สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้าน ในจังหวัดกำแพงเพชร

ขวัญดาว แจ่มแจ้ง
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร กำแพงเพชร
e-mail : skyjamjang@hotmail.com

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชรจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ ผักอีซึก ผักพาย มะระขี้นก ผักอีนูน ผักกะทกรก ยอดอ้อย ใบขนุนอ่อน ใบคันทรง ผักปลาบ และไข่น้ำ โดยศึกษาชนิดของตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำกลั่น สุรา 40 ดีกรี เมทานอล เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 และปิโตรเลียมอีเทอร์ และระยะเวลาในการสกัด ได้แก่ 8 16 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay ผลการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชทุกชนิดคือการสกัดที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักอีซึกใช้สุรา 40 ดีกรีเป็นตัวทำละลาย ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 78.81 ผักอีนูน ผักกะทกรก ผักพาย และไข่น้ำใช้เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 77.56 ร้อยละ 69.11 ร้อยละ 79.76 และ ร้อยละ 80.15 ตามลำดับ มะระขี้นก ยอดอ้อย ใบขนุนอ่อน ใบคันทรง และผักปลาบใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 74.62 ร้อยละ 73.89 ร้อยละ 81.81 ร้อยละ 79.11 และ ร้อยละ 82.31 ตามลำดับ

คำสำคัญ : สภาวะที่เหมาะสม สารต้านอนุมูลอิสระ พืชผักพื้นบ้าน การสกัด

Optimum conditions for the extraction of antioxidants from local plants in Kampheang Phet province

Kwandaw Jamjang
Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University
Kamphaeng Phet, Thailand
e-mail : skyjamjang@hotmail.com

Abstract

The purposes of this research were to study the optimum conditions for the extraction of antioxidants from 10 local plants in Kamphaeng Phet Province namely, *Albizia lebbeck* (L.) Benth. (Pak E-suek), *Limnocharis flava* Buch (Pakpai), *Momordica charantia* L. (Marakinok), *Adenia heterophylla* (Blume) Koord (Pak E-noon), *Passiflora foetida* L. (Pak katokrok), *Saccharum officinarum* Linn. (Yodaoy), *Artocarpus heterophyllus* Lam (Baikanoon), *Colubrina asiatica* L.ex. Brongn (Baikancong), *Floscopa scandens* Lour. (Pak plab) and *Wolffia globosa* Hartog & Plas (Kainum). Various solvents such as: water, Thai whisky containing 40 degree ethanol, methanol, ethanol 95 % and petroleum ether were used. The time of extraction consisted of 8, 16, and 24 hours. The method used for determination of antioxidative potential was based on a DPPH assay. The findings were as follows: the optimum condition for the plant extraction took 24 hours. The extraction of antioxidant from *Albizia lebbeck* (L.) Benth, Thai whisky alcohol 40% produced the most effective antioxidant at 78.81%. The extraction of antioxidant from *A. heterophylla* , *P. foetida*, *L. flava* and

W. globosa by using ethanol 95% produced the most effective antioxidants at 77.56 %, 69.11 %, 79.76 % and 80.15 %, respectively. The extraction of antioxidant from *M.charantia*, *S. officinarum*, *A.heterophyllus*, *C. asiatica* and *F. scandens* by using methanol produced the most effective antioxidants at 74.62 %, 73.89 %, 81.81 %, 79.11% and 82.31 %, respectively.
keywords : optimum conditions, antioxidants, local plants, extraction

บทนำ

อนุมูลอิสระ (free radical) คือ โมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนซึ่งไม่ได้เข้าคู่มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งในวงโคจรของโมเลกุล เป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรจึงมีความว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อให้โมเลกุลเสถียรขึ้น โดยการรับเอาอิเล็กตรอนจากโมเลกุลข้างเคียงทำให้โมเลกุลข้างเคียงนั้นเกิดเป็นอนุมูลอิสระแทนและทำปฏิกิริยากับโมเลกุลอื่นๆ ต่อไป เรียกว่า ปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain reaction) (Bunker, 1992; Moller et al., 1996 อ้างถึงในปรียาลักษณ์, 2551) อนุมูลอิสระจึงเป็นสารพิษต่อเซลล์ร่างกาย ถ้ามีมากในเซลล์ก็เป็นอันตรายได้ โดยจะทำลาย ดีเอนเอ เยื่อหุ้มเซลล์ และอื่นๆ อนุมูลอิสระมีผลต่อการอักเสบ และการทำลายเนื้อเยื่อในระยะสั้น ในระยะยาวอาจมีผลต่อความเสื่อมหรือการแก่ของเซลล์ และอาจเป็นสารก่อมะเร็ง โรคหัวใจและต้อกระจก (จักรพงศ์, 2554) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นส่วนประกอบ เช่น อาหารหรือเครื่องสำอางเกิดกลิ่นหืน (rancidity) ได้

อนุมูลอิสระมีที่มาทั้งแหล่งภายนอกร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ โอโซน ฝุ่น ควันบุหรี่ อาหารที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัว หรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา ยาบางชนิด เช่น ด๊อกโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนิซิลามีน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol) เป็นต้น และแหล่งภายในร่างกายได้แก่ ออกซิเจน เป็นต้น (จักรพงศ์, 2554) โดยปกติแล้วร่างกายจะมีการป้องกันภาวะการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่ 2 ส่วน คือ ส่วนแรกนั้นเกิดจากร่างกายมีการสร้างกลไกหรือเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant enzymes) ขึ้นมาควบคุมอนุมูลอิสระให้อยู่ในปริมาณที่สมดุล ทั้งนี้เพราะอนุมูลอิสระเหล่านี้มีหน้าที่ช่วยทำลายสิ่งแปลกปลอม หากเมื่อใดที่ร่างกายรับสารพิษจากภายนอกมาก เช่น การสูบบุหรี่ โดนแสงแดดจ้า หรือเลือกรับประทานอาหารแต่พวกมัน ปิ้ง ย่าง ฯลฯ จะส่งผลให้ระบบที่ควบคุมสารพิษในร่างกายทำงานได้น้อยลง สารอนุมูลอิสระจะมีการสะสมตัวมากจนกลายเป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อร่างกายในทันที ร่างกายจึงจำเป็นต้องได้รับสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มจากแหล่งภายนอก และเป็นที่ทราบกันว่าพืชผักผลไม้ส่วนใหญ่มีคุณสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Wang & Jiao, 2000) พืชผักผลไม้จึงเป็นแหล่งสำคัญในการให้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระในพืชผัก ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี และเบต้า-แคโรทีน (β-Carotene) และที่พบมากในพืช คือ ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งแบ่งได้ 6 กลุ่มคือ flavones, flavanones, isoflavones, flavonols, flavanols และ anthocyanins (Skerget et al., 2005)

การสกัดพืชโดยทั่วไปจะนิยมใช้วิธีดั้งเดิม (traditional method) คือ การสกัดด้วยไอน้ำและการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ ส่วนอีกวิธีหนึ่งคือการสกัดสารจากพืชด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวด (supercritical fluid) ซึ่งยังไม่ค่อยมีงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารจากพืชแพร่หลายนักในประเทศไทย เพราะอุปกรณ์เครื่องมือมีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นงานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารจากพืชในประเทศไทยจึงยังคงใช้วิธีการสกัดด้วยไอน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ (สมใจ, 2549) ส่วนการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชผักมีวิธีการศึกษาทำได้โดยการนำพืชตัวอย่างที่สนใจมาทำการสกัดด้วยตัวทำละลายหลายชนิดทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้วหรือตัวทำละลายผสม ซึ่ง

เป็นวิธีที่ใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกจากส่วนต่างๆ ของพืชแล้วนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ตัวทำละลายจึงเป็นตัวแปรที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืช ซึ่งจากผลการศึกษาเกี่ยวกับผลของตัวทำละลายที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยการสกัดพืชด้วยตัวทำละลายหลายชนิดทั้งมีขั้ว ไม่มีขั้ว และตัวทำละลายผสม พบว่าการสกัดพืชด้วยตัวทำละลายมีขั้ว เช่น เอทานอล เมทานอล และตัวทำละลายผสม เช่น เอทานอลกับน้ำ เอทานอลกับไดคลอโรมีเทน ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ (จักรรินทร์ และพิพรรธพงศ์, 2551; Delouee & Urooj, 2007 อ้างถึงในเสถียร, 2551; ทรงศิริ และคณะ, 2552; สมหมาย, 2553) นอกจากนี้ยังพบว่าระยะเวลาในการสกัดก็มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชเช่นเดียวกัน โดยพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมากขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด (สมใจ, 2549; สุภาพร และคณะ, 2552)

จังหวัดกำแพงเพชรเป็นจังหวัดที่มีป่าอุดมสมบูรณ์ มีความหลากหลายทางชีวภาพ ทำให้มีพืชพันธุ์มากมาย และมีพืชหลายชนิดที่ประชาชนนิยมนำมาบริโภค จากการศึกษาเบื้องต้นในชุดโครงการวิจัยเรื่องสำรับอาหารชากังราวจากพืชผักพื้นบ้านตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียงจังหวัดกำแพงเพชร พบว่าพืชผักพื้นบ้านจังหวัดกำแพงเพชรมีมากมายหลายชนิด อาทิเช่น ผักอีซึก ผักพาย มะระขี้นก ผักอีนูน ผักกะทกรก ติ้ว ยอดอ้อย ใบขนุนอ่อน ลูกขนุน ผักคันทรง ผักปลาบ ไข่น้ำ(ผำ) ผักหวาน ใบย่านาง ผักโขม กะทกรก ผักขวง ผักปลัง หน่อไม้ สะเดา พันงู ผักกูด สะแล เห็ดโคน ผักแว่น ผักกระสัง ผักโขม หูเสือ ผักอีไร ผักขี้หูด ถั่วพู ผักชีหนาม ย่านาง กระเจี๊ยบมอญ กระเจี๊ยบแดง ผักแขยง ยอ แคเล็บครุฑ เพกา ไผ่รวก ผักเสี้ยน ผักกุ่ม กะทือ ขจร บอน เป็นต้น (ขวัญดาว และคณะ, 2555) ด้วยเหตุนี้งานวิจัยจึงมุ่งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชรโดยศึกษาตัวแปรที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจำนวน 2 ตัวแปร คือ ชนิดของตัวทำละลายและระยะเวลาในการสกัดและเลือกศึกษาพืชผักพื้นบ้านจำนวน 10 ชนิด การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย แล้วนำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นพื้นฐานความรู้ที่สามารถนำผลไปประยุกต์ใช้ในด้านการเรียนการสอน การวิจัยที่ลึกซึ้งเพื่อประโยชน์ทางการแพทย์ ด้านสุขภาพอนามัย ด้านเศรษฐกิจและประโยชน์ด้านอื่นๆ ต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชรจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ 1) ผักอีซึก (*Albizia lebbeck* (L.) Benth.) 2) ผักพาย (*Limnocharis flava* Buch.) 3) มะระขี้นก (*Momordica charantia* L.) 4) ผักอีนูน (*Adenia heterophylla* (Blume) Koord.) 5) ผักกะทกรก (*Passiflora foetida* L.) 6) ยอดอ้อย (*Saccharum officinarum* Linn.) 7) ใบขนุนอ่อน (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) 8) ใบคันทรง (*Colubrina asiatica* L. ex. Brongn.) 9) ผักปลาบ (*Floscopa scandens* Lour.) และ 10) ไข่น้ำ (*Wolffia globosa* Hartog & Plas.) โดยศึกษาชนิดของตัวละลาย 5 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น สุรา 40 ดีกรี เมทานอล เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 และปิโตรเลียมอีเทอร์ และศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด ได้แก่ 8 16 และ 24 ชั่วโมง วิธีการทดลองมีดังนี้

1. การเตรียมสารสกัด

1.1 การเตรียมพืชตัวอย่าง

เตรียมพืชตัวอย่าง โดยผักอีซึก ผักกะทกรก ยอดอ้อย ใบขนุนอ่อน ใบคันทรง และผักปลาบ เก็บเฉพาะส่วนยอด ผักอีนูนเก็บทั้งยอด ดอกและผล ผัก

พายเก็บก้านใบและใบ มะระขี้นกเก็บผลอ่อน และไข่น้ำเก็บทุกส่วน นำมาล้างทำความสะอาด ลดขนาด แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7 ชั่วโมง ตามวิธีการของ Bocco et al. (1998 อ้างถึงในสุภาพร และคณะ, 2552) นำมาบดให้ละเอียดเป็นผงแล้วบรรจุในถุงพลาสติกและแช่เย็นไว้ที่อุณหภูมิ 5 ± 2 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ต่อไป

1.2 วิธีการสกัด

ชั่งตัวอย่างพืชที่ผ่านการบดละเอียดจำนวน 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร ในแต่ละบีกเกอร์ คนให้เข้ากัน แล้วปิดสนิทด้วยอลูมิเนียมฟอยล์และแผ่นพาราฟิล์ม ตัวอย่างที่ 1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตัวอย่างที่ 2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง และตัวอย่างที่ 3 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดไว้ก็นำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาดเบอร์ 1 แล้วเก็บใส่ภาชนะที่แห้งปิดสนิทและป้องกันแสงได้ แล้วเก็บในตู้เย็น (4°C) สำหรับทำการทดลองต่อไป

เปลี่ยนตัวทำละลายจากน้ำกลั่นเป็น สุรา 40 ดีกรี เมทานอล เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 และ ปิโตรเลียมอีเทอร์ ทำการสกัดเช่นเดียวกับวิธีการสกัดข้างต้น

2. การตรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัด โดยวิธี DPPH assay

2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) คือ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) เป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรและมีสี ซึ่งมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 nm สารใดก็ตามที่มีความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระ DPPH นี้ได้จะส่งผลให้สีของ DPPH ที่แสดงออกมาลดลงและค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็ลดลงด้วย (Tagashira & Ohtake, 1998 อ้างถึงใน Ahmad et al., 2011) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ หากสารสกัดพืชตัวอย่างสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ก็จะลดลงจากปกติ

วิธีการทดลอง เตรียมสารละลาย DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.2 mM ในเอทานอล นำไปสแกน (scan) หาความยาวคลื่นสูงสุดของการดูดกลืนแสง (λ_{max}) ที่ความยาวคลื่น 400-800 nm ด้วยเครื่องยูวี-วิสซิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รุ่น Lambda 25 (Perkin Elmer) นำตัวอย่างสารสกัดมา 1 ml ผสมกับสารละลาย DPPH 2 ml ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่สแกนได้คือ 516.1 นาโนเมตร เตรียมสารละลายควบคุม (control) โดยใส่น้ำ (สำหรับตัวอย่างสารสกัดด้วยน้ำ) เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (สำหรับตัวอย่างสารสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95) เมทานอล (สำหรับตัวอย่างสารสกัดด้วยเมทานอล) ปิโตรเลียมอีเทอร์ (สำหรับตัวอย่างสารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์) และสุรา 40 ดีกรี (สำหรับตัวอย่างสารสกัดด้วยสุรา 40 ดีกรี) อย่างละ 1 ml ผสมกับสารละลาย DPPH 2 ml ในหลอดทดลอง ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดที่สแกนได้คือ 516.1 นาโนเมตร แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณร้อยละ radical scavenging activity ดังสมการ

$$\% \text{ radical scavenging} = (1 - A_{sample}/A_{control}) \times 100$$

กำหนดให้ A_{sample} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

$A_{control}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ control

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง หาค่าเฉลี่ย (mean : $\overline{X}$) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation : SD) ของร้อยละ radical scavenging โดยสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระของพืชแต่ละชนิดสรุปได้จากสภาวะในการสกัดที่ทำให้พืชมีร้อยละ radical scavenging มากที่สุดซึ่งแสดงว่าพืชมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

ผลการวิจัย

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านจังหวัดกำแพงเพชร แสดงดังตารางที่ 1 พบได้ว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักทุกชนิดที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น สุรา 40 ดีกรี เมทานอล เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 และปิโตรเลียมอีเทอร์จะเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยพบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดพืชทุกชนิด คือ 24 ชั่วโมง และสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักอีซึก คือการสกัดด้วยสุรา 40 ดีกรี มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 78.81 ผักอีนูน คือการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 77.56 ผักกะทกรก คือการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 69.11 ผักพาย คือ การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 79.76 มะระขี้นก คือ การสกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 74.62 ยอดอ้อย คือ การสกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 73.89 ใบขนุนอ่อน คือ การสกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 81.81 ใบคันทรง คือ การสกัดด้วยเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 79.11 ผักปลาบ คือ การสกัดด้วยเมทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 82.31 และไข่น้ำ(ผำ) คือ การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ร้อยละ 80.15

ตารางที่ 1 แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

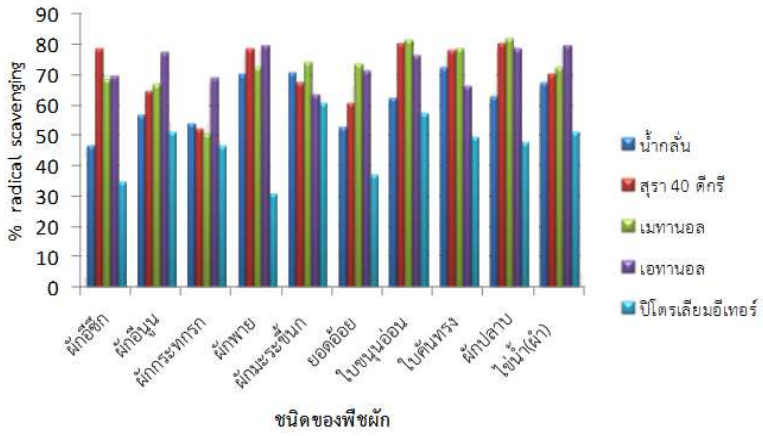
ชนิดของผัก	เวลา (ชม.)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) ($\overline{X}$ ± SD)				
		ชนิดของตัวทำละลาย				
		น้ำกลั่น	สุรา 40 ดีกรี	เมทานอล	เอทานอล	ปิโตรเลียมอีเทอร์
1. ผักอีซึก	8	24.34 ± 0.11	53.23 ± 0.13	45.19 ± 0.20	50.03 ± 0.09	23.5 ± 0.15
	16	36.74 ± 0.21	68.73 ± 0.19	56.18 ± 0.20	52.67 ± 0.19	31.96 ± 0.14
	24	46.74 ± 0.18	78.81 ± 0.13	68.99 ± 0.15	69.85 ± 0.08	35.21 ± 0.20
2. ผักอีนูน	8	32.29 ± 0.05	30.01 ± 0.15	21.79 ± 0.26	48.62 ± 0.23	45.09 ± 0.19
	16	43.83 ± 0.10	46.76 ± 0.12	58.93 ± 0.10	63.46 ± 0.29	50.92 ± 0.14
	24	56.74 ± 0.08	65.03 ± 0.07	66.86 ± 0.18	77.56 ± 0.18	51.06 ± 0.28
3. ผักกะทกรก	8	21.04 ± 0.13	26.52 ± 0.14	21.55 ± 0.09	41.18 ± 0.19	28.13 ± 0.09
	16	35.56 ± 0.23	41.64 ± 0.13	38.26 ± 0.12	58.07 ± 0.09	35.39 ± 0.11
	24	54.28 ± 0.15	52.23 ± 0.15	50.81 ± 0.14	69.11 ± 0.10	46.78 ± 0.18
4. ผักพาย	8	42.11 ± 0.31	42.71 ± 0.08	43.33 ± 0.30	61.05 ± 0.29	26.09 ± 0.20
	16	56.83 ± 0.22	65.93 ± 0.20	62.29 ± 0.23	72.73 ± 0.17	28.24 ± 0.24
	24	70.48 ± 0.08	78.64 ± 0.18	72.59 ± 0.16	79.76 ± 0.16	30.85 ± 0.28
5. ผักมะระขี้นก	8	24.72 ± 0.12	36.66 ± 0.19	39.56 ± 0.10	35.91 ± 0.31	20.21 ± 0.09
	16	44.93 ± 0.09	48.79 ± 0.13	50.87 ± 0.18	55.49 ± 0.19	41.76 ± 0.14
	24	71.06 ± 0.11	67.41 ± 0.16	74.62 ± 0.21	63.72 ± 0.08	60.69 ± 0.16
6. ยอดอ้อย	8	36.21 ± 0.16	34.55 ± 0.16	48.23 ± 0.30	55.23 ± 0.13	23.54 ± 0.25
	16	39.64 ± 0.11	39.87 ± 0.17	68.56 ± 0.21	58.65 ± 0.23	35.06 ± 0.18
	24	52.88 ± 0.14	60.78 ± 0.16	73.89 ± 0.15	71.69 ± 0.18	37.15 ± 0.25
7. ใบขนุนอ่อน	8	29.23 ± 0.18	54.55 ± 0.11	68.56 ± 0.27	63.24 ± 0.17	25.83 ± 0.21
	16	49.55 ± 0.24	69.87 ± 0.14	73.89 ± 0.16	65.75 ± 0.19	42.46 ± 0.09
	24	62.73 ± 0.19	80.78 ± 0.18	81.81 ± 0.29	76.69 ± 0.28	57.36 ± 0.23

ตารางที่ 1 (ต่อ) แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

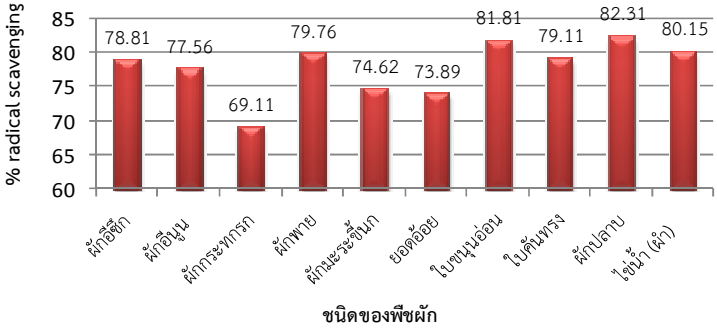
ชนิดของผัก	เวลา (ชม.)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) ($\bar{X}$ ± SD)				
		ชนิดของตัวทำละลาย				
		น้ำกลั่น	สุรา 40 ดีกรี	เมทานอล	เอทานอล	ปิโตรเลียมอีเทอร์
8. ใบคันทรง	8	32.47 ± 0.15	51.12 ± 0.13	59.16 ± 0.08	53.84 ± 0.09	35.88 ± 0.33
	16	52.66 ± 0.08	59.57 ± 0.09	63.39 ± 0.19	55.57 ± 0.29	41.86 ± 0.13
	24	72.83 ± 0.14	78.18 ± 0.16	79.11 ± 0.15	66.49 ± 0.14	49.76 ± 0.22
9. ผักปลาบ	8	39.74 ± 0.28	64.55 ± 0.18	69.16 ± 0.21	53.84 ± 0.16	27.97 ± 0.14
	16	59.84 ± 0.06	71.87 ± 0.22	73.19 ± 0.09	61.56 ± 0.25	32.81 ± 0.08
	24	62.91 ± 0.13	80.51 ± 0.08	82.31 ± 0.18	79.19 ± 0.11	47.79 ± 0.13
10. ไข่น้ำ (ผำ)	8	35.84 ± 0.18	56.57 ± 0.24	61.17 ± 0.24	61.86 ± 0.13	24.35 ± 0.16
	16	49.67 ± 0.31	61.77 ± 0.21	69.59 ± 0.12	71.86 ± 0.23	37.62 ± 0.28
	24	67.41 ± 0.21	70.41 ± 0.23	72.81 ± 0.08	80.15 ± 0.15	51.52 ± 0.23

จากผลการศึกษาพบได้ว่าสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้านจังหวัดกำแพงเพชรโดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ ทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของพืชแต่ละชนิดที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง (ดังภาพที่ 1)

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้านทั้ง 10 ชนิด พบว่า สารสกัดของผักปลาบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (ร้อยละ 82.31) รองลงมาคือสารสกัดของใบขนุนอ่อน (ร้อยละ 81.81) และสารสกัดของไข่น้ำ (ร้อยละ 80.15) ตามลำดับ (ดังภาพที่ 2)



ภาพที่ 1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิดที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง



ภาพที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดของสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้าน

สรุปและอภิปรายผลการวิจัย

1) ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้าน โดยพบว่าสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้านด้วยตัวทำละลายต่างๆ ทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นตามระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดที่ระยะเวลาการสกัด 24 ชั่วโมง ทั้งนี้เพราะว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการแช่พืชตัวอย่างในตัวทำละลายนานขึ้น ตัวทำละลายสามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อของพืชได้มากจึงทำให้เกิดการละลายสารต้านอนุมูลอิสระออกมาได้มาก ซึ่งสอดคล้องกับสมใจ (2549) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และตัวทำละลายที่มีต่อการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน ผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมากขึ้นปริมาณของสารเคอร์คูมินที่สกัดได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไม่ว่าจะใช้เมทานอล หรือเอทานอลในการสกัดทั้งนี้เป็นเพราะว่ายิ่งเวลายาวนานขึ้นก็ทำให้ตัวทำละลายทั้งเมทานอล และเอทานอลสามารถซึมผ่านเข้าไปในเนื้อเยื่อของขมิ้นชันได้มากขึ้นทำให้ได้ปริมาณของสารเคอร์คูมินละลายออกมาได้มากขึ้น และสอดคล้องกับงานวิจัยของสุภาพร และคณะ (2552) ซึ่งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสกัดจากเปลือกมะนาวและอบเชยและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยทำการสกัดสารสกัดจากเปลือกมะนาวและอบเชยที่ อุณหภูมิ 50 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ระยะเวลาที่ใช้สกัด คือ 6 12 18 24 และ 30 ชั่วโมง จากการทดลองพบว่า เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณผลผลิต ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

2) ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักพื้นบ้าน โดยพบว่าตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดพืชทั้ง 10 ชนิดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว จำแนกได้ดังนี้ 1) สุรา 40 ดีกรีเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากผักอีซึก 2) เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจาก ผักอีนูน ผักกะทกรก ผักพาย และไข่น้ำ 3) เมทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากมะระขี้นก ยอดอ้อย ใบขนุนอ่อน ใบคันทรง และผักปลาบ

ผลการวิจัยอภิปรายได้ว่า สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในพืชเป็นสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีหลายชนิด ตัวอย่างเช่น สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) วิตามินอี (tocopherol) และแทนนิน (tannins) ซึ่งเป็นสารพอลิฟีนอล นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ เช่น วิตามินซี (ascorbic acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) และกรดอินทรีย์ (organic acid)

เป็นต้น ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระทั้งหลายเหล่านี้มีทั้งชนิดที่ไม่มีขั้วและมีขั้วมากน้อยต่างกันไป

สารต้านอนุมูลอิสระชนิดมีขั้ว ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก ซึ่งมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของเบนซีน ซึ่งเป็นส่วนที่ไม่มีขั้ว และมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH, hydroxyl group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ ซึ่งเป็นส่วนที่มีขั้ว ที่สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ดีกับตัวทำละลายที่มีขั้ว ทำให้สารประกอบฟีนอลิกสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่โมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีวิตามินซี ซึ่งเป็นวิตามินชนิดที่ละลายน้ำได้ และแคโรทีนอยด์ประเภทแซนโตฟิลล์ ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวนมีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในโมเลกุล เช่น หมู่ไฮดรอกซิล หมู่คีโท (keto group) หมู่อีพอกซี (epoxy group) เป็นต้น จึงทำให้เป็นโมเลกุลมีขั้ว (วีระศักดิ์, 2548) นอกจากนี้กรดอินทรีย์ก็จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีขั้วเช่นกัน ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระชนิดไม่มีขั้ว เช่น β-Carotene , γ-Carotene, Lycopene ซึ่งเป็นแคโรทีน (carotene) ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้นจึงทำให้สารแคโรทีนไม่มีขั้ว

โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เพราะต่างก็เป็นสารอินทรีย์เหมือนกันจึงเกิดการละลายกันตามหลักการละลายกันได้ (like dissolves like) ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้แก่ เมทานอล เอทานอล (เจนจิรา และประสงค์, 2554) เอทิลอะซิเตต (Ramamoorthy & Bono, 2007) และตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน ปิโตรเลียมอีเทอร์ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังสามารถละลายในน้ำได้

ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้วมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารที่เป็นองค์ประกอบในพืช ซึ่งผลการวิจัยพบว่า ตัวทำละลายที่ใช้สกัดพืชแล้วทำให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง คือ ตัวทำละลายที่มีขั้ว ได้แก่ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 เมทานอล สุรา 40 ดีกรี (มีเอทานอลผสมอยู่ ร้อยละ 40) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากพืชตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยนี้มีสารต้านอนุมูลอิสระชนิดที่มีขั้วอยู่ในปริมาณมากซึ่งอาจเป็นสารประกอบฟีนอลิก หรือคาร์โรทีนอยด์ชนิดแซนโตฟิลล์ ซึ่งโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ดังที่กล่าวข้างต้น จึงละลายในเอทานอล เมทานอล หรือสุรา 40 ดีกรี ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์โมเลกุลสั้น (low chain alcohol) (สมใจ, 2549) และโครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยส่วนที่มีขั้ว คือส่วนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลและส่วนที่ไม่มีขั้วคือส่วนที่เป็นหมู่อัลคิล (R-, alkyl group) เช่นเดียวกัน สารกลุ่มนี้จึงสามารถละลายในแอลกอฮอล์ได้ดี แต่สามารถละลายน้ำได้ปานกลาง เนื่องจากน้ำเป็นโมเลกุลที่มีขั้วสูง น้ำจึงเหมาะสำหรับใช้เป็นตัวทำละลายในการสกัดสารที่มีขั้วสูง ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่มีขั้ว เช่น β-Carotene, γ-Carotene, Lycopene จะละลายได้ดีในปิโตรเลียมอีเทอร์

ผลการวิจัยสอดคล้องกับงานวิจัยของทรงศิริ และคณะ (2552) ที่ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แอนโธไซยานินทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดองุ่น ชนิดตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดได้แก่ น้ำ น้ำร้อน และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 10 ร้อยละ 20 ร้อยละ 30 ร้อยละ 50 และ ร้อยละ 80 พบว่าสารสกัดเปลือกและเมล็ดองุ่นที่ใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงที่สุดและสอดคล้องกับจักรรินทร์ และพิพรรธพงศ์ (2551) ได้ศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลมะแขว่น พบว่าตัวทำละลายที่ให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ ตัวทำละลายผสมของเอทานอลและไดคลอโรมีเทน รองลงมาคือเอทานอล เอทิลอะซิเตต และ เฮกเซนตามลำดับนอกจากนี้

Delouee & Urooj (2007 อ้างถึงในเสถียร, 2551) ได้สกัดสารประกอบฟีนอลิกและศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหม่อนพบว่าสารสกัดจากเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดและมีศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง ธนศักดิ์และคณะ (2551) ได้ศึกษาผลของตัวทำละลายอะซีโตนเข้มข้น ร้อยละ 80 เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 80 เมทานอลเข้มข้น ร้อยละ 80 และน้ำต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของกระชายเหลือง พบว่ากระชายเหลืองที่สกัดด้วย เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 80 มีประสิทธิภาพสูงสุด รองลงมาคือการสกัดด้วย เมทานอลเข้มข้นร้อยละ 80 และน้ำตามลำดับ

ผลการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นประโยชน์ต่อยอดในการพัฒนาพืชผักพื้นบ้านเป็นผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ โดยเลือกใช้วิธีการสกัดพืชที่ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดแล้วนำสารสกัดไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์เสริมความงาม ผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เครื่องดื่มต้านอนุมูลอิสระ ข้าวเสริมสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น นอกจากนี้ควรวิจัยถึงชนิดของสารองค์ประกอบที่มีอยู่ในพืชผักพื้นบ้านแต่ละชนิด ศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนอกเหนือจากตัวทำละลายและระยะเวลาในการสกัด เช่น ศึกษาตัวทำละลายผสมระหว่างตัวทำละลายที่มีขั้วและไม่มีขั้ว และศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่หลากหลายขึ้น ศึกษาผลอุณหภูมิ pH หรือวิธีการสกัด เพื่อค้นหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชรที่ให้ทุนสนับสนุนการวิจัยนี้ รวมทั้งขอขอบคุณโปรแกรมวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ อุปกรณ์ และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์จนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ขวัญดาว แจ่มแจ้ง รัชนี นิธากร ไพโรจน์ เอกอุฬาร ปรัชญา ชะอุ่มผล บุณยกฤต รัตนพันธุ์ วชิระ สิงห์คง มณฑา หมีไพรพฤกษ์ นพรัตน์ ไชยวิโน และกีรศักดิ์ พะยะ. 2555. รายงานการวิจัยเรื่องสำรับอาหารชากังราวจากพืชผักพื้นบ้านตามวิถีเศรษฐกิจพอเพียงจังหวัดกำแพงเพชร. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

จักรพงศ์ ไพบูลย์. 2554. สารต้านอนุมูลอิสระ(antioxidant). (ออนไลน์).http://www.thaiclinic.com/antioxidant.html (6 มกราคม 2555).

จักรรินทร์ ศรีวิไล และพิพรรธพงศ์ จบมะรุม.2551. การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากผลมะแขว่น.(ออนไลน์). เข้าถึงได้ http://www.acad.nu.ac.th/acadsupport.doc. (6 มกราคม 2555).

เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์ 1(1): 59-70.

ทรงศิริ วงศ์จิตตภิญโญ ชนิตา โชติรสเวคิน และศศิธร ตรงจิตภักดี. 2552. ผลของชนิดตัวทำละลายที่ใช้สกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด แอนโธไซยานินทั้งหมด และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกและเมล็ดองุ่น. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ. 760-767.

ธนศักดิ์ แซ่เลี่ยว ศศิธร จันทนวรางกูร และวรรณี จิรภาคย์กุล. 2551. ผลของตัวทำละลายต่อปริมาณฟีนอลิกและความสามารถต้านออกซิเดชันของกระชายเหลือง. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ. 583-545.

ปรียาลักษณ์ โคหนองบัว. 2551. ผลของความหนักในการออกกำลังกายแบบแอโรบิกที่มีต่อระดับของสารต้านอนุมูลอิสระ.วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาสตร์การกีฬา), บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วีระศักดิ์ สามี. 2548. แคโรทีนอยด์: โครงสร้างทางเคมี และกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย. Thai pharmaceutical and health science journal 10(1), 58-66.

สมใจ ขจรชีพพันธุ์งาม. 2549. อิทธิพลของอุณหภูมิ เวลา และตัวทำละลายที่มีต่อการสกัดสารเคอร์คูมินจากขมิ้นชัน.วิศวกรรมสาร มข. 33(3): 225-236.

สมหมาย ปะติตังโข. 2553. การต้านอนุมูลอิสระและการต้านการเติบโตของแบคทีเรียของสารสกัด.วารสาร มฉก. วิชาการ. 14(27): 123-136.

สุภาพร พาเจริญ กมลวรรณ แจ้งชัด อนุวัตร แจ้งชัด และพัชรี ตั้งตระกูล. 2552. สภาวะที่เหมาะสม สำหรับการสกัดสารสกัดจากเปลือกมะนาว และ อบเชย . เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47: สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. กรุงเทพฯ: 416-422.

เสถียร อำพันโรจนานันท์. 2551. การเลือกตัวทำละลายสำหรับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติโดยใช้พารามิเตอร์การละลาย. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

Ahmad R, Hashim HM, Noor ZM, Ismail NH, Salim F, LaJis NH, Shaari K. 2011. Antioxidant and Antidiabetic Potential of Malaysian *Uncaria*. Research Journal of Medicinal Plant 5(5): 587-595.

Bunker VW. 1992. Antioxidant and Aging. Journal of Medical Laboratory Science 49: 299-312.

Bocco A, Cuvelier A, Richard H, Berset C. 1998. Antioxidant activity and phenolic composition of citrus peel and seed extracts. Journal of Agricultural and Food Chemistry 46: 2123–2129.

Delouee S, Urooj A. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves. Food Chemistry 102: 1233-1240.

Moller P, Wallin H, kmudsen LE. 1996. Oxidative stress Associated with exercise psychological stress and life-style factors. Chemico-Biological Interactions 102: 17-36.

Ramamoorthy PK, Bono A. 2007. Antioxidant activity, total phenolic and flavonoid content of *Morinda Citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. Journal of Engineering Science & Technology 2: 70-80.

Skerget M, Kotnik P, Hadolin M, Hras AR, Simonic M, Knez Z. 2005. Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. Food Chemistry 89(2): 191-198.

Tagashira M, Ohtake Y. 1998. A new antioxidative 1,3 - benzodioxole from *Melissa officinalis*. Planta Medica 64: 555-558.

Wang SY, Jiao H. 2000. Scavenging capacity of berry crops on superoxide radicals, hydrogen peroxide, hydroxyl radicals, and singlet oxygen. Journal of Agricultural and Food Chemistry 48: 5672-5676.