

นิพนธ์ต้นฉบับ

**ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวม
ของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมภูฐาน**

ศุภรัตน์ ดวนใหญ่^{1*} ชาริณห์ แจงกลาง¹ อัจฉรา แก้วน้อย¹

เพชรน้ำผึ้ง รอดโพธิ์¹ และอาวุธ หงษ์ศิริ¹

¹สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: suppharat.du@gmail.com

Received date: May 18, 2021; Revised date: July 20, 2021; Accepted date: November 25, 2021

บทคัดย่อ

งานวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสมุนไพรพิกัดตรี จำนวน 3 พิกัด คือพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมภูฐาน ที่มีประวัติในการใช้เป็นยามาตั้งแต่โบราณทำการทดสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radial scavenging capacity assay (DPPH assay) วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin Ciocalteu reagent method และหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม จากการศึกษา พบว่า สารสกัดที่แสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ สารสกัดเอทานอลของสมุนไพรพิกัดตรีสมอ มีค่า EC_{50} เท่ากับ $4.46 \pm 0.93 \mu\text{g/ml}$ และสารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอ พบ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 18.527 ± 0.169 มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่ากับน้ำหนักรสมุนไพรมะแห้ง และ 3.935 ± 0.102 มิลลิกรัม เควอซิทินเทียบเท่ากับน้ำหนักรสมุนไพรมะแห้ง ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอเป็นสมุนไพรกลุ่มหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาศึกษาและวิจัยต่อยอดด้านเภสัชวิทยาเพื่อการพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางยาต่อไป

คำสำคัญ : พิกัดตรีสมอ, พิกัดตรีสัตถุลา, พิกัดตรีผลสมภูฐาน

Antioxidant Activities, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Trisamor Trisutthakula and Tripholsamutthan

Supharat Duanyai^{1*}, charinan Jaengklang¹ Petnumpung Rodpo¹,
Atchara Keawnoi¹ and Arwut Hongsiri¹

¹Thai Traditional medicine Program, Faculty of Science and Technology,
Bansomdejchaopraya Rajabhat University

*Corresponding Author E-mail: suppharat.du@gmail.com

Abstract

This study aimed to determine the antioxidant activities, total phenolic and total flavonoid contents of three herb formula in which had been used as food and medication since ancient times. The antioxidant activity was evaluated by DPPH assays, total phenolic content using Folin-Ciocalteu reagent and total flavonoid content. The strongest antioxidant activity was found in the ethanol extract of Tri-smor herb with $EC_{50} = 4.46 \pm 0.93 \mu\text{g/ml}$. The extract was also showed the highest phenolic contents and flavonoid contents = $(18.527 \pm 0.169 \text{ mg GE/g DW and } 3.935 \pm 0.102 \text{ mg QE/g DW, respectively})$. Therefore, the ethanol extract of Tri-smor herbal have the potential of further study and follow-up pharmacological research for the development as active ingredients in medicine.

Keywords: Tri-samor, Tri-sutthakula, Tri-pholsamutthan

บทนำ

ในปัจจุบันสมุนไพรถือเป็นทรัพยากรธรรมชาติที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลายทั้งในด้านการบำบัดรักษาโรค การบำรุงร่างกาย เครื่องสำอางรวมทั้งผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร สมุนไพรส่วนใหญ่มีคุณสมบัติในการบำรุงร่างกายสามารถรักษาสมดุลของร่างกายได้โดยการไปเพิ่มการไหลเวียนเลือดในร่างกายช่วยให้ระบบย่อยอาหารเป็นปกติให้พลังงานแก่ร่างกาย เพิ่มการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และนอกจากนี้สมุนไพรยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ช่วยปกป้องร่างกายจากการทำลายของสารอนุมูลอิสระที่เกิดจากการขนส่งอิเล็กตรอนในกระบวนการเผาผลาญอาหารให้เป็นพลังงาน มลพิษทางอากาศและสภาวะทางอารมณ์ เช่น ความเครียด เป็นต้น⁽¹⁾ สมุนไพรที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้ คือสมุนไพรพิกัตตรีสมอ พิกัตตรีสัตกุล และพิกัตตรีผลสมภูฐาน ซึ่งเป็นพืชที่มีประวัติการใช้ในการรักษาทางการแพทย์แผนไทยมาตั้งแต่โบราณโดยพิกัตตรีสมอประกอบด้วยส่วนผลของสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สมอไทย (*Terminalia chebula* Retz. var. *chebula*) สมอพิเภก (*T. bellerica* (Gaertn.) Roxb.) สมอเทศ (*Terminalia spp.*) พิกัตตรีสัตกุล ประกอบด้วยส่วนผลของสมุนไพร 3 ชนิด คือ เทียนดำ (*Nigella sativa*) ลูกผักชีลา (*Coriandrum sativum* L.) เหง้าขิงสด (*Zingiber officinale* Roscoe) และ พิกัตตรีผลสมภูฐาน ประกอบด้วยส่วนผลของสมุนไพร 3 ชนิด คือ ลูกมะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Corrêa ex Roxb.) ลูกยอ (*Morinda citrifolia* L.) ลูกผักชีลา (*Coriandrum sativum* L.) ซึ่งทั้ง 3 พืชนี้มีสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทย คือ ช่วยในการบำรุงธาตุ ขับลม⁽²⁾ และยังมีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดสมุนไพรเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพิกัตตรีดังกล่าวด้วย อาทิเช่น สารสกัดจากสมอไทย และ สมอพิเภกซึ่งอยู่ในพิกัตตรีสมอมีฤทธิ์ลดระดับไขมันในเลือดได้^(3, 4, 5, 6) ในผลสมอไทยพบสารประกอบฟีนอลิกปริมาณสูง เช่น gallic acid ellagic acid chebulic acid และ corilagin ซึ่งสารเคมีเหล่านี้มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามากมาย เช่น ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ ฤทธิ์ต้านไวรัส ฤทธิ์ต้านเชื้อรา ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านการแพ้ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านมะเร็ง และฤทธิ์ต้านเบาหวาน^(7, 8) เป็นต้น สมอเทศ (*Terminalia arjuna*) จากงานวิจัยสารสกัดน้ำและเอทานอลของผลสมอเทศมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ดี⁽⁹⁾ และสารสกัดเอทานอลของใบสมอเทศ พบสารในกลุ่มฟีนอลิก กลุ่มฟลาโวนอยด์และแทนนิน⁽¹⁰⁾ สารสกัดเอทานอลของใบสมอเทศยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และลดระดับน้ำตาลในหนู⁽¹⁰⁾ ยอ (*Morinda citrifolia* L.) ส่วนของผล ใบ และรากของยอมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น สาร flavonoids, triterpenoids, triterpenes, saponins, carotenoids, vitamin C, vitamin E เป็นต้น^(11,12) ซึ่งสารเหล่านี้สามารถช่วยขจัดอนุมูลอิสระได้อย่างมีประสิทธิภาพและในผลยอยังพบสารdeacetylasperulosidic acid (DAA) เป็นสารสำคัญหลักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งในหนูขาวใหญ่และในมนุษย์⁽¹³⁾ ผักชีลา (*C sativum* L.) ส่วนของใบมีสรรพคุณช่วยบำรุงธาตุในร่างกาย แก้อาการกระหายน้ำ แก้อาการไอ แก้วหวัด แก้อาการคลื่นไส้ ผลช่วยให้เจริญอาหารมากขึ้น ช่วยละลายเสมหะ แก้อาการปวดฟัน สารสกัดแอลกอฮอล์จากใบและลำต้นของผักชีลามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้ในการศึกษาสารสำคัญในผลผักชีลาพบสารในกลุ่ม saponins, amino acids, starch, triterpenoid และ steroidal glycosides, polyacetylenes, aromatic compound glycosides, phenolic compounds และน้ำมันหอมระเหยพบสารในกลุ่ม monoterpenoids, monoterpenoid glycosides, monoterpenoid glucoside sulfates linalool และ geraniol⁽¹⁵⁾ เหง้าขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) ในเหง้าขิงอ่อนสดและขิงแก่สกัดด้วยเอทานอลพบสาร zingiberene เป็นองค์ประกอบ ส่วนน้ำมันหอมระเหยจากขิงอ่อนแห้ง พบสาร camphene และน้ำมันหอมระเหยจากขิงแก่แห้งจะพบสาร geraniol⁽¹⁶⁾ โดยสารสกัดขิงสามารถช่วยชะลอความชราและต้านอนุมูลอิสระได้⁽¹⁷⁾ เป็นต้น จากข้อมูลสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยและจาก

การทบทวนวรรณกรรมเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวม และสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรส่วนใหญ่เป็นสมุนไพรเดี่ยวในตำรับ แต่รายงานการวิจัยเกี่ยวกับการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดสมุนไพรที่เป็นตำรับพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัดนั้น ยังมีรายงานการวิจัยน้อยมาก

ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวม และสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรตำรับพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา และพิกัดตรี ผลสมุฏฐาน โดยใช้ตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน คือ ตัวทำละลายน้ำและตัวทำละลายเอทานอล เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ส่วนใหญ่เป็นสารกลุ่มที่มีขั้วซึ่งสามารถละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดีจึงเลือกใช้ตัวทำละลายน้ำและเอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารและตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดมีความปลอดภัย จากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการใช้พิกัดยาสมุนไพร และพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติเพื่อใช้ในการดูแลสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมุฏฐาน ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน

ระเบียบวิธีการศึกษา

1. วัตถุดิบและวิธีการสกัด

สมุนไพรกลุ่มพิกัดตรี ที่มีประวัติในการใช้เป็นอาหารและยามาตั้งแต่โบราณและมีข้อมูลการวิจัยทางด้านเภสัชวิทยาและความเป็นพิษโดยเลือกสมุนไพรที่หาได้ง่ายและเป็นยาจากสมุนไพรที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิม หรือ ตามตำรายาแผนไทย ได้แก่ พิกัดตรีสมอ ประกอบด้วยเครื่องยา 3 อย่าง คือ สมอพิเภก สมอไทย และสมอเทศ ตรีสัตถุลา ประกอบด้วยเครื่องยา 3 อย่างคือ เทียนดำ ลูกผักชีลา เหง้าขิงสด และตรีผลสมุฏฐาน ประกอบด้วยเครื่องยา 3 อย่างคือ ลูกมะตูม ลูกยอ ลูกผักชีลา จากร้านขายยาแผนโบราณ นำมาทำการบดให้ละเอียดและร่อนผ่าน sieve เบอร์ 80 จากนั้นนำสมุนไพรมาสกัดด้วยเอทานอลและน้ำ

1.1 การหมักด้วยเอทานอล นำสมุนไพรเดี่ยวของแต่ละพิกัดมาผสมกันในอัตราส่วนเท่า ๆ กัน (20 : 20 : 20 กรัม) นำไปหมักด้วย 95% เอทานอล และเขย่าทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง กรองและทำให้แห้งด้วยวิธี evaporation ด้วยเครื่อง Rotary evaporator (รุ่น Base Hei-VAP HL) จะได้สารสกัดหยาบ คือ สารสกัดพิกัดตรีสมอ สารสกัดพิกัดตรีผลสมุฏฐาน และสารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา

1.2 การสกัดด้วยน้ำ นำสมุนไพรเดี่ยวของแต่ละพิกัดมาผสมกันในอัตราส่วนเท่า ๆ กัน (20 : 20 : 20) นำมาต้มในน้ำจนเดือดใช้เวลาต้ม 15 นาที^(18,19) กรองแล้ว ทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dryer จะได้สารสกัดที่มีลักษณะเป็นผง

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัตตรีสมอ สารสกัดพิกัตตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัตตรีผลสมฐาน โดยวิธี DPPH radical scavenging capacity

ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH radical scavenging capacity⁽²⁰⁾ ในการทดสอบจะใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 50-600 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในตัวทำละลายเอทานอล จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยาโดยใช้ สารละลายของสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 0.2 mM DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่อง microplate reader (Perkin Elmer®, รุ่น Em Sight 3400) จากผลที่ได้นำมาหาความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถลดปริมาณอนุมูลอิสระในหลอดทดลองดังสมการที่ 1 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะถูกแสดงในค่า EC₅₀ (50% Effective Concentration)

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}}) - (A_{\text{sample}} - A_{\text{blank sample}})}{(A_{\text{control}} - A_{\text{blank control}})} \times 100 \quad \text{สมการที่ 1}$$

เมื่อ	A_{control}	= absorbance of control
	$A_{\text{blank control}}$	= absorbance of blank control
	A_{sample}	= absorbance of sample
	$A_{\text{blank sample}}$	= absorbance of blank sample

เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี โดยพล็อตกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดจากสมุนไพรกับ % radical scavenging จากนั้นหาค่า EC₅₀ หรือความเข้มข้นของน้ำมันหอมระเหยที่สามารถยับยั้ง DPPH ได้ครึ่งหนึ่ง

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดพิกัตตรีสมอ สารสกัดพิกัตตรี สัตถุลา และสารสกัดพิกัตตรีผลสมฐาน โดยใช้วิธี Folin–Ciocalteu

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดด้วยวิธี Folin–Ciocalteu⁽²⁰⁾ ในการทดสอบจะใช้กรดแกลลิก (gallic acid, Alfa Aesar) เป็นสารมาตรฐานโดยเตรียมสารละลายของสารสกัดที่ความเข้มข้น 10 mg/ml ในตัวทำละลายเอทานอล (Merck, Germany) จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยาโดยใช้ สารสกัดปริมาตร 25 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Folin–Ciocalteu reagent (Merck, Germany) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ 8 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 75 ไมโครลิตร และ 20% sodium carbonate ปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นตั้งสารละลายทิ้งไว้ในที่มืด 60 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยเครื่อง microplate reader ทำการทดลอง 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Alfa Aesar) คำนวณในรูปของมิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง (Gallic acid equivalent, GE/ g DW)

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน

การตรวจสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม⁽²⁰⁾ โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอซีทิน (quercetin, sigma-aldrich) เข้มข้น 100 µg/ml (stock solution) เจือจางให้ได้สารละลายความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 45 µg/ml นำสารสกัดตัวอย่างความเข้มข้น 10mg/ml หรือสารมาตรฐาน 100 µl เติม 2% AlCl₃ 100 µl และเติมเอทานอล 100 µl ทั้งไว้อ่อนหมักทิ้งเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ด้วยเครื่อง Microplate reader ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ไปคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมจากกราฟมาตรฐานของเคอซีทิน คำนวณในรูปของมิลลิกรัมเคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัม น้ำหนักสมุนไพรแห้ง (quercetin equivalent, QE/ g DW)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Statistical analysis)

ทุกการทดลองต้องมีการทดสอบอย่างน้อย 3 ครั้ง แสดงข้อมูลในรูปแบบของค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (mean ± SEM) และทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระกัน (Independent-Samples t-test) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของวิธีวิเคราะห์ต่างๆ ด้วยการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สันด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS เวอร์ชัน 23

ผลการศึกษา

1. ผลการเตรียมสารสกัดสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรพิกัดตรี 3 พิกัด ประกอบด้วย พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมฐาน และพิกัด ตรีสมอ นำมาเตรียมเป็นสารสกัดโดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล ผลการสกัด พบว่า สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา สารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน และสารสกัดพิกัดตรีสมอ มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลหนืดและร้อยละผลผลิตของ สารสกัด เท่ากับ 11.84 12.11 และ 29.73 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ และสารสกัดน้ำของสารสกัดสมุนไพร พิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด พบว่า สารสกัดพิกัดตรีสมอมีปริมาณร้อยละสารสกัดมากที่สุด เท่ากับ 32.34 โดยน้ำหนัก รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีผลสมฐานและสารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา เท่ากับ 25.20 และ 20.15 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดตรีสมอ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลาและสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน โดยวิธี DPPH radical scavenging capacity

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด ด้วยตัวทำละลายน้ำ และตัวทำละลายเอทานอลโดยวิธี DPPH radical scavenging capacity ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดของพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกันมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในทุกตัวอย่างให้ค่า EC₅₀ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอแสดงสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดโดยมีค่า EC₅₀ เท่ากับ 4.46 ± 0.93 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน แสดงค่า EC₅₀ เท่ากับ 118.57 ± 8.23 , 575.59 ± 3.55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำ พบว่า สารสกัดน้ำของพิกัดตรีสมอแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 22.62 ± 0.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน คือ มีค่า EC₅₀ เท่ากับ 139.81 ± 3.09 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 315.59 ± 0.85 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด กับสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีซึ่งแสดงผลดังตารางที่ 2

3. ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลาและสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐานโดยใช้ Folin-Ciocalteu

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด คือ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมฐาน และพิกัดตรีสมอ เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) ได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2 = 0.9992$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y = 0.0692x + 0.0806$) พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงที่สุด เท่ากับ 18.527 ± 0.169 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน คือ มีค่าเท่ากับ 0.488 ± 0.189 และ 0.163 ± 0.007 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำของพิกัดตรีสมอพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด คือ มีค่าเท่ากับ 5.185 ± 0.034 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีผลสมฐานและสารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา มีค่าเท่ากับ 2.437 ± 0.199 และ 1.544 ± 0.028 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้ง 3 พิกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและน้ำของทั้ง 3 พิกัด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน

ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด คือ พิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา และพิกัดตรีผลสมฐานที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและตัวทำละลายเอทานอล เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอซีทิน (quercetin) ได้ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ($R^2 = 0.9997$) โดยมีสมการเส้นตรง ($y = 0.0139x - 0.1083$) ผลการทดสอบ พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด คือ มีค่าเท่ากับ 3.935 ± 0.102 มิลลิกรัมเคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา และสารสกัดพิกัดตรีผลสมฐานพบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 0.185 ± 0.009 และ 0.158 ± 0.002 มิลลิกรัมเคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำ พบว่า สารสกัดพิกัดตรีสมอมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.642 ± 0.018 มิลลิกรัม เคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง รองลงมา คือ สารสกัดพิกัดตรีผลสมฐานและสารสกัดพิกัดตรีสัตถุลา มีค่าเท่ากับ 2.030 ± 0.011 และ 1.472 ± 0.010 มิลลิกรัมเคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง ตามลำดับ แสดงผลดังตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบผลของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ของสารสกัดพิกัดตรีทั้ง 3 พิกัด ที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างชนิดกัน พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยเอทานอลและน้ำของทั้ง 3 พิกัด มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

อภิปรายผล

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด พิกัดตรีสมอ พิกัดตรีผลสมูฐฐาน และพิกัดตรีสัตถุลา พบว่า สารสกัดพิกัดตรีสมอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม สูงที่สุดและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดทั้งสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอล รองลงมา คือ พิกัดตรีสัตถุลา และพิกัดตรีผลสมูฐฐาน เมื่อพิจารณาในภาพรวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมีแนวโน้มสอดคล้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ นั่นคือ ถ้าสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะสูงตามไปด้วย แสดงดังตารางที่ 5 ที่แสดงความสัมพันธ์โดยการวัดสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สันของวิธีทดสอบเป็นรายคู่ พบว่า คู่ที่มีความสัมพันธ์สอดคล้องกันมากที่สุดคือ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมโดยได้ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.790 อีกทั้งกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกยังเป็นสารกลุ่มที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิด ออกซิเดชัน⁽²¹⁾ ดังนั้นถ้าในสารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระก็จะสูง เช่นกัน ตัวอย่างเช่น สารสกัดพิกัดตรีสมอ ประกอบด้วย สมอพิเภก สมอไทย และสมอเทศ ซึ่งเป็นสมุนไพรกลุ่ม Terminalia species พบสาร gallic acid, chebulagic acid, corilagin, terchebin, glucogallin, ellagic acid, tannic acid เป็นองค์ประกอบ เช่น ในผลสมอพิเภกพบ gallic acid และ catechin^(22, 23) และผลสมอไทยพบสาร quinic acid chebulagic acid chebulinic acid และ ellagic acid⁽²²⁾ ซึ่งสารดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นสารที่มีขั้ว สามารถละลายในน้ำและแอลกอฮอล์ได้ดีและสารส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกที่มีโครงสร้างหลักประกอบด้วย Aromatic ring แทนที่ด้วย Hydroxy group กลไกของสารจำพวกสารประกอบฟีนอลิกที่แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ คือ เมื่อมีอนุมูลอิสระมาดิงอิเล็กตรอนไปแต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่นและสามารถเกิดการ เคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรและสามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระได้ดีโดยไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป⁽²⁴⁾ ปฏิกริยาถูกโซ่จึงสิ้นสุดลงซึ่งจะเห็นว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกสูงส่งผลให้สารสกัดสมุนไพรนั้นมีแนวโน้มการต้านอนุมูลอิสระที่สูงด้วย

บทสรุป

จากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา และพิกัดตรีผลสมูฐฐานที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่ต่างชนิดกัน คือ เอทานอลและน้ำ พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอแสดงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุดด้วย ดังนั้นสารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอจึงเป็นสารสกัดที่น่าสนใจ ควรมีการศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมีสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ เพื่อพัฒนาเป็นสารออกฤทธิ์ทางยาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาและขอบพระคุณ สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยาที่ให้ความสะดวกในการใช้อาคารสถานที่รวมถึงอุปกรณ์และเครื่องมือต่าง ๆ ในการดำเนินการวิจัย

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิต (percent yield) ของสารสกัด

ชนิดสารสกัด	ร้อยละผลผลิตของสารสกัดน้ำ	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด
	(% w/w)	เอทานอล (% w/w)
สารสกัดพิกัดตรีสัตกุลลา	20.15	11.84
สารสกัดพิกัดตรีผลสมภูฐาน	25.20	12.11
สารสกัดพิกัดตรีสมอ	32.34	29.73

ตารางที่ 2ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH (Mean $\pm$ S.D., n=3)

ชนิดสารสกัด	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH EC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)		
	สารสกัดน้ำ	สารสกัดเอทานอล	P Value
สารสกัดพิกัดตรีสัตกุลลา	202.50 $\pm$ 3.09 ^a	118.57 $\pm$ 8.23 ^b	0.046
สารสกัดพิกัดตรีผลสมภูฐาน	315.59 $\pm$ 0.845 ^a	575.59 $\pm$ 3.55 ^b	0.000
สารสกัดพิกัดตรีสมอ	22.62 $\pm$ 0.12 ^a	4.46 $\pm$ 0.93 ^b	0.000
วิตามิน ซี 5.43 $\pm$ 0.54			
ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร			

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 ปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัด (Mean $\pm$ S.D., n=3)

ชนิดสารสกัด	ค่าเปรียบเทียบกรดแกลลิก (มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)		
	สารสกัดน้ำ	สารสกัดเอทานอล	P Value
สารสกัดพิกัดตรีสัตกุลลา	1.544 $\pm$ 0.028 ^a	0.488 $\pm$ 0.189 ^b	0.009
สารสกัดพิกัดตรีผลสมภูฐาน	2.437 $\pm$ 0.199 ^a	0.163 $\pm$ 0.007 ^b	0.000
สารสกัดพิกัดตรีสมอ	5.185 $\pm$ 0.034 ^a	18.527 $\pm$ 0.169 ^b	0.000

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่ต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัด (Mean $\pm$ S.D., n=3)

ชนิดสารสกัด	ค่าเปรียบเทียบเคอซีทิน (มิลลิกรัมเคอซีทินเทียบเท่าต่อกรัมน้ำหนักสมุนไพรแห้ง)		
	สารสกัดน้ำ	สารสกัดเอทานอล	P Value
สารสกัดพิกัดตรีสัตกุล	1.472 $\pm$ 0.010 ^a	0.185 $\pm$ 0.009 ^b	0.000
สารสกัดพิกัดตรีผลสมฐาน	2.030 $\pm$ 0.011 ^a	0.158 $\pm$ 0.002 ^b	0.000
สารสกัดพิกัดตรีสมอ	3.642 $\pm$ 0.018 ^a	3.935 $\pm$ 0.102 ^b	0.008

หมายเหตุ อักษรภาษาอังกฤษพิมพ์เล็กที่แตกต่างกัน แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 5 การวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยการวัดสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน

เปรียบเทียบวิธีทดสอบ	ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน
ฟีนอลิก : ฟลาโวนอยด์	0.790
DPPH : ฟลาโวนอยด์	- 0.688
DPPH : ฟีนอลิก	- 0.587
ฟีนอลิก (สารสกัดน้ำ) : ฟีนอลิก (สารสกัดเอทานอล)	0.968
ฟลาโวนอยด์ (สารสกัดน้ำ) : ฟลาโวนอยด์ (สารสกัดเอทานอล)	0.967

เอกสารอ้างอิง

1. กรรณก โอภาสตระกูล, ชวิกันต์ ทับบุญ, พรณวดี อุปนันท์, เมธิณ ผดุงกิจ, และพรพรรณ เหล่าวิชระสุวรรณ. (2557). การพัฒนาตำรับยาน้ำสมุนไพรบำรุงร่างกาย. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน**, 9 (ฉบับพิเศษ), 11-16.
2. ชนาณัติ แสงอรุณ. (2557). พิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมภูฐาน. **เภสัชกรรมไทย (ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรม กองการ ประกอบโรคศิลปะ)**. สืบค้นเมื่อ 4 ธันวาคม 2562. จาก <https://www.slideshare.net/UtaiSukviwatsiriku/ss-39035258>.
3. ปราณี ขวลิตรำรงค์, เอมมนัส อุตตวิชัย, พิช รักษามัน และปราณี จันทระเพ็ชร. (2539). พิษกึ่งเฉียบพลันของยาแผนโบราณตรีผลา. **วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์**, 38(3), 161-191.
4. Maruthappan, V., & Shree, K.S. (2010). Hypolipidemic activity of Haritaki (*Terminalia chebula*) in atherogenic diet induced hyperlipidemic rats. **Journal of Advance Pharmaceutical Technology Research**, 1(2), 229-235.
5. Shaila, H.P., Udupa, S.L., & Udupa, A.L. (1995). Preventive actions of *Terminalia belerica* in experimentally induced atherosclerosis. **International Journal of Cardiology**, 49(2), 101-106.
6. Antony, B., Benny, M., & Kaimal, T.N.B. (2008). A pilot clinical study to evaluate the effect of *Emblca officinalis* extract (Amlamax™) on markers of systemic inflammation and dyslipidemia. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, 23(4), 378-381.
7. ณพัชร บัวฉวน, ณัฐพล สิงสุข, พลวัฒน์ กันอาน และสุชาติรัตน์ แก้วประเสริฐ. (2561).ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบสมอไทย. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์**, 13(2), 98-107.
8. นพิตา แสนประกอบ และเกศศิริพันธ์ แสงมณี. (2563). การพัฒนาสูตรเจลล้างหน้าป้องกันสิวโดยใช้สารสกัดสมอไทย. **วารสารวิชามหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช**, 39(2), 87-100.
9. รัตติยา ตั้งบูชาเกียรติ. (2562). ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันโดยรวมของสมุนไพรในตำรับยาอายุวัฒนะที่สกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆ โดยวิธี ABTS Radical Scavenging. **งานประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปี 2562**. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยรังสิต .
10. Arya, A., Nyamathulla, S., Noordin, M.I., & Alimohd, M. (2012). Antioxidant and hypoglycemic activities of leaf extracts of three popular *Terminalia* species. **Journal of Chemistry**, 9(2), 883-892.
11. Tsuchiya, H., Sato, M., Miyazaki, T., Fujiwara, S., Tanigaaki, S., Ohyama, M., Tanaka, T., & Linuma, M. (1996). Comparative study on the antibacterial activity of phytochemical flavanones against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. **Journal of Ethnopharmacology**, 50(1), 27-34.
12. Scortichini, M., & Rossi, M.P. (1991). Preliminary in vitro evaluation of the antimicrobial activity of terpenes and terpenoids towards *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow et al. **Journal of Applied Bacteriology**, 71(2), 109-112.
13. Chen, Y.L., Peng, H.C., Tan, S.W., Tsai, C.Y., Huang, Y.H., Wu, H.Y., & Yang, S.C. (2013). Amelioration of ethanol-induced liver injury in rats by nanogold flakes. **Alcohol**, 47(6), 467-472.

14. Wong, P.Y.Y., & Kitts D.D. (2006). Studies on the dual antioxidant and antibacterial properties of parsley (*Petroselinum crispum*) and cilantro (*Coriandrum sativum*) extracts. **Food Chemistry**, 97(3), 505-15.
15. Mandal, S., & Mandal, M. (2015). Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, 5(6), 421-8.
16. วทันยา ลิ้มปยอ, ญัฐฐา เล่าหลุยจิตต, ภรณ์ทิพย์ ดุษฎีลาวิณย, และเกษรา วามะศิริ. (2557). องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยขิง. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจร**, 37(3), 297-312.
17. Leal, P.F., Braga, M.E.M., Sato, D.N., Carvalho, J.E., Marques, M.O.M., & Meireles, M.A.A. (2003). Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51, 2520-2525.
18. นภาพร พัฒนาเจริญชัย และ อรุณพร อิฐรัตน์. (2560). ฤทธิ์ต้านการแพ้ของพิกัดยาตรีภูฏา ตรีผลา และตรีสาร. **ธรรมศาสตร์เวชสาร**, 17(4), 548-556.
19. วัชรภรณ์ นิลเพ็ชร. (2561). ตรีภูฏาทารับยาไทยที่ควรใช้ในฤดูฝน. **จุลสารกรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก**, 1(2), 2.
20. Sithisarn, P., Rojsanga, P., Sithisarn, P., & Kongkiatpaiboon, S. (2015). Antioxidant Activity and Antibacterial Effects on Clinical Isolated *Streptococcus suis* and *Staphylococcus intermedius* of Extracts from Several Parts of *Cladogynos orientalis* and Their Phytochemical. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, 1-8. Retrieved 4 December 2019, from <https://doi.org/10.1155/2015/908242>.
21. ลือชัย บุตุคุป. (2555). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม**, 31, 443-455.
22. Singh, A., Bajpai, V., Kumar, S., Kumar, B., Srivastava, M., & Rameshkumar, K. B. (2016). Comparative profiling of phenolic compounds from different plant parts of six Terminalia species by liquid chromatography–tandem mass spectrometry with chemometric analysis. **Industrial Crops and Products**, 87, 236–246.
23. Kushwaha, N., Mondal, D.B., Gupta, V.K., & Jithin M.V. (2017). Phytochemical analysis and assessment of in vitro antioxidant properties of different plants. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 6(3), 123–130.
24. Pietta, P.G. (2000). Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, 63, 1035-1042.