

จุลนิพนธ์

เรื่อง

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเมล็ดองุ่น
(Antioxidant Activity from Grape Seed Extract)

โดย

นศภ. ธีรรัตน์	แย้มโรจน์	รหัส	842043
นศภ. นวลจันทร์	พันธุ์เมธามาศย์	รหัส	842047
นศภ. นวลนิตย์	แก้วนวล	รหัส	842048
นศภ. พุทธิชาติ	มากชุนนุมน	รหัส	842073

จุลนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาบัณฑิต
ประจำภาคการศึกษาปลายปีการศึกษา 2546
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

ชื่อจุลนิพนธ์ : ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากเมล็ดองุ่น

คณะผู้จัดทำ :	นศภ. ธีรรัตน์	แย้มโรจน์	รหัส	842043
	นศภ. นวลจันทร์	พันธุ์เมธามาศย์	,,	842047
	นศภ. นวลนิตย์	แก้วนวล	,,	842048
	นศภ. พุทธชาติ	มากชุนนุมน	,,	842073

อาจารย์ที่ปรึกษา : ภญ. ดร. เพ็ญพรรณ เวชวิทยาคลัง ๒๓,

บทคัดย่อ

สารสกัดจากเมล็ดองุ่น (*Vitis vinifera* Linn.) เป็นสารที่ประกอบด้วยสาร Proanthocyanidins ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยในการวิจัยนี้ได้มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและวิเคราะห์หาปริมาณ Proanthocyanidins ในเมล็ดองุ่น สายพันธุ์ *cinsaut* ที่ปลูกที่จังหวัดนครราชสีมา โดยนำผงเมล็ดองุ่นแห้งสกัดไขมันออกด้วยเครื่อง Soxhlet ซึ่งใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย จากนั้นจึงนำผงองุ่นที่ผ่านการกำจัดไขมันออกมาผ่านการสกัดด้วย 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 สกัดด้วยเครื่อง Soxhlet โดยใช้ 95%เอทานอลเป็นตัวทำละลาย แล้วนำไปทำให้เข้มข้นขึ้นจนตกตะกอนได้เป็นสารสกัดหยาบของ Proanthocyanidins 0.2167% และวิธีที่ 2 หมักกับเอทิลอะซิเตทที่มีน้ำผสมอยู่ 10% สารสกัดที่ได้ถูกทำให้เข้มข้นภายใต้สูญญากาศได้สารสกัดหยาบ 1.413% ละลายต่อในเอทิลอะซิเตทและตกตะกอนโดยการเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ได้สารสกัดหยาบของ Proanthocyanidins 0.2155% สำหรับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ Proanthocyanidins ที่สกัดได้ทั้ง 2 วิธี ถูกเปรียบเทียบกับวิตามินซีและโพลีฟีนอล ด้วยวิธี Ferric Reducing / Antioxidant Power (FRAP) assay โดยใช้เครื่อง UV Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 595 nm พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในปริมาณ 1 มิลลิกรัมของวิตามินซี, โพลีฟีนอล และสารสกัดหยาบ Proanthocyanidins ที่ได้จากวิธี Soxhlet และการหมักมีค่าเท่ากับ 14.13, 10.50, 2.98 และ 3.22 ไมโครโมล ตามลำดับ

การวิเคราะห์สารสกัดจากเมล็ดองุ่นด้วยวิธีรงเคลขมิวบางโดยใช้แคททีซินเป็นสารมาตรฐานและพ่นด้วย vanillin reagent พบว่าสารสกัดทั้ง 2 วิธี มีแถบสีชมพูแดงตรงกับแคททีซิน เมื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณ Proanthocyanidins ด้วยวิธี Vanillin-HCl assay โดยวัดที่ความยาวคลื่น 500 nm พบว่าปริมาณ Proanthocyanidins รวม ในสารสกัดหยาบจากวิธี Soxhlet และวิธีการหมัก เมื่อคำนวณในรูปแคททีซินคิดเป็น 48.16% และ 46.28% ตามลำดับ ซึ่งวิธีทั้ง 2 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์ด้วย Mann-Whitney Test สรุปได้ว่าสารสกัดจากเมล็ดองุ่นที่ปลูกในประเทศไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและ Proanthocyanidins ในปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งจากข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปช่วยปรับปรุงและพัฒนาสารสกัดจากเมล็ดองุ่นให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพื่อใช้ป้องกันและลดความรุนแรงของโรคอันเนื่องมาจาก Reactive Oxygen Species ได้

Senior Project : Antioxidant Activity from Grape Seed Extract

By : Terarat Yamrote

Nuanchan Phunttumamat

Nuannit Kaewnuan

Puttachart Makchumnum

Advisor : Penpan Wetwitayaklung

Abstract

Grape seeds extract (*Vitis vinifera* Linn.) is consisted of Proanthocyanidins which have antioxidant activity. The study research to determination antioxidant activity and analysis the amount of Proanthocyanidins of Grape seeds extract (GSE) variety *cinsaut* that is cultivated in Nakhon Ratchasima province. Dried grape seeds powder was extracted in Soxhlet extractor with hexane for removal of fatty matter. The defatted grape seeds powder was extracted with two methods. The first method was soxhleted with 95% Ethanol. The extracts were concentrated and got precipitate of crude proanthocyanidins 0.2167%. The second method was maceration with ethyl acetate : 10% H₂O. The extracts were concentrated under vacuum and yielded crude extract 1.413% of the original grape seeds content. The crude extracts were redissolved in ethyl acetate and precipitate by adding petroleum ether. The crude proanthocyanidins were precipitated out 0.2155%. The antioxidant activity of these two crude proanthocyanidins were compared with L-ascorbic acid and Trolox using Ferric Reducing / Antioxidant Power assay (FRAP assay) by UV spectrophotometer at 595 nm. The antioxidant activity per 1 mg of L-ascorbic acid, Trolox and crude proanthocyanidins from Soxhlet and maceration are 14.13, 10.50, 2.98, 3.22 μ mole, respectively.

Grape seed extracts were analysed by TLC using catechin as standard and sprayed with vanillin reagent. The extracts of two methods have red colour band straight with catechin. The amount of proanthocyanidins were analysed by vanillin-HCl assay at 500 nm. The total amount of crude proanthocyanidins from Soxhlet and maceration were 48.16% and 46.28%, respectively, calculated in catechin equivalent. They were significant difference ($P < 0.05$). It can be concluded that the antioxidant activity and the amount of proanthocyanidins of Thai cultivated GSEs are quite high. From this information could help for improving and developing Thai cultivated GSE as dietary supplement. Which is used for preventing and reducing reactive oxygen species related disease.