ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระและการพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว

ณพัฐอร บัวฉุน[1*] วิชุดา มั่นจิตร[2]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และผลลูกยอ นำมาสกัดด้วยเอทานอล ผลการวิจัยพบว่า สกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 65.01 ± 0.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือผลลูกยอ ผลมะกอกน้ำ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ 43.85 ± 0.01 31.25 ± 0.02 และ 22.08 ± 0.01 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.12 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือผลมะกอกน้ำ ผลลูกยอ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ 14.84 ± 0.01 12.91 ± 0.02 0.92 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดของผลมะขามป้อมที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดไปใช้พัฒนาโลชั่น และทำการทดสอบความคงสภาพของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดมะขามป้อมเข้มข้น 0.5% w/w ที่สภาวะต่างๆ เป็นเวลา 1 เดือน โดยทำการเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์ พบว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 27 องศาเซลเซียส โลชั่นมีสภาพความคงตัวดีที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส มีความคงสภาพของเนื้อโลชั่นจะเริ่มลดลงเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ส่วนที่สภาวะการทำให้แข็งตัวและการละลาย พบว่า เนื้อโลชั่นเกิดการแยกชั้นสัปดาห์ที่ 3 เมื่อนำโลชั่นไปหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า โลชั่นที่มีส่วนผสมของสารสกัดผลมะขามป้อมมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าโลชั่นสูตรพื้นฐาน

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด องค์ประกอบทางเคมี ชะเอมไทย มะขามป้อม

[1]สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
e-mail: send2duang@hotmail.com
[2] สาขาวิชาเคมีและวิทยาศาสตร์ คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี
**ผู้นิพนธ์หลัก e-mail: send2duang@hotmail.com*

QUANTITATION OF TOTAL PHENOLIC ANTIOXIDANT ACTIVITY AND DEVELOPMENT OF SKIN CARE LOTION

Napattaorn Buachoon[1*] Wichuda Manjit[2]

Abstract

This research study the total phenolic content and antioxidant activity from Crude extracts of Phyllanthus emblica**,** *Elaeocarpus hygrophilus Kurz*., Mimusops elengi *L*. and *Morinda citrifolia L.* were extracted with ethanol. It was found that the extract from Phyllanthus emblica. leaf has the highest value of 65.01 ± 0.03 mg GAEg^{-1}. The extracts from *Morinda citrifolia L.*, *Elaeocarpus hygrophilus Kurz.* and Mimusops elengi *L***.** 43.85 ± 0.01 31.25 ± 0.02 and 22.08 ± 0.01 mg GAEg^{-1}, respectively. When analyzed for antioxidant activity, crude extract from Phyllanthus emblica showed the highest antioxidant activity, with an IC_{50} of 18.12 ±0.01 micrograms per milliliter. The extracts from *Morinda citrifolia L.*, *Elaeocarpus hygrophilus Kurz*. and Mimusops elengi *L.* 14.84 ± 0.01 12.91 ± 0.02 and 0.92 ± 0.01 micrograms per milliliter. The extract of Phyllanthus emblica having the highest amount of total phenolic content and antioxidant activity were used as an ingredient in a lotion. Accelerated storage test on the lotion containing 0.5%w/w extract of Phyllanthus emblica was examined. The data were collected in every week for one month. At the temperature of 4°C, 27°C and the accelerate condition by light, the lotion was stable. At a temperature of 55°C, the stability reduced in the 4rd week. In the freeze and thaw cycle, the lotion showed the separation into layers in the 3nd week. On the study of total phenolic and antioxidant activity, it was found that the lotion containing the extract from Phyllanthus emblica showed significantly higher amount of total phenolic compound than the basic lotion.

Keywords : Antioxidant activity, Total phenolic, Phyllanthus emblica*, Elaeocarpus hygrophilus Kurz*., Mimusops elengi *L*. and *Morinda citrifolia L.*

[1]Chemistry Progra , Faculty of Science and Technology, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

2 Chemistry and Science Program , Faculty of Education, Valaya Alongkorn Rajabhat University under the Royal Patronage

** Corresponding author, e-mail: send2duang@hotmail.com*

บทนำ

ในปัจจุบันคนไทยให้ความสำคัญกับพืชสมุนไพรมากขึ้น ทั้งที่ใช้เป็นยาโดยนำมาสกัดและนำสารที่มีอยู่ในพืชสมุนไพรมาใช้ทำยาสมุนไพร หรือนำไปเป็นส่วนประกอบของของใช้เพื่อการอุปโภคหรือบริโภคในชีวิตประจำวัน เช่น ครีมบำรุงผิว น้ำหอม ยาดม และน้ำมันหอมระเหย ฯลฯ ด้วยประโยชน์มากมายที่มีในสมุนไพรจึงส่งผลให้เกิดการใช้สมุนไพรเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะในระยะหลังหลายคนได้เริ่มตื่นตัวถึงพิษภัยอันตรายที่มาจากสารเคมี และได้หันมาให้ความสนใจต่อสารที่ได้สกัดจากธรรมชาติกันมากขึ้น ยิ่งทำให้ความต้องการใช้สมุนไพรยิ่งมีมากขึ้นตามลำดับ โดยเฉพาะเครื่องสำอางที่มีส่วนผสมจากสารสกัดที่มาจากพืชสมุนไพร ทั้งผลิตภัณฑ์จากพืชสมุนไพรที่ต่อต้าน ริ้วรอยและผลิตภัณฑ์ที่ช่วยให้ผิวขาว ซึ่งเป็นเครื่องสำอางที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก การนำสารสกัดจากธรรมชาติมาใช้เป็นวัตถุดิบในการตั้งตำรับในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางเพื่อสุขภาพและเสริมความงามเป็นกระแสนิยมที่ได้รับความสนใจในปัจจุบัน เนื่องจากมีฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ ใกล้เคียงสารสังเคราะห์อื่นๆ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคสูงมีสารจากธรรมชาติหลากหลายชนิดที่ตอบสนองความต้องการเหล่านี้ พืชสมุนไพรที่ต่อต้านริ้วรอยโดยส่วนใหญ่มักจะเป็นสารในกลุ่มสารประกอบฟลาโวนอยด์ สำหรับพืชสมุนไพรที่ช่วยให้ผิวขาวก็จะมีสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสซึ่งเกี่ยวข้องการสร้างเม็ดสีของผิวหนัง เช่น สารในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (ณพัฐอร บัวฉุน, 2558)

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet Oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์(synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระมีอยู่จำนวนมาก ทั้งที่ได้จากการสังเคราะห์ขึ้น และที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น ในพืชโดยทั่วไปจะพบสารต้านอนุมูลิสระได้แก่ โคเอนไซม์ เอนไซม์คิวเทน (Beyer, 1992) สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟลาวานอยด์ กรดฟีนอลิก และแอนโธไซยานิน ซึ่งพบทั่วไปในพืช (สมหมาย ปัตตาลี, 2551)

การศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ 1,1 diphenenyl-2-picryhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ซึ่งเป็นวิธีวิเคราะห์ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของอนุมูลอิสระโดยสารฟีนอลที่พบมากในพืชจะให้อิเลกตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH เปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสีเหลืองนวลไม่เป็นอนุมูลอิสระอีกต่อไป (Chatchi Thetsrimuang *et al*., 2011; Deepika Kumari *et al*., 2011; Hip Seng Yim *et al*., 2012)

จากงานวิจัยจำนวนมากที่ได้ทำการศึกษา สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม ผลพิกุล และผลมะกอกน้ำที่สกัดได้จากเอทานอล พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และจากงานวิจัยของยุทธนา สุดเจริญ (2553) การได้ศึกษาผักและสมุนไพรพื้นบ้าน พบว่าลูกยอมีปริมาณวิตามินซี และเบต้าแคโร จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นงานวิจัยนี้จึงสนใจนำพืชสมุนไพรที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง มาหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมด ซึ่งได้แก่ ผลมะขามป้อม ผลพิกุล ผลมะกอกน้ำ และลูกยอ โดยนำมาทำการสกัดเพื่อหาพืชที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดไปเป็นส่วนผสมในโลชั่นเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิว และนำไปเป็นฐานข้อมูล

ทางวิทยาศาสตร์ในการสนับสนุนฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและเป็นการเพิ่มคุณค่าให้กับพืชสมุนไพรไทยและเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาขั้นสูงต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ
3. เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นและตรวจสอบความคงตัว
4. เพื่อหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โลชั่น

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดหยาบ

นำผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอมาหั่นเป็นแว่นบางๆ สับให้เป็นชิ้นบาง ๆ หรือชิ้นเล็ก ๆ นำไปตากแดดจนแห้งแล้วนำไปบดละเอียด ชั่งน้ำหนักชนิดละ 500 กรัม แช่ในทำละลายเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ให้ท่วม นำเข้าเครื่องเขย่าที่ควบคุม อุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองเอาส่วนสารละลายใส่ขวด ส่วนกากนำมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารละลายสกัดที่ได้แต่ละชนิดมาระเหยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ออกด้วยเครื่องระเหยแห้ง(Rotary evaporator) ด้วยอัตราเร็ว 110 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส

2. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ (Leite & Dourado, 2013: Lingkard & Singlaton, 1977)

เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกเข้มข้น 1,000 ppm และ 100 ppm และเจือจางจนมีความเข้มข้นเป็น 0, 20, 40, 60 และ 80 ppm จากนั้นสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก นำสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร (A_{760}) หลังจากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ โดยการวัดสมบัติในการยับยั้ง DPPH Radical

3.1 ชั่งสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) 0.0125 กรัมละลายด้วย 99.99% อทานอล ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จนได้สารละลาย BHT และ BHA ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จะได้สารละลาย BHT ที่มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

3.3 ชั่งสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ อย่างละ 0.0125 กรัม ละลายด้วย 99.99% เอทานอล ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จนได้สารละลายสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ที่มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างละปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย Absolute Ethanol จะได้สารละลายสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ที่มีความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5, และ 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

3.4 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (BHT และ BHA) ที่มีความเข้มข้นต่างๆ เติมสารละลาย DPPH $6x10^{-5}$ โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.5 ปิเปตสารละลายสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ที่มีความเข้มข้นต่างๆ เติมสารละลาย DPPH $6x10^{-5}$ โมลาร์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเขย่าให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.6 คำนวณหา % inhibition

3.7 พล๊อตกราฟหาค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับ BHA, BHT สารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

4. การเตรียมโลชั่น

4.1 เตรียมโลชั่นสูตรพื้นฐาน

4.1.1 เตรียมโลชั่นสูตรพื้นฐานปริมาตร 500 กรัม ชั่งส่วนผสมโลชั่นตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนผสมโลชั่นสูตรพื้นฐาน

ชื่อสาร	ปริมาณที่เตรียม (Base Lotion)
White bee Wax	3.3 กรัม
Stearic Acid	16.7 กรัม
Glyceryl Monostearate	5 กรัม
Tween 80	5 มิลลิลิตร
Span 80	5 มิลลิลิตร
Germaben II	3.5 มิลลิลิตร
Isopropyl Myristate	5 มิลลิลิตร

4.1.2 ใส่สารซึ่งถือเป็นวัฏภาคน้ำ ได้แก่ Tween 80 และน้ำ ลงในบีกเกอร์

4.1.3 ใส่สารซึ่งถือเป็นวัฏภาคน้ำมัน ได้แก่ White Bee Wax, Stearic Acid, Glyceryl Monostearate, Span 80, Germaben II, Isoproply Myristate ตามลำดับ รวมกันลงในบีกเกอร์

4.1.4 นำบีกเกอร์ในข้อ 2 และข้อ 3 ตั้งบน Water bath แล้วทำการวัดอุณหภูมิ ของสารละลาย โดยให้อุณหภูมิของสารละลายในบีกเกอร์วัฏภาคน้ำมีอุณหภูมิประมาณ 75 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิของสารละลายในบีกเกอร์วัฏภาคน้ำมันมีอุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียส

4.1.5 เทสารในบีกเกอร์วัฏภาคน้ำลงในบีกเกอร์วัฏภาคน้ำมัน พร้อมคนผสมให้เข้ากันอย่างต่อเนื่อง จนกระทั่งอุณหภูมิของสารที่ผสมลดลงมาเหลือประมาณ 40 องศาเซลเซียส จึงแต่งกลิ่นและสีตามที่กำหนด ทิ้งไว้จนเย็นที่อุณหภูมิห้องจะได้เป็นผลิตภัณฑ์โลชั่น โดยดำเนินการทดสอบ 3 ซ้ำ

4.2 สูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

เตรียมโลชั่นสูตรพื้นฐานที่ดีที่สุดจากหัวข้อ 4.1 ปริมาตร 500 กรัม โดยเพิ่มสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม 5 กรัมในส่วนที่ 3 โลชั่นมีสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก

5. การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของโลชั่นผสมสารสกัดผลมะขามป้อม

ทำการทดลองเหมือนกับสารละลายสกัดผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ (ข้อ 2) แต่เปลี่ยนเป็นสารละลายโลชั่นสูตรพื้นฐานและสูตรผสมสารสกัดผลมะขามป้อมเข้มข้น 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดลองการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโลชั่นทุก สัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

6. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นผสมสารสกัดผลมะขามป้อม

ทำการทดลองเหมือนกับสารละลายสกัดผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ (ข้อ 2) แต่เปลี่ยนเป็นสารละลายโลชั่นสูตรพื้นฐานและสูตรผสมสารสกัดผลมะขามป้อมเข้มข้น 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตร และทำการทดลองการหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นทุก สัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

7. การประเมินคุณสมบัติทางกายภาพของโลชั่นผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

7.1 โลชั่นสูตรพื้นฐาน

วัดค่า pH ค่าความหนืด และสังเกตการแยกชั้น ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์

7.2 โลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

การทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของโดยนำโลชั่นสูตรผสมสารสกัดผลมะขามป้อมขวดละ 100 กรัม จำนวน 5 ขวดนำไป ทดสอบที่ 5 สภาวะ คือสภาวะที่ 1 คือ 4 องศาเซนเซียส สภาวะที่ 2 คือ 27 องศาเซนเซียส สภาวะที่ 3 คือ 55 องศาเซนเซียส สภาวะที่ 4 คือ เร่งโดยแสง โดยนำโลชั่นไปไว้บริเวณที่มีแสงแดดทุกๆวัน วันละ 5 ชั่วโมงและ สภาวะที่ 5 คือ Freeze and thaw cycle 6 รอบ โดยเก็บโลชั่นในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 55 องศาเซลเซียส อีก 48 ชั่วโมง นำโลชั่นสูตรผสมสารสกัดใบผักแพวที่ผ่านการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของโลชั่นทุกสภาวะมาวัดค่า pH ค่าความหนืด และ สังเกตการแยกชั้น โดยเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์เป็นเวลา 1 เดือน

ผลการวิจัย

1. ผลการสกัดสารจากผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

ผลการสกัดสารจากสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ โดยวิธีการหมักด้วยเอทานอล มีลักษณะทางกายภาพ และร้อยละผลผลิต (% Yield) แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2 และตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล

ชนิดพืช	ลักษณะของสารสกัดหยาบ
ผลมะขามป้อม	ยางเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม
ผลมะกอกน้ำ	ยางเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม
ผลพิกุล	ยางเหนียวหนืดสีส้มอมน้ำตาล
ลูกยอ	ยางเหนียวหนืดสีเขียวอ่อน

จากตารางที่ 2 พบว่า สารสกัดหยาบผลมะขามป้อมมีลักษณะเป็นยางเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม ผลมะกอกน้ำมีลักษณะเป็นยางเหนียวหนืดสีเขียวเข้ม ผลพิกุลมีลักษณะเป็นยางเหนียวหนืดสีส้มอมน้ำตาล และลูกยอมีลักษณะเป็นยางเหนียวหนืดสีเขียวอ่อน

ตารางที่ 3 ร้อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

ชนิดพืช	น้ำหนักก่อนการสกัด (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ร้อยละผลผลิต (% Yield)
ผลมะขามป้อม	500	118.90	23.78
ผลมะกอกน้ำ	500	97.41	19.48
ผลพิกุล	500	85.39	17.07
ลูกยอ	500	83.21	16.64

จากตารางที่ 3 พบว่า ร้อยละผลผลิตพบว่าสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมมีร้อยละผลผลิตมากที่สุดเท่ากับ 23.78 รองลงมาคือสารสกัดหยาบผลมะกอกน้ำ มีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 19.48 ผลพิกุลมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 17.07 และลูกยอมีร้อยละผลผลิตเท่ากับ 16.64 ตามลำดับ

2. ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

สารสกัดหยาบ	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ± SD (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)
ผลมะขามป้อม	65.01 ± 0.03
ผลมะกอกน้ำ	31.25 ± 0.02
ผลพิกุล	22.08 ± 0.01
ลูกยอ	43.85 ± 0.01

จากตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดหยาบผลมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สูงที่สุด เท่ากับ 65.01 ± 0.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง เมื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน กรดแกลลิก รองลงมาคือผลลูกยอ ผลมะกอกน้ำ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ 43.85 ± 0.01 31.25 ± 0.02 และ 22.08 ± 0.01 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ

3. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

จากการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ จากการทดสอบการยั้งยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยอาศัยหลักการจับอนุมูลอิสระด้วย DPPH Radical Scavenging เมื่อทำการละลายในเอทานอลจะเห็นเป็นสารละลายสีม่วง เมื่อ DPPH รับอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนเรดิคัล จะทำให้มีค่าเสถียรมากขึ้นและเป็นผลให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง เมื่อนำมาหาค่า IC_{50} ของ BHT BHA สารสกัดหยาบหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ค่า IC_{50} ของ BHT BHA สารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ

สารตัวอย่าง	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
BHT	14.21 ± 0.01
BHA	13.85 ± 0.01
สารสกัดหยาบผลมะขามป้อม	18.12 ± 0.01
สารสกัดหยาบผลมะกอกน้ำ	14.84 ± 0.01
สารสกัดหยาบผลผลพิกุล	0.92 ± 0.01
สารสกัดหยาบสกัดหยาบลูกยอ	12.91 ± 0.02

จากตารางที่ 5 จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และลูกยอ พบว่า สกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.12 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือผลมะกอกน้ำ ผลลูกยอ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ

14.84 ± 0.01 12.91 ± 0.02 0.92 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อค่า IC_{50} ของ BHT และ BHA เท่ากับ 14.21± 0.01 และ 13.85 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

4. การเตรียมและการตรวจสอบคุณภาพและความคงสภาพของโลชั่น

4.1 โลชั่นสูตรพื้นฐาน

ในการเตรียมโลชั่นสูตรพื้นฐานพบว่าโลชั่นสูตรพื้นฐานมีลักษณะเป็นสารเนื้อเดียวสีขาว สามารถซึมเข้าสู่ผิวเร็วกว่า เมื่อทาผิวแล้วไม่มันและไม่เหนอะหนะ เมื่อนำโลชั่นสูตรพื้นฐานมาตรวจสอบความคงสภาพโดยพิจารณา จากค่า pH การแยกชั้น และความหนืด ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 สัปดาห์ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การตรวจสอบความคงสภาพของโลชั่นสูตรพื้นฐานที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การทดสอบ	สัปดาห์ที่				
	0	1	2	3	4
ค่า pH	6.7	6.7	6.7	6.7	6.7
การแยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น	ไม่แยกชั้น
ความหนืด	534.5	534.4	534.1	533.5	533.1

ตารางที่ 6 พบว่า เมื่อทำการตรวจสอบความคงสภาพของโลชั่นสูตรพื้นฐานที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลาทั้งหมด 4 สัปดาห์ พบว่า ค่า pH ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง เนื้อของโลชั่นไม่เกิดการแยกชั้น และ ความหนืดมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก

4.2 โลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

เมื่อนำโลชั่นสูตรพื้นฐาน มาการพัฒนาสูตรโลชั่นโดยผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม พบว่าโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมลักษณะเนื้อเดียวมีสีขาวอมเขียวอ่อน เนื้อโลชั่นสามารถซึมเข้าสู่ผิวได้เร็ว ไม่ทำให้เหนียวเหนอะหนะ ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพเป็นไปตามมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์ชุมชนสำหรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และเมื่อนำมาทำการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมที่สภาวะต่างๆ 5 สภาวะ พบว่า ความคงในสภาวะแบบเร่งของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมที่อุณหภูมิ 4 และ 27 องศาเซลเซียส และการเร่งโดยให้แสงตลอดระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ค่า pH มีค่าคงที่ เนื้อของโลชั่นไม่เกิดการแยกชั้น ความหนืดมีค่าที่มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก แสดงให้เห็นว่า โลชั่นมีความคงตัวดีที่สภาวะเร่งทั้ง 3 สภาวะ ในสภาวะ 55 องศาเซลเซียส เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 4 ความคงสภาพของเนื้อโลชั่นเริ่มจะลดลงเนื่องจากโลชั่นมีลักษณะเหลวมาก เมื่อทำการวัดค่าความหนืดพบว่ามีค่าที่ลดลงอย่างอย่างมาก ส่วนที่สภาวะการทดสอบ Freeze and thaw cycle 6 รอบพบว่าในสัปดาห์ที่ 3 โลชั่นเกิดการแยกชั้น แสดงว่าโลชั่นเกิดการเสียสภาพ

5. ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ผลการทดลองดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ผลการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

สัปดาห์ที่	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ± SD (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)	
	โลชั่นสูตรพื้นฐาน	โลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม
0	8.02 ± 0.02	65.86 ± 0.02
1	7.89 ± 0.03	64.64 ± 0.01
2	7.61 ± 0.01	64.01 ± 0.03
3	7.38 ± 0.03	63.97 ± 0.03
4	7.01 ± 0.01	63.84 ± 0.01

จากตารางที่ 7 พบว่า โลชั่นสูตรพื้นฐาน และโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดในวันแรก เท่ากับ 8.02 ± 0.02 และ 65.86 ± 0.02 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเล็กน้อย หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 2-4 ค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะมีค่าต่างกันน้อยมาก

6. ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

จากการทดลองฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม โดยอาศัยหลักการจับอนุมูลอิสระด้วย DPPH Radical Scavenging ผลการทดลองดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม

สัปดาห์ที่	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	
	โลชั่นสูตรพื้นฐาน	โลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม
0	7.82 ± 0.01	8.02 ± 0.02
1	6.71 ± 0.03	17.81 ± 0.01
2	6.37 ± 0.02	17.64 ± 0.01
3	6.28 ± 0.02	18.11 ± 0.05
4	6.11 ± 0.02	18.00 ± 0.02

จากตารางที่ 8 พบว่า โลชั่นสูตรพื้นฐาน และโลชั่นสูตรผสมสารสกัดหยาบผลมะขามป้อม มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในวันแรก เท่ากับ 7.82 ± 0.01 และ 8.02 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อเวลาผ่านไป 1 สัปดาห์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะลดลงเล็กน้อย หลังจากนั้นในสัปดาห์ที่ 2-4 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะมีค่าต่างกันน้อยมาก

อภิปรายผล

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และผลลูกยอ นำมาสกัดด้วยเอทานอล หาปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด ด้วยโดยวิธี Folin–Ciocalteu และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ผลการวิจัยพบว่า สกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 65.01 ± 0.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาคือผลลูกยอ ผลมะกอกน้ำ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ 43.85 ± 0.01 31.25 ± 0.02 และ 22.08 ± 0.01 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เมื่อนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สกัดหยาบจากผลมะขามป้อมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 18.12 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือผลมะกอกน้ำ ผลลูกยอ และผลพิกุล มีค่าเท่ากับ 14.84 ± 0.01 12.91 ± 0.02 0.92 ± 0.01 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับงานวิจัยของ มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ (2555) ที่ได้สกัดจากส่วนเถาชะเอมไทย พบว่า สารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายร้อยละ 80 เอทานอล มีร้อยละของสารสกัด คือ 6.12 และพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม เท่ากับ 10.18 มิลลิกรัมแกลลิกแอซิดต่อน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ จากการศึกษาจะเห็นได้ว่า สารสกัดหยาบผลมะขามป้อม ผลมะกอกน้ำ ผลพิกุล และผลลูกยอมีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบอยู่จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับสารละลายมาตรฐานบีเฮชเอและบีเฮชที และงานวิจัยที่ศึกษา พบว่าพืชที่มีสารประกอบฟีนอลิกจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น งานวิจัยของ สุธาทิพย์ อินทรกำธรชัย และคณะ (2555) ได้ทำการสกัดและประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากดอกมะลิลา พบว่าจากการสกัดสารออกฤทธิ์จากดอกมะลิลาด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ให้ผลผลิตสารสกัดร้อยละ 39.64 และ 21.24 ตามลำดับ สารสกัดดอกมะลิลามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 56.05 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (mg GAE/g) ซึ่งสูงกว่าปริมาณฟีนอลิกที่พบในสารสกัดทางการค้าคือ สารสกัดเปลือกเมล็ดลำไย เมล็ดทับทิม และเปลือกมังคุด 77, 140 และ 2.1 เท่า ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดดอกมะลิลาพบค่า IC_{50} เท่ากับ 0.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ผู้วิจัยนำสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมมาพัฒนาเป็นโลชั่น พบว่า โลชั่นสูตรที่มีส่วนผสมของสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมมีเนื้อเป็นสีขาวอมเขียวอ่อน มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีกลิ่น มีลักษณะคงตัวที่ดีมี และมีค่า pH เท่ากับ 6.7 เมื่อทำการทดสอบความคงสภาพแบบเร่งของโลชั่นสูตรผสมสารสกัดสกัดหยาบผลมะขามป้อมเข้มข้น 0.5 % w/w ที่สภาวะต่างๆ พบว่าที่สภาวะอุณหภูมิ 4 และ 27 องศาเซลเซียสและเร่งโดยแสงโลชั่นมี สภาพความคงตัวดีส่วนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสเมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 ความหนืดของโลชั่นเริ่มลดลง ส่วนที่สภาวะการทำให้แข็งตัวและละลาย พบว่าเนื้อโลชั่นเกิดการแยกชั้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 เมื่อนำโลชั่นไปหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่า โลชั่นสูตรผสมสารสกัดสกัดหยาบผลมะขามป้อมมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่าโลชั่นสูตรพื้นฐาน ดังนั้นอาจนำสารสกัดหยาบผลมะขามป้อมไปพัฒนาเพื่อต่อยอดในเชิงพาณิชย์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ณพัฐอร บัวฉุน. (2558). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะเอมไทย. **วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 10(2), 78-95.

ณพัฐอร บัวฉุน. (2558). การพัฒนาโลชั่นจากสารสกัดหยาบชะเอมไทยที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์**. 10(2), 97-106.

มนสิชา ขวัญเอกพันธ์ และคณะ. (2555). **ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดจากส่วนเถาชะเอมไทย**. เชียงราย : มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

ยุทธนา สุดเจริญ. (2553). **การประเมินคุณประโยชน์ผักและสมุนไพรพื้นบ้าน จังหวัดสมุทรสงคราม**. ปริญญานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.

สมหมาย ปัตตาลี. (2551). **การศึกษาคุณภาพของน้ำหมักชีวรูปที่ผลิตจากผลมะหลอด.** ปริญญาการศึกษาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์ศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒประสานมิตร.

สุธาทิพย์ อินทรกำธรชัย และคณะ. (2555). **การพัฒนาครีมชะลอวัยผสมสารสกัดดอกมะลิลา**.เชียงราย: มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

Beyer, R.E. (1992). An Analysis of Role of Coenzyme Q in Free Radical Generation and As Antioxidant. **Biochemistry and Cell Biology**. 70, 390 – 403.

Chatchai Thetsrimuang, Saranyu Khammuang, Khajeelak Chiablaem, Chantragan Srisomsap, Rakrudee Sarnthima. (2011) Antioxidant properties and cytotoxicity of crude polysaccharides from *Lentinus polychrous* Lev. **Food Chemistry**, 2011(128), 634-639.

Deepika Kumari, M. Dudhakara Reddy, Ramesh Chandra Upadhyay. (2011) Antioxidant Activity of three Species of Wild Mushroom Genus *Cantrarellus* Collected from North-Western Himalaya, India. **International Journal of Agrculture & Biology**, 2011(13), 415-418.

Hip Seng Yim, Fook Yee Chy, Sze May Koo, Patricia Matanjun, Siew Eng How, Chun Wai Ho. (2012) Optimization of extraction time and temperature for antioxidant activity of edible wild mushroom, Pleurotus porrigens. **Food and Bioproducts Processing**, 2012(90), 235-242