



ประสิทธิผลการเป็นสารกันเสียของสารสกัดเปลือกกล้วยในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

PRESERVATIVE EFFICACY OF BANANA PEEL EXTRACT
IN SKIN CARE PRODUCT

กรรณิการ์ ดีดวงค์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ประสิทธิผลการเป็นสารกันเสียของสารสกัดเปลือกกล้วยในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

PRESERVATIVE EFFICACY OF BANANA PEEL EXTRACT

IN SKIN CARE PRODUCT

กรรณิการ์ ตีตาวงศ์

การค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

2568

©ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



หน้าอนุมัติการค้นคว้าอิสระ

มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

การค้นคว้าอิสระเรื่อง ประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดเปลือกกล้วยในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว
Preservative Efficacy of Banana Peel Extract in Skin Care Product

ผู้ประพันธ์ วรรณิการ์ ดีดาวงศ์

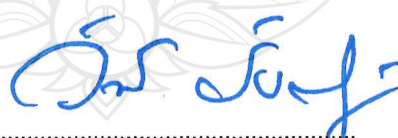
คณะกรรมการสอบ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินดาทอง	ประธานกรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สรिता สังข์ทอง	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐวาทิ จิตติปราโมทย์	กรรมการ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนตรา ศรีชะแย้ม	กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา


.....อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ)

คณบดี


.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี รังสีวิจิตรประภา)

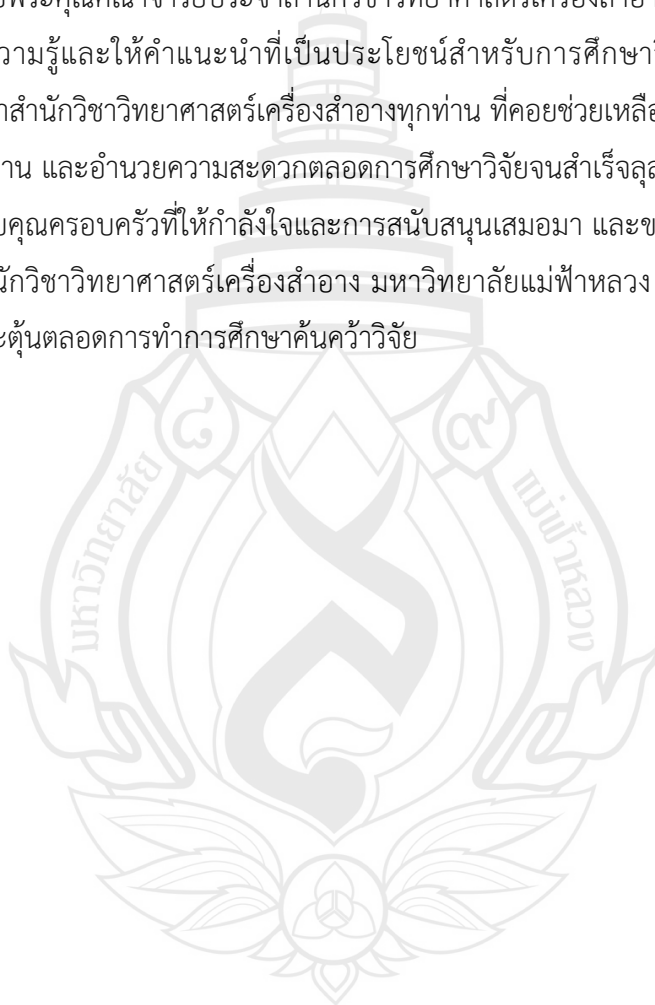
กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาค้นคว้าวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลงไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณความกรุณาและความอนุเคราะห์จากอาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ ในการให้คำปรึกษาแนะนำ และคอยชี้แนะแนวทางการศึกษาค้นคว้าวิจัย พร้อมทั้งให้ข้อเสนอแนะและตรวจสอบแก้ไขปรับปรุงข้อบกพร่องของการวิจัยให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางทุกท่าน ในการประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำสำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอางทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือแนะนำในการดำเนินการติดต่อประสานงาน และอำนวยความสะดวกตลอดการศึกษาวิจัยจนสำเร็จลงด้วยดี

ขอขอบคุณครอบครัวที่ให้อำลัใจและการสนับสนุนเสมอมา และขอบคุณเพื่อน ๆ นักศึกษาปริญญาโท สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ที่ให้คำแนะนำช่วยเหลือ และเป็นแรงกระตุ้นตลอดการทำการศึกษาค้นคว้าวิจัย

กรรณิการ์ ตีตาวงศ์



ชื่อเรื่องการค้นคว้าอิสระ	ประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดเปลือกกล้วยในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว
ผู้ประพันธ์	กรรณิการ์ ตีตาวงศ์
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง)
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่าในระยะเวลาการสุกที่ 5 และ 6 โดยในการสกัดใช้วิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง และตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ 50% เอทานอล, 50% อะซิโตน, 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกพบว่า สารสกัดจาก 80% อะซิโตน และ 50% อะซิโตน ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 19.92 ± 0.39 mg GAE/g extract และ 15.73 ± 0.10 mg GAE/g extract ตามลำดับ นำไปทดสอบฤทธิ์การยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. albicans* พบว่า สารสกัดจากอะซิโตนมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ในขณะที่สารสกัดจากเอทานอลมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยสารสกัดจาก 80% อะซิโตน แสดงประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus* มีค่า MIC เท่ากับ 12.50 mg/mL และค่า MBC เท่ากับ 16.67 ± 7.22 mg/mL ทั้งนี้สารสกัดทั้งหมดไม่แสดงฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans* จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาพัฒนาเป็นสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชันที่มีความเข้มข้นของสารสกัดร้อยละ 1.25 พบว่า สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของสารสกัดมีสีเหลือง – น้ำตาลอ่อน ตามลักษณะของสารสกัดที่ได้ และมีกลิ่นของเปลือกกล้วยในสูตรตำรับค่าพีเอช และค่าความหนืด มีค่าลดลงต่ำกว่าสูตรที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัด แต่เมื่อนำไปทดสอบความคงตัวพบว่ายังคงมีความคงตัวที่ดี ทั้งการทดสอบด้วยการปั่นเหวี่ยงและการทดสอบภายใต้สภาวะอุณหภูมิและแสง เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930:2019 พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่าเพียงอย่างเดียวไม่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด แต่เมื่อใช้ร่วมกับสารเอทิลเฮกซิลกลีเซอรินซึ่งเป็นสารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสีย สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด

คำสำคัญ: เปลือกกล้วยน้ำว่า, สารประกอบฟีนอลิก, ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์, สูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว, การทดสอบความคงตัว, ประสิทธิภาพสารกันเสีย

Independent Study Title Preservative Efficacy of Banana Peel Extract in Skin Care Product

Author Kannika Titawong

Degree Master of Science (Cosmetic Science)

Advisor Assistant Professor Phanuphong Chaiwut, Ph. D.

ABSTRACT

The purpose of this study was to study the preservative efficacy of banana peel extracts from Kluai 'Namwa' at ripening stages 5 and 6. The extraction was conducted using ultrasound-assisted extraction with 4 solvents: 50% ethanol, 50% acetone, 80% ethanol and 80% acetone. The analysis of total phenolic content revealed that extracts obtained using 80% acetone and 50% acetone contained the highest levels of total phenolic compounds, at 19.92 ± 0.39 mg GAE/g and 15.73 ± 0.10 mg GAE/g extract, respectively. The extracts were then tested for antimicrobial activity against 4 pathogenic microorganisms: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* and *C. albicans*. It was found that the acetone extracts had an inhibitory effect on 2 types of microorganisms, namely *S. aureus* and *P. aeruginosa*, while the ethanol extracts had an inhibitory effect only on *S. aureus*. The extract from 80% acetone showed the strongest antimicrobial activity against *S. aureus*, with a MIC value of 12.50 mg/mL and MBC value of 16.67 ± 7.22 mg/mL. However, none of the extracts exhibited inhibitory activity against *E. coli* and *C. albicans*. The extracts were developed into a skin care formula in the emulsion form with an extract concentration of 1.25%. The formulations containing the extracts showed a yellow to light brown color, consistent with the characteristics of the extracts, and had a banana peel scent. The pH and viscosity values were lower than those of the formula without the extracts. However, stability tests showed that the formulations remained stable under centrifuge testing and temperature and light conditions. When tested for preservative efficacy according to the ISO 11930:2019 standard method, it was found that the banana peel extract alone could not effectively inhibit microorganisms according to the criteria of the standard. However,

when combined with ethylhexylglycerin, a preservative booster, it was able to meet the standard criteria for effective microbial inhibition.

Keywords: Antimicrobial Activity, Banana Peel, Phenolic Compounds, Preservative Efficacy, Skin Care Formulation, Stability Testing



สารบัญ

บทที่	หน้า
1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย	4
2 ทบทวนวรรณกรรม	5
2.1 กลัวยน้ำว่า	5
2.2 สารประกอบฟีนอลิก	9
2.3ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย	12
2.4 เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง	14
2.5 เชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง	16
2.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์	18
2.7 สารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์	21
2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง	24
3 ระเบียบวิธีวิจัย	26
3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้	26
3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย	28
4 ผลการวิจัย	34
4.1 สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่า	34
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่า	35
4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่า	36
4.4 การพัฒนาสูตรตำรับและการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	37
4.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	40
5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	45
5.1 สรุปผลการวิจัย	45
5.2 อภิปรายผลการวิจัย	46
5.3 ข้อเสนอแนะ	49

สารบัญ

บทที่	หน้า
รายการอ้างอิง	50
ภาคผนวก	59
ภาคผนวก ก กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	59
ภาคผนวก ข ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS	60
ภาคผนวก ค ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย	61



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
2.1 กรดอะมิโน และปริมาณที่พบโดยเฉลี่ยในเปลือกกล้วย	7
2.2 สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดจากเปลือกกล้วย	10
2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพตามแต่ละมาตรฐานกำหนด	24
2.4 เกณฑ์การประเมินการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย	25
3.1 ส่วนประกอบและปริมาณของสารในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	30
3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ	32
4.1 ร้อยละของสารสกัดและสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า	34
4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า	35
4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า	36
4.4 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	37
4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ A	41
4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ B	41
4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ C	42
4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ D	42
4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ E	43
4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ F	43
4.11 สรุปผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	44

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 ระยะการสุกของกล้วยน้ำว้า	6
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย	6
2.3 แนวทางการใช้ประโยชน์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย	9
2.4 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติ	10
2.5 เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับตัวทำละลาย (UAE)	14
2.6 ปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	16
2.7 การทดสอบด้วยวิธี Disc Diffusion และการวัดผล	19
2.8 Broth Macrodilution test	20
2.9 Broth Microdilution test	20
2.10 การทดสอบหาค่า MBC / MFC	21
4.1 สารสกัดก่อนกรอง (ก) และสารสกัดหลังการระเหยตัวทำละลายออก (ข)	35
4.2 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว	38
4.3 ลักษณะสูตรตำรับก่อนการปั่นเหวี่ยง (ก) และลักษณะสูตรตำรับ หลังการปั่นเหวี่ยง (ข)	38
4.4 ลักษณะสูตรตำรับและความคงตัวของสภาวะอุณหภูมิและแสง ที่ 1 และ 2 สัปดาห์	39

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาวิจัย

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากธรรมชาติได้รับความนิยมเพิ่มสูงมากยิ่งขึ้น โดยในปี 2025 มีมูลค่าของตลาดทั่วโลกอยู่ที่ 28.71 พันล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐ และคาดการณ์อัตราแนวโน้มการเติบโตของตลาดอยู่ที่ 2.66% ในปี 2025 – 2030 ในขณะที่ตลาดเครื่องสำอางจากธรรมชาติในประเทศไทย มีมูลค่าสูงถึง 105.46 ล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2025 และมีอัตราแนวโน้มการเติบโตคาดการณ์อยู่ที่ 4.56% ตั้งแต่ปี 2025 – 2030 โดยมุ่งเน้นให้ความสำคัญกับส่วนผสมจากธรรมชาติประจำท้องถิ่น และการเสริมความงามแบบองค์รวม ทั้งนี้มูลค่าตลาดสูงสุดของเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากธรรมชาติมาจากประเทศจีน โดยมีมูลค่า 3 – 4 พันล้านเหรียญดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2025 (Statista, 2025) นอกจากนี้ผู้บริโภคในแถบยุโรปยังให้ความสนใจและตระหนักถึงคุณประโยชน์ที่ดีในแง่ของการมีประสิทธิภาพและความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมของเครื่องสำอางจากธรรมชาติมากยิ่งขึ้น จึงสนับสนุนให้เครื่องสำอางจากธรรมชาติมีแนวโน้มที่จะเติบโตได้ดีในอนาคต (CBI, 2025) อีกหนึ่งปัจจัยที่ช่วยสนับสนุนการเติบโต คือ เนื่องจากผู้บริโภคมีความรู้สึกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติให้ความรู้สึกปลอดภัยกว่าการใช้ผลิตภัณฑ์จากสารสังเคราะห์ (ธงชัย ศรีวรรณะ, 2560)

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข มีการกำหนดห้ามไม่ให้ผลิต นำเข้า หรือจัดจำหน่ายผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคสูงเกินจากปริมาณที่กำหนดในประกาศ (กระทรวงสาธารณสุข, 2559) และเนื่องจากในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีองค์ประกอบของน้ำเป็นส่วนใหญ่ซึ่งเอื้อประโยชน์ทำให้เชื้อจุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้ง่าย จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางต้องมีการเติมสารกันเสียเป็นส่วนประกอบในสูตรตำรับเพื่อยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยชนิดของสารกันเสียที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์ เช่น สารในกลุ่มพาราเบน (paraben) หรือสารในกลุ่มแอลกอฮอล์ (alcohol) เช่น ฟีนอกซีเอทานอล (phenoxyethanol) และกลุ่มสารประกอบฮาโลเจน (Halogenated) เช่น คลอร์เฟนิซิน (Chlorphenesin) เป็นต้น เนื่องจากออกฤทธิ์ได้กว้างและมีประสิทธิภาพสูง (Alvarez-Rivera et al., 2018)

กล้วยน้ำว้าเป็นพืชที่คนไทยรู้จักและคุ้นเคยกันเป็นอย่างดี สามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกภูมิภาคในประเทศไทย เนื่องจากมีความทนทานและดูแลรักษาได้ง่าย (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, ม.ป.ป.) ทุกส่วนของต้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ผลนำไปรับประทาน ใบนำไปใช้เป็นภาชนะห่ออาหาร ปลีและหอยกล้วยสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารได้ สำหรับในเปลือกกล้วยมีการศึกษาวิจัยพบว่า เป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารพฤกษเคมีหลากหลายชนิดที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารฟีนอล (Phenols) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แทนนิน (Tannins) แร่ธาตุ (Minerals) และกรดอะมิโน (Amino Acids) เป็นต้น (Hikal et al., 2022) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกกล้วยจะพบมากในระยะเวลาสุกที่ 5 (เปลือกบริเวณต้นผลเป็นสีเหลือง ส่วนปลายเป็นสีเขียว) และ 6 (เปลือกสีเหลืองทั้งหมด ไม่มีสีเขียวบน) ของกล้วย (Vu et al., 2019) ด้วยเหตุนี้จึงสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างหลากหลายในหลายภาคอุตสาหกรรม เช่น อุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง โดยใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารกันเสียจากธรรมชาติ (Qamar & Shaikh, 2018)

มีการศึกษาวิจัยพบว่าสารประกอบฟีนอลิก เช่น Caffeic Acid, Gallic Acid, Ferulic Acid, Flavonoid, Tannin และ Dopamine มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการเปลี่ยนแปลงทำลายโครงสร้างเซลล์ เพิ่มการซึมผ่านของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น และทำให้สารประกอบภายในเซลล์จับตัวกันเป็นก้อน อีกทั้งยังไปขัดขวางการเคลื่อนที่ ยึดเกาะ และแพร่กระจายของเชื้อจุลินทรีย์ (Herman, 2019; Lino et al., 2011; Mostafa, 2021; Rathee et al., 2023; Al-Jassani, 2023)

จากการศึกษาวิจัยของ Anal et al. (2014) พบว่า การใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-Assisted Extraction [UAE]) ในการสกัดสารสกัดจากเปลือกกล้วย ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้สูงกว่าการใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ โดยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที เป็นอุณหภูมิและช่วงเวลาในการสกัดที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้สูงที่สุด นอกจากนี้ Chaudhry et al. (2022) ได้ทำการศึกษาพบว่า การใช้เอทานอลความเข้มข้น 50% เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารสกัดจากเปลือกกล้วย ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับการใช้อะซิโตนและเมทานอลในการสกัด

Saleem and Saeed (2020) พบว่า สารสกัดจากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้หลากหลายชนิด ได้แก่ แบคทีเรียแกรมบวก *Staphylococcus aureus* แบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* เชื้อรา *Aspergillus niger* และยีสต์ *Candida albicans* เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาวิจัยพบว่า การใช้อะซิโตนที่ระดับความเข้มข้น 80% เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากจากเปลือกกล้วยให้ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายอื่น ได้แก่ น้ำ เมทานอล และเอทานอล (Aboul-Enein et al., 2016)

ดังนั้นจากคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้น การค้นคว้าอิสระนี้ผู้วิจัยจึงมีความสนใจนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยไปประยุกต์ใช้เป็นสารกันเสียจากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับเปลือกกล้วยซึ่งถือว่าเป็นของเหลือใช้ในปัจจุบัน ช่วยลดปริมาณของเสียและส่งเสริมการใช้ทรัพยากรอย่างยั่งยืนเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 1.2.1 เพื่อเตรียมสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าสำหรับเป็นสารกันเสีย
- 1.2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า
- 1.2.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

- 1.3.1 เตรียมสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า ด้วยวิธี Ultrasound-Assisted Solvent Extraction โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด ได้แก่ 50% เอทานอล, 50% อะซิโตน, 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน
- 1.3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Total Phenolic Contents)
- 1.3.3 ทดสอบฤทธิ์การยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Minimum Inhibitory Concentration and Minimum Bactericidal Concentration) 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. albicans*
- 1.3.4 พัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า และทดสอบความคงตัว
- 1.3.5 ทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยในสูตรตำรับ ด้วยวิธีมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO 11930:2019)

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1.4.1 เพิ่มมูลค่าของเปลือกกล้วยน้ำว้าสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง

1.4.2 ทราบพฤติกรรมการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และประสิทธิภาพในการเป็นสารกันเสียจากธรรมชาติของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

1.4.3 เพิ่มโอกาสและเป็นแนวทางในการพัฒนาสูตรตำรับเครื่องสำอางจากธรรมชาติเพื่อเป็นทางเลือกให้กับผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น



บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 กล้วยน้ำว้า (*Musa* ABB cv'. Kluai 'Namwa')

2.1.1 ข้อมูลทั่วไป (General Information)

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Musa* ABB cv'. Kluai 'Namwa', *Musa* × *paradisica* L.

ชื่อพ้อง *Musa sapientum* L.

ชื่อวงศ์ MUSACEAE

ชื่อสามัญ Banana, Cultivated banana

กล้วยน้ำว้ามีถิ่นกำเนิดในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพืชที่ชอบบริเวณอากาศร้อนชื้น ทุกส่วนของต้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น ผลนำไปรับประทาน ใบนำไปใช้ห่ออาหาร ปลีและหยวกกล้วยสามารถนำไปปรุงเป็นอาหารได้ ในประเทศไทยกล้วยน้ำว้าได้รับความนิยมในการปลูกกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากเจริญเติบโตได้ดี สามารถดูแลรักษาได้ง่าย และทนทานต่อสภาพแวดล้อมทางดินฟ้าและอากาศได้ดี โดยแหล่งเพาะปลูกกล้วยน้ำว้าที่สำคัญในประเทศไทย (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, ม.ป.ป.) ได้แก่

1. ภาคเหนือ จังหวัดเชียงใหม่ แม่ฮ่องสอน นครสวรรค์ พิจิตร และ สุโขทัย
2. ภาคกลาง จังหวัดเพชรบุรี นนทบุรี อ่างทอง และจังหวัดประจวบคีรีขันธ์
3. ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดนครราชสีมา และจังหวัดเลย
4. ภาคใต้ จังหวัดสงขลา

2.1.2 ระยะการสุก (Ripening Stages)

การสุกของกล้วยน้ำว้าแบ่งออกเป็น 8 ระยะ โดยมีลักษณะการเปลี่ยนแปลงของสีเปลือกแต่ละระยะ (Mendoza & Aguilera, 2004; Qamar & Shaikh, 2018) แสดงในภาพที่ 2.1 ดังนี้

ระยะที่ 1 เปลือกสีเขียวเข้ม (Green)

ระยะที่ 2 เปลือกสีเขียวสว่างขึ้น (Green, Traces of Yellow)

ระยะที่ 3 เปลือกสีเขียวมากกว่าสีเหลือง (More Green than Yellow)

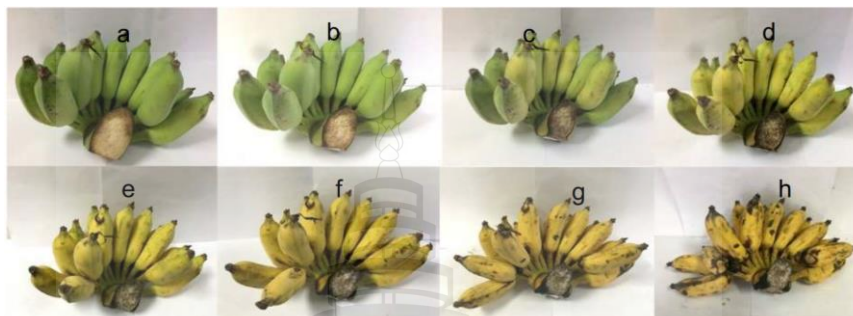
ระยะที่ 4 เปลือกสีเหลืองมากกว่าสีเขียว (More Yellow than Green)

ระยะที่ 5 เปลือกบริเวณต้นผลเป็นสีเหลือง ส่วนปลายเป็นสีเขียว (Green Tip and Yellow)

ระยะที่ 6 เปลือกสีเหลืองทั้งหมด ไม่มีสีเขียวปน (All Yellow)

ระยะที่ 7 เปลือกสีเหลือง และเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (Yellow, Flecked with Brown)

ระยะที่ 8 เปลือกสีเหลือง และมีจุดสีน้ำตาลกระจายทั่วผล (Overripe)



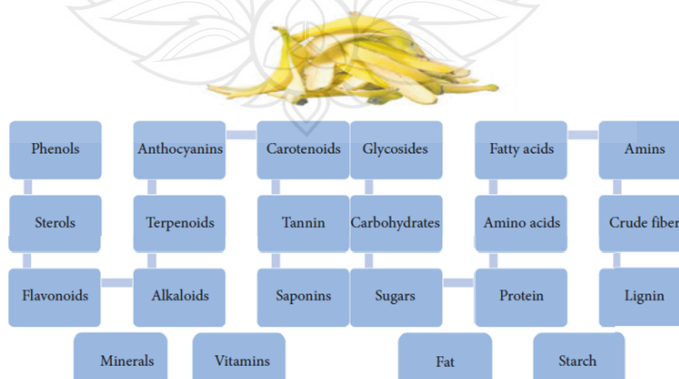
ที่มา พรรณพันธ์ แซ่ม และคณะ (2562)

ภาพที่ 2.1 ระยะการสุกของกล้วยน้ำว้า

Vu et al. (2019) ได้ทำการศึกษาวิจัยปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (TPC) ในทุกระยะการสุกของกล้วย โดยพบว่าเปลือกกล้วยที่ระยะที่ 5 และ 6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้สูงที่สุดที่ 40 – 46 mg GAE/g และมีช่วงค่า TPC เท่ากับ 30 – 46 mg GAE/g ในเปลือกกล้วยตั้งแต่ระยะ Green to Ripened

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมี (Chemical Compositions)

เปลือกกล้วยอุดมไปด้วยสารประกอบทางเคมีที่มีคุณประโยชน์มากมายหลายชนิด เช่น Minerals, Vitamins, Fat, Starch, Phenols, Sterols, Flavonoids, Anthocyanins, Terpenoids, Alkaloids, Carotenoids, Tannin, Saponins, Glycosides, Carbohydrates, Sugar, Fatty acids, Amino acid, Protein, Amines, Crude fiber และ Lignin ดังแสดงในภาพที่ 2.2



ที่มา Hikal et al. (2022)

ภาพที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของเปลือกกล้วย

แร่ธาตุ (Mineral) และปริมาณที่พบในเปลือกกล้วย ได้แก่ ฟอสฟอรัส (Phosphorus) 100 mg/100g, โซเดียม (Sodium) 115.1 mg/100g, แคลเซียม (Calcium) 59.1 mg/100g, เหล็ก (Iron) 47 mg/100g และแมกนีเซียม (Magnesium) 44.5 mg/100g (Hikal et al., 2022) สำหรับกรดอะมิโน (Amino acid) และปริมาณที่พบโดยเฉลี่ย (Wani & Dhanya, 2025) แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 กรดอะมิโน และปริมาณที่พบโดยเฉลี่ยในเปลือกกล้วย

Amino Acid	Banana Peel (g/100g protein)
Leucine	0.01 ± 0.00
Lysine	6.71 ± 0.06
Isoleucine	8.06 ± 0.04
Phenylalanine	4.98 ± 0.07
Norleucine	5.23 ± 0.06
Tryptophan	0.01 ± 0.00
Valine	0.52 ± 0.02
Methionine	5.79 ± 0.03
Proline	1.71 ± 0.02
Arginine	3.25 ± 0.05
Tyrosine	5.50 ± 0.03
Histidine	3.96 ± 0.01
Cystine	2.24 ± 0.03
Alanine	0.85 ± 0.04
Glutamic acid	5.31 ± 0.01
Glycine	13.02 ± 0.82
Threonine	6.10 ± 0.03
Serine	4.59 ± 0.04
Aspartic acid	9.06 ± 0.05
Total	86.71 ± 3.02

ที่มา Wani and Dhanya (2025)

2.1.4 ฤทธิ์ทางชีวภาพ (Biological Activity)

สารสกัดจากกล้วยมีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial Activity), ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity) รักษาโรคแผลในกระเพาะ (Antiulcerative Activity) ฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Anticancer Activity) แก้อาการท้องเสีย (Antidiarrheal Activity) ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ (Hypoglycemic Activity) และรักษาโรคนิ่ว (Antilithiatic Activity) (Qamar & Shaikh, 2018)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกล้วยเป็นผลมาจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกลุ่ม แอลคาลอยด์ (Alkaloids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แทนนิน (Tannins) และซาโปนิน (Saponins) โดยแสดงประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ประสิทธิภาพในการฟอกสี เบต้าแคโรทีน (β -Carotene Bleaching) และการรีดิวซ์ไอออนเหล็ก (Ferric Reduction Power) (Qamar & Shaikh, 2018) โดยพบว่าการสกัดเปลือกกล้วยด้วยตัวทำละลายอะซิโตนร่วมกับน้ำ แสดงประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย (Hikal et al., 2022) และ สารสกัดจากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับสารสกัดจากเนื้อกล้วย (Someya et al., 2002)

2.1.5 การประยุกต์ใช้ (Applications)

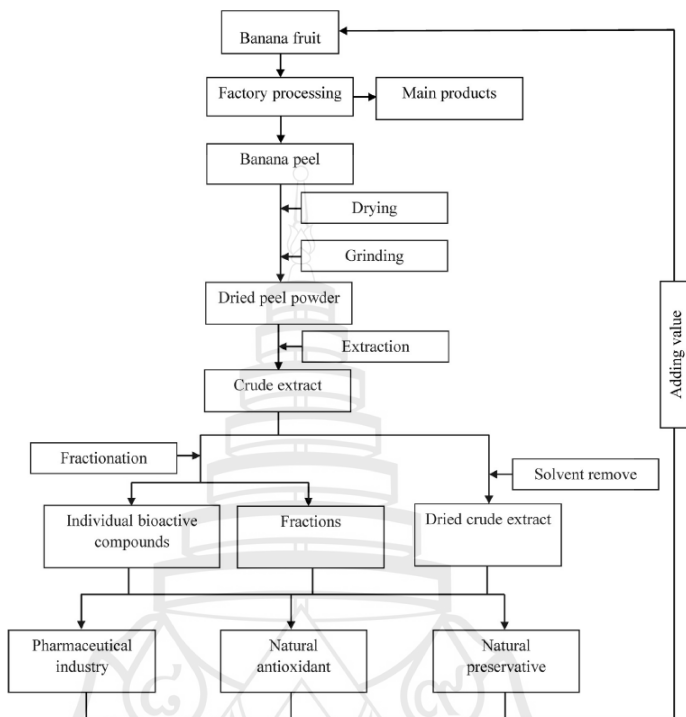
สารสกัดจากกล้วยสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้อย่างหลากหลาย ในหลายภาคอุตสาหกรรม ยกตัวอย่างเช่น ใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพหรืออาหารเสริม เนื่องจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยอุดมไปด้วยแร่ธาตุและวิตามิน เช่น Vitamin B และ C ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากเป็นแหล่งของพลังงานสูง นอกจากนี้ยังมีสรรพคุณที่ช่วยในการรักษาทางการแพทย์อีกด้วย เช่น สมานแผลที่เกิดจากไฟไหม้ และช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดใช้ในการรักษาโรคเบาหวาน รวมถึงใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารกันเสียจากธรรมชาติ ดังแสดงในภาพที่ 2.3 (Vu et al., 2018) (Qamar & Shaikh, 2018)

สำหรับการนำสารสกัดจากเปลือกกล้วยมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง มีหลายงานวิจัยด้วยกัน Cendana et al. (2020) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดจากเปลือกกล้วยในการเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว โดยเตรียมเป็นตำรับอิมัลชันเครื่องสำอาง พบว่าเมื่อใช้อย่างต่อเนื่องสามารถช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นภายในผิวให้กับอาสาสมัครผู้ทดลองใช้ได้ภายใน 4 สัปดาห์

อีกทั้งยังแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *Staphylococcus epidermidis* ที่เป็นสาเหตุของการเกิดสิว โดยแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อ มีค่า MIC เท่ากับ 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (Kumari et al., 2020)

นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพช่วยในการยับยั้งกระบวนการการสร้างเม็ดสีเมลานิน โดยการลดการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสและลดปริมาณการสร้างเมลานิน สามารถนำไปประยุกต์ใช้

ในสูตรตำรับเครื่องสำอางสำหรับบำรุงผิวที่ช่วยให้ผิวแลดูกระจ่างใสและลดเลือนจุดด่างดำได้อีกด้วย (Phacharapiyangkul et al., 2019)



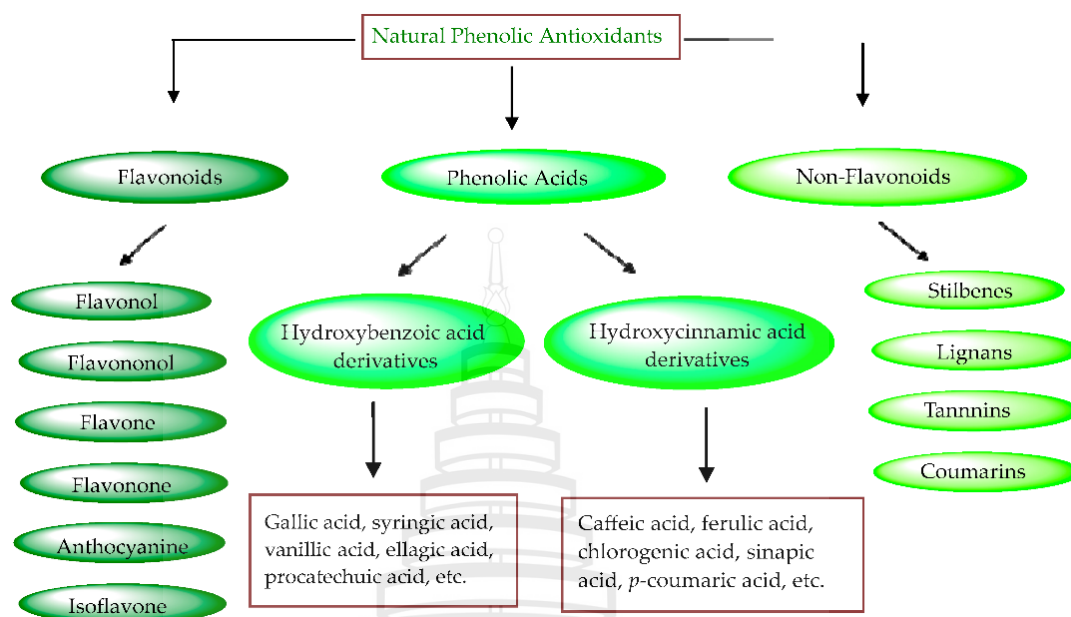
ที่มา Vu et al. (2018)

ภาพที่ 2.3 แนวทางการใช้ประโยชน์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย

2.2 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compounds) เป็นสารที่พบได้มากในพืช โดยมีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (Aromatic ring) ติดกับหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) อย่างน้อย 1 หมู่ โดยแบ่งกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติได้หลากหลายกลุ่ม ดังแสดงในภาพที่ 2.4 เช่น ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ไม่ใช่ฟลาโวนอยด์ (Non-Flavonoids) และกรดฟีนอลิก (Phenolic Acids) เป็นต้น ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีศักยภาพสูงในการต้านอนุมูลอิสระ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อีกด้วย สำหรับคุณประโยชน์ในพืช ได้แก่ ช่วยในการเจริญเติบโต และทำหน้าที่ปกป้องพืชจากศัตรูทางธรรมชาติ เช่น แมลงและเชื้อโรค

โดยสารประกอบฟีนอลิกพบได้ในส่วนเปลือกกล้วยมากกว่าส่วนเนื้อ และสารออกฤทธิ์ที่พบได้ เช่น Gallocatechin, Catecholamines, Dopamine, β -Carotene, Flavonol Glycosides, Norepinephrine และ Lutein (Qamar and Shaikh, 2018)



ที่มา Rathee et al. (2023)

ภาพที่ 2.4 กลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกจากธรรมชาติ

2.2.1 สารประกอบฟีนอลิกในเปลือกกล้วย (Phenolic Compounds in Banana Peels)

สารสกัดจากเปลือกกล้วยมีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกหลากหลายชนิด (Vu et al., 2018; Mostafa, 2021; Hikal et al., 2022) ดังแสดงโดยสรุป ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดจากเปลือกกล้วย

Class	Compound
Phenolic acids	Caffeic Acid, Chlorogenic Acid, Ferulic Acid, Gallic Acid, Cinnamic Acid, Sinapic Acid, Hydroxybenzoic Acid, Protocatechuic Acid
Flavonoids	Catechin, Chrysin, Cyanidin, Delphinidin, Flavanone Glycoside, Flavonol Glycoside, Gallocatechin, Naringenin, Quercetin, Rutin
Non- Flavonoids	Tannins
Other	Dopamine, L-dopa

สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มกรดฟีนอลิก (Phenolic Acids) เป็นที่รู้จักกันดีว่ามีฤทธิ์ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ ยกตัวอย่างเช่น กรดคาเฟอิก (Caffeic Acid) โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลายชนิด เช่น *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans*, *B. cereus*, *K. rhizophila* และ *L. monocytogenes* เป็นต้น ออกฤทธิ์ด้วยกลไกการส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ด้วยการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและรบกวนการส่งผ่านสารของเซลล์ และทำให้สารประกอบภายในเซลล์จุลินทรีย์จับตัวกันเป็นก้อน (Coagulate Cell Content) (Herman, 2019; Rathee et al., 2023)

นอกจากนี้ Gallic Acid ยังเป็นสารที่ส่งผลกระทบต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบได้เช่นเดียวกัน โดยเพิ่มการซึมผ่านของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้น อีกทั้งยังไปขัดขวางการเคลื่อนที่ ยึดเกาะ และแพร่กระจายของเชื้อได้เช่นกัน และยังมีการศึกษาวิจัยพบว่า Dopamine มีประสิทธิภาพในการทำลายโครงสร้างเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* ได้อย่างรุนแรงและรวดเร็วอีกด้วย (Mostafa, 2021)

Lino et al. (2011) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการสมานแผลหลังการผ่าตัด โดยพบว่าสารประกอบแทนนินมีประสิทธิภาพในการสมานแผลที่เกิดขึ้นให้หายเร็วมากยิ่งขึ้น ด้วยการออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยการจับกับโปรตีนภายในผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย และทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน ทำให้โครงสร้างเซลล์ของเชื้อเสียสมดุลและไม่สามารถเจริญเติบโตได้

เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Al-Jassani (2023) ที่ทำการศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa paradisiaca* L. มีสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ Caffeic Acid, Catechin, Cinnamic Acid และ Ferulic Acid โดยแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *S. aureus* ที่พบในอาหาร มีค่า MIC เท่ากับ 16 – 64 ไมโครกรัม/มิลลิกรัม

2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu เป็นเทคนิคที่ได้รับการนิยมนำมาใช้แพร่หลาย เนื่องจากมีความง่าย สามารถวิเคราะห์ผลได้อย่างรวดเร็ว และใช้เครื่องมือที่ไม่ซับซ้อน โดยอาศัยหลักการถ่ายโอนอิเล็กตรอนระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับ Folin–Ciocalteu reagent ในสถานะที่เป็นด่าง มีวิธีการทดสอบโดยการเติมสาร Folin–Ciocalteu reagent ลงในสารสกัดที่ต้องการทดสอบ จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตเพื่อให้เกิดสถานะด่าง สารรีเอเจนต์ Folin–Ciocalteu เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด จะเกิดการเปลี่ยนแปลงของสีสารละลายจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งสามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงช่วง UV-Vis (Ultraviolet–Visible Spectroscopy) (Lamuela-Raventós, 2018)

หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยการคำนวณจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Michail et al., 2016) หน่วยที่ได้แสดงเป็นมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract, GAE = Galic Acid Equivalent) ดังสมการ

2.3ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย (Antimicrobial Activity of Banana Peel Extracts)

โดยสารสกัดจากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างครอบคลุมและกว้างขวาง ต่อเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), *Escherichia coli* (*E. coli*) และ *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) เชื้อรา เช่น *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*) และยีสต์ เช่น *Candida albicans* (*C. albicans*) ซึ่งใช้วิธีการตรวจสอบฤทธิ์ด้วยวิธี Disc Diffusion หรือการทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC, MFC) (Mostafa, 2021)

2.3.1 ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Antibacterial Activity)

Mokbel and Hashinaga (2005) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยสีเขียวและสีเหลือง พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิด สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แกรมบวก *S. aureus*, *B. subtilis*, *B. cereus* และแบคทีเรียแกรมลบ *S. enteritidis*, *E. coli* ได้ทั้งหมด ทั้งนี้สารสกัดจากเปลือกกล้วยสีเขียวแสดงประสิทธิภาพที่ดีกว่า โดยมี Inhibition zones เท่ากับ 9 – 12 mm

ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Chabuck et al. (2013) ที่รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยสีเหลือง มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* และ *S. pyogenes* และเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. aerogenes*, *K. pneumoniae* และ *M. catarrhalis* ในขณะที่ไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans* โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้สูงสุด แสดงพื้นที่ Inhibition zones เท่ากับ 30 mm

จากการศึกษาของ Singh et al. (2013) โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบประเมินประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเปลือกกล้วยสีแดง สีเขียว และสีเหลืองในประเทศอินเดีย พบว่าเปลือกกล้วยสีเหลืองมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายมากที่สุด โดยยับยั้งเชื้อได้ 5 ชนิด ได้แก่ *P. citrii*, *S. aureus*, *P. vulgaris*, *S. marsescens* และ *A. hydrophila* ในขณะที่เปลือกกล้วยสีเขียวและสีแดงสามารถยับยั้งเชื้อได้เพียง 4 ชนิด

นอกจากนี้ El-Zawawy (2015) ศึกษาพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วย *Musa acuminata* แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดจากเปลือกผลไม้ชนิดอื่นอีก 7 ชนิด โดยฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ 8 ชนิด ได้แก่ *A. niger*, *A. flavus*, *P. digitatum*, *F. oxysporum*, *C. albicans*, *E. coli*, *S. aureus* และ *P. aeruginosa* และตรวจพบสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกกล้วย ดังนี้ Phenolics, Tannins, Saponins, Flavonoids และ Carotenoids

เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Rita et al. (2020) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของกล้วยท้องถิ่น 7 สายพันธุ์ในประเทศอินโดนีเซีย ได้แก่ Pisang Gunung (*Musa Salaccensis*), Pisang Raja (*Musa × paradisiaca* AAB), Pisang Susu (*Musa × paradisiaca* AAB), Pisang Kepok (*Musa × paradisiaca* ABB), Pisang Keladi (*Musa × paradisiaca* ABB), Pisang Hijau Lumut (*Musa × paradisiaca* ABB) และ Pisang Pecah Seribu (*Musa acuminata* AA) พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยทั้ง 7 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* โดยเปลือกกล้วยสายพันธุ์ Pisang Kapok มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อได้ดีที่สุด โดยมีค่าเฉลี่ยพื้นที่การยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* อยู่ที่ 13.93 ± 0.55 , และ 15.17 ± 0.42 mm ตามลำดับ

2.3.2 ฤทธิ์ต้านเชื้อราและยีสต์ (Antifungal Activity)

สารสกัดจากเปลือกกล้วยแสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราและยีสต์ในหลายงานวิจัย เช่น จากการศึกษาของ Okorundu et al. (2012) ได้ทำการศึกษาวิจัยพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วย *Musa paradisiaca* L. AAB มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *A. niger*, *A. oryzae* และ *R. stolonifera* ที่ระดับความเข้มข้น เท่ากับ 1 mg/mL และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้ โดยมีค่า MIC เท่ากับ 0.125 mg/mL, 0.25 mg/mL และ 0.50 mg/mL ตามลำดับ โดยสารสกัดจากเปลือกกล้วยแสดงประสิทธิภาพที่ดีกว่าสารสกัดจากลำต้นในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 3 ชนิด อีกทั้งยังตรวจสอบพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสารสกัด เช่น สารกลุ่มแทนนิน ซาโปนิน และฟลาโวนอยด์

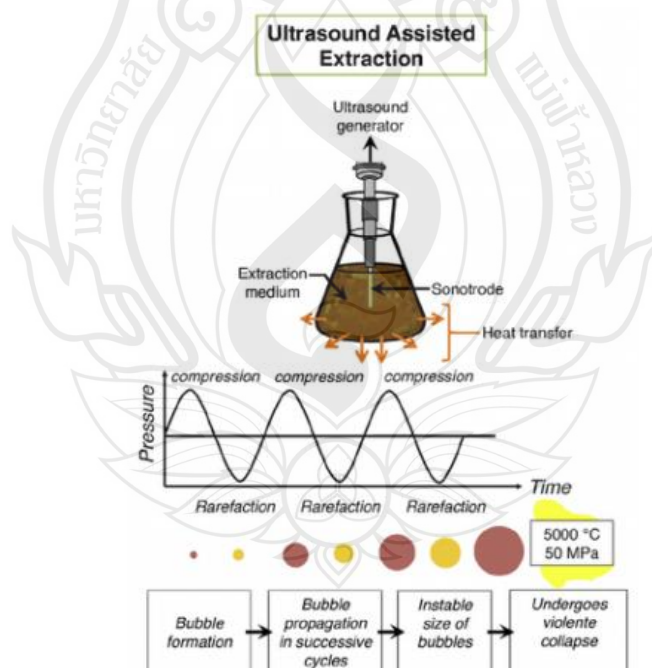
นอกจากนี้ Olakunle et al. (2019) ยังทำการศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อรา *A. alternate* และ *A. niger* ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย เปลือกส้ม เปลือกสับปะรด และเปลือกมะม่วงหิมพานต์ พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้ดีที่สุด โดยมีพื้นที่การยับยั้งเชื้อรา *A. alternate* และ *A. niger* เท่ากับ 1.37 ± 0.67 cm และ 0.83 ± 0.33 cm ตามลำดับ

สอดคล้องกับงานวิจัยของ Saleem and Saeed (2020) ที่ทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วย เปลือกส้ม และเปลือกมะนาว พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger* และยีสต์ *C. albicans* โดยมีพื้นที่การยับยั้งเชื้อ เท่ากับ 10 ± 0.2 และ 14 ± 0.3 mm ตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC) เท่ากับ 970 และ 510 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ

2.4 เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-Assisted Extraction)

การสกัดสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (UAE) หรือ อัลตราโซนิก เป็นเทคนิคที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารพฤษเคมี หรือ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยใช้เครื่องมือปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงในตัวทำละลาย เพื่อทำให้เกิดการสั่นสะเทือนเกิดเป็นฟองอากาศ (Bubble) ที่มีการยุบและขยายตัวอย่างเป็นวัฏจักรในตัวทำละลายอย่างรุนแรง เมื่อฟองอากาศยุบตัวลงอย่างรุนแรงจะทำให้เกิดแรงเฉือนในการทำลายผนังเซลล์ของพืช ช่วยให้สารออกฤทธิ์ภายในเซลล์พืชถูกปลดปล่อยออกมาในตัวทำละลาย รวมไปถึงเพิ่มอัตราการไหลของตัวทำละลายให้แทรกซึมเข้าสู่เซลล์พืชเพื่อดึงสารออกฤทธิ์ได้มากขึ้นอีกด้วย ดังแสดงตามภาพที่ 2.5

ทั้งนี้การสกัดด้วยเทคนิค UAE จะช่วยลดระยะเวลาและปริมาณตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด อีกทั้งยังช่วยเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ที่สกัดให้ได้มากขึ้น และสามารถทำได้ทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคอุตสาหกรรมเพื่อการผลิต โดยมีปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด เช่น ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย อุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด และกำลังไฟฟ้า (Sonic Power) (Gupta et al., 2012)



ที่มา Extraction Magazine (2017)

ภาพที่ 2.5 เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับตัวทำละลาย (UAE)

Chaudhry et al. (2022) ได้ทำการศึกษาวิจัยเปรียบเทียบเทคนิคการสกัดสารฟีนอลิกจากเปลือกกล้วย พบว่าการใช้เทคนิคการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมกับตัวทำละลาย ให้ปริมาณสารฟีนอลิกจากเปลือกกล้วยที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยเทคนิคการหมักแช่ (Maceration) และยังแสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. aureus*, *P.aeruginosa*, *E.coli* และ *S.cerevisiae* ได้ดีกว่าอีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีงานศึกษาวิจัยของ Anal et al. (2014) ได้เปรียบเทียบวิธีการสกัดเปลือกกล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata* Colla AAA โดยใช้เทคนิค Ultrasonic (UAE) เปรียบเทียบกับ Microwave (MAE) พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิค UAE ให้ปริมาณ Phenolic content ที่สูงกว่า โดยแสดงค่าสูงสุดที่สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 30 นาที มีค่า Phenolic content เท่ากับ 35.1 ± 1.15 มิลลิกรัม/กรัม

Ehiowemwenguan et al. (2014) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกกล้วย โดยเปรียบเทียบการใช้ตัวทำละลายเป็นน้ำและเอทานอลในการสกัด พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ให้ประสิทธิภาพที่ดีกว่าในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) ตั้งแต่ 16 mg/mL ถึง 512.5 mg/mL ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกกล้วยโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัด มีค่า MIC อยู่ระหว่าง 512.5 mg/mL ถึง $> 1,025$ mg/mL และไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 2 ชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhi*

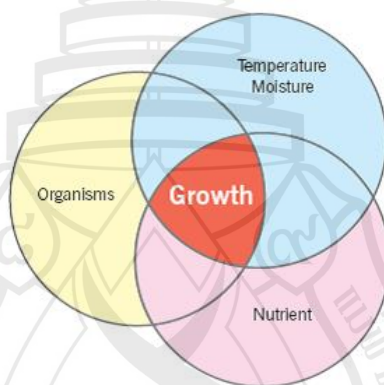
ต่อมา Aboul-Enein et al. (2016) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วย โดยใช้ตัวทำละลายที่ต่างกัน ได้แก่ น้ำ, 80% เมทานอล, 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน พบว่าสารสกัดที่ใช้ 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน ในการสกัด มีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้หลากหลายทั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ เชื้อรา และยีสต์ และสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ใช้ 80% อะซิโตน เป็นตัวทำละลาย แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีที่สุดโดยแสดงพื้นที่การยับยั้ง (Zone of Inhibition) เชื้อจุลินทรีย์ที่มากกว่า

และงานวิจัยของ เกตุการ ดาจันทา และเพชรวิวรรณ เอี่ยมพงษ์ (2562) ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบปริมาณ Total Phenolic และ Total Flavonoids ด้วยเทคนิค UAE โดยกำหนดอุณหภูมิในการสกัดที่ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 30 และ 60 นาที พบว่าการสกัดเปลือกกล้วยน้ำว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้ได้ปริมาณของ Total Phenolic และ Total Flavonoids สูงที่สุด โดยมีค่า 3.54 ± 0.34 mg GAE/g และ 3.62 ± 0.19 mg CE/g ตามลำดับ

2.5 เชื้อจุลินทรีย์ในเครื่องสำอาง (Microorganisms in Cosmetics)

เชื้อจุลินทรีย์เป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไป ซึ่งทำให้เกิดการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ง่าย โดยจะมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วหากมีอาหารและอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม ดังแสดงในภาพที่ 2.6 จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้พบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Siegert, 2005)

ตามกฎระเบียบมาตรฐานสากล เช่น ISO 17516:2014 Cosmetics — Microbiology — Microbiological limits และ EU Cosmetics Directive 76/768/EEC ได้มีข้อกำหนดเกี่ยวกับการจำกัดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (International Organization for Standardization [ISO], 2014; Alshehrei, 2024)



ที่มา Siegert (2005)

ภาพที่ 2.6 ปัจจัยสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.5.1 ประเภทของเชื้อจุลินทรีย์

ประเภทของเชื้อจุลินทรีย์ที่พบได้จากการปนเปื้อนในเครื่องสำอาง (Geis, 2021; Hamad, 2012) มีดังนี้

1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)

แบคทีเรียแกรมบวก รูปทรงกลม มีการเรียงตัวกันคล้ายพวงองุ่น เติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ที่ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 5 – 48 องศาเซลเซียส และมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญเติบโต คือ 35 – 40 องศาเซลเซียส ที่สภาวะ pH > 4 โดยประมาณ และ Minimal water activity ช่วง 0.83 – 0.92 โดยแบคทีเรียชนิดนี้พบได้ทั่วไปบนผิวหนังและเยื่อเมือกของมนุษย์ และเป็นสาเหตุก่อโรคที่ทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงบริเวณผิวหนังและเนื้อเยื่อส่วนลึก ซึ่งมักจะก่อให้เกิดลักษณะการติดเชื้อแบบที่มีหนองในผิวหนัง

2. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)

แบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างลักษณะเป็นแท่ง มี polar flagella เพื่อใช้ในการเคลื่อนที่ เติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (แต่เติบโตได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจนมากกว่า) ที่ช่วงอุณหภูมิ 20 – 40 องศาเซลเซียส สภาวะ pH > 5.6 และ Minimal water activity ในช่วง 0.96 – 0.98 สามารถรวมตัวกับแบคทีเรียชนิดอื่นเกิดเป็นไบโอฟิล์ม (Biofilm) เกาะบนผิวหนังได้ มักจะก่อให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง

3. *Escherichia coli* (*E. coli*)

แบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะรูปร่างเป็นแท่ง เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่ 35 – 40 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่เหมาะสมในการเติบโต สภาวะ pH > 4.5 และ Minimal water activity ช่วง 0.94 – 0.97 เป็นแบคทีเรียที่พบได้เป็นปกติในลำไส้ของมนุษย์ ซึ่งทำให้ตรวจพบได้ในอุจจาระเช่นกัน หากมีการปนเปื้อนอาจทำให้เกิดการติดเชื้ออย่างรุนแรงจนถึงขั้นเสียชีวิตได้

4. *Candida albicans* (*C. albicans*)

ยีสต์ก่อโรค ที่มักพบได้ในช่องปากและลำไส้ของมนุษย์ และทำให้เกิดการติดเชื้อได้ในผู้ที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยปกติสามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 25 – 37 องศาเซลเซียส (Sudbery, 2011)

5. *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*)

เชื้อรา *A. brasiliensis* หรือ *A. niger* เป็นเชื้อราที่สร้างสปอร์สีดำที่สามารถแพร่กระจายได้ง่ายและเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แม้ว่าเชื้อชนิดนี้จะไม่ได้ออกฤทธิ์เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่มีข้อจำกัดการปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง แต่ด้วยลักษณะการแพร่กระจายและเติบโตได้ง่าย หากมีการปนเปื้อนและเจริญเติบโตจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นสีดำดูไม่สวยงามน่าใช้ นอกจากนี้ยังเคยมีรายงานการตรวจพบการติดเชื้อภายในช่องหูที่เกิดจากเชื้อรา *A. niger* โดยมีสาเหตุมาจากภาวะภูมิคุ้มกันของผิวหนังบกพร่อง (Schuster, 2002)

6. *Clostridium* spp.

กลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกในสกุล *Clostridium* จัดเป็นแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตสารพิษได้จำนวนมากที่สุดเมื่อเทียบกับแบคทีเรียทุกกลุ่ม โดยก่อให้เกิดโรคได้หลากหลาย เช่น โรคทางเดินอาหาร หรืออาหารเป็นพิษ (Popoff & Bouvet, 2009) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียบางสายพันธุ์ในสกุลนี้ เช่น *C. botulinum* กลับให้คุณสมบัติที่ยอดเยี่ยมในวงการแพทย์และเครื่องสำอางในการผลิตสารออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท Botulinum Toxin หรือ Botox ซึ่งช่วยลดการทำงานของกล้ามเนื้อทำให้ริ้วรอยที่ผิวแลดูจางลง (Samul et al., 2013) อีกทั้งยังสามารถใช้ในการรักษาโรคตากระตุก และไม่เกรนได้อีกด้วย (Meretsky et al., 2024) โดย *C. botulinum* จะเติบโตได้ดีที่สุดในสภาวะ

ที่มี Minimal water activity ช่วง 0.90 – 0.98 และค่า pH เท่ากับ 4.6 – 5.0 อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียสโดยประมาณ

2.5.2 ข้อกำหนดควบคุมการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ของเครื่องสำอางในประเทศไทย

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559 ได้มีการกำหนดควบคุมชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้ที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ เป็นเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย

1. เครื่องสำอางที่ตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค ดังต่อไปนี้

- 1) ซูโดโมแนส แอรูจิโนซา (*Pseudomonas aeruginosa*)
- 2) สตาฟีโลค็อกคัส ออเรียส (*Staphylococcus aureus*)
- 3) แคนดิดา อัลบิแคนส์ (*Candida albicans*)
- 4) คลอสทริเดียม (*Clostridium spp.*) (เฉพาะเครื่องสำอางผสมสมุนไพร)

2. เครื่องสำอางที่ใช้บริเวณรอบดวงตา เครื่องสำอางที่สัมผัสเยื่อบุอ่อน และเครื่องสำอางสำหรับเด็กอายุต่ำกว่า 3 ปี ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total Aerobic Plate Count) มากกว่า 500 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

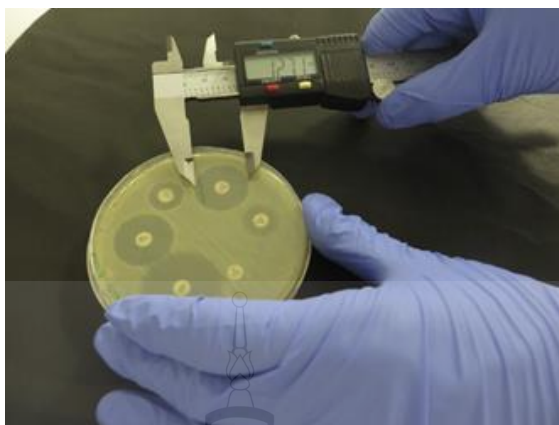
3. เครื่องสำอางอื่น นอกเหนือจากที่กำหนดไว้ในข้อ 2. ที่ตรวจพบจำนวนรวมของแบคทีเรีย ยีสต์ และรา ที่เจริญเติบโตโดยใช้อากาศ (Total Aerobic Plate Count) มากกว่า 1,000 โคโลนีต่อกรัม หรือลูกบาศก์เซนติเมตร ขึ้นไป

คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาตามข้อ (1) ให้ทดสอบตามวิธีที่ระบุไว้ในมาตรฐาน International Organization for Standardization (ISO) หรือ United States Pharmacopeia (USP) ในเรื่องที่เกี่ยวข้อง ฉบับล่าสุด หรือวิธีอื่นที่เป็นมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับ (กระทรวงสาธารณสุข, 2559)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial Activity Test)

2.6.1 การทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ด้วยวิธี Disc Diffusion

Disc Diffusion เป็นวิธีการทดสอบขั้นต้นที่รวดเร็วของประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสาร มีวิธีทดสอบโดยการเติมสารที่ต้องการทดสอบลงบนจานหลุมที่มีเชื้อจุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำไปบ่มข้ามคืน แล้วอ่านผลการทดสอบด้วยการวัดพื้นที่เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณ Clear Zone ซึ่งแสดงถึงบริเวณที่ไม่มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Jenkins & Maddocks, 2019) ตัวอย่างการทดสอบด้วยวิธี Disc Diffusion และการวัดผล แสดงดังภาพที่ 2.7

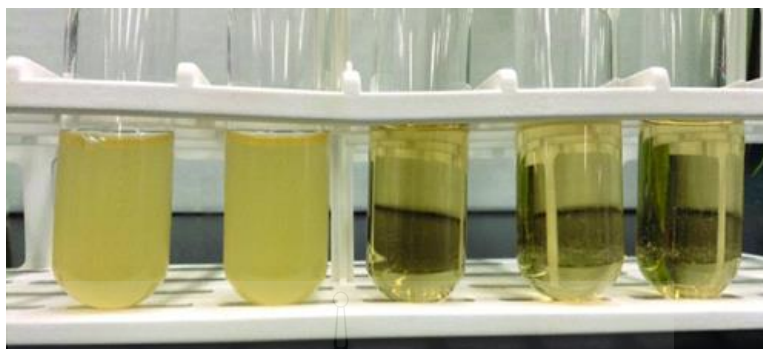


ที่มา Jenkins and Maddocks (2019)

ภาพที่ 2.7 การทดสอบด้วยวิธี Disc Diffusion และการวัดผล

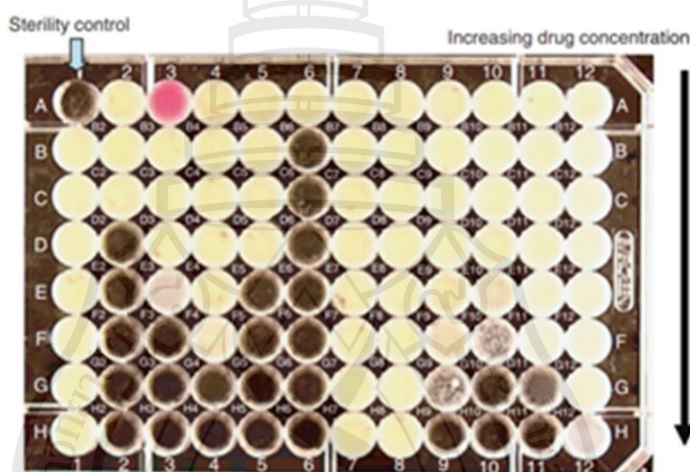
2.6.2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration [MIC])

การหาค่า MIC เป็นการหาความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารที่นำไปทดสอบในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ทำได้ 2 วิธี คือ Broth Macrodilution test และ Broth Microdilution test โดยเตรียมสารที่ต้องการทดสอบให้มีความเข้มข้นที่ต้องการเริ่มต้นในหลอดทดสอบ จากนั้นเจือจางความเข้มข้นของสารให้ลดลงทุก 2 เท่า แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบลงในหลอดทดสอบที่มีสารที่ต้องการทดสอบในแต่ละความเข้มข้น อ่านผลโดยสังเกตหลอดทดสอบที่ไม่มีความขุ่นเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารทดสอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทั้งนี้ความแตกต่างของ 2 วิธี อยู่ที่ปริมาณความเข้มข้นของสารที่ต้องการทดสอบ เนื่องจากการทดสอบด้วยวิธี Broth Microdilution test จะใช้ 96 well plate ในการทดสอบ ทำให้จำกัดปริมาณความเข้มข้นสูงสุดของสารที่ต้องการทดสอบที่ 100 – 200 ไมโครลิตรโดยประมาณ ในขณะที่วิธี Broth Macrodilution test นิยมใช้หลอดทดลองในการทดสอบ จึงทำให้สามารถทดสอบที่ปริมาณความเข้มข้นที่สูงกว่าได้ ทั้งนี้ข้อดีของการทดสอบโดยใช้ 96 well plate คือสามารถใช้ทดสอบเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดพร้อมกันได้ (ประสาพร บริสุทธิ์เพ็ชร, 2551; Ehiowemwenguan et al., 2014) แสดงตัวอย่างการทดสอบแบบ Broth Macrodilution test และ Broth Microdilution test ดังภาพที่ 2.8 และ 2.9 ตามลำดับ



ที่มา Wakim (2020)

ภาพที่ 2.8 Broth Macrodilution test

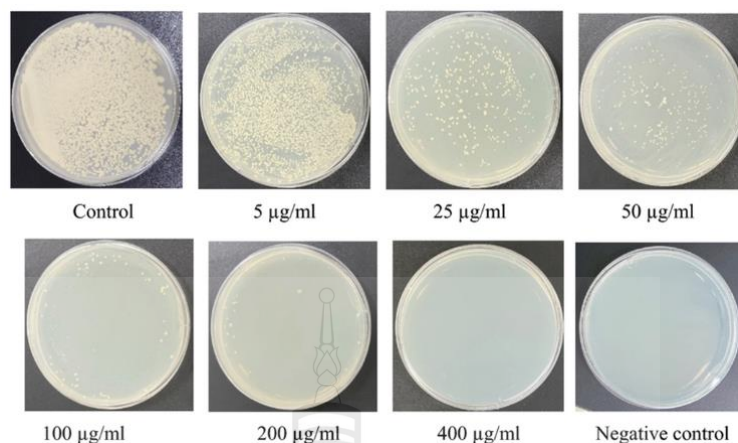


ที่มา Schmidt (2019)

ภาพที่ 2.9 Broth Microdilution test

2.6.3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bactericidal Concentration [MBC], Minimal Fungicidal Concentration [MFC])

MBC และ MFC เป็นค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารทดสอบที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียและราได้ ส่วนใหญ่มักจะทำการทดสอบต่อจากการทดสอบ MIC มาแล้วเบื้องต้น โดยนำสารทดสอบที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ หรือมีค่า MIC น้อยที่สุดมาทำการทดสอบ ด้วยการนำไปเพาะเลี้ยงต่อในจานหลุมที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปบ่ม จากนั้นอ่านผลค่า MBC / MFC โดยสังเกตจานเพาะเชื้อที่ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ ดังตัวอย่างภาพที่ 2.10



ที่มา Ulagesan et al. (2021)

ภาพที่ 2.10 การทดสอบหาค่า MBC / MFC

2.7 สารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial Preservatives)

2.7.1 ความหมาย

สารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์ (Antimicrobial Preservatives) หมายถึง สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ เป็นต้น ซึ่งอาจปนเปื้อนมาจากกระบวนการผสม การบรรจุ บรรจุภัณฑ์ และกระบวนการจัดเก็บ รวมไปถึงการใช้งานของผู้บริโภค

การเติมสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เพื่อป้องกันไม่ให้ผู้บริโภคเกิดอาการไม่พึงประสงค์หรือไม่ปลอดภัยจากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค นอกจากนี้ยังช่วยยืดอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางให้มีอายุยาวนานมากยิ่งขึ้น (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2553)

2.7.2 ประเภทของสารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์

โดยแบ่งตามแหล่งกำเนิดของสาร โดยทั่วไปมี 2 ชนิด (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2553; Siegert, 2005) ได้แก่

1. สารสังเคราะห์ (Synthetic)

เป็นสารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในปัจจุบัน เนื่องจากหาซื้อได้ง่าย มีประสิทธิภาพที่ดี และมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ครอบคลุม ตัวอย่างของสารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์สังเคราะห์ เช่น

- 1) Parabens เช่น Methylparaben, Ethylparaben, Propylparaben
- 2) Organic Acid and Their Salts เช่น Sodium benzoate, Benzoic acid

- 3) Alcohols and Derivatives เช่น Benzyl alcohol, Phenoxyethanol
- 4) Formaldehyde and Formaldehyde Releasers เช่น DMDM hydantion
- 5) Isothiazolinones เช่น Methylisothiazolinone, Methylchlorothiazolinone
- 6) Halogenated เช่น Chlorobutanol, Chloroxylenol, Chlorphenesin
- 7) Quaternary Ammonium Salts เช่น Benzalkonium chloride
- 8) Other เช่น Ethylhexylglycerin, Caprylyl glycol

2. สารจากธรรมชาติ (Natural)

สกัดจากธรรมชาติบางชนิด มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ยกตัวอย่างเช่น สารสกัดจากเมล็ดตองุ่น น้ำมันหอมระเหยสกัดจากเมล็ดสะเดาและยูคาลิปตัส เป็นต้น

ศรัณยา ธาราแสง และคณะ (2556) ได้ทำการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับประสิทธิภาพฤทธิ์การกันเสียของสารสกัดจากผลพลึงกาสาและเปลือกมังคุด โดยเตรียมเป็นสูตรตำรับครีม กำหนดปริมาณที่ใช้ของสารสกัดจากผลพลึงกาสาที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกมังคุดร้อยละ 0.5 ทดสอบประสิทธิภาพฤทธิ์การกันบูดด้วยวิธี Antimicrobial effectiveness ตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930 (2012) เป็นระยะเวลา 28 วัน จากการศึกษาพบว่าสารสกัดจากผลพลึงกาสาและสารสกัดจากเปลือกมังคุดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 ได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดทั้ง 2 ชนิดยังไม่มีประสิทธิภาพฤทธิ์การกันบูดได้เพียงพอที่จะใช้ในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและยา เนื่องจากไม่สามารถยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 ยีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 รวมไปถึงแบคทีเรีย *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Escherichia coli* ATCC 8793 เช่นเดียวกัน

ต่อมาทีมงานศึกษาวิจัยของ ปิยนุช พรหมภมร และคณะ (2565) ที่ทำการศึกษาประเมินการใช้สารสกัดจากสมอไทยเพื่อใช้เป็นสารกันเสียจากธรรมชาติ ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดสมอไทยที่ร้อยละ 0.5 ในสูตรตำรับอิมัลชัน และทดสอบประเมินประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียด้วยวิธี Challenge test ตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930 (2019) พบว่าสารสกัดสามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *E. Coli* ได้ แต่ยังไม่มีความมีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อในกลุ่มยีสต์และรา ได้แก่ *C. albicans* และ *A. brasiliensis*

อย่างไรก็ตาม Mauricio et al. (2017) ได้ทำการศึกษาวิจัยโดยใช้สารสกัดจากธรรมชาติ Nisin ปริมาณ 0.0125% ร่วมกับสารกันเสียสังเคราะห์ Imidazolidinyl urea ปริมาณ 0.15% และ 0.35% ของสารกันเสียสังเคราะห์ผสมระหว่าง Phenoxyethanol, Ethylparaben และ Methylparaben (Microcare PM2®, Thor, France) เป็นสารกันเสียต้านเชื้อจุลินทรีย์ในสูตรตำรับ

เครื่องสำอางในรูปแบบอิมัลชัน โดยใช้วิธีการทดสอบประเมินประสิทธิภาพด้วยวิธี Challenge Test ตามมาตรฐาน ISO 11930 (2012) ผลการวิจัยพบว่าการใช้สารกันเสียสังเคราะห์ร่วมกับสารสกัดจากธรรมชาติ ส่งผลทำให้มีประสิทธิภาพสามารถช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในสูตรตำรับเครื่องสำอางได้ และยังให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อที่ดีกว่าการใช้สารกันเสียสังเคราะห์เพียงอย่างเดียวได้อีกด้วย

นอกจากนี้ยังมีงานศึกษาวิจัยที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติร่วมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสีย (Preservative Booster) เพื่อใช้เป็นระบบในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสูตรตำรับเครื่องสำอาง โดย Varvaresou et al. (2009) ได้ทำการทดลองโดยใช้สารสกัดจาก *Lonicera* ความเข้มข้น 0.2% ร่วมกับ Glyceryl Caprylate ที่ความเข้มข้น 1% ในสูตรตำรับอิมัลชัน และแชมพู เมื่อนำไปทำการทดสอบ Challenge Test พบว่าทั้ง 2 สูตรผลิตภัณฑ์ผ่านเกณฑ์การทดสอบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระบบที่ใช้สารสกัดจากธรรมชาติร่วมกับสารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสียมีประสิทธิภาพในการต้านการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้

2.7.3 สารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสีย (Preservative Booster)

สารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสีย หมายถึงสารที่เติมลงในสูตรตำรับเครื่องสำอางเพื่อทำหน้าที่ช่วยเสริมฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งช่วยลดปริมาณการใช้สารกันเสียที่มีความเข้มข้นสูงที่อาจก่อให้เกิดอาการแพ้หรือระคายเคืองได้ นอกเหนือจากนี้ยังมอบคุณสมบัติในด้านอื่นที่เป็นประโยชน์อีกด้วย ในปัจจุบันมีสารหลายชนิดที่ได้รับการพิสูจน์แล้วว่ามีส่วนช่วยเสริมฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารกันเสีย เช่น Ethylhexylglycerin, Pentyleneglycol, 1,2-Hexanediol, Caprylyl Glycol และ Glyceryl Caprylate เป็นต้น (Herman, 2019)

Ethylhexylglycerin เป็นสารที่ช่วยเสริมฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติและประโยชน์ในการมอบคุณค่าชุ่มชื้นให้ผิวและช่วยเพิ่มสัมผัสที่ดีให้กับสูตรตำรับเครื่องสำอางเนื่องจากมีโครงสร้างที่คล้ายกับสารช่วยลดแรงตึงผิว จึงส่งผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้มีแรงตึงผิวที่ลดลง ช่วยให้สารกันเสียซึมผ่านเข้าไปยังภายในเซลล์ได้มากขึ้นเพื่อยับยั้งและทำลายการเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณความเข้มข้นที่แนะนำให้ใช้ เท่ากับ 0.3 – 1.0% (Tang and Du, 2024)

จากการศึกษาของ Langsrud et al. (2016) พบว่าการใช้ 0.075% Ethylhexylglycerin ร่วมกับ 0.675% Phenoxyethanol แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *E. coli* ได้อย่างรวดเร็วภายใน 30 นาที จากการที่เยื่อหุ้มเซลล์ได้รับความเสียหาย จนเกิดการรั่วไหลของสารประกอบภายในเซลล์และความผิดปกติในการสร้างพลังงานของเซลล์ ในขณะที่การใช้ Ethylhexylglycerin และ Phenoxyethanol ที่ระดับความเข้มข้นเท่ากันเพียงอย่างเดียว ไม่แสดงประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *E. coli* โดย Ethylhexylglycerin ส่งผลต่อความเสียหายของผนังเยื่อหุ้มเซลล์แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้

2.8 การทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง (Preservative Efficacy Test)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสีย (Preservative Efficacy Test [PET]) หรือที่นิยมเรียกอีกอย่างว่า Challenge Test มีหลายมาตรฐานที่สามารถใช้อ้างอิงวิธีในการตรวจสอบได้ เช่น ISO 11930:2019 Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product, USP <51> Antimicrobial Effectiveness Testing, Ph. Eur. 5.1.3 Efficacy of Antimicrobial Preservation หรือการทดสอบทางเลือกจากภาคเอกชน เช่น Koko test โดยเป็นการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไปในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและทำการวิเคราะห์วัดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ตามระยะเวลาที่กำหนดของแต่ละวิธีมาตรฐานการทดสอบเพื่อประเมินประสิทธิภาพของสารกันเสียในสูตรตำรับว่ามีประสิทธิภาพเพียงพอในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์หรือไม่ ทั้งนี้ประเภทหรือชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบขึ้นอยู่กับแต่ละมาตรฐานวิธีที่กำหนด (Moser & Meyer, 2011; Siegert, 2010; กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2566; ISO, 2019) ดังแสดงสรุปในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบประสิทธิภาพตามแต่ละมาตรฐานกำหนด

ISO 11930:2019	USP <51>	Ph. Eur. 5.1.3	Koko test
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	<i>Aspergillus brasiliensis</i>		<i>Aspergillus brasiliensis</i>
			<i>Enterobacter gergoviae</i>
			<i>Klebsiella pneumoniae</i>
			<i>Pseudomonas fluorescens</i>
			<i>Pseudomonas putida</i>
			<i>Kocuria rhizophila</i>
			<i>Penicillium funiculosum</i>

ISO 11930:2019 Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product เป็นมาตรฐานสากลที่ใช้สำหรับการประเมินประสิทธิภาพของสารกันเสียในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง ทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ 5 ชนิด และแบ่งการประเมินเป็น Criteria A และ Criteria B โดย Criteria A เป็นเกณฑ์การประเมินที่เข้มงวด แนะนำสำหรับสูตรตำรับทั่วไป เพื่อลดโอกาสการปนเปื้อนและเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ ในขณะที่

Criteria B เหมาะสำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีความเสี่ยงของการปนเปื้อนเชื้อต่ำ เช่น บรรจุในบรรจุภัณฑ์แบบเปิดใช้งานครั้งเดียวทิ้ง หรือขวดปั๊มสุญญากาศ (Airless Pump) เป็นต้น สำหรับเกณฑ์การประเมินการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียตามมาตรฐาน ISO 11930:2019 ดังสรุปในตารางที่ 2.4

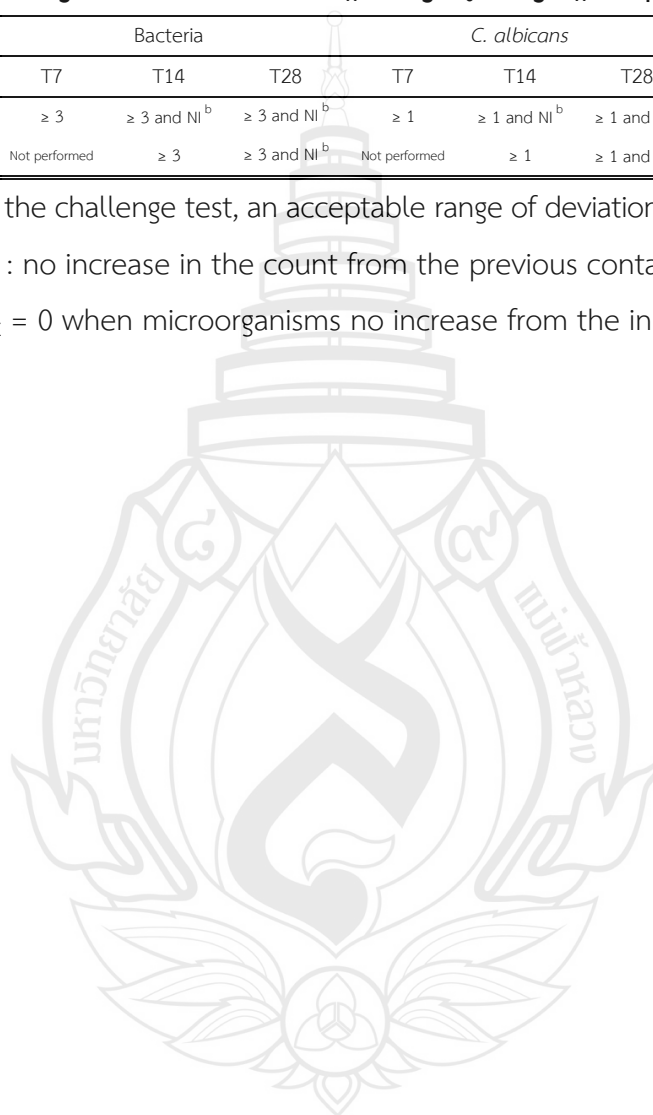
ตารางที่ 2.4 เกณฑ์การประเมินการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย

Log reduction values ($R_x = \log N_0 - \log N_x$) required ^a								
Microorganisms	Bacteria			<i>C. albicans</i>			<i>A. brasiliensis</i>	
Sampling time	T7	T14	T28	T7	T14	T28	T14	T28
Criteria A	≥ 3	≥ 3 and NI ^b	≥ 3 and NI ^b	≥ 1	≥ 1 and NI ^b	≥ 1 and NI ^b	≥ 0 ^c	≥ 1
Criteria B	Not performed	≥ 3	≥ 3 and NI ^b	Not performed	≥ 1	≥ 1 and NI ^b	≥ 0 ^c	≥ 0 and NI ^b

หมายเหตุ ^a In the challenge test, an acceptable range of deviation of 0.5 log is accepted

^b NI : no increase in the count from the previous contact time

^c $R_x = 0$ when microorganisms no increase from the initial count



บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมี และเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

3.1.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- | | |
|---|-------------------------------|
| 1. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง | Percisa XB 2200C, Switzerland |
| 2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง | Mettler Toledo, Switzerland |
| 3. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) | Memmert, Germany |
| 4. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง UV-Vis | Thermo Fisher Scientific, USA |
| 5. เครื่องอัลตราโซนิกบาร | Crest 690DAE, Malaysia |
| 6. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) | Hermle Z 206 A, Germany |
| 7. เครื่องระเหยสุญญากาศ | Heidolph, Germany |
| 8. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette) | Gilson, France |
| 9. เครื่องผสมสาร (Vortex Miner) | Ohaus VXMNAL, USA |
| 10. เตาให้ความร้อน (Hotplate) | E.G.O, Germany |
| 11. เครื่องวัดค่า pH (pH Meter) | Mettler Toledo, Switzerland |
| 12. เครื่องปั่น (Blender) | Hibell, Korean |
| 13. ตู้แช่เย็น | Haier, China |
| 14. Pantone Color Viewing Light | Just Normlicht, Germany |
| 15. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Cooling Incubator) | Sanyo, Japan |
| 16. เครื่องปั่นผสมแบบละเอียด (Homogenizer) | Primix, Japan |
| 17. เครื่องวัดความหนืด (Viscosity Meter) | Brookfield, USA |
| 18. ตัวกรองแบบเข็มฉีดยา (Syringe Filter) ขนาด 0.45 micron | |
| 19. ไมโครเพลท (Microplate) | |
| 20. ตู้บ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ (Incubator) | |
| 21. จานเพาะเชื้อ (Petri Dish) | |
| 22. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ แบบทำเย็น (Cooling Bath) | |
| 23. เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) | |

3.1.2 สารเคมี

1. กลัวยน้ำว่า	จังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย
2. น้ำปราศจากไอออน (DI Water)	
3. เอทานอล (Ethanol)	Merck, Germany
4. อะซิโตน (Acetone)	Merck, Germany
5. Folin–Ciocalteu’s Reagent	Merck, Germany
6. Sodium Carbonate	Supelco, Germany
7. Galic Acid	Merck, Germany
8. Dimethyl Sulfoxide (DMSO)	Carlo erba, Italy
9. Disodium EDTA	BASF, Germany
10. Carbomer (Carbopol 940)	Lubrizol, USA
11. Glycerin	Thai Glycerine, Thailand
12. Xanthan Gum	DuPont, USA
13. Caprylic/Capric Triglyceride	BASF, Germany
14. Dimethicone	Dow Chemical, USA
15. Sorbitan Stearate	Arxada, USA
16. Triethanolamine	Sabic, Saudi Arabian
17. Ethylhexylglycerin	Schülke, Germany
18. Glyceryl Stearate & PEG-100 Stearate (TEGO CARE 450)	Evonik, Germany
19. Shea Butter	Henry Lamotte, Germany
20. Cetyl Alcohol	Thai Fatty Alcohols, Thailand
21. Polysorbate 60	Indorama Ventures Oxides, India
22. Muller Hinton Agar (MHA)	
23. Mueller Hinton Broth (MHB)	
24. Sabouraud Dextrose Agar (SDA)	
25. Sabouraud Dextrose Broth (SDB)	
26. Tryptic Soy Agar (TSA)	
27. Potato Dextrose Agar (PDA)	
28. Tryptone Sodium Chloride Solution (MRD)	
29. TSB-Soy Lecithin- Polysorbate 20, 80 (TSP)	

30. Fluid Casein Digest-Soy Lecithin-Polysorbate 20, 80 Broth

31. Peptone Saline Diluent

3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*)
2. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*)
3. *Candida albicans* (*C. albicans*)
4. *Escherichia coli* (*E. coli*)
5. *Aspergillus brasiliensis* (*A. brasiliensis*)

3.2 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.2.1 การเตรียมเปลือกกล้วยน้ำว้า

กล้วยน้ำว้าจากจังหวัดเพชรบุรี ประเทศไทย ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2566 อยู่ในระยะการสุกที่ 5 (เปลือกบริเวณต้นผลเป็นสีเหลือง ส่วนปลายผลเป็นสีเขียว) และ 6 (เปลือกสีเหลืองทั้งหมด ไม่มีสีเขียวปน) นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำ ปลอกนำเฉพาะส่วนเปลือกกล้วยมาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1x1 ตารางเซนติเมตร โดยประมาณ นำเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเปลือกกล้วยที่ผ่านการอบแห้งแล้วมาบดเป็นผงให้ละเอียดโดยใช้เครื่องปั่น แล้วร่อนผงผ่านตะแกรง ขนาด 40 เมช และเก็บตัวอย่างไว้ในที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมทำการสกัดต่อไป (Chaudhry et al., 2022)

3.2.2 การสกัดสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

นำผงเปลือกกล้วยน้ำว้าที่เตรียมไว้มาสกัด โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasound-assisted Solvent Extraction) และตัวทำละลาย 50% เอทานอล 50% อะซิโตน 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน ในการสกัด อัตราส่วนผงเปลือกกล้วย : ตัวทำละลาย เท่ากับ 1:20 (w/v) ตั้งอุณหภูมิในการสกัดที่ 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 และนำสารสกัดไปปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) เพื่อแยกผงเปลือกกล้วยออกจากสารสกัดอย่างละเอียดอีกครั้ง แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุน (Rotary Evaporator) โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายระเหยหมด (Anal et al., 2012) จะได้สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นคำนวณหาร้อยละของสารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักของผงเปลือกกล้วยน้ำว้า (%yield) พร้อมบันทึกลักษณะสมบัติทางกายภาพที่ได้ และเก็บสารสกัดไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

$$\%Yield = (\text{ปริมาณน้ำหนักรสสกัดเริ่มต้นที่ใช้} / \text{ปริมาณน้ำหนักรสสกัดที่ได้หลังการสกัด}) \times 100$$

3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัด

ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกด้วยวิธี Folin–Ciocalteu โดยอ้างอิงจาก Chaudhry et al., (2022) นำสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่สกัดได้จากข้อ 3.2.2 โดยรวมผสมสารสกัดที่ทำการสกัดซ้ำ 3 ครั้งในแต่ละตัวทำละลายจนเข้ากันดี จากนั้นจึงแบ่งสารสกัดมาปริมาณ 0.015 กรัม เติมตัวทำละลาย DMSO ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างสารละลายที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำตัวอย่างสารละลายมา 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสาร 10% Folin–Ciocalteu's reagent ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และเติม 7.5% Sodium Carbonate ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารให้เข้ากันดี นำไปตั้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยใช้กรดแกลลิกที่มีความเข้มข้นต่างๆ (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200 และ 400 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) เป็นสารมาตรฐาน ทำการทดลองเช่นเดียวกันในสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 4 ชนิด (50% เอทานอล, 50% อะซิโตน, 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน) โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง และหาปริมาณสารฟีนอลิกของสารสกัดจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก หน่วยที่ได้แสดงเป็นมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract, GAE = Galic Acid Equivalent)

3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์

3.2.4.1 การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Inhibitory Concentration [MIC])

ทดสอบด้วยวิธี Broth Microdilution method (Sirajudin et al., 2014) โดยทำการละลายสารสกัดด้วย DMSO จากนั้นเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (สำหรับแบคทีเรีย), Sabouraud Dextrose Broth (สำหรับยีสต์) กรองด้วย Syringe Filter ความละเอียด 0.45 ไมครอน และเจือจางสารสกัดลดลงทุก 2 เท่า ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยค่าความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัด คือ 100, 50, 25, 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.78, 0.39 และ 0.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

เตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922 และ *C. albicans* ATCC 10231 โดยเชื้อแบคทีเรียเลี้ยงบนอาหาร Muller Hinton Agar และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สำหรับยีสต์เลี้ยงบนอาหาร Sabouraud Dextrose Agar บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเตรียมสารละลายจุลินทรีย์แต่ละชนิดใน 0.85% NaCl เทียบความขุ่นให้ได้เทียบเท่ากับ McFarland No.5 (1×10^8 CFU/mL) และเจือจางลง 200 เท่าในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด

จากนั้นนำสารสกัดที่เตรียมไว้ในแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมลงใน 96 well plate แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบที่ความเข้มข้น 5×10^5 CFU/mL ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมลงไปในแต่ละหลุมทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 – 24 ชั่วโมง (สำหรับแบคทีเรีย) และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (สำหรับยีสต์) โดยมีหลุมทดสอบที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อและ DMSO เป็น Sterility Control และหลุมทดสอบที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ, DMSO และเชื้อจุลินทรีย์เป็น Growth Control อ่านผลค่า MIC โดยสังเกตหลุมทดสอบที่ไม่มีความขุ่น คือ ค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.4.2 การค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Minimum Bactericidal Concentration[MBC], Minimal Fungicidal Concentration[MFC])

ทำการทดสอบต่อจากการหาค่า MIC โดยนำสารสกัดตั้งแต่วันที่ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้มาทำการทดสอบ โดยนำสารสกัดมา spread ลงบนจานเพาะที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (สำหรับแบคทีเรีย), Sabouraud Dextrose Broth (สำหรับยีสต์) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง (สำหรับแบคทีเรีย) และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (สำหรับยีสต์) อ่านผลค่า MBC โดยสังเกตจานเพาะเชื้อที่ไม่พบ การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Sirajudin et al., 2014) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.5 การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า และการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมี

พัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีลักษณะโครงสร้างสูตรเป็น oil in water emulsion ทั้งหมด 6 สูตรตำรับ ส่วนประกอบและปริมาณของสารในแต่ละสูตร ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบและปริมาณของสารในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

Part	Name	Formula	Formula	Formula	Formula	Formula	Formula	Function
		A	B	C	D	E	F	
		%w/w						
A	Water	81.780	80.280	80.530	80.530	79.030	79.030	Solvent
	Disodium EDTA	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	0.100	Chelating agent
	Carbomer	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	Viscosity Controlling
B	Glycerin	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	Humectant
	Xanthan Gum	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	0.020	Viscosity Controlling
C	Water	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	5.000	Solvent
	Glycerin	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	Humectant
	Banana Peel Extract (50% Acetone)	-	-	1.250	-	1.250	-	Active ingredient
	Banana Peel Extract (80% Acetone)	-	-	-	1.250	-	1.250	Active ingredient

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

Part	Name	Formula	Formula	Formula	Formula	Formula	Formula	Function
		A	B	C	D	E	F	
%w/w								
D	Caprylic/Capric Triglyceride	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	Skin Conditioning
	Dimethicone	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	Skin Conditioning
	Cetyl Alcohol	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	Skin Conditioning
	Polysorbate 60	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	1.500	Emulsifying agent
	Sorbitan Stearate	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	0.300	Emulsifying agent
	Glyceryl Stearate & PEG-100 Stearate	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	Emulsifying agent
	Shea Butter	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	Skin Conditioning
E	Water	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	2.000	Solvent
	Triethanolamine	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	0.400	pH Adjuster
F	Water	-	1.000	-	-	1.000	1.000	Solvent
	Ethylhexylglycerin	-	0.500	-	-	0.500	0.500	Preservative Booster
	Total	100	100	100	100	100	100	

ขั้นตอนกระบวนการผสมสูตรทำได้โดย ปั่นผสมสารใน Part A จนละลายเข้ากันดี ที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส จากนั้นกวนผสมสารใน Part B จนกระจายตัวดี แล้วเติมลงใน Part A ปั่นผสมจนสารละลายเข้ากันดี อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมผสมลงใน Part AB ปั่นผสมจนสารละลายเข้ากันดี โดยใช้เวลาประมาณ 5 นาที นำ Part D ไปหลอมจนละลายดีที่อุณหภูมิ 70 – 75 องศาเซลเซียส แล้วเติมผสมใช้แรงผสมที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารใน Part E ลงไป ใช้แรงผสมที่ความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เพื่อผสมให้เข้ากัน ทำการลดอุณหภูมิสูตรตำรับ จนมีอุณหภูมิอยู่ที่ 45 – 50 องศาเซลเซียส แล้วเติมผสมสารใน Part F ใช้แรงผสมความเร็วรอบ 3,500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที แล้วลดอุณหภูมิสูตรตำรับอีกครั้ง จนมีอุณหภูมิอยู่ที่ 30 – 35 องศา ประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมีของสูตรตำรับ ได้แก่ Texture, Color, Odor, pH และ Viscosity

3.2.6 การทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับ

ทำการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับ 2 ขั้นตอน ดังนี้

1. ทดสอบด้วยการปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Testing) ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ตรวจสอบลักษณะการแยกชั้นของสูตรตำรับ (Akhtar, 2010)
2. ทดสอบภายใต้สภาวะอุณหภูมิและแสง (Temperature Stability Testing and Photostability Testing) ทั้งหมด 6 สภาวะ ได้แก่ 4 องศาเซลเซียส, 25 – 30 องศาเซลเซียส (Room Temperature), 40 องศาเซลเซียส, 50 องศาเซลเซียส, Freeze-thaw Cycles (อุณหภูมิ - 10 องศาเซลเซียส ถึงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส, 2 Cycle นาน 24 ชั่วโมง) และตู้แสงที่ระดับความ

เข้มแสง 1,000 ลักซ์ (Lux) ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ทุก 1 สัปดาห์ โดยใช้ระยะเวลาการทดสอบทั้งหมด 2 สัปดาห์ (Anchisi, 2001; Dayan, 2017; Cosmetics Europe – The Personal Care Association, 2004)

3.2.7 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

ทดสอบด้วยวิธี Challenge Test ตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930:2019 โดยทำการทดสอบกับเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 5 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *C. albicans* ATCC 10231 และ *A. brasiliensis* ATCC 16404 ทำการทดสอบโดยชั่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ปริมาณ 20 กรัม/เชื้อทดสอบ แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการทดสอบปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ลงในผลิตภัณฑ์ กวนผสมให้เชื้อกระจายตัวเข้ากันดี แล้วแบ่งตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่เติมเชื้อแล้วมาบ่มเพาะเลี้ยงเพื่อดูปริมาณของเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง ดังแสดงในตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสภาวะการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อ

เชื้อจุลินทรีย์	อาหารเลี้ยงเชื้อ	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลา
<i>S. aureus</i>	TSA	32.5 ± 2.5	48 – 72 ชั่วโมง
<i>P. aeruginosa</i>			
<i>E. coli</i>			
<i>C. albicans</i>	SDA	32.5 ± 2.5	48 – 72 ชั่วโมง
<i>A. brasiliensis</i>	PDA	25.0 ± 2.5	5 – 7 วัน

อ่านผลนับจำนวนเชื้อเริ่มต้นที่เกิดขึ้น (log CFU/g) แล้วทำการทดสอบซ้ำอีกครั้งในวันที่ 7, 14 และ 28 ของการเก็บผลิตภัณฑ์ สำหรับเชื้อ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. albicans* และในวันที่ 14 และ 28 สำหรับเชื้อ *A. brasiliensis* การวิเคราะห์ผลการทดสอบอ้างอิงตาม Criteria A โดยในเชื้อแบคทีเรียจะต้องมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณเชื้อ (Log Reduction) ได้ไม่ต่ำกว่า 3 log ในวันที่ 7 ของการทดสอบ (เมื่อเทียบกับปริมาณของเชื้อในผลิตภัณฑ์เริ่มต้น) และต้องไม่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้อแบคทีเรียในวันที่ 14 และ 28 ของการทดสอบ ในยีสต์จะต้องมีประสิทธิภาพในการลดปริมาณไม่ต่ำกว่า 1 log ในวันที่ 7 และต้องไม่มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณยีสต์ในวันที่ 14 และ 28 ของการทดสอบ และในเชื้อราจะต้องไม่ทำให้เชื้อราเพิ่มปริมาณเพิ่มขึ้นจากเริ่มต้นเมื่อตรวจนับในวันที่ 14 และจะต้องลดปริมาณเชื้อราได้ไม่ต่ำกว่า 1 log ในวันที่ 28 ของการทดสอบ จึงจะถือว่าสารสกัดมีประสิทธิภาพในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

(กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2566; ปิยนุช พรหมภมร และคณะ, 2565) โดยค่าทั้งหมดยอมรับช่วงการเบี่ยงเบนได้ไม่เกิน 0.5 log

3.2.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics Version 21 ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลด้วยวิธี One-Way Analysis of Variance (One-Way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\text{-values} < 0.05$) และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยเทคนิค Duncan



บทที่ 4

ผลการวิจัย

4.1 สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

การสกัดสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้า ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง โดยใช้ 50% อะซิโตน 80% อะซิโตน 50% เอทานอล และ 80% เอทานอล เป็นตัวทำละลาย จะได้ร้อยละของสารสกัดและสมบัติทางกายภาพ แสดงดังตารางที่ 4.1 โดยพบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% อะซิโตน ทำให้ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุด คือ ร้อยละ 23.19 ± 0.90 รองลงมาคือ 50% เอทานอล, 80% อะซิโตน และ 80% เอทานอล ได้ปริมาณสารสกัด ร้อยละ 20.93 ± 1.61 , 11.75 ± 1.52 และ 11.73 ± 1.60 ตามลำดับ

ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด แสดงดังภาพที่ 4.1 โดยพบว่าสารสกัดที่ใช้ 50% อะซิโตน และ 50% เอทานอล เป็นตัวทำละลายในการสกัด จะได้ลักษณะของสารสกัดเป็นผงแห้งสีน้ำตาล ในขณะที่สารสกัดที่ใช้ 80% อะซิโตน และ 80% เอทานอล ให้ลักษณะสารสกัดเป็นของเหลวหนืด สีเหลืองอมน้ำตาล

ตารางที่ 4.1 ร้อยละของสารสกัดและสมบัติทางกายภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

ตัวทำละลาย	ร้อยละผลได้ของสารสกัด	สมบัติทางกายภาพ
50% Ethanol	20.93 ± 1.61^a	ผง สีน้ำตาล-เหลือง มีกลิ่นของเปลือกกล้วยน้ำว้า
50% Acetone	23.19 ± 0.90^a	ผง สีน้ำตาล-เหลือง มีกลิ่นของเปลือกกล้วยน้ำว้า
80% Ethanol	11.73 ± 1.60^b	ของเหลวหนืด สีเหลือง-น้ำตาล มีกลิ่นของเปลือกกล้วยน้ำว้า
80% Acetone	11.75 ± 1.52^b	ของเหลวหนืด สีเหลือง-น้ำตาล มีกลิ่นของเปลือกกล้วยน้ำว้า

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, $n=3$ และตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงความแตกต่างกันของของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p\text{-values} < 0.05$



ภาพที่ 4.1 สารสกัดก่อนกรอง (ก) และสารสกัดหลังการระเหยตัวทำละลายออก (ข)

4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกัน 4 ชนิด พบว่าการใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัดให้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด

โดยการสกัดด้วยตัวทำละลาย 80% อะซิโตน ได้ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ 19.92 ± 0.39 mg GAE/g extract รองลงมาคือสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วย 50% อะซิโตน มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 15.73 ± 0.10 mg GAE/g extract และสารสกัดที่ได้จาก 50% เอทานอล มีค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด เท่ากับ 6.88 ± 0.04 mg GAE/g extract แสดงค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

ตัวทำละลาย	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/g extract)
50% Ethanol	6.88 ± 0.04^d
50% Acetone	15.73 ± 0.10^b
80% Ethanol	8.31 ± 0.16^c
80% Acetone	19.92 ± 0.39^a

หมายเหตุ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน, $n=3$ และตัวอักษรยกภาษาอังกฤษแสดงถึงความแตกต่างกันของของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายแตกต่างกัน โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ $p\text{-values} < 0.05$

4.3ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ใช้ตัวทำละลายในการสกัดแตกต่างกัน พบว่าสารสกัดที่ใช้อะซิโตนในการสกัดมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิด ได้แก่ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* ในขณะที่สารสกัดที่ใช้เอทานอลในการสกัดมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้เพียงชนิดเดียว คือ *S. aureus* ทั้งนี้สารสกัดทั้งหมดไม่มีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans*

โดยสารสกัดที่ได้จากอะซิโตนที่ความเข้มข้น 80% แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ดีที่สุด มีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 12.50 mg/mL และ 16.67 ± 7.22 mg/mL ตามลำดับ รองลงมา คือ สารสกัดจากอะซิโตนที่ความเข้มข้น 50% โดยมีค่า MIC และ MBC เท่ากันที่ 25.00 mg/mL และ สารสกัดจากเอทานอลทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น มีค่า MIC เท่ากับ 50.00 mg/mL และ MBC เท่ากับ 100.00 mg/mL ดังตารางที่ 4.3

และสารสกัดจาก 50% และ 80% อะซิโตน แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ *P. aeruginosa* โดยมีค่า MIC เท่ากับ 100.00 mg/mL แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียนี้ได้

ตารางที่ 4.3 ฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

เชื้อจุลินทรีย์	mg/mL	ตัวทำละลาย			
		50% Ethanol	50% Acetone	80% Ethanol	80% Acetone
<i>S. aureus</i>	MIC	50.00 $\pm$ 0.00	25.00 $\pm$ 0.00	50.00 $\pm$ 0.00	12.50 $\pm$ 0.00
	MBC	100.00 $\pm$ 0.00	25.00 $\pm$ 0.00	100.00 $\pm$ 0.00	16.67 $\pm$ 7.22
<i>P. aeruginosa</i>	MIC	NA	100.00 $\pm$ 0.00	NA	100.00 $\pm$ 0.00
	MBC	NA	NA	NA	NA
<i>E. coli</i>	MIC	NA	NA	NA	NA
	MBC	NA	NA	NA	NA
<i>C. albicans</i>	MIC	NA	NA	NA	NA
	MFC	NA	NA	NA	NA

หมายเหตุ NA = No Activity

4.4 การพัฒนาสูตรตำรับและการประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

4.4.1 การพัฒนาสูตรตำรับและการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมี

จากการพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชันโดยใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นส่วนประกอบ พบว่าสูตรตำรับมีลักษณะเป็นโลชั่น เนื้อเนียนสม่ำเสมอทั้ง 6 สูตรตำรับ โดยสูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าจะแสดงสีของผลิตภัณฑ์ในเฉดสีเหลือง – สีนํ้าตาลอ่อนตามสีของสารสกัด และมีกลิ่นของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าในผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังมีลักษณะความข้น – เหลวที่ลดลงเมื่อเทียบกับสูตรตำรับที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า

สำหรับลักษณะทางกายภาพ พบว่าสูตรตำรับที่ไม่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า มีค่า pH ในช่วง 6.04 – 6.09 ในขณะที่สูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า มีค่า pH ในช่วง 5.73 – 5.77

แสดงผลการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมีทั้ง 6 สูตรตำรับ ดังตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.2

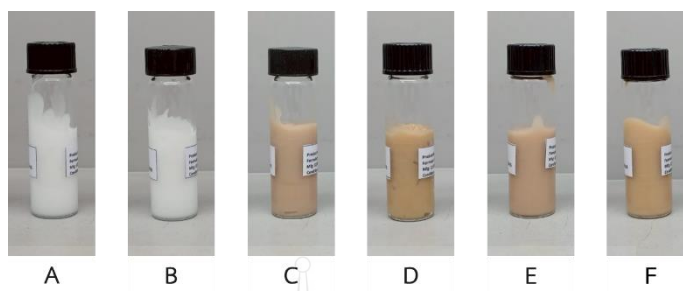
ตารางที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

คุณสมบัติ	สูตรตำรับ					
	A	B	C	D	E	F
Texture	โลชั่น	โลชั่น	โลชั่น	โลชั่น	โลชั่น	โลชั่น
	เนื้อเนียน	เนื้อเนียน	เนื้อเนียน	เนื้อเนียน	เนื้อเนียน	เนื้อเนียน
	สม่ำเสมอ	สม่ำเสมอ	สม่ำเสมอ	สม่ำเสมอ	สม่ำเสมอ	สม่ำเสมอ
Color	ขาว	ขาว	นํ้าตาลอ่อน	เหลือง	นํ้าตาลอ่อน	เหลือง
Odor	กลิ่นเบส	กลิ่นเบส	มีกลิ่น	มีกลิ่น	มีกลิ่น	มีกลิ่น
			เปลือกกล้วย	เปลือกกล้วย	เปลือกกล้วย	เปลือกกล้วย
pH	6.09	6.04	5.73	5.73	5.73	5.77
Viscosity*	94,500	129,000	ND	ND	ND	ND
Viscosity**	ND	ND	47,270	63,666	29,056	46,870

หมายเหตุ ND = No Data

* เข็มเบอร์ T-BAR E (95) ความเร็วรอบ 3 รอบต่อนาที

** เข็มเบอร์ LV-3 (63) ความเร็วรอบ 1.5 รอบต่อนาที

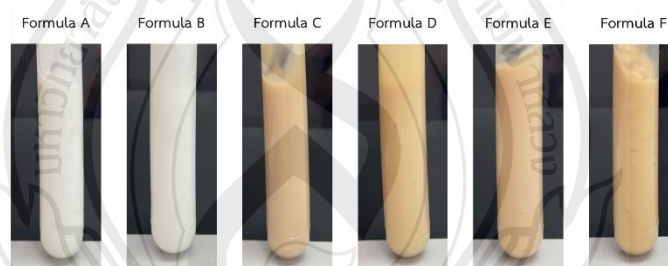


ภาพที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

4.4.2 การทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับ

1. การปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Testing)

สูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชันทั้ง 6 สูตรตำรับ เมื่อนำไปทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับด้วยการปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 5,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสูตรตำรับมีความคงตัวดี ไม่พบลักษณะการแยกชั้นหรือตกตะกอนของสูตรตำรับ แสดงผลดังภาพที่ 4.3



(ก)



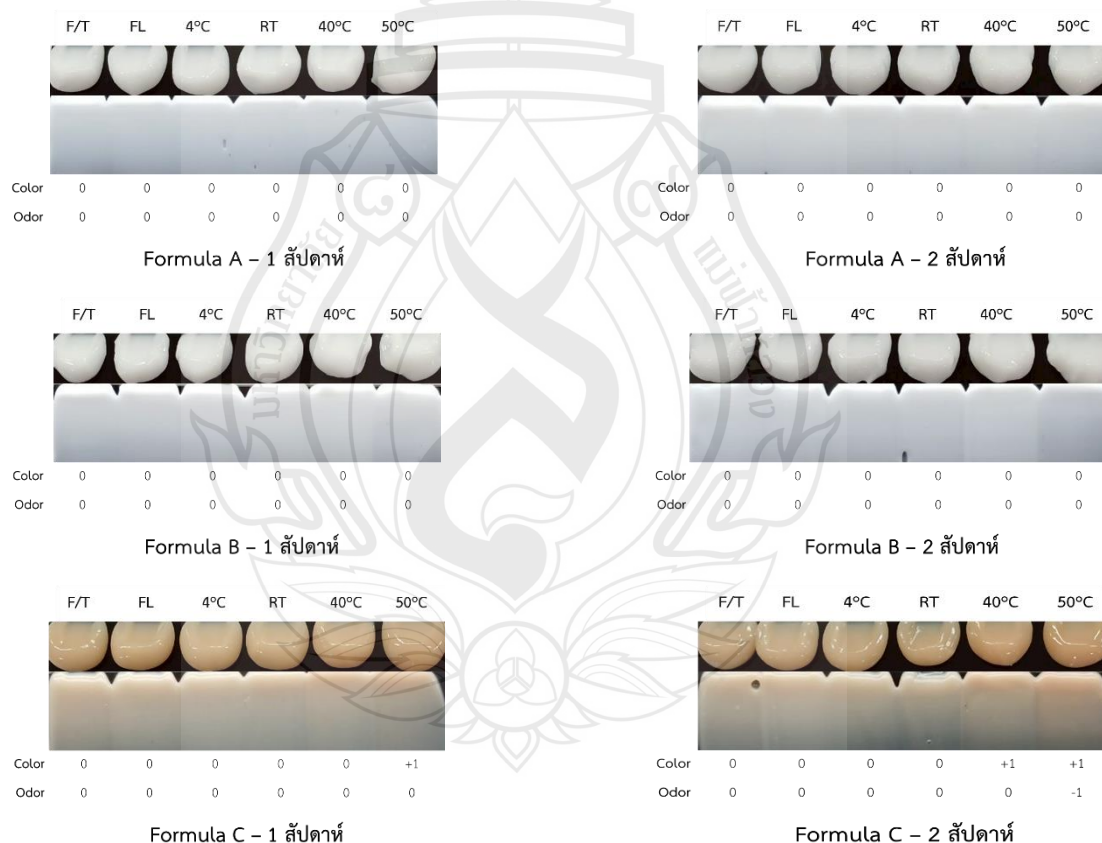
(ข)

ภาพที่ 4.3 ลักษณะสูตรตำรับก่อนการปั่นเหวี่ยง (ก) และลักษณะสูตรตำรับหลังการปั่นเหวี่ยง (ข)

2. ภายใต้อุณหภูมิและแสง (Temperature Stability and Photostability testing)

ผลการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับภายใต้อุณหภูมิและแสง ทั้งหมด 6 สภาวะ พบว่าผลการทดสอบที่ 1 สัปดาห์ ณ สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สูตรตำรับที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าแสดงลักษณะสีเข้มขึ้นเล็กน้อย และสภาวะแสงพบลักษณะสีอ่อนลงเล็กน้อย ในสูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายในการสกัด

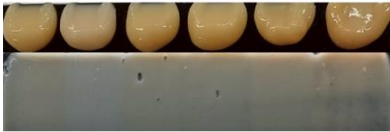
สำหรับผลการทดสอบที่ 2 สัปดาห์ มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในสูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า ณ สภาวะอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส โดยพบว่าลักษณะกลิ่นของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าอ่อนลง และสีผลิตภัณฑ์เข้มขึ้นเล็กน้อย ณ สภาวะอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ลักษณะสูตรตำรับและความคงตัวภายใต้อุณหภูมิและแสง ที่ 1 และ 2 สัปดาห์ แสดงดังภาพที่ 4.4



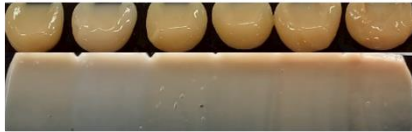
หมายเหตุ F/T = Freeze-thaw, FL = Fade Lamp, 0 = ไม่เปลี่ยนแปลง

1 = เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย, (-) = การเปลี่ยนแปลงลดลง, (+) = การเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้น

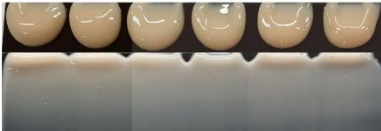
ภาพที่ 4.4 ลักษณะสูตรตำรับและความคงตัวภายใต้อุณหภูมิและแสง ที่ 1 และ 2 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	-1	0	0	0	+1
Odor	0	0	0	0	0	0

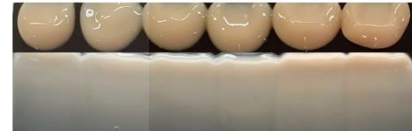
Formula D – 1 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	-1	0	0	+1	+1
Odor	0	0	0	0	0	-1

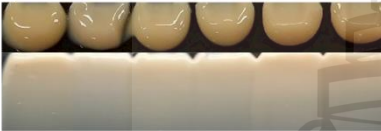
Formula D – 2 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	0	0	0	0	+1
Odor	0	0	0	0	0	0

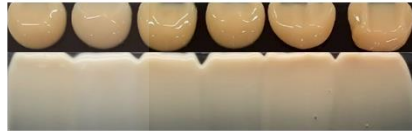
Formula E – 1 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	0	0	0	+1	+1
Odor	0	0	0	0	0	-1

Formula E – 2 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	-1	0	0	0	+1
Odor	0	0	0	0	0	0

Formula F – 1 สัปดาห์

	F/T	FL	4°C	RT	40°C	50°C
						
Color	0	-1	0	0	+1	+1
Odor	0	0	0	0	0	-1

Formula F – 2 สัปดาห์

ภาพที่ 4.4 (ต่อ)

4.5 ประสิทธิภาพของสารสกัดในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930:2019 ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก แบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ได้แก่ *S. aureus* ATCC 6538, *P. aeruginosa* ATCC 9027, *E. coli* ATCC 8739, *C. albicans* ATCC 10231 และ *A. brasiliensis* ATCC 16404 ทั้ง 6 สูตรตำรับ พบว่ามี 1 สูตรตำรับที่ผ่านการทดสอบ ได้แก่ สูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เข้มข้น 80% และสารเอทิลเฮกซิลกลีเซอริน (Ethylhexylglycerin) เป็นส่วนประกอบ แสดงผลค่าปริมาณเชื้อในสูตรตำรับ A – F ดังตารางที่ 4.7 ถึงตารางที่ 4.12

โดยในสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของเอทิลเฮกซิลกลีเซอรินเพียงอย่างเดียว ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. brasiliensis* ได้ตามที่เกณฑ์การประเมินกำหนด และสูตรตำรับที่มีส่วนผสมของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและยีสต์

ตารางที่ 4.5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ A

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	4.08	3.63	1.6	Failed
	Log Reduction	2.40	2.85	4.88	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 4.94	> 4.94	> 4.94	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	5.26	4.73	2.70	Failed
	Log Reduction	0.92	1.45	3.48	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	> 4.48	3.58	< 1.00	Failed
	Log Reduction	< 0.78	1.68	> 4.26	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	4.78	4.65	Failed
	Log Reduction		0.33	0.46	
Conclusion		Not Passed			

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ B

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 5.48	> 5.48	> 5.48	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 4.94	> 4.94	> 4.94	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 5.18	> 5.18	> 5.18	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 4.26	> 4.26	> 4.26	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	4.71	4.75	Failed
	Log Reduction		0.40	0.36	
Conclusion		Not Passed			

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ C

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	4.87	4.77	5.48	Failed
	Log Reduction	1.61	1.71	< 1.00	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	5.18	> 5.48	> 5.48	Failed
	Log Reduction	0.76	< 0.46	< 0.46	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	> 5.48	> 5.48	> 5.48	Failed
	Log Reduction	< 0.70	< 0.70	< 0.70	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	> 4.48	5.15	5.36	Failed
	Log Reduction	< 0.78	0.11	- 0.10	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	3.51	3.63	Failed
	Log Reduction		1.60	1.48	
Conclusion		Not Passed			

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ D

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	4.86	3.80	1.30	Failed
	Log Reduction	1.62	2.68	5.18	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	1.85	1.48	1.54	Passed
	Log Reduction	4.09	4.46	4.40	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	5.36	3.69	1.48	Failed
	Log Reduction	0.82	2.49	4.70	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	5.23	3.26	< 1.00	Failed
	Log Reduction	0.03	2.00	> 4.26	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	3.72	3.62	Passed
	Log Reduction		1.39	1.49	
Conclusion		Not Passed			

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ E

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	2.64	2.59	2.49	Passed
	Log Reduction	3.48	3.89	3.99	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	2.64	2.77	2.94	Failed
	Log Reduction	3.30	3.17	3.00	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	2.46	2.61	2.49	Failed
	Log Reduction	3.72	3.57	3.69	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 4.26	> 4.26	> 4.26	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	1.74	1.18	Passed
	Log Reduction		3.37	3.93	
Conclusion		Not Passed			

ตารางที่ 4.10 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ F

Microorganisms	Initial (Log ₁₀ N ₀)	Total Viable Count (Log ₁₀ N _x)			Result
		T7	T14	T28	
<i>E. coli</i> ATCC 8739	6.48	1.18	1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	5.30	5.48	> 5.48	
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	5.94	1.00	1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	4.94	4.94	> 4.94	
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	6.18	1.00	1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	5.18	5.18	> 5.18	
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	5.26	< 1.00	< 1.00	< 1.00	Passed
	Log Reduction	> 4.26	> 4.26	> 4.26	
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	5.11	Not performed	1.65	< 1.00	Passed
	Log Reduction		3.46	> 4.11	
Conclusion		Passed			

ตารางที่ 4.11 สรุปผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสียในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

เชื้อจุลินทรีย์	สูตรตำรับ					
	A	B	C	D	E	F
สารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้า (%w/w)	-	-	1.25 (50% Acetone)	1.25 (80% Acetone)	1.25 (50% Acetone)	1.25 (80% Acetone)
เอทิลเฮกซิลกลีเซอริน (%w/w)	-	0.5	-	-	0.5	0.5
<i>E. coli</i> ATCC 8739	Failed	Passed	Failed	Failed	Passed	Passed
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	Passed	Passed	Failed	Passed	Failed	Passed
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	Failed	Passed	Failed	Failed	Failed	Passed
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	Failed	Passed	Failed	Passed	Passed	Passed
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	Failed	Failed	Failed	Passed	Passed	Passed
Conclusion	Not Passed	Not Passed	Not Passed	Not Passed	Not Passed	Passed



บทที่ 5

สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการวิจัยศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวของสารสกัดจากเปลือกกล้วย โดยใช้เปลือกกล้วยที่อยู่ในระยะการสุกที่ 5 (เปลือกบริเวณต้นผลเป็นสีเหลือง ส่วนปลายผลเป็นสีเขียว) และ 6 (เปลือกสีเหลืองทั้งหมด ไม่มีสีเขียวปน) มาทำการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยเทคนิค Ultrasound-Assisted Solvent Extraction โดยใช้ตัวทำละลายในการสกัด 4 ชนิดที่แตกต่างกัน ได้แก่ 50% เอทานอล 50% อะซิโตน 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% อะซิโตน และ 50% เอทานอล ให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงสุด คือ 23.19 ± 0.90 และ 20.93 ± 1.61 ตามลำดับ โดยมีลักษณะทางกายภาพของสารสกัดเป็นผงแห้งสีน้ำตาล ในขณะที่สารสกัดที่ใช้ 80% อะซิโตน และ 80% เอทานอล ให้ลักษณะสารสกัดเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอมน้ำตาล จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่าอะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด โดย 80% อะซิโตน เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 19.92 ± 0.39 mg GAE/g extract รองลงมาคือ 50% อะซิโตน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 15.73 ± 0.10 mg GAE/g extract

และทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. albicans* พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 50% อะซิโตน และ 80% อะซิโตน แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* โดยสารสกัดจาก 80% อะซิโตน แสดงประสิทธิภาพที่สูงกว่า โดยมีค่า MIC และ MBC ต่อเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ที่ต่ำกว่า เท่ากับ 12.50 ± 0.00 mg/mL และ 16.67 ± 7.22 mg/mL ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดจาก 50% เอทานอล และ 80% เอทานอล แสดงฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว ทั้งนี้สารสกัดทั้งหมดไม่แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งหรือฆ่าเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans*

การพัฒนาสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชัน โดยใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วย น้ำว่าที่ได้จากตัวทำละลาย 50% อะซิโตน และ 80% อะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.25 พบว่าสูตรตำรับที่มีสารสกัดเป็นส่วนประกอบจะแสดงลักษณะทางกายภาพและเคมีที่แตกต่างจากสูตรตำรับมาตรฐานที่ไม่มีสารสกัดเป็นส่วนประกอบ โดยสีของผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดจะแสดงในเฉดสี

เหลือง – สีน้ำตาลอ่อนตามสีของสารสกัด และมีกลิ่นของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าในผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังมีลักษณะความขุ่น – เหลวและค่าความเป็นกรดต่างของผลิตภัณฑ์ที่ลดลง และจากการทดสอบความคงตัวของสูตรตำรับด้วยการปั่นเหวี่ยง (Centrifuge Testing) พบว่าสูตรตำรับทั้งหมดมีความคงตัวที่ดี ไม่พบลักษณะการแยกชั้นหรือตกตะกอนของผลิตภัณฑ์ และการทดสอบความคงตัวภายใต้สภาวะอุณหภูมิและแสง (Temperature Stability and Photostability testing) พบว่าสูตรตำรับที่มีสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าเป็นส่วนประกอบ มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของสีและกลิ่นของผลิตภัณฑ์เล็กน้อย โดยที่อุณหภูมิสูงสีของผลิตภัณฑ์จะมีความเข้มขึ้นเล็กน้อย และกลิ่นของสารสกัดอ่อนลงเล็กน้อย ในขณะที่สภาวะแสง (Fade Lamp) ลักษณะสีของผลิตภัณฑ์จะแสดงสีอ่อนลงเล็กน้อย แล้วนำสูตรตำรับไปทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว พบว่าสูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าเพียงอย่างเดียว ไม่มีประสิทธิภาพในการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์ โดยไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *S. aureus* ATCC 6538 และ *E. coli* ATCC 8739 ตามเกณฑ์มาตรฐานของ ISO 11930:2019 กำหนด แต่ทั้งนี้สูตรตำรับที่มีส่วนประกอบของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน เข้มข้น 80% ร่วมกับสารเอทิลเฮกซิลกลีเซอริน สามารถแสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดได้ตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่ได้จากตัวทำละลาย 50% อะซิโตน และ 80% อะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ยังไม่มีประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ตามวิธีทดสอบมาตรฐาน ISO 11930:2019 แต่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ เมื่อใช้ร่วมกับ Preservative Booster เช่น เอทิลเฮกซิลกลีเซอริน (Ethylhexylglycerin)

5.2 อภิปรายผลการวิจัย

จากการวิจัยศึกษาการสกัดสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า โดยใช้เทคนิคการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 50% เอทานอล และ 50% อะซิโตน ให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดสูงมากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย 80% เอทานอล และ 80% อะซิโตน โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-values} < 0.05$) ซึ่งตัวทำละลาย 50% อะซิโตน ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุดที่ ร้อยละ 23.19 ± 0.90 และรองลงมาคือ 50% เอทานอล ได้ปริมาณสารสกัด ร้อยละ 20.93 ± 1.61 ทั้งนี้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมกลับพบว่า 80% อะซิโตน เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 19.92 ± 0.39 mg GAE/g extract ซึ่งมีความหมายว่าการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเปลือก

กล้วยน้ำว้าขึ้นอยู่กับชนิดและระดับความเข้มข้นของตัวทำละลายมากกว่าปริมาณร้อยละของสารสกัดที่ได้รับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ González-Montelongo et al. (2010) ที่พบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเข้มข้น 50% ให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเข้มข้น 100% โดยอะซิโตนเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดในการสกัด ทั้งนี้แตกต่างจากงานวิจัยของ Chaudhry et al. (2022) ที่พบว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลที่ความเข้มข้น 50% เป็นตัวทำละลายจะทำให้ได้ปริมาณร้อยละของสารสกัดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด โดยให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดที่ 9.97 และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 31.45 mg GAE/g ในขณะที่การสกัดด้วยอะซิโตน เข้มข้น 50% ให้ปริมาณร้อยละของสารสกัดอยู่ที่ 6.04 และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 22.61 mg GAE/g โดยความแตกต่างของปริมาณร้อยละของสารสกัดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้ มีปัจจัยที่ส่งผล คือ สายพันธุ์ของกล้วยแต่ละชนิดที่นำมาศึกษาวิจัย ชนิดและความเข้มข้นของตัวทำละลาย เนื่องจากความสามารถในการละลายขึ้นอยู่กับความเป็นขั้วของตัวทำละลายและประสิทธิภาพในการแทรกซึมเข้าสู่เซลล์พืชเพื่อดึงสารสกัด (Chaudhry et al., 2022) โดยตัวทำละลายที่เจือจางความเข้มข้น 50% มีส่วนประกอบของน้ำในปริมาณที่สูงกว่า ซึ่งช่วยให้ผนังเซลล์ของพืชเปื่อยยุ่ยได้ง่าย ทำให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปภายในเซลล์พืชและดึงสารสกัดออกมาได้มากกว่า ในขณะที่ตัวทำละลายความเข้มข้น 80% สามารถละลายและสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อย่างเช่น สารประกอบฟีนอลิกออกมาได้มากกว่า และจากลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่ได้มีความแตกต่างกัน โดยสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเข้มข้นมากกว่าที่ 80% จะให้ลักษณะของสารสกัดเป็นของเหลวหนืดสีเหลืองอมน้ำตาล จากลักษณะดังกล่าวอาจหมายถึงภายในสารสกัดมีสารประกอบในกลุ่มที่มีขั้วน้อย เช่น แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) ซึ่งเป็นรงควัตถุให้สีในเปลือกกล้วย โดยสังเกตได้จากสีของสารสกัดที่ได้แสดงลักษณะสีที่ปรากฏสีเหลืองมากกว่าในสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเข้มข้น 50% และสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มที่มีขั้วน้อย เช่น Cinnamic Acid, Ferulic Acid และ Catechin เป็นต้น (Zou et al., 2022)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* และ *C. albicans* พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนมีประสิทธิภาพมากกว่าสารสกัดจากเอทานอล โดยมีฤทธิ์การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ 2 ชนิด คือ *S. aureus* และ *P. aeruginosa* และไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* และ *C. albicans* โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chabuck et al. (2013) ที่รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วย มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *S. aureus* แต่ไม่แสดงประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *C. albicans* อย่างไรก็ตามแตกต่างจากงานวิจัยของ Saleem and Saeed (2020) ที่พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยมีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ครอบคลุม

ทั้ง 4 ชนิด ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดสดคล้อยกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่เป็นสารออกฤทธิ์สำคัญในสารสกัด ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Rathee et al., 2023) ผ่านหลายกลไก เช่น การทำลายและเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ และการรบกวนการส่งผ่านสารเข้าออกภายในเซลล์ (Herman, 2019)

และจากการศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่า โดยเลือกใช้สารสกัดจากตัวทำละลาย 50% อะซิโตน และ 80% อะซิโตน ที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดในสูตรตำรับ เท่ากับ 1.25% w/w มาทำการทดสอบประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียในสูตรตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบอิมัลชัน เนื่องจากสารสกัดทั้ง 2 ชนิด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในปริมาณสูงและมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารสกัดจากตัวทำละลายเอทานอล โดยทำการทดสอบด้วยวิธี Challenge Test ตามวิธีมาตรฐาน ISO 11930:2019 จากการศึกษาพบว่า สารสกัดจาก 50% อะซิโตน และ 80% อะซิโตน ยังไม่ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา ตามเกณฑ์ที่มาตรฐานกำหนด ดังนั้นสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่ระดับความเข้มข้น 1.25% w/w จึงยังไม่มีประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ตามวิธีทดสอบมาตรฐาน ISO 11930:2019 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของศรีณยา ธาราแสง และคณะ (2556) ที่ทำการศึกษาศักยภาพฤทธิ์การกันเสียของสารสกัดจากผลพลึงกาสาและเปลือกมังคุด พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิดยังไม่มีประสิทธิภาพฤทธิ์การกันบูดได้เพียงพอในสูตรตำรับครีม เนื่องจากไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเติบโตของเชื้อรา *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 ยีสต์ *Candida albicans* ATCC 10231 แบคทีเรียแกรมลบ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 และ *Escherichia coli* ATCC 8793 ตามเกณฑ์ที่มาตรฐาน ISO 11930 (2012) กำหนด เช่นเดียวกับงานวิจัยของปิยนุช พรหมภมร และคณะ (2565) ที่พบว่าสารสกัดจากสมอไทย ยังไม่มีประสิทธิภาพเพียงพอต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มยีสต์และรา ได้แก่ *C. albicans* และ *A. brasiliensis* ตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO 11930 (2019) ในสูตรตำรับอิมัลชัน เนื่องจากสูตรตำรับในรูปแบบอิมัลชันที่มีส่วนประกอบของน้ำในปริมาณสูง เป็นสภาวะที่เอื้ออำนวยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้เป็นอย่างดี (Siebert, 2005) ทำให้มีความท้าทายต่อการประเมินประสิทธิภาพการเป็นสารกันเสียของสารสกัด โดยสารกันเสียที่เหมาะสมกับสูตรตำรับในรูปแบบอิมัลชันที่มีน้ำเป็นส่วนประกอบในปริมาณสูงจะต้องมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างครอบคลุมและใช้ปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีการใช้สารเพิ่มประสิทธิภาพการกันเสีย (Preservative Booster) เพื่อช่วยเสริมฤทธิ์การต้านเชื้อจุลินทรีย์และลดปริมาณการใช้สารกันเสียที่ความเข้มข้นสูง (Herman,

2019) ซึ่งในการศึกษาวิจัยนี้ได้ใช้สารเอทิลเฮกซิลกลีเซอริน (Ethylhexylglycerin) เพื่อช่วยเสริมประสิทธิภาพการกันเสียในสูตรตำรับ ที่ปริมาณความเข้มข้น 0.5% w/w ร่วมกับสารสกัดจากตัวทำละลาย 80% อะซิโตน พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิดตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO 11930:2019 กำหนด โดยสารเอทิลเฮกซิลกลีเซอรินสามารถส่งผลกระทบทำให้เชื้อหุ้มเซลล์ของเชื้อจุลินทรีย์เกิดความเสียหาย จึงช่วยให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพซึมผ่านเข้าไปสู่ภายในเซลล์เพื่อยับยั้งและทำลายการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ดียิ่งขึ้น (Tang and Du, 2024) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Langsrud et al. (2016) ที่พบว่าการใช้สารเอทิลเฮกซิลกลีเซอริน ช่วยเสริมประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *E. coli* ให้ดียิ่งขึ้น เมื่อใช้ร่วมกับสารฟีนอกซีเอทานอล (Phenoxyethanol) นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มแทนนิน (Tannins) ยังช่วยเสริมฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ทำให้ลดอัตราการแพร่กระจายและการเติบโตของเชื้อรา (Lombardi et al., 2023) โดยจากงานวิจัยของ Abirami et al. (2021) พบว่าสารสกัดจากไม้มข้าวโพด (*Zea mays* L.) ที่พบสารแทนนินเป็นองค์ประกอบ แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อรา *A. niger*, *A. flavus* และ *A. brasiliensis*

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 ศึกษาเปรียบเทียบชนิดและสัดส่วนของตัวทำละลาย รวมถึงวิธีการสกัดเพิ่มเติม เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดสารออกฤทธิ์ที่ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในเปลือกกล้วยน้ำว้า

5.3.2 ศึกษาวิธีการลดสีของสารสกัดที่ได้ เพื่อลดผลกระทบของสีสารสกัดในสูตรตำรับ

5.3.3 ทดสอบหาค่า MIC และ MFC ของสารสกัดต่อเชื้อ *A. brasiliensis* เพื่อสนับสนุนผลการทดลองว่าสารสกัดมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อได้ตามการทดสอบการเป็นสารกันเสียในสูตรตำรับ

5.3.4 ทดสอบประสิทธิภาพ Challenge Test ในสูตรตำรับประเภทอื่นเพิ่มเติม และเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดในสูตรตำรับให้มากขึ้น

5.3.5 ศึกษาประเมินความเป็นพิษทางผิวหนังของสกัดเพื่อประเมินประสิทธิภาพความปลอดภัยต่อผู้บริโภค

รายการอ้างอิง

- กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2566, 17 สิงหาคม). การทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย Preservative Efficacy Test (PET)) หรือ "Challenge Test".
<https://kmis.dmsc.moph.go.th/news/111/detail/2520?searchYear=&searchAgency=&searchSdate=&searchEdate=&searchKeyword=>
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2553, พฤศจิกายน). สารกันเสียจากสมุนไพรในเครื่องสำอาง.
<http://siweb1.dss.go.th/repack/fulltext/IR25.pdf>
- กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (ม.ป.ป.). การแปรรูปกล้วย.
<http://otop.dss.go.th/index.php/en/knowledge/informationrepack/139-2017-07-04-04-00-08?showall=1&limitstart=>
- กระทรวงสาธารณสุข. (2559, 29 กุมภาพันธ์). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดลักษณะของเครื่องสำอางที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือขาย พ.ศ. 2559.
<https://www.thaicosmetic.org/documents/Cosmetic133-72.pdf>
- เกตุการ ดาจินทา และเพชรวิวรรณ เอี่ยมพงษ์. (2562). ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดแบบอัลตราโซนิกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอล ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกล้วยน้ำว้า. *KHON KAEN AGR. J.*, 47(suppl. 1), 1507-1514.
- ธงชัย ศรีวรรณนะ. (2560). ความต้องการและพฤติกรรมการตัดสินใจซื้อผลิตภัณฑ์ชีวภาพของผู้บริโภค. *Kasetsart Journal of Social Sciences*, 38, 413-422.
- ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร, พิชัย กาญจน์บุตร และสาธิต พรตระกูลพิพัฒน์ (2551) การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อของสมุนไพรในห้องปฏิบัติการ. ใน *ประชุมวิชาการสัตวแพทยศาสตร์ มข. ครั้งที่ 9 “สัตวแพทย์ทางเลือกวันนี้”* (วันที่ 11-12 มิถุนายน 2551). มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ปิยนุช พรหมภมร, ขวัญจิต อิศระสุข, กัลยาภรณ์ จันตรี, จรัสฟ้า โหมดสุวรรณ, จิตรวดี ตั้งหิรัญรัตน์ และทัศนีย์ พาณิชกุล. (2565). การประเมินการใช้สารสกัดสมุนไพรในการเป็นสารกันเสียธรรมชาติ สำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง. *วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา*, 27(1), 542-561.
- พรรณพนัช แซ่ม, วรินทร์ พูลศรี, อินทิรา ลิจันทรพร และนพพร ลาภส่งผล. (2562). ผลของระยะเวลาการสุกและสภาวะการสกัดต่อปริมาณแทนนินของผงเปลือกกล้วยน้ำว้า. ใน *การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 20* (หน้า 689-695). มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศรัณยา ธาราแสง, สิริมา สายรวมญาติ, สุวรรณา เขียวอังกูร, บุญญาณี ปิยะวรรณ บุษา และณัฐตรา จันทร์สุวานิชย์. (2556). การศึกษาสารสกัดจากสมุนไพรรสพลีลังกาและเปลือกมังคุด เพื่อใช้เป็นสารกันบูดในผลิตภัณฑ์ยาและเครื่องสำอาง. *FDA Journal*, 2013, 30–36.

Al-Jassani, M. J. (2023). Evaluation of the antimicrobial potential of phenolic compounds extracted from banana peels (*Musa paradisiaca* L.) against *S. aureus* and *S. typhimurium* in meat and fish. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, 10(35), 2048-2054.

Abirami, S., Priyalakshmi, M., Soundariya, A., Samrot, A. V., Saigeetha, S., Emilin, R. R., Dhiva, S., & Inbathamizh, L. (2021). Antimicrobial activity, antiproliferative activity, amylase inhibitory activity and phytochemical analysis of ethanol extract of corn (*Zea mays* L.) silk. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100089.

Aboul-Enein, A. M., Salama, Z. A., Gaafar, A. A., Aly, H. F., Abou-Elella, F., & Ahmed, H. A. (2016). Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradisiaca* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of chemical and pharmaceutical research*, 8(4), 46-55.

Akhtar, N., Khan, H. M. S., Rasool, F., Ahmad, M., & Saeed, T. (2010). Formulation and in vitro evaluation of a cosmetic emulsion containing apple juice extract. *Asian Journal of Chemistry*, 22(9), 7235.

Alshehrei, F. M. (2024). Microbiological quality assessment of skin and body care cosmetics by using challenge test. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 31(4), 103965. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2024.103965>

Alvarez-Rivera, G., Llompart, M., Lores, M., & Garcia-Jares, C. (2018). Preservatives in cosmetics: Regulatory aspects and analytical methods. In Salvador, A., & Chisvert, A. (Eds.), *Analysis of cosmetic products* (pp. 175-224). Elsevier.

- Anal, A. K., Jaisanti, S., & Noomhorm, A. (2014). Enhanced yield of phenolic extracts from banana peels (*Musa acuminata* Colla AAA) and cinnamon barks (*Cinnamomum varum*) and their antioxidative potentials in fish oil. *Journal of food science and technology*, 51, 2632-2639.
- Anchisi, C., Maccioni, A. M., Sinico, C., & Valenti, D. (2001). Stability studies of new cosmetic formulations with vegetable extracts as functional agents. *Il Farmaco*, 56(5-7), 427-431.
- CBI – Ministry of Foreign Affairs. (2025, February 11). *What is the demand for natural ingredients for cosmetics on the European market?*.
<https://www.cbi.eu/market-information/natural-ingredients-cosmetics/what-demand#what-makes-europe-an-interesting-market-for-natural-ingredients-for-cosmetics>
- Cendana, W., Diadora, A. D. S., Martinus, A. R., & Ikhtiari, R. (2020). Potential effect of *Musa paradisiaca* peel extract on skin hydration. In *Proceedings of the International Conference on Health Informatics and Medical Application Technology (ICHIMAT 2019)*. Science and technology publications (pp.379–386). Science and Technology Publications.
- Chabuck, Z. A. G., Al-Charrakh, A. H., Hindi, N. K. K., & Hindi, S. K. K. (2013). Antimicrobial effect of aqueous banana peel extract, Iraq. *Res. Gate. Pharm. Sci*, 1, 73-5.
- Chaudhry, F., Ahmad, M. L., Hayat, Z., Ranjha, M. M. A. N., Chaudhry, K., Elboughdiri, N., Asmari, M., & Uddin, J. (2022). Extraction and evaluation of the antimicrobial activity of polyphenols from banana peels employing different extraction techniques. *Separations*, 9(7), 165.
- Cosmetics Europe – The Personal Care Association. (2004). *Guidelines on stability testing of cosmetic products*. Cosmetics Europe – The Personal Care Association.
- Dayan, N. (2017). *Handbook of Formulating Dermal Applications A Definitive Practical Guide*. Scrivener Publishing LLC.

- Ehiowemwenguan, G., Emoghene, A. O., & Inetianbor, J. E. (2014). Antibacterial and phytochemical analysis of Banana fruit peel. *Iosr J Pharm*, 4(8), 18–25.
- El-Zawawy, N. A. (2015). Antioxidant, antitumor, antimicrobial studies and quantitative phytochemical estimation of ethanolic extracts of selected fruit peels. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(5), 298-309.
- Extraction Magazine. (2017, November 28). *Ultrasound Assisted Extraction of Food and Natural Products. Mechanisms, techniques, Combinations, Protocols and Applications*.
<https://extractionmagazine.com/2017/11/28/ultrasound-assisted-extraction-food-natural-products-mechanisms-techniques-combinations-protocols-applications/>
- Geis, P. A. (2012). *Cosmetic Microbiology: A Practical Approach*. CRC Press.
- González-Montelongo, R., Lobo, M. G., & González, M. (2010). Antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. *Food Chemistry*, 119(3), 1030-1039.
- Gupta, A., Naraniwal, M., & Kothari, V. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural sciences*, 1(1), 8-26.
- Hamad, S. H. (2012). Factors affecting the growth of microorganisms in food. *Progress in food preservation*, 405-427.
- Herman, A. (2019). Antimicrobial ingredients as preservative booster and components of self-preserving cosmetic products. *Current microbiology*, 76(6), 744-754.
- Hikal, W. M., Said-Al Ahl, H. A., Bratovic, A., Tkachenko, K. G., Sharifi-Rad, J., Kačániová, M., Elhourri, M., & Atanassova, M. (2022). Banana peels: A waste treasure for human being. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022(1), 7616452.

International Organization for Standardization (ISO). (2014). *ISO 17516:2014(en)*

Cosmetics — Microbiology — Microbiological limits.

<https://www.iso.org/standard/59938.html>

International Organization for Standardization (ISO). (2019). *ISO 11930:2019(en)*

Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product. <https://www.iso.org/standard/75058.html>

Jenkins, R., & Maddocks, S. (2019). *Bacteriology methods for the study of infectious diseases.* Academic Press.

Kumari, P. S., Ranjitha, R., & Vidhya, N. (2020). Revitalizing property of banana peel extracts by antioxidant activity and antibacterial activity against acne causing *Staphylococcus epidermidis*. *Ann Phytomed*, 9(2), 215-222.

Lamuela-Raventós, R. M. (2018). Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. *Measurement of antioxidant activity & capacity: recent trends and applications*, 107-115.

Langsrud, S., Steinhauer, K., Lüthje, S., Weber, K., Goroncy-Bermes, P., & Holck, A. L. (2016). Ethylhexylglycerin impairs membrane integrity and enhances the lethal effect of phenoxyethanol. *PLoS One*, 11(10), e0165228. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165228>

Lino, P. B., Corrêa, C. F., Archondo, M. E., & Dellova, D. C. (2011). Evaluation of post-surgical healing in rats using a topical preparation based on extract of *Musa sapientum* L., Musaceae, epicarp. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 21, 491-496. <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2011005000052>

Lombardi, A., Campo, M., Vignolini, P., Papalini, M., Pizzetti, M., & Bernini, R. (2023). Phenolic-rich extracts from circular economy: chemical profile and activity against filamentous Fungi and dermatophytes. *Molecules*, 28(11), 4374.

Maurício, E., Rosado, C., Duarte, M. P., Verissimo, J., Bom, S., & Vasconcelos, L. (2017). Efficiency of nisin as preservative in cosmetics and topical products. *Cosmetics*, 4(4), 41. <https://doi.org/10.3390/cosmetics4040041>

- Mendoza, F., & Aguilera, J. M. (2004). Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of food science*, 69(9), E471–E477.
- Meretsky, C. R., Umali, J. P., & Schiuma, A. T. (2024). A Systematic Review and Comparative Analysis of Botox Treatment in Aesthetic and Therapeutic Applications: Advantages, Disadvantages, and Patient Outcomes. *Cureus*, 16(8).
- Michail, A., Sigala, P., Grigorakis, S., & Makris, D. P. (2016). Kinetics of ultrasound-assisted polyphenol extraction from spent filter coffee using aqueous glycerol. *Chemical Engineering Communications*, 203(3), 407-413.
- Mokbel, M. S., & Hashinaga, F. (2005). Antibacterial and antioxidant activities of banana (Musa, AAA cv. Cavendish) fruits peel. *American journal of Biochemistry and Biotechnology*, 1(3), 125-131.
- Moser, C. L., & Meyer, B. K. (2011). Comparison of compendial antimicrobial effectiveness tests: a review. *Aaps Pharmscitech*, 12(1), 222-226.
<https://doi.org/10.1208/s12249-010-9575-9>
- Mostafa, H. S. (2021). Banana plant as a source of valuable antimicrobial compounds and its current applications in the food sector. *Journal of Food Science*, 86(9), 3778-3797. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15854>
- Okorundu, S. I., Akujobi, C. O., & Nwachukwu, I. N. (2012). Antifungal properties of Musa paradisiaca (Plantain) peel and stalk extracts. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(4), 1527-1534.
<https://doi.org/10.4314/ijbcs.v6i4.12>
- Olakunle, O. O., Joy, B. D., & Irene, O. J. (2019). Antifungal activity and phytochemical analysis of selected fruit peels. *Journal of Biology and Medicine*, 3(1), 040-043. <https://doi.org/10.17352/jbm>
- Phacharapiyangkul, N., Thirapanmethee, K., Sa-Ngiamsumtorn, K., Panich, U., Lee, C. H., & Chomnawang, M. T. (2019). Effect of sucrier banana peel extracts on inhibition of melanogenesis through the ERK signaling pathway. *International journal of medical sciences*, 16(4), 602. <https://doi.org/10.7150/ijms.32137>

- Popoff, M. R., & Bouvet, P. (2009). Clostridial toxins. *Future microbiology*, 4(8), 1021-1064.
- Qamar, S., & Shaikh, A. (2018). Therapeutic potentials and compositional changes of valuable compounds from banana-A review. *Trends in Food Science & Technology*, 79, 1-9.
- Rathee, P., Sehrawat, R., Rathee, P., Khatkar, A., Akkol, E. K., Khatkar, S., ... Sobarzo-Sánchez, E. (2023). Polyphenols: natural preservatives with promising applications in food, cosmetics and pharma industries; problems and toxicity associated with synthetic preservatives; impact of misleading advertisements; recent trends in preservation and legislation. *Materials*, 16(13), 4793.
<https://doi.org/10.3390/ma16134793>
- Rita, W. S., Swantara, I. M. D., Asih, I. A. R. A., & Puspawati, N. M. (2020). Antibacterial activity and antioxidant capacity of selected local banana peel (*Musa* sp.) methanol extracts cultivated in Bali. *International Journal of Agriculture Environment & Biotechnology*, 5(03), 242-251.
- Saleem, M., & Saeed, M. T. (2020). Potential application of waste fruit peels (orange, yellow lemon and banana) as wide range natural antimicrobial agent. *Journal of King Saud University-Science*, 32(1), 805-810.
<https://doi.org/10.1016/j.jksus.2019.02.013>
- Samul, D., Worsztynowicz, P., Leja, K., & Grajek, W. (2013). Beneficial and harmful roles of bacteria from the *Clostridium* genus. *Acta Biochimica Polonica*, 60(4).
- Schmidt, T. M. (Ed.). (2019). *Encyclopedia of microbiology* (4th ed.). Academic Press.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., Frisvad, J. C., & Van Dijck, P. W. (2002). On the safety of *Aspergillus niger* – a review. *Applied microbiology and biotechnology*, 59, 426–435.
- Siebert, W. (2010). Evaluation of the microbiological safety of finished cosmetic products. *Euro Cosmetics*, 18, 16-19.
- Siebert, W. (2005). Microbiological Quality Management for the Production of Cosmetics and Toiletries. *Cosmetic Science Technology*, 2005, 189.

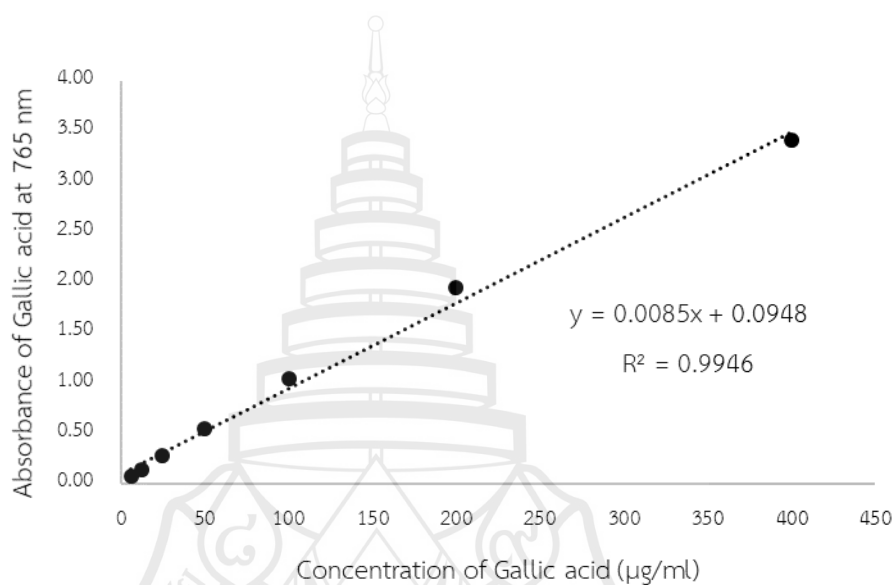
- Singh, C. R., Kathiresan, K., Boopathy, N. S., Anandhan, S., & Govindan, T. (2013). Evaluation of microbial potential of different coloured banana peels. *International Journal of Preclinical and Pharmaceutical Research*, 4, 62-64.
- Someya, S., Yoshiki, Y., & Okubo, K. (2002). Antioxidant compounds from bananas (Musa Cavendish). *Food chemistry*, 79(3), 351-354.
- Statista. (2025). *Natural Cosmetics – Thailand*.
<https://www.statista.com/outlook/cmo/beauty-personal-care/cosmetics/natural-cosmetics/thailand>
- Statista. (2025). *Natural skin care – Worldwide*.
<https://www.statista.com/outlook/cmo/beauty-personal-care/skin-care/natural-skin-care/worldwide>
- Sudbery, P. E. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 737–748.
- Tang, Z., & Du, Q. (2024). Mechanism of Action of Preservatives in Cosmetics. *Journal of Dermatologic Science and Cosmetic Technology*, 100054.
<https://doi.org/10.1016/j.jdsct.2024.100054>
- Ulagesan, S., Nam, T. J., & Choi, Y. H. (2021). Biogenic preparation and characterization of *Pyropia yezoensis* silver nanoparticles (Py AgNPs) and their antibacterial activity against *Pseudomonas aeruginosa*. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44, 443–452.
- Varvaresou, A., Papageorgiou, S., Tsirivas, E., Protopapa, E., Kintziou, H., Kefala, V. & Demetzos, C. (2009), Self-preserving cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*, 31(3), 163–175.
<https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2009.00492.x>
- Vu, H. T., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. (2018). Phenolic compounds within banana peel and their potential uses: A review. *Journal of functional foods*, 40, 238-248.

- Vu, H. T., Scarlett, C. J., & Vuong, Q. V. (2019). Changes of phytochemicals and antioxidant capacity of banana peel during the ripening process; with and without ethylene treatment. *Scientia Horticulturae*, 253, 255-262.
- Wakim, S. (2020). *MIC Dilution* [Image].
<https://www.flickr.com/photos/158504583@N02/49493913046>
- Wani, K. M., & Dhanya, M. (2025). Unlocking the potential of banana peel bioactives: extraction methods, benefits, and industrial applications. *Discover Food*, 5(1), 1-25.
- Zou, F., Tan, C., Zhang, B., Wu, W., & Shang, N. (2022). The valorization of banana by-products: nutritional composition, bioactivities, applications, and future development. *Foods*, 11(20), 3170. <https://doi.org/10.3390/foods11203170>



ภาคผนวก ก

กราฟมาตรฐานการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก



ภาพที่ ก1 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกและค่าการดูดกลืนแสง

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS

Test of Homogeneity of Variances				
	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Yield	.552	3	8	.661
TPC	4.573	3	8	.038

ANOVA						
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Yield	Between Groups	326.963	3	108.988	52.716	.000
	Within Groups	16.539	8	2.067		
	Total	343.502	11			
TPC	Between Groups	343.328	3	114.443	2365.033	.000
	Within Groups	.387	8	.048		
	Total	343.715	11			

Robust Tests of Equality of Means					
		Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Yield	Brown-Forsythe	52.716	3	7.102	.000
TPC	Brown-Forsythe	2365.033	3	3.002	.000

ภาพที่ ข1 การวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูล ด้วยวิธี One-Way ANOVA ที่ระดับ p-values < 0.05

		Yield		
		Subset for alpha = 0.05		
	Solvent	N	1	2
Tukey HSD ^a	80% Ethanol	3	11.7333	
	80% Acetone	3	11.7467	
	50% Ethanol	3		20.9267
	50% Acetone	3		23.1867
	Sig.		1.000	.291
Duncan ^a	80% Ethanol	3	11.7333	
	80% Acetone	3	11.7467	
	50% Ethanol	3		20.9267
	50% Acetone	3		23.1867
	Sig.		.991	.090

TPC						
		Subset for alpha = 0.05				
	Solvent	N	1	2	3	4
Tukey HSD ^a	50% Ethanol	3	6.8783			
	80% Ethanol	3		8.3123		
	50% Acetone	3			15.7260	
	80% Acetone	3				19.9210
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan ^a	50% Ethanol	3	6.8783			
	80% Ethanol	3		8.3123		
	50% Acetone	3			15.7260	
	80% Acetone	3				19.9210
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

ภาพที่ ข2 การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยเทคนิค Duncan

ภาคผนวก ค

ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย

ตารางที่ ค1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ A

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T28
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	1.2×10^4	4.3×10^3	40
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	1.8×10^5	5.4×10^4	5.0×10^2
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	$> 3.0 \times 10^4$	3.8×10^3	< 10
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	6.0×10^4	4.5×10^4

ตารางที่ ค2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ B

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T7
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	< 10	< 10	< 10
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	< 10	< 10	< 10
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	5.1×10^4	5.6×10^4

ตารางที่ ค3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ C

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T7
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	7.4×10^4	5.9×10^4	$> 3.0 \times 10^5$
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	1.5×10^5	$> 3.0 \times 10^5$	$> 3.0 \times 10^5$
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	$> 3.0 \times 10^5$	$> 3.0 \times 10^5$	$> 3.0 \times 10^5$
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	$> 3.0 \times 10^4$	1.4×10^5	2.3×10^5
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	3.2×10^3	4.3×10^3

ตารางที่ ค4 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ D

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T7
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	7.2×10^4	6.3×10^3	20
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	70	30	35
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	2.3×10^5	4.9×10^3	30
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	1.7×10^5	1.8×10^3	< 10
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	5.2×10^3	4.2×10^3

ตารางที่ ค5 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ E

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T7
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	4.4×10^2	3.9×10^2	3.1×10^2
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	4.4×10^2	5.9×10^2	8.8×10^2
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	2.9×10^2	4.1×10^2	3.1×10^2
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	55	15

ตารางที่ ค6 ผลการทดสอบประสิทธิภาพสารกันเสีย สูตรตำรับ F

Microorganisms	Initial (CFU/mL)	Total Viable Count (CFU/g)		
		T7	T14	T7
<i>E. coli</i> ATCC 8739	3.0×10^6	15	10	< 10
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027	8.8×10^5	10	10	< 10
<i>S. aureus</i> ATCC 6538	1.5×10^6	10	10	< 10
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	1.8×10^5	< 10	< 10	< 10
<i>A. brasiliensis</i> ATCC 16404	1.3×10^5	Not performed	45	< 10