

นิพนธ์ต้นฉบับ

**การศึกษาปริมาณสารฟีนอลิก ปริมาณสารฟลาโวนอยด์
และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสมุนไพรร**

ชาริรัตน์ แจงกลาง^{1*} ศุภรัตน์ ดวนใหญ่¹ วรกานต์ โสมี¹ สิริภา ทมตะขบ¹ และ ภัศรี แสงสาย¹

¹ภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

*ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: ch.jaengklang@gmail.com

Received date: January 24, 2022; Revised date: March 22, 2022; Accepted date: June 14, 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพรร 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ชิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา ในวิจัยครั้งนี้ได้เตรียมสารสกัดสมุนไพรร 8 ชนิด ด้วยวิธีการหมักกับเอทานอลร้อยละ 95 จากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรรมาทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay และศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมี โดยทำการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu assay และการทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม โดยวิธี aluminium chloride colorimetric assay ผลการทดลองพบว่า สารสกัดสมอไทยให้ผลผลิตการสกัดสูงสุด ซึ่งมีค่าเท่ากับ 29.62 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง สารสกัดสมอพิเภกแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.31 ± 0.10 µg/mL อย่างไรก็ตามสารสกัดสมอพิเภกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากการศึกษาองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัด พบว่า สารสกัดสมอเทศมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด ซึ่งแสดงค่าเท่ากับ 89.97 ± 10.87 g GAE/100 g สารสกัด ขณะที่สารสกัดสมอพิเภกมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด ซึ่งแสดงค่าเท่ากับ 13.11 ± 0.81 g QE/100 g สารสกัด ข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากงานวิจัยนี้สนับสนุนการนำสมุนไพรรไปพัฒนาเพื่อใช้ในทางการแพทย์และเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในอนาคต

คำสำคัญ: ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม ปริมาณสารฟีนอลิกรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Study on total phenolic content, total flavonoid content and free radical scavenging activity in herbal extracts

Charinan Jaengklang^{1*} Supharat Duanyai¹ Worakan Somee¹

Siripha Thomtakhob¹ and Phatsri Saengsai¹

¹Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology,

Bansomdejchaopraya Rajabhat University

*Corresponding Author E-mail: ch.jaengklang@gmail.com

Abstract

This research aimed to study on total phenolic content, total flavonoid content and free radical scavenging activity of eight herbal extracts such as *Terminalia arjuna*, *Terminalia chebula*, *Terminalia bellirica*, *Zingiber officinale*, *Nigella sativa*, *Aegle marmelos*, *Morinda citrifolia*, and *Coriandrum sativum*. In this study, eight herbal extracts were prepared by maceration with 95 % ethanol. All extracts were investigated for free radical scavenging activity by DPPH assay and phytochemical analysis of extracts by determination of total phenolic content using Folin-Ciocalteu assay and the total flavonoid content was determined by aluminum chloride colorimetric assay. The result showed the highest yield at 29.62 % dry weight from *Terminalia chebula* extract. The *Terminalia bellirica* extract showed the highest antioxidant capacity with IC₅₀ value of 2.31 ± 0.10 µg/mL. However, *Terminalia bellirica* extract has significantly lower antioxidant capacity than ascorbic acid. Phytochemical analysis of extracts revealed that *Terminalia arjuna* extract showed the highest total phenolic content (89.97 ± 10.86 g gallic acid equivalent 100 g of extract) while *Terminalia bellirica* extract showed the highest total flavonoid content (13.11 ± 0.80 g quercetin equivalent 100 g of extract). The overall information obtained from this research supported the future development of herbs for medicinal purposes and dietary supplements.

Keywords: Total flavonoid content, Total phenolic content, Free radical scavenging activity

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radicle) หมายถึงอะตอมหรือโมเลกุลที่มีจำนวนอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวซึ่งไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยอนุมูลอิสระเป็นสารที่เกิดจากกระบวนการเผาผลาญอาหารในร่างกาย รวมถึงมลพิษต่าง ๆ เช่น โอโซน โลหะหนัก และควันบุหรี่ อนุมูลอิสระสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุล เช่น ลิพิด โปรตีน และดีเอ็นเอ นำไปสู่การทำลายเนื้อเยื่อ เป็นสาเหตุให้เกิดความผิดปกติทั้งภายในและภายนอก รวมทั้งก่อให้เกิดโรคหลายชนิด ได้แก่ โรคชรา โรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความจำเสื่อม โรคข้ออักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคความดันโลหิต โรคความจำเสื่อม โรคที่เกิดจากความผิดปกติของตา โรคความผิดปกติของระบบประสาท รวมถึงความแก่ชราธรรมชาติหรือร่างกายของสิ่งมีชีวิตมีการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นเพื่อทำหน้าที่ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งกลไกในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระ การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระ มีทั้งจากธรรมชาติ⁽¹⁾ พบได้ทั้งในจุลชีพ สัตว์ และพืช ซึ่งมีทั้งที่เป็นวิตามิน เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และนอกจากนี้ ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ ได้แก่ propyl gallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylate hydroxyanisole, BHT (butylatedhydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone

ปัจจุบันประเทศต่าง ๆ ในโลกเริ่มให้ความสำคัญในการใช้พืชสมุนไพรในด้านอุตสาหกรรมยา ในประเทศไทยมีการใช้สมุนไพรตามตำรับยาไทย ซึ่งเป็นภูมิปัญญาที่ได้รับการสืบทอดกันมาเป็นเวลานาน เพื่อใช้ในการรักษาโรคและดูแลสุขภาพ ซึ่งมีสมุนไพรหลายชนิดที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในทางการแพทย์ จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสมอไทย (*Terminalia chebula* Retz) พบว่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* และพบว่าสมอไทยมีกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกสูงเป็นองค์ประกอบทางเคมี นอกจากนี้ผลสมอไทยมีสรรพคุณทางยาไทยเป็นยาระบายถ่ายเสมหะแก้เสมหะ⁽²⁾ สมอเทศ (*Terminalia arjuna* Wight and Arn.) มีสรรพคุณเป็นยาระบายอ่อนๆ เป็นยาขับเสมหะ ขับลม จากรายงานวิจัยพบว่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งและฆ่าเชื้อรา *Candida albicans* และพบสาร glycoside, flavonoids และ luteolin เป็นองค์ประกอบทางเคมีในสมอเทศ⁽³⁾ สมอพิเภก (*Terminalia bellirica* (Gaertn.) Roxb.) มีสรรพคุณทางยาไทยเป็นยาระบาย ยาถ่าย จากการศึกษาพบว่า สมอพิเภกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และมีสาร chebulagic acid, ellagic acid, gallic acid และ chebulagic acid เป็นองค์ประกอบทางเคมี⁽⁴⁾ ขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) มีสรรพคุณทางยาไทยช่วยรักษาอาการท้องอืด เพื่อ แก้กลิ้นไส้ อาเจียน ในขิงพบสารประกอบหลักเป็นกลุ่มน้ำมันหอมระเหย คือ sesquiphellandrene hydrocarbon จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า ขิงมีฤทธิ์ในการลดการหดเกร็งของลำไส้ และมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อปรสิต⁽⁵⁾ เทียนดำ (*Nigella sativa* L.) มีสรรพคุณทางยาไทยขับเสมหะให้ลงสู่คอหอย ขับลมในลำไส้ พบว่าในเทียนดำมีกลุ่มน้ำมันระเหย linoleic acid, oleic acid และ palmitic acid จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่าเทียนดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ⁽⁶⁾ ผักชีลา (*Coriandrum sativum* L.) มีสรรพคุณขับลม แก้อืดเพื่อ บำรุงธาตุ แก้กษัยน้ำ แก้กลิ้นไส้ อาเจียน จากการศึกษาฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า ผักชีลา มีฤทธิ์ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร ฤทธิ์คลายความวิตกกังวล ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านเชื้อรา⁽⁷⁾ ยอ (*Morinda citrifolia* Linn.) สรรพคุณทางยาไทยช่วยขับลมในลำไส้ แก้กลิ้นเทียนอาเจียน ในลูกยอพบสาร Asperuloside เป็นองค์ประกอบทางเคมี มีรายงานการวิจัยพบว่าสารสกัดยอบผลลูกยอมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และลูกผักชีลา มีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร⁽⁸⁾ มะตูม (*Aegle marmelos* (L.) Correa) มีสรรพคุณทางยาไทย ช่วยเจริญอาหาร บำรุงกำลัง แก้อ่อนในกระหายน้ำ ช่วยขับผายลม ในมะตูมมีสารอัลคาลอยด์

เป็นองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ marmin, marmelide, aegeline, aegelinol และ O-methylhalfordinol จากรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาพบว่า มะตูมมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อรา⁽⁹⁾ ในการวิจัยครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้คัดเลือกสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ชิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา ซึ่งเป็นสมุนไพรที่อยู่ในพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา และพิกัดตรีผลสมุฏฐาน ทั้ง 3 พิกัดนี้มีสรรพคุณในการช่วยบำรุงธาตุ และขับลม โดยพิกัดตรีสมอ ประกอบด้วย สมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ (*Terminalia arjuna*) สมอไทย (*Terminalia chebula*) และ สมอพิเภก (*Terminalia bellirica*) สำหรับพิกัดตรีสัตถุลา ประกอบด้วยสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ ชิง (*Zingiber officinale*) เทียนดำ (*Nigella sativa*) และผักชีลา (*Coriandrum sativum*) ส่วนพิกัดตรีผลสมุฏฐาน ประกอบด้วยสมุนไพร 3 ชนิด คือ มะตูม (*Aegle marmelos*) ลูกยอ (*Morinda citrifolia*) และลูกผักชีลา (*Coriandrum sativum*)⁽¹⁸⁾ ในการศึกษาครั้งนี้จะนำสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด มาสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง โดยนำสมุนไพรมาสกัดในตัวทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และนำไป sonicate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งในการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง จะทำให้เกิดการสั่นสะเทือนและเกิดฟองอากาศขนาดเล็กจำนวนมากอย่างรวดเร็วในตัวทำละลายทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาจากสมุนไพร ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยในการลดระยะเวลาในการสกัด เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบหมักและวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง⁽²⁴⁾ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกและปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เนื่องจากกลุ่มสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งช่วยกำจัดอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่าง ๆ ในร่างกาย^(19,20)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ทำเพื่อศึกษาองค์ประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพร ซึ่งประกอบด้วย การตรวจสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี Folin – Ciocalteu assay และการตรวจสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี aluminium chloride colorimetric assay รวมถึงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay เพื่อเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนการใช้สมุนไพรไทยในทางการแพทย์ และเป็นผลิตภัณฑ์ในการดูแลสุขภาพต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาองค์ประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ชิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา ด้วยวิธี aluminium chloride colorimetric assay และวิธี Folin – Ciocalteu assay
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพร 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ชิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) assay

ระเบียบวิธีศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพร

ตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้มี 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ชิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา โดยสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด ได้ซื้อมาจาก บริษัทเวซพงค์โฮส (ฮกอันตั้ง) จำกัด จากนั้นนำสมุนไพรทั้ง 8 ชนิด มาบดด้วยเครื่องบดและมาร่อนผ่านร่อนเบอร์ 80 จากนั้นทำการสกัดผงสมุนไพรด้วยวิธีการหมักกับตัวทำ

ละลายเอทานอลร้อยละ 95 ในอัตราส่วน 1:10 (w/v) โดยทำการซังผงสมุนไพร 100 g และเติมตัวทำละลาย ปริมาตร 1,000 mL นำไป sonicate เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 °C จากนั้นนำมากรองและทำการสกัดซ้ำจนครบ 3 ครั้ง และนำส่วนที่ได้จากการสกัดมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนจากนั้นนำ สารสกัดมาคำนวณหาร้อยละผลผลิตที่ได้ตั้งสูตรคำนวณ

$$\text{ร้อยละผลผลิตของสารสกัด} = \frac{\text{น้ำหนักของสารสกัดหยาบที่ได้}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธี 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธี DPPH assay เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Saeed N และคณะ (2012)⁽¹⁰⁾ โดยหยดสารละลายสารสกัดสมุนไพรทั้ง 8 ตัวอย่าง ปริมาตร 100 μL ลงใน 96 well plate เติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 208 μM ปริมาตร 100 μL จากนั้นนำไปผสมให้เข้ากันและนำไป เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง microplate reader โดยในการทดสอบจะทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง ซึ่งในการทดสอบจะใช้สารมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้นอยู่ในช่วง 1-5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณร้อยละ radical scavenging ดังสูตรคำนวณ ซึ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะถูกแสดงเป็นค่า IC_{50} โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละ radical scavenging กับค่าความเข้มข้นของสารสกัด และนำสมการเส้นตรงจากกราฟมาคำนวณหา IC_{50}

$$\text{ร้อยละ radical scavenging} = \frac{(A-B) - (C-D)}{A-B} \times 100$$

- เมื่อ
- A คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH และตัวทำละลายที่ใช้
 - B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลาย
 - C คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบซึ่งผสมกับสารละลาย DPPH
 - D คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างทดสอบซึ่งผสมกับตัวทำละลาย

3. การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธี Folin – Ciocalteu assay

การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธี Folin – Ciocalteu assay เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Ghasemzadeh และคณะ (2015)⁽¹¹⁾ โดยหยดสารละลายสารสกัดสมุนไพรปริมาตร 25 μL ลงใน 96 well plate เติม Folin – Ciocalteu ความเข้มข้น 2 N ปริมาตร 25 μL จากนั้นเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 8 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 75 μL และเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 20 ปริมาตร 100 μL ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 60 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm ด้วยเครื่อง microplate reader โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซึ่งในการทดสอบจะใช้สารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นในช่วง 2-25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐาน gallic acid แต่ละความเข้มข้นไปสร้างกราฟมาตรฐาน จากนั้นคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกรวมในรูปกรัมสมมูล (g gallic acid equivalent : กรัมสมมูล (gram equivalent) ของ gallic acid ต่อ 100 กรัม น้ำหนักสารสกัด (g GAE/ 100 g สารสกัด)

4. การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี aluminium chloride colorimetric assay

การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี aluminium chloride colorimetric assay เป็นวิธีที่ดัดแปลงจาก Ghasemzadeh A และคณะ (2015)⁽¹¹⁾ โดยหยดสารละลายสารสกัดสมุนไพรมีปริมาตร 100 μ L ลงใน 96 well plate เติมสารละลาย aluminium chloride ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 μ L จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 nm ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ซึ่งในการทดสอบใช้สารมาตรฐาน quercetin ที่ความเข้มข้นในช่วง 10-50 μ g/mL โดยนำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารมาตรฐานไปสร้างกราฟมาตรฐานจากนั้นคำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในรูปกรัมสมมูล (g quercetin equivalent : กรัมสมมูลของ quercetin ต่อ 100 กรัมน้ำหนักสารสกัด (g QE/100 g สารสกัด))

5. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและการทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี รายงานข้อมูลที่ได้ในรูปแบบค่าเฉลี่ย (mean) \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) โดยเปรียบเทียบความแตกต่างกันแต่ละตัวอย่าง ด้วยสถิติ One - way analysis of variance (One - way ANOVA) โดยหากแตกต่างกันด้วยวิธีของเชฟเฟ (Scheffe's method) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

ผลการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี

จากการเตรียมสารสกัดสมุนไพรวัยวิธีทั้ง 8 ชนิด ด้วยวิธีการหมักด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ผลการสกัดพบว่า สารสกัดสมุนไพรวัยวิธีส่วนใหญ่มีลักษณะเหนียวหนืด มีสีน้ำตาล และมีกลิ่นเฉพาะตัว โดยสารสกัดสมุนไพรวัยวิธีทั้ง 8 ตัวอย่าง มีร้อยละผลผลิตของสารสกัดอยู่ในช่วง 6.69-29.62 ซึ่งพบว่า สมอไทยมีร้อยละของสารสกัดมากที่สุดคือ 29.62 ขณะที่สารสกัดมะตูมมีสารสกัดร้อยละของสารสกัดน้อยที่สุดคือ 6.69 โดยผลการสกัดแสดงดังตารางที่ 1

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity (DPPH) assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี 8 ชนิด ด้วยวิธี DPPH assay ผลของการทดสอบ จะแสดงอยู่ในรูปค่า IC₅₀ (μ g/mL) ซึ่งค่า IC₅₀ ของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธีทั้งหมด แสดงค่าอยู่ในช่วง 2.31 \pm 0.10 ถึง 432.71 \pm 21.39 μ g/mL ซึ่งพบว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ สารสกัดสมอพิเภก รองลงมา คือ สารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 2.31 \pm 0.10, 3.27 \pm 1.11 และ 4.94 \pm 0.30 μ g/mL ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดผักชีลาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำสุด โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 432.71 \pm 21.39 μ g/mL อย่างไรก็ตามสารสกัดสมอพิเภกแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานกรดวิตามินซี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงดังตารางที่ 2

3. การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี Folin - Ciocalteu assay

การทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี 8 ชนิด ด้วยวิธี Folin - Ciocalteu assay ผลการทดสอบ พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.07 \pm 0.03 ถึง 89.97 \pm 10.86 g GAE/100 g สารสกัด ซึ่งสารสกัดสมอเทศมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงค่าเท่ากับ

89.97 ± 10.86 g GAE/100 g สารสกัด รongลงมาคือ สารสกัดสมอพิเภก และสารสกัดสมอไทย โดยมีค่าเท่ากับ 51.24 ± 1.46 และ 22.93 ± 2.65 g GAE/100 g สารสกัด ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดเทียนดำมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 0.07 ± 0.03 g GAE/100 g สารสกัด แสดงดังตารางที่ 3

4. การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี aluminium chloride colorimetric assay

การทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี aluminium chloride colorimetric assay ผลการทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดทั้งหมด อยู่ในช่วง 0.17 ± 0.11 ถึง 13.11 ± 0.80 g QE/100 g สารสกัด ซึ่งพบว่าสารสกัดสมอพิเภกมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 13.11 ± 0.80 g QE/100 g สารสกัด รongลงมาคือสารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย ซึ่งมีค่าเท่ากับ 11.38 ± 0.88 และ 7.66 ± 1.07 g QE/100 g สารสกัด ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดเทียนดำมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมต่ำสุด มีค่าเท่ากับ 0.17 ± 0.11 g QE/100 g สารสกัด แสดงดังตารางที่ 4

อภิปรายผล

จากการวิจัยในครั้งนี้ได้เลือกวิธีการสกัดสมุนไพรวัยวิธีโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง โดยการปล่อยคลื่นความถี่สูงออกมาในตัวทำละลาย จะทำให้เกิดฟองก๊าซหุดและขยายตัวเป็นวัฏจักร เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพ เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะทำให้เกิดการปลดปล่อยสารสำคัญออกมาในตัวทำละลาย และเมื่อฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อน ส่งผลให้เนื้อเยื่อฉีกขาด เรียกว่า ปฏิกิริยาการฉีกขาด (cavitation) ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยในการลดระยะเวลาในการสกัด และลดการใช้อุณหภูมิ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบหมกและวิธีการสกัดแบบต่อเนื่อง^(24,27) จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดสมอพิเภก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด รongลงมาคือ สารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย ตามลำดับ ซึ่งผลสอดคล้องกับงานวิจัยของเกสร กลิ่นสุคนธ์ และคณะ (2558) ได้ทำการประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรวัยวิธีพื้นบ้านของไทยจำนวน 5 ชนิด พบว่าสารสกัดสมอพิเภกและสารสกัดสมอไทย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแสดงค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0029 ± 0.0007 และ 0.0281 ± 0.0032 mg/mL ตามลำดับ⁽¹²⁾ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar et al., 2016 ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสมอเทศ พบว่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 20.22 µg/mL⁽¹³⁾ ซึ่งวิธี DPPH ถูกนำมาใช้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธีอย่างแพร่หลาย โดย DPPH เป็นอนุมูลอิสระไนโตรเจนที่คงตัวสังเคราะห์ขึ้นจากสารเคมี หลักการของวิธี DPPH assay เป็นวิธีที่เกี่ยวข้องโดยตรงกับปฏิกิริยาระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ถึงแม้ว่าจะไม่เกี่ยวข้องกับระบบในร่างกาย แต่วิธี DPPH assay สามารถใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มสารที่สามารถให้อิเล็กตรอน เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ เป็นต้น⁽¹⁴⁾ จากผลการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพรวัยวิธี 8 ชนิด ผลพบว่า สารสกัดสมอเทศ สารสกัดสมอพิเภก และสารสกัดสมอไทย มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับสารสกัดสมุนไพรวัยวิธีทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นัฐนิช ลิ้มสุธรรมชน และคณะ (2558) ได้ทำการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวม โดยวิธี Folin – Ciocalteu assay พบว่าปริมาณสารสกัดเอทานอลของสมอไทย และสมอพิเภก มีปริมาณสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 32.62 และ 88.86 mg GAE/100 mg น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ⁽¹⁵⁾ และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar, et al., 2016 ได้ทำการตรวจสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดสมอเทศ พบว่ามีปริมาณสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 95 ± 3.11 mg GAE/100 g สารสกัด⁽¹³⁾

ขณะที่การทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ผลพบว่า สารสกัดสมอพิเภก สารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับสารสกัดสมุนไพรรวมทั้งหมด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Arya A และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมอพิเภก สมอเทศ และสมอไทย พบว่า สารสกัดที่มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูง คือ สารสกัดสมอพิเภก รองลงมาคือ สมอเทศ และสมอไทย ซึ่งมีเท่ากับ 29.23 ± 3.81 , 16.15 ± 2.42 และ 8.19 ± 1.41 mg QE/g สารสกัด ตามลำดับ⁽¹⁶⁾ จากผลการศึกษาพบว่า สารสกัดสมอพิเภก สารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ในขณะเดียวกันยังพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด เมื่อเทียบกับสารสกัดทั้งหมด จากข้อมูลพบว่าสมุนไพรรวมทั้ง 3 ชนิด มีรสยาเปรี้ยวฝาด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พิมพ์สุน เจริญบุญศรี (2562) ได้ทำการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์ของสารกลุ่มแทนนิน ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติพิเศษละลายน้ำได้ ให้อรสฝาด และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ⁽²⁵⁾ และงานวิจัยของ ศิริพรรณ สุขขัง และคณะ (2560) ได้ศึกษาผักพื้นบ้านรสเปรี้ยวในการเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ พบว่า ผักพื้นบ้านที่มีรสเปรี้ยวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ⁽²⁶⁾ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศุภรัตน์ และคณะ (2564) ซึ่งได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม ของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมภูฐาน พบว่า สารสกัดเอทานอลของพิกัดตรีสมอ ซึ่งมีลูกสมอพิเภก ลูกสมอเทศ และลูกสมอไทย เป็นส่วนประกอบในพิกัด แสดงปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด⁽²¹⁾ จากข้อมูลงานวิจัยช่วยสนับสนุนว่าสมุนไพรรวมทั้งที่มีรสเปรี้ยวฝาด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและมีกลุ่มสารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ซึ่งเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยส่งเสริมการใช้สมุนไพรรวมทางการแพทย์ จากข้อมูลปริมาณสารฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ เนื่องจากสารประกอบเหล่านั้นมีพันธะคู่สลับพันธะเดี่ยว (conjugated double bond) ในโครงสร้างทำให้อิเล็กตรอนของอนุมูลอิสระสามารถเคลื่อนที่ไปได้ทั่วทั้งโมเลกุล⁽¹⁷⁾ ในการแพทย์ทางเลือกมีการนำทฤษฎีการต้านอนุมูลอิสระมาใช้ในการปรับสมดุลร่างกายเพื่อป้องกันโรค โดยความสัมพันธ์ระหว่างการต้านอนุมูลอิสระและการเกิดออกซิเดชันเป็นสิ่งสำคัญ เป็นแนวคิดในการรักษาระบบร่างกายให้แข็งแรง คล้ายกับแนวคิดของความสมดุลระหว่าง “หยิน” และ “หยาง” ในการแพทย์แผนจีน ซึ่งจากการศึกษาพบว่าสมุนไพรรวมทั้งหยิน-หยาง มีสารฟลาโวนอยด์และสารฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง⁽²²⁾ ซึ่งสอดคล้องกับทางการแพทย์แผนไทยได้มีการนำตำรับยาที่มีสรรพคุณบำรุงกำลัง มาใช้ในการปรับสมดุลร่างกายเพื่อป้องกันการเกิดโรค⁽²³⁾ ในงานวิจัยครั้งนี้พบว่า สารสกัดสมอพิเภก สารสกัดสมอเทศ และสารสกัดสมอไทย มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง และมีปริมาณสารฟีนอลิกและปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูง ซึ่งเป็นข้อมูลสนับสนุนการใช้สมุนไพรรวมทางการแพทย์ เพื่อบำรุงธาตุ และปรับสมดุลของร่างกาย

ข้อสรุป

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดสมุนไพรรวม 8 ชนิด ได้แก่ สมอเทศ สมอไทย สมอพิเภก ขิง เทียนดำ มะตูม ยอ และผักชีลา ผลการทดลองพบว่า สารสกัดสมอพิเภกแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุด ขณะที่สารสกัดสมอเทศมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงสุด จากข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากงานวิจัยนี้ สารสกัดสมอพิเภกมีศักยภาพในการนำไปศึกษาต่อยอดในงานวิจัยครั้งต่อไป

อย่างไรก็ดี เพื่อความสมบูรณ์ของข้อมูลทางวิชาการควรมีการศึกษาเพิ่มเติมทางด้านกลไกการออกฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาในสัตว์ทดลอง เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สมบูรณ์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบพระคุณภาควิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือ วัสดุ อุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัย

ตาราง ภาพ และแผนภาพ

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิต และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดทั้ง 8 ตัวอย่าง

ตัวอย่างสมุนไพร	ร้อยละผลผลิตของสารสกัด	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
ชิง	6.94	สีน้ำตาลแดงมีน้ำมัน เหนียวหนืด มีกลิ่นฉุน
ยอ	12.18	สีเขียวปนดำ เหนียวหนืด มีกลิ่นฉุน
มะตูม	6.69	สีเหลืองอ่อนปนน้ำตาล เหนียวหนืด มีกลิ่นหอม
เทียนดำ	17.9	สีเหลืองปนน้ำตาล เป็นของเหลว มีกลิ่นเฉพาะตัว
ผักชีลา	7.48	สีน้ำตาลปนเขียว เป็นของเหลว มีกลิ่นฉุน
สมอไทย	29.62	สีน้ำตาลปนแดง เหนียวหนืด มีกลิ่นเฉพาะตัว
สมอเทศ	22.07	สีน้ำตาล เป็นผงแห้ง มีกลิ่นเฉพาะตัว
สมอพิเภก	15.28	สีดำปนน้ำตาล เหนียวหนืด มีกลิ่นเฉพาะตัว

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดสมุนไพรโดยวิธี DPPH assay

สารสกัดสมุนไพร	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (IC ₅₀ µg/mL)
ชิง	7.93 ± 1.33 ^a
ยอ	243.09 ± 10.95 ^{bc}
มะตูม	234.77 ± 16.52 ^b
เทียนดำ	260.79 ± 2.23 ^{bc}
ผักชีลา	432.71 ± 21.39 ^d
สมอไทย	4.94 ± 0.30 ^a
สมอเทศ	3.27 ± 1.11 ^a
สมอพิเภก	2.31 ± 0.10 ^a
วิตามินซี	0.95 ± 0.12 ^a

หมายเหตุ สัญลักษณ์ที่ปรากฏในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดสมุนไพร ด้วยวิธี Folin – Ciocalteu assay

สารสกัดสมุนไพร	ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (g GAE/100 g สารสกัด)
ชิง	10.75 ± 5.13 ^{cd}
ยอ	1.64 ± 0.32 ^d
มะตูม	6.30 ± 0.88 ^d
เทียนดำ	0.07 ± 0.03 ^d
ผักชีลา	0.53 ± 0.30 ^d
สมอเทศ	89.97 ± 10.86 ^a
สมอไทย	22.93 ± 2.65 ^c
สมอพิเภก	51.24 ± 1.46 ^b

หมายเหตุ สัญลักษณ์ที่ปรากฏในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดสมุนไพร โดยวิธี aluminium chloride colorimetric assay

สารสกัดสมุนไพร	ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (g QE/100 g สารสกัด)
ชิง	5.12 ± 0.96 ^{bc}
ยอ	2.07 ± 0.39 ^{de}
มะตูม	3.77 ± 1.16 ^{cd}
เทียนดำ	0.17 ± 0.11 ^e
ผักชีลา	1.05 ± 0.59 ^{de}
สมอเทศ	11.38 ± 0.88 ^a
สมอไทย	7.66 ± 1.07 ^b
สมอพิเภก	13.11 ± 0.80 ^a

หมายเหตุ สัญลักษณ์ที่ปรากฏในคอลัมน์เดียวกันแสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

1. เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีทานาม. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการเกิดปฏิกิริยาวารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์, 7(2), 225-236.
2. ณพัชรอร บัวฉุน และคณะ. (2561). ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาดสยามไทย. วารสารวิจัยและพัฒนาโดยกองกรณในพระบรมราชูปถัมภ์, 13(2), 98-107.
3. มยุรชฎ์ พิพัฒนาสาร และคณะ. (2561). ฤทธิ์ต้านเชื้อราและความเป็นพิษต่อเซลล์สร้างเส้นใยจากเห็อกมนุษย์ของสารสกัดในแฟรกชันของไดคลอโรมีเทนจากผลสมอพิเภกแห้ง. เชียงใหม่ทันตแพทยสาร, 39(1), 61-74.
4. ศุภยางค์ วรวิฑูคุณชัย และสุกัลญา ทลีแจ้. (2560). สมุนไพรไทยต้านจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
5. Mahady G.B., Pendland S.L., Yun G.S., Lu Z-Z and Stoia A. (2003). Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and the Gingerols Inhibit the Growth of Cag A⁺ Strains of *Helicobacter pylori*. **Anticancer Research**, 23, 3699-3702.
6. Ozmen A., Basbulbul G. and Aydin T. (2007). Antimitotic and antibacterial effects of the *Nigella sativa* L. Seed. **International Journal of Cytology**, 60(2), 270-272.
7. นพมาศ สุนทรเจริญนนท์ และ นงลักษณ์ เรืองวิเศษ. (2551). คุณภาพเครื่องยาไทยจากงานวิจัยสู่การพัฒนาอย่างยั่งยืน. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร : คอนเซ็ปท์ เมดิคัล จำกัด.
8. Thirukkumar S., Vennila P. and Maheswari T.U. (2017). Investigation of total antioxidant activity and phenol in Indian noni fruit (*Morinda citrifolia* Linn.) juice extraction. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 6(2), 241-243.
9. Balakumar S., Rajan S., Thirunalasundari T. and Jeeva S. (2011). Antifungal activity of *Aegle marmelos* (L.) Correa (Rutaceae) leaf extract on dermatophytes. **Asian Pacific Journal Tropical Biomedicine**, 1(4), 309-312.
10. Saeed N., Khan M.R. and Shabbir M. (2012). Antioxidant activity, total phenolic and total flavonoid contents of whole plant extracts *Torilis leptophylla* L. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 12(221), 1-12.
11. Ghasemzadeh A., Jaafar H.Z.E. and Rahmat A. (2015). Phytochemical constituents and biological activities of different extracts of *Strobilanthes crispus* (L.) Bremek leaves grown in different locations of Malaysia. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, 15(422), 1-10.
12. เกสร กลิ่นสุคนธ์ และคณะ. (2558, กุมภาพันธ์). เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53: สาขาวิทยาศาสตร์, สาขาพันธุวิศวกรรม, สาขาสถาปัตยกรรมศาสตร์และวิศวกรรมศาสตร์, สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
13. Kumar G.P.S, Arulselvan P., Kumar D.S. and Subramanian S.P. (2006). Anti-diabetic activity of fruits of *Terminalia chebula* on streptozotocin induced diabetic rats. **Journal of health science**, 52(3), 283-291.

14. เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. (2557). การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. *วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 14(4), 69-70.
15. นัฏฐนิช ลิ้มสุธรรมชน และคณะ. (2558). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปกป้องแสงยูวีของสารสกัดด้วยตัวทำละลายต่างๆของตรีผลา**. ปรินญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์มหาวิทยาลัยมหิดล.
16. Arya A., Nyamathulla S., Noordin M.I. and Mohd M.A. (2012). Antioxidant and hypoglycemic activities of leaf extracts of three popular *terminalia* species. *E-Journal of Chemistry*, 9(2), 883-892.
17. Vermerris W. and Nicholson R. (2006). **Phenolic compound biochemistry**. United States of America: Springer.
18. ชนาญัตติ แสงอรุณ. (2557). **เภสัชกรรมไทย ตำราแพทย์แผนโบราณทั่วไป สาขาเภสัชกรรมไทย กองการประกอบโรคศิลปะ**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก https://kupdf.net/download/3648-3616-3626-3633-3594-3585-3619-3619-3617-3652-3607-3618-pdf_59f78124e2b6f50d5d953f3e_pdf
19. จตุพร ประทุมเทศ และคณะ. (2562). การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ของชาดอกไม้ชนิดผงปรุงสำเร็จจากกระเจียวแดง อัญชัน และจี่งัวป่า. *วารสารวิทยาศาสตร์ มข.*, 47(3), 490-497.
20. Methaakkharadecha N. and Srisopa A. (2020). Phenolic contents and antioxidant activities of Mulberry leaf tea and water soluble Mulberry leaf tea powder. *Thai Journal of Science and Technology*, 9(2), 230-242.
21. สุภรัตน์ ดวนใหญ่ และคณะ. (2564). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดพิกัดตรีสมอ พิกัดตรีสัตถุลา พิกัดตรีผลสมุฏฐาน. *วารสารหมอยาไทยวิจัย*, 7(2), 93-104.
22. Zhengyou H., Minbo L., Dongying L., Hongli Z., Huihui Y. (2013). Antioxidant activity of 50 traditional chinese medicinal materials varies with total phenolics. *Chinese Medicine*, 4(4), 148-156.
23. วิภาวี จันทศรี และ ศศิธร ชูศร. (2560). **ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของตำรับยาบำรุงกำลังจากหอมพื้นบ้านในจังหวัดสงขลา และจังหวัดพัทลุง**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก <https://gsbooks.gs.kku.ac.th/60/nigr2017/pdf/MMP10.pdf>
24. วิภาวรรณ นีละพงษ์ และคณะ. (2561). การสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรไทย: การสกัดด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลาย. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, 28(4), 901-910.
25. พิมพ์สุน เจริญบุญศรี. (2562). เภสัชจลนศาสตร์ของสารกลุ่มแทนนิน. *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง*, 28(1), 1-14.
26. ศิริพรรณ สุขขัง, สมนึก พรหมแดง และสายน้ำอ้อย สว่างเมฆ. (2560, กุมภาพันธ์). **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55: สาขาพืช, สาขาสัตว, สาขาสัตวแพทยศาสตร์, สาขาประมง, สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์**. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
27. ลีดิรัตน์ ศิริจันทร์ และ กิติพงศ์ อัครกุล. (2560). **ผลของแอมพลิจูดและเวลาต่อการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดมะเกี๋ยง**. ค้นเมื่อ 11 พฤษภาคม 2565, จาก <https://rsucon.rsu.ac.th/files/proceedings/nation2017/G2-24.pdf>

