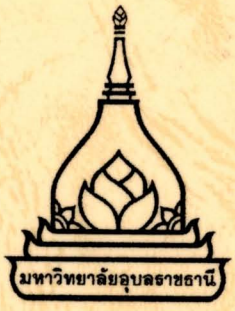
ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246478



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

โดย

ดร.สมจินตนา ทวีพานิชย์

ธันวาคม 2553

b00253569

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
246478

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี

Antioxidant activity and total phenolic content of wild edible mushroom extracts in Ubonratchathani Province

คณะผู้วิจัย สังกัด

ดร.สมจินตนา ทวีพานิชย์ คณะวิทยาศาสตร์

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงบประมาณ

ประจำปีงบประมาณ 2552

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีสำหรับการให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้ ในปีงบประมาณ 2553 ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ทุกท่าน ที่เอื้ออำนวยความสะดวกในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีตลอดระยะเวลาในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่เครื่อง Flexi-Dry ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ และคณะเภสัชศาสตร์ และเจ้าหน้าที่เครื่อง UV-spectrophotometer ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในความอนุเคราะห์และแนะนำการใช้เครื่องมือสำหรับงานวิจัยนี้

บทคัดย่อ

246478

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเห็ดป่ากินได้ในจังหวัดอุบลราชธานี จำนวน 20 ชนิดโดยใช้ตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล โดยศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity วิธี ABTS radical cation scavenging activity และวิธี reducing antioxidant power (FRAP) ตามลำดับ การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin – Ciocalteu โดยมีสารมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) และวิตามินซี (L-ascorbic) เป็นตัวควบคุม ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดเผาะฝ้ายมีค่าเท่ากับ 50.27±0.88 เปอร์เซ็นต์ และทดสอบด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากเห็ดป่ากินได้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด คือ สารสกัดหยาบเอทานอลของเห็ดก่อใหญ่ มีค่าเท่ากับ 57.61±0.71 เปอร์เซ็นต์ และผลการทดสอบเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของเห็ดหำฟานมีค่า FRAP value มากที่สุด เท่ากับ 1558.20 มิลลิกรัมเทียบเท่ากับสารมาตรฐาน L-ascorbic (FRAP value =1470.97 มิลลิกรัม) และเมื่อนำมาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมพบว่าให้ผลสอดคล้องกับวิธี DPPH และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม มีค่าเท่ากับ 10.53 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับสารมาตรฐาน Tannic acid ต่อกรัมของสารสกัด

Abstract

246478

The 20 wild edible mushrooms were extracts by hexane, ethyl acetate and ethanol. The crude extracts were studied for their antioxidant activity using DPPH radical scavenging activity, ABTS radical cation scavenging and reducing antioxidant power (FRAP) respectively were performed. The total phenolic content was measured by Folin-Ciocalteu method using standard vitamin C and Trolox as positive control. The highest antioxidant value by DPPH assay were found in *Astraeus hygrometricus* (Pers) Morgan to be 50.27±0.88 in ethanol extract, whereas the highest antioxidant activity ABTS assay were 57.61±0.71 % for *Russula mairei* Sing in ethanol extract. For the reducing antioxidant power (FRAP) to confirm antioxidant activity, the highest value was found in *Alpova tappei* Fogel. (FRAP value =1558.20 mg L-ascorbic equivalent) (FRAP value =1470.97 mg). The total phenolic measurement was in good correlation with that of DPPH assay, and was 10.53 mg tannic acid equivalent per gram of crude extract.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	i
บทคัดย่อภาษาไทย	ii
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	vi
สารบัญรูปภาพ	viii
คำอธิบายและสัญลักษณ์ย่อ	x
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 การทบทวนวรรณกรรม	3
2.1 อนุมูลอิสระ (Free radicals)	3
2.2 แหล่งกำเนิดอนุมูลอิสระ	5
2.3 ความสำคัญของอนุมูลอิสระ	5
2.4 โรคที่มีสาเหตุมาจากสารอนุมูลอิสระ	6
2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)	6
2.6 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ	6
2.7 ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระ	7
2.8 สารจำพวกฟีนอล	9
2.9 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรด้วยวิธีต่างๆ	10
2.10 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในงานวิจัย	11
2.11 ข้อมูลทั่วไปของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	15
2.12 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)	28
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	33
3.1 การเก็บตัวอย่างเห็ดกินได้	33
3.2 ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง	34

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ
จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีเบื้องต้น
โดยใช้วิธี DPPH Radical Scavenging Activity 34

3.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบ
จากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี
โดยใช้วิธี ABTS Cation Radical Scavenging Activity 36

3.5 การหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเห็ดป่ากินได้
จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานีโดยวิธี
Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay 37

3.6 การหาปริมาณสารฟีนอลรวม (Total phenolic compound) 38

บทที่ 4 ผลและวิเคราะห์ผลการวิจัย 40

4.1 ผลการสกัดสารจากส่วนต่างๆ ของเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด
ในจังหวัดอุบลราชธานี 40

4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ
เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล จากเห็ดป่ากินได้ จำนวน 20 ชนิด
ในจังหวัดอุบลราชธานี 41

4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ
เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอลจากเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิด
ในจังหวัดอุบลราชธานี 51

4.4 ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
โดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP assay) 61

4.5 ผลการทดสอบการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 65

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ 68

เอกสารอ้างอิง 70

ภาคผนวก ก 72

ภาคผนวก ข 76

ภาคผนวก ค 98

ภาคผนวก ง 108

ภาคผนวก จ 109

ภาคผนวก ฉ 110

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างของอนุมูลอิสระและสัญลักษณ์	4
3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี	33
3.1 ข้อมูลเห็ดป่ากินได้ทั้ง 20 ชนิด ในจังหวัดอุบลราชธานี (ต่อ)	33
4.1 น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	40
4.1 น้ำหนักแห้งของสารสกัดหยาบเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล ของสารตัวอย่าง 20 ชนิด (ต่อ)	41
4.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	42
4.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตต ของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	45
4.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	48
4.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซนของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	52
4.6 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	55
4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทานอลของตัวอย่างเห็ดป่ากินได้จำนวน 20 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	58
4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตและเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	62
4.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเห็ดป่ากินได้จากสารสกัดเอทานอล จำนวน 5 ชนิดในจังหวัดอุบลราชธานี	66
ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของส่วนสกัดหยาบเฮกเซนของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	77
ข. 2 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซีเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	73
ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	74

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซนจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	77
ข.5 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระABTS ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	76
ข.6 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอลจากสารตัวอย่าง 20 ชนิด	78
ข.7 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระFRAP เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทิลอะซิเตตของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	80
ข.8 ค่าการดูดกลืนแสงและผลการทดสอบฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ FRAP เบื้องต้น ของสารสกัดหยาบเอทานอลของสารตัวอย่าง 20 ชนิด	82
ข.9 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของเห็ดป่ากินได้ที่สกัดจากเอทานอล 5 ชนิด	84

สารบัญภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับชีวโมเลกุล เหนี่ยวนำให้เซลล์และอวัยวะ ได้รับความเสียหาย เกิดเป็นโรคต่างๆ	6
2.2 โครงสร้างของวิตามินอี (alpha - tocopherol)	8
2.3 โครงสร้างของสารมาตรฐาน Trolox และ ascorbic acid	9
2.4 โครงสร้างสารจำพวกฟีนอล	10
2.5 โครงสร้างของ ABTS (2, 2′–azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid))	13
2.6 โครงสร้าง Phosphotungstic และ Phophomolybdic acid	15
4.1 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเฮกเซน จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	44
4.2 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	47
4.3 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	50
4.4 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเฮกเซน จากสารตัวอย่างแต่ละชนิดและชนิดของสารตัวอย่าง	54
4.5 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบ เอทิลอะซิเตตจากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง	57
4.6 กราฟค่าเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดหยาบเอทานอล จากสารตัวอย่างแต่ละชนิด และชนิดของสารตัวอย่าง	60
4.7 ปริมาณความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดเอทิลอะซิเตต เอทานอลและ ชนิดของสารตัวอย่าง	63
4.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ชนิดของสารตัวอย่าง 5 ชนิด	67
ก.1 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 nm	73
ก.2 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 200 150 100 และ 50 ppm โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 nm	73
ก.3 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 μM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	74

สารบัญภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.4 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี ความเข้มข้น 1000 500 250 100 และ 50 μM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	74
ก.5 กราฟมาตรฐานของ Trolox ความเข้มข้น 1000 500 250 และ 100 μM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm	75
ก.6 กราฟมาตรฐานของ Tannic acid ความเข้มข้น 60 50 40 30 และ 20 μM โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm	75

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

คำย่อ	คำเต็ม
DPPH	2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical
Trolox®	6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2- carboxylic acid
TPTZ	2, 4, 6-Tris-(2-pyridyl)-1, 3, 5-triazine
ABTS	2, 2′ –azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid)
DPPH assay	DPPH Radical Scavenging activity assay
FRAP assay	Ferric Reducing Antioxidant Power assay
ABTS assay	ABTS Radical Cation Scavenging Activity assay
EtOAc	Ethyl Acetate
MeOH	Methanol
EtOH	Ethanol
nm	nanometer
ppm	part per million
mg	milligram
g	gram
h	hour
mL	milliliter
M	Morality
mM	millimolar
µL	microliter
µM	micromolar
N	Normal