซ้อนกันสองชั้นสลับกับชั้นน้ำ โดยมีส่วนหัวที่ละลายน้ำได้ดี และ ส่วนหางที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นฟอสโฟลิพิดจึงพยายามจัดเรียงตัวเพื่อซ่อนส่วนหางจากน้ำและหันส่วนหัว ไปในด้านที่ต้องสัมผัสกับน้ำ เพื่อให้เกิดความเสถียรตามธรรมชาติ โดยชั้นในสุดเป็นชั้นน้ำที่มีส่วนผสม ของเอทิลแอลกอฮอล์ ข้อดีของเอทโรโซมสามารถนำส่งสารโมเลกุลใหญ่ได้ดี ลดความเป็นพิษที่เกิดจาก การสัมผัสสารโดยตรง ส่งสารผ่านผิวหนังได้ดี และเตรียมง่าย (Elsayed et al., 2006) สารพหุขเคมี ของสารสกัดเปลือกกล้วยสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้ เอทโรโซมเป็นระบบนำส่งสารสำคัญต่อไป

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ทั้งหมด ฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระ ของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ ระยะดิบ ห่าม และสุกด้วยตัวทำละลาย เอทิลแอลกอฮอล์ โดยทำการสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต จากนั้นกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วยด้วยระบบ นำส่งเอทโรโซม และตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ เช่น ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง (Z-Average) ประจุบนผิวอนุภาคศักย์ซีต้า (Zeta-potential) ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PDI) สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้เครื่องมือ Dynamic Light Scattering (DLS) (Touitou et al., 2000) การเตรียม เอทโรโซมสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองซึ่งเป็นระบบนำส่งสารสำคัญสามารถพัฒนาต่อยอดเป็น เวชสำอาง สร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ เพิ่มมูลค่าของพืชการเกษตร และอาหารปลอดภัยในท้องถิ่นสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชน ถ่ายทอดองค์ความรู้ในเชิงวิชาการ และต่อยอดการนำไปใช้ประโยชน์ ในเชิงพาณิชย์ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุ อุปกรณ์ และเครื่องมือ

Gallic acid (99%, HPLC grade) บริษัท Sigma-Aldrich, Quercetin ($\geq 95\%$, HPLC grade) บริษัท Sigma-Aldrich, Folin-Ciocalteu's reagent (AR grade) บริษัท Merck, Sodium carbonate (Na_2CO_3 , AR grade) และ Aluminium chloride (AlCl_3 , AR grade) บริษัท AJAX, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH, AR grade) บริษัท Sigma-Aldrich, Ethanol (AR Grade) บริษัท LabScan, Potassium acetate ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$, AR grade) บริษัท Loba Chemie™, Trolox (97%, AR grade) บริษัท Sigma-Aldrich เครื่องมือที่ใช้ในการทดลองได้แก่ เครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary vacuum evaporator) ยี่ห้อ Buchi รุ่น R-300 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์, เครื่องอัลตราไวโอเลตวิสิเบิลสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Visible spectrophotometer) ยี่ห้อ thermoscientific รุ่น GENESYS 180 ประเทศสหรัฐอเมริกา เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance) ยี่ห้อ Ohaus รุ่น PA214 ประเทศสหรัฐอเมริกา

1. การเตรียมพืช (Charoenteeraboon et al., 2019)

นำเปลือกกล้วยหอมทองจากอำเภอแม่แตง จังหวัดเชียงใหม่ และกล้วยไข่จากอำเภอเชียงของจังหวัดเชียงราย ในระยะดิบ ห่าม และสุก มาล้างแล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Blender) จากนั้นนำเปลือกกล้วยที่บดเป็นผงละเอียด 125 g มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 70% เอทิลแอลกอฮอล์ 250 mL ด้วยวิธีซอกซ์เลต (Soxhlet extraction) ณ อุณหภูมิจุดเดือด เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จากนั้นกรองและนำมาระเหยตัวทำละลายให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) ได้สารสกัดแห้งเก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Singleton et al., 1999)

นำสารสกัดเปลือกกล้วยมาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method โดยการปิเปตสารสกัดเปลือกกล้วยที่ความเข้มข้น 500 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 1 mL ใส่ลงในขวดสีชา แล้วปิเปตสารละลาย Folin-Ciocalteu (10%, v/v) ผสมเข้าไปในขวดสีชา 5 mL เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 3 นาที ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 75 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาตร 4 mL ผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 756 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 20, 40, 80, 120, 160 และ 200 $\mu\text{g/mL}$ นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดเปลือกกล้วยที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยแทนค่าในสมการ $y = mx + c$ ที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกนำค่าที่ได้มาคำนวณในหน่วย mg GAE/g dry weight

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (Nuengchamnong et al., 2009)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay โดยการปิเปตสารสกัดเปลือกกล้วยที่ความเข้มข้น 250, 125, 62.5, 31.25 และ 15.63 $\mu\text{g/mL}$ ปริมาณ 4 mL ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย DPPH (0.8 mL, 0.2 mM) เขย่าให้สารละลายเข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดประมาณ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ มาคำนวณร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% DPPH radical scavenging activity) และคำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (Half maximal inhibition concentration, IC_{50}) ของสารสกัดเปลือกกล้วยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน Trolox

4. การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Singleton et al, 1999)

การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์โดยใช้วิธี aluminium chloride colorimetric เตรียมสารมาตรฐานแควอซิทินจากบริษัท Sigma-Aldrich ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$ ปิเปตสารละลายมาตรฐานแควอซิทินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 0.5 mL ใส่ในหลอดทดลอง เติม 95% เอทิลแอลกอฮอล์ปริมาตร (1.5 mL) สารละลาย 10% อะลูมิเนียมคลอไรด์ (0.1 mL) สารละลาย 1 M โพแทสเซียมอะซีเตตในน้ำ (0.1 mL) และน้ำกลั่น (2.8 mL) จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 nm นำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานแควอซิทิน ทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐานแควอซิทินโดยการปิเปตสารสกัดเปลือกกล้วย (0.5 mL) จากนั้นนำผลที่ได้จากการทดสอบสารสกัดไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแควอซิทิน เพื่อคำนวณหาปริมาณแควอซิทินรวม โดยรายงานผลในหน่วยของ $\text{mg QE}/100\text{g dry weight}$ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

5. การเตรียมเอทโรโซมกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทอง (Liu et al., 2007)

เตรียมวัฏภาคอินทรีย์ (Organic phase) โดยการชั่งสารสกัดจากเปลือกกล้วย ปริมาณ 0.1-0.5% โดยน้ำหนัก ตัวทำละลายเอทิล แอลกอฮอล์ 30-35% โดยน้ำหนัก ไขมันแข็งชนิด Food grade, beeswax 5-10% โดยน้ำหนัก แล้วปั่นกวนที่ความเร็ว 400-500 รอบต่อนาที เติมสารลดแรงตึงผิว (Tween 20) ปริมาณ 6.75-8.5% โดยน้ำหนักลงไปในวัฏภาคอินทรีย์ แล้วปั่นกวนที่ความเร็ว 400-500 รอบต่อนาที จนสารทั้งหมดละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกันปั่นผสมและลดขนาดสารผสมในวัฏภาคอินทรีย์ด้วยการปั่นกวนด้วยความเร็วสูงด้วยเครื่อง Hi-speed homogenizer ที่ความเร็ว 8,000-10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5-10 นาที เพื่อให้สารผสมที่ได้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เตรียมวัฏภาคน้ำ (Aqueous phase) โดยชั่งน้ำในการปรับปริมาณให้ครบ 100% โดยน้ำหนัก แล้วค่อย ๆ เติมน้ำลงในสารผสมในวัฏภาคอินทรีย์ จากนั้นปั่นกวนด้วยความเร็วสูงด้วยเครื่อง Hi-speed homogenizer ที่ความเร็ว 8,000-10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อให้สารละลายที่ได้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน จะได้อนุภาคนาโนคอลลอยด์เอทโรโซมกักเก็บสารสกัดกล้วยที่มีขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรตามต้องการเพื่อให้สารละลายที่ได้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน เก็บตัวอย่างแต่ละสูตรเพื่อนำไปวัดขนาด

เส้นผ่านศูนย์กลาง (Z-Average) ประจุบนผิวอนุภาคศักย์ซีต้า (Zeta-potential) ดัชนีการกระจายตัว (Polydispersity index, PDI) และประสิทธิภาพในการกักเก็บด้วยเทคนิค UV spectroscopy

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเปลือกกล้วย

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกด้วยเทคนิค Folin-Ciocalteu method โดยใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (Singleton, 1999) ที่ความเข้มข้น 20, 40, 80, 120, 160 และ 200 $\mu\text{g/mL}$ จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน ได้สมการเส้นตรง เท่ากับ $y = 0.0109x + 0.0601$ ($R^2 = 0.9992$) ทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐานกรดแกลลิกข้างต้น โดยเปลี่ยนการทดสอบเป็นสารสกัดเปลือกกล้วย พบว่าปริมาณฟีนอลิกให้ค่าลดลงสอดคล้องกับระยะดิบ ห่าม และสุก กล้วยหอมทองดิบให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 243.00 ± 0.39 mg GA/g กล้วยไข่ดิบให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมรองลงมาเท่ากับ 58.60 ± 9.07 mg GA/g ส่วนกล้วยหอมทองห่าม (46.02 ± 2.85 mg GA/g) และกล้วยหอมทองสุก (43.48 ± 0.51 mg GA/g) ให้ค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$) กล้วยไข่ห่าม (21.62 ± 0.77 mg GA/g) และกล้วยไข่สุก (15.76 ± 0.77 mg GA/g) ให้ปริมาณฟีนอลิกน้อยที่สุดตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Total phenolic and flavonoid contents of Hom Thong and Klui Khai peel extracts

Banana peel extracts	Stage	Total phenolic contents (mg GA/g)	Total flavonoid contents (mg QE/100g)
Hom Thong	unripe	243.00 ± 0.39^a	920.31 ± 0.00^a
	semi-ripe	46.02 ± 2.85^c	389.06 ± 2.90^c
	ripe	43.48 ± 0.51^c	295.31 ± 2.10^d
Klui Khai	unripe	58.60 ± 9.07^b	545.31 ± 0.00^b
	semi-ripe	21.62 ± 0.77^d	256.25 ± 3.14^d
	ripe	15.76 ± 0.77^e	185.93 ± 2.90^e

Remark Means with the same letter(s) within each column are not significantly different at $p \leq 0.05$

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ ระยะดิบ ห่าม และสุก เมื่อสกัดด้วยวิธีซอกซ์เลต โดยใช้เคอซีทินเป็นสารมาตรฐานจากนั้นทำการสร้างกราฟมาตรฐานเคอซีทินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (6.25, 12.5, 25, 50, 100 $\mu\text{g/mL}$) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 nm ได้กราฟมาตรฐานเคอซีทินแสดงสมการเส้นตรง $y = 0.0064x + 0.1191$ ($R^2 = 0.9999$) ทำการทดลองเช่นเดียวกับสารมาตรฐานเคอซีทินโดยใช้สารสกัดเปลือกกล้วยพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์ให้ค่าลดลงสอดคล้องกับระยะดิบ ห่าม และสุก กล้วยหอมทองดิบให้ปริมาณสารประกอบ

ฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 920.31 ± 0.00 mg QE /100g กล้วยไข่ดิบ (545.31 ± 0.00 mg QE/100g) กล้วยหอมทองห่ม (389.06 ± 2.90 mg QE/100g) กล้วยหอมทองสุก (295.31 ± 2.10 mg QE/100g) และกล้วยไข่ห่ม (256.25 ± 3.14 mg QE/100g) ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมรองลงมาตามลำดับ ส่วนกล้วยไข่สุก (185.93 ± 2.90 mg QE /100g) ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์น้อยที่สุด ดังตารางที่ 1 (Table 1)

2. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ ระยะดิบ ห่ม และสุก แสดงผลการทดลองเป็นเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (% Radical Scavenging) จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและคำนวณความเข้มข้นน้อยสุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) พบว่าประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระให้ค่าลดลงสอดคล้องกับระยะดิบ ห่ม และสุก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบให้ค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 6.12 ± 0.31 μ g/mL ส่วนกล้วยหอมทองห่ม (71.04 ± 0.03 μ g/mL) และกล้วยไข่ดิบ (72.74 ± 2.85 μ g/mL) ให้ประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เป็นลำดับถัดมา กล้วยหอมทองสุก (79.02 ± 1.10 μ g/mL) กล้วยไข่ห่ม (211.25 ± 2.29 μ g/mL) และกล้วยไข่สุก (373.94 ± 2.29 μ g/mL) ให้ประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระลดลงตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน trolox ให้ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.89 ± 0.07 μ g/mL ประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่ในระยะต่าง ๆ เมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานไทโรลอคซ์ พบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบให้ค่ามากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 308.82 ± 2.05 mg TE/g รองลงมาเป็นสารสกัดกล้วยหอมทองห่ม (26.60 ± 0.01 mg TE/g) กล้วยไข่ดิบ (25.98 ± 1.02 mg TE/g) ให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ถัดมากล้วยหอมทองสุก (23.91 ± 0.33 mg TE/g) กล้วยไข่ห่ม (8.94 ± 0.09 mg TE/g) และกล้วยไข่สุก (5.05 ± 0.03 mg TE/g) ให้ประสิทธิภาพต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน trolox ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 (Table 2)

Table 2 Antioxidant activity of Hom Thong and Kluai Khai peel extracts

Banana peel extracts	Stage	IC ₅₀ (µg/mL)	Antioxidant activity (mg Trolox/g)
Hom Thong	unripe	6.12±0.31 ^a	308.82±2.05 ^a
	semi-ripe	71.04±0.03 ^b	26.60±0.01 ^b
	ripe	79.02±1.10 ^c	23.91±0.33 ^c
Kluai Khai	unripe	72.74±2.85 ^b	25.98±1.02 ^b
	semi-ripe	211.25±2.29 ^d	8.94±0.09 ^d
	ripe	373.94±2.29 ^e	5.05±0.03 ^e

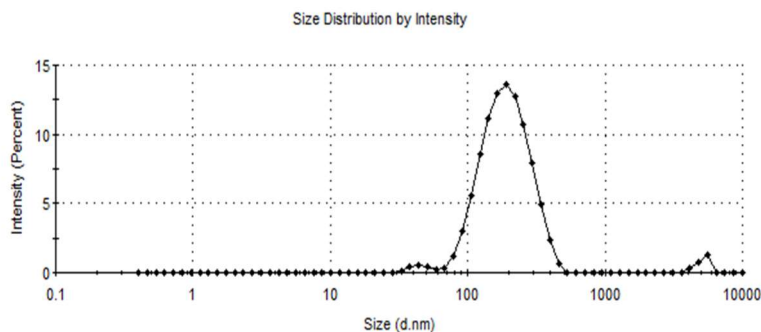
Remark Means with the same letter(s) within each column are not significantly different at $p \leq 0.05$

3. การเตรียมเอทโธโซมกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วย

เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบให้ปริมาณสารสำคัญมากที่สุดจึงนำมาทำการเตรียมเอทโธโซม โดยการเปรียบเทียบกับตัวอย่างในแต่ละสูตรประกอบด้วย เอทิลแอลกอฮอล์ 30-35 % โดยน้ำหนัก ไขมันแข็งชนิด Food grade beewax 5-10% โดยน้ำหนัก และสารลดแรงตึงผิวปริมาณ 6.75-8.5% โดยน้ำหนักพิจารณาเลือกสูตรได้จากความคงตัวโดยการทิ้งไว้ 1 คืน สังเกตการเกิดการตกตะกอนและแยกชั้นเกิดขึ้น จากการทดลองพบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบปริมาณ 0.25% โดยน้ำหนัก เอทิลแอลกอฮอล์ 35% โดยน้ำหนัก ไขมันแข็ง 5.5% โดยน้ำหนัก สารลดแรงตึงผิว (Tween 20) 5% โดยน้ำหนัก และน้ำในอัตราส่วนที่ทำให้ปริมาณขององค์ประกอบครบ 100% โดยน้ำหนัก จากนั้นปั่นกวนด้วยความเร็วสูงด้วยเครื่อง Hi-speed homogenizer ที่ความเร็ว 8,000-10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10-15 นาที เพื่อให้สารละลายที่ได้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันเป็นสภาวะที่ดีที่สุดพบว่าเมื่อทิ้งไว้ 1 คืนมีความคงตัวตกตะกอนเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับสูตรอื่นจะได้อนุภาคนาโนคอลลอยด์เอทโธโซมกักเก็บสารสกัดกล้วยที่มีขนาดอนุภาคระดับนาโนเมตรตามต้องการให้อนุภาคเอทโธโซมลักษณะเหลืองอ่อนมี pH เท่ากับ 7.1 ขนาดอนุภาคของเอทโธโซมมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 179.4 ± 3.60 nm ประจุบนผิวอนุภาคก็ยซีต้าเท่ากับ -43.5 ± 0.72 mV และดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.256 ± 0.02 ด้วยเทคนิค dynamic light scattering (DLS) วิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบในเอทโธโซม โดยทำการเจือจางเอทโธโซมที่เตรียมได้ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Centrifuge หลังจากนั้นนำของเหลวใสส่วนบน (Supernatant) มาวิเคราะห์ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric พบว่าเอทโธโซมสามารถกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองได้เท่ากับร้อยละ 68.70 ± 0.95 เมื่อเปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทอง ตารางที่ 3 และภาพที่ 1 (Table 3 and Figure 1)

Table 3 Properties of Hom Thong banana ethosomes

Properties	Results
pH	7.1
Zeta-potential	-43.5±0.72 mV
Z-Average	179.4±3.60 nm
Polydispersity index, PDI	0.256±0.02
Entrapment efficiency	68.70±0.95%

**Figure 1** Hom Thong banana ethosome particle diameter (Z-Average)

อภิปรายผล

กล้วยหอมทองและกล้วยไข่เป็นกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อยู่ในกลุ่ม AAA ซึ่งมีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทั้งในส่วนของเปลือกกล้วยดิบ เปลือกสุก ผลดิบ ผลสุกและใบ (Karuppiyah et al., 2013) จากการทดลองพบว่าสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่ากล้วยไข่ และระยะดิบ ห่าม และสุกของสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์แปรผันตามปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและลดลงสอดคล้องกับระยะดิบ ห่าม และสุกตามลำดับ เช่น กล้วยหอมทองดิบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง (308.82 ± 2.05 mgTE/g) สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (243.00 ± 0.39 mg GA/g) และปริมาณฟลาโวนอยด์ (920.31 ± 0.00 mg QE /100 g) ที่สูงด้วยเช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาในผลกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ ซึ่งเป็นกล้วยในสายพันธุ์เดียวกับกล้วยหอมทอง ชี้ให้เห็นว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมพบในเปลือกมากกว่าในเนื้อกล้วย และพบในกล้วยดิบมากกว่าในกล้วยสุก (Chauhan et al., 2016) ผลของตัวทำละลายพบว่าการสกัดเปลือกกล้วยด้วยตัวทำละลาย 70% เอทิลแอลกอฮอล์จะได้สารสกัดที่มีปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ เนื่องจากความสามารถในการสกัดสารของตัวทำละลายอินทรีย์กลุ่มแอลกอฮอล์หรือตัวทำละลายร่วมของแอลกอฮอล์กับน้ำสูงกว่าการใช้น้ำเป็นตัวทำละลายเดียว ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาการสกัดเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* อื่น ๆ (Fateme et al., 2012)

นำสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบมาเตรียมเอทโรโซมด้วยเครื่อง High speed mixer homogenizer ให้เอทโรโซมมีลักษณะเหลืองอ่อนขึ้นเป็นเนื้อเดียวกัน และมี pH เท่ากับ 7.1 การเตรียมเอทโรโซมโดยใช้สารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบปริมาณ 0.25%โดยน้ำหนัก และสารลดแรงตึงผิว Tween 20 ปริมาณ 5% โดยน้ำหนัก เป็นสภาวะที่ดีที่สุด ได้ขนาดอนุภาคของเอทโรโซมเปลือกกล้วยหอมทองมีขนาดระดับนาโนเท่ากับ 179.40 ± 3.60 nm ขนาดอนุภาคอยู่ในระดับนาโน จะส่งผลให้มีประสิทธิภาพการกักเก็บสารสำคัญมากขึ้น มีค่าประจุเท่ากับ -43.5 ± 0.72 mV เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Dynamic light scattering (DLS) ค่าศักย์ซีต้า (Zeta Potential) น้อยกว่า -30 mV เอทโรโซมจะไม่เกิดความไม่คงตัวแบบเกาะกลุ่มกัน (Upadhyay et al., 2011) และมีดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.256 ± 0.02 วิเคราะห์ประสิทธิภาพการกักเก็บ (Entrapment efficiency) ของสารสกัดด้วยเอทโรโซมเท่ากับ $68.70 \pm 0.95\%$ สามารถพัฒนาเป็นตำรับเวชสำอางต่อไปได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Park et al. (2013) เตรียมเอทโรโซมเพื่อบรรจุเคอซีทินให้ขนาดเท่ากับ 132 ± 32 nm มีประสิทธิภาพการกักเก็บเท่ากับ $63.9 \pm 6.0\%$ และมีความสามารถในการซึมผ่านผิวหนังได้ดีกว่าเมื่อเทียบกับไลโปโซมช่วยเพิ่มประสิทธิภาพเครื่องสำอางได้ต่อไป Srivastava et al. (2017) เตรียมเอทโรโซมของสารสกัด *Berberis aristata* ให้ขนาดเท่ากับ 110.98-357.34 nm ดัชนีการกระจายเท่ากับ 0.114- 1.56 ศักย์ซีต้าเท่ากับ -39.4 mV และประสิทธิภาพการกักเก็บเท่ากับ 48.05-92.08% สามารถพัฒนาเป็นยาสมุนไพรได้ Alex et al. (2020) ได้เตรียมเอทโรโซมของสารสกัดเปลือกต้น *Spondias pinnata* ซึ่งประกอบไปด้วยกลุ่มสารสำคัญเช่น อัลคาลอยด์ ชาโปนิน ฟีนอล และฟลาโวนอยด์ ให้ขนาดอนุภาค ศักย์ซีต้า ดัชนีการกระจายตัว และประสิทธิภาพการกักเก็บที่เหมาะสมคือ 141.1nm, -54.1 mV, 0.321 และ 71.24% ตามลำดับ สามารถออกฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ได้

ผลผลิตที่ได้คืออนุภาคนาโนเอทโรโซมซึ่งเป็นระบบนำส่งสารสำคัญของสารสกัดกล้วยหอมทอง สามารถต่อยอดพัฒนาเป็นเวชสำอางทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีประสิทธิภาพ สร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ เพิ่มศักยภาพและมูลค่าของพืชการเกษตร และต่อยอดการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองและกล้วยไข่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์รวมทั้งกรดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแปรผันลดลงตามระยะดิบ ห่าม และสุก สารสกัดกล้วยหอมทองดิบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์รวมทั้งกรดและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ดังนั้นจึงทำการกักเก็บด้วยอนุภาคนาโนเอทโรโซม พบว่าสามารถกักเก็บสารสกัดเปลือกกล้วยหอมทองดิบปริมาณ 0.25% โดยน้ำหนัก และให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 179.40 ± 3.60 nm ประจุบนผิวอนุภาคศักย์ซีต้าเท่ากับ -43.5 ± 0.72 mV และดัชนีการกระจายตัวเท่ากับ 0.256 ± 0.02

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกองทุนสนับสนุนงานวิจัยเพื่อการพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

เอกสารอ้างอิง

- Aboul-Enein AM, Salama ZA, Gaafar AA, Aly HF, Abou-Elella F, Ahmed HA. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musaparadaisica* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* 2016;8(4):46-55.
- Alex AS, Jyothi D, Priya S. Formulation and optimization of ethosomes loaded with spondias pinnata bark extract for topical delivery by using 2³ factorial design. *Plant Archives* 2020;20(2):8009-8018.
- Bhokare, SG, Dongaonkar, CC, Lahane, SV, Salunke, PB, Sawale, VS, Thombare, MS. Herbal novel drug deliver: A review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2016;5(8):593-611.
- Charoenteeraboon, J, Ngawhirunpat, T, Chaidedgumjom, A, Asavapichayont, P, Mahadlek, J, Tuntarawongsa, S. Total Phenolic content and antioxidant activities of different parts of hom thong banana extract and extraction related factors. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences* 2019;14(2):47-60.
- 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. *The Pharma Letter* 2016;8(15):88-100.
- Elsayed MM, Abdallah OY, Naggat VF, Khalafallah NM. Deformable liposomes and ethosomes: Mechanism of enhanced skin delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 2006;322(1-2):60-6.
- 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. *International Food Research Journal* 2012;19(3):1041-1046.
- González-Montelongo R, Lobo MG, González M. Antioxidant activity in banana peel extracts: testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry* 2010;119:1030-1039.
- Karuppiiah P, Mustafa M. Antibacterial and antioxidant activities of Musa sp. leaf extracts against multidrug resistant clinical pathogens causing nosocomial infection. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 2013;3(9):737-742.
- Liu J, Hu W, Chen H, Ni Q, Xu H, Yang X. Isotretinoin-loaded solid lipid nanoparticles with skin targeting for topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 2007;328(2):191-195.
- Nuengchamnong N, Krittasilp K, Ingkaninan K. Rapid Screening and identification of antioxidants in aqueous extracts of houttuynia cordata using LC-ESI-MS coupled with DPPH Assay. *Food Chemistry* 2009;117(4):50-756.
- Park SN, Lee HJ, Kim HS, Park MA, Gu HA. Enhanced transdermal deposition and characterization of quercetin-loaded ethosomes. *Korean Journal of Chemical Engineering* 2013;30(3):688-692.

- Singleton VL, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent methods in enzymology. *Methods in Enzymology* 1999;299:152-178.
- Srivastava N, Kaur CD, Fatima Z. Formulation and performance evaluation of berberis extract loaded ethosomal gel. *Asian Journal of Pharmaceutics* 2017;11(3):176-83.
- Touitou E, Dayan N, Bergelson L, Godin B, Eliaz M. Ethosomes -novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. *Journal of Control Release* 2000;65(3):403-18.
- Upadhyay N, Mandal S, Bhatia L, Shailesh S, Chauhan P. A review on ethosomes: An emerging approach for drugdelivery through the skin. *RRST-Pharmaceutics* 2011;3(7):19-24.