# ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดของสารสกัดหยาบจากมะตาด

**สิตา ทิศาดลดิลก[1*] เอื้อมพร รัตนสิงห์[2]**

Received : September 1, 2019
Revised : November 11, 2019
Accepted : December 23, 2019

**บทคัดย่อ**

มะตาดเป็นพืชพื้นบ้านของจังหวัดปทุมธานีใช้ในการประกอบอาหารเป็นไม้ประดับและมีสรรพคุณทางยาพื้นบ้าน แต่ยังไม่พบข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในเชิงวิทยาศาสตร์ของมะตาดมากนักวัตถุประสงค์ในการวิจัยเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ Total phenolic และหาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาด ด้วยวิธีDPPHและ FRAP assay ผลมะตาดตัวอย่างเก็บจากจังหวัดปทุมธานี ทีส่วนศึกษาคือเปลือกและเนื้อผลมะตาดสดและแห้ง มะตาดแห้งเตรียมโดยนำผลมะตาดสดมาอบที่อุณหภูมิประมาณ 45-40$^{O}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหาปริมาณน้ำของผลมะตาดในรูป % ความชื้น นำส่วนเปลือกและเนื้อของผลมะตาดสดและแห้งมาสกัดด้วยเอทานอล โดยวิธีการหมัก นำสารสกัดหยาบที่ได้ไปหาปริมาณ Total Phenolic และหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระผลการวิจัยพบว่า%ความชื้นของเปลือกและเนื้อของผลมะตาด เท่ากับ 88.40 และ 69.19 ตามลำดับ % ผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเนื้อมะตาดแห้งมีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 19.06 ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกมะตาดสด มีค่าต่ำที่สุดเท่ากับ 2.34 ผลการวิเคราะห์หาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าสอดคล้องกันทั้งสองวิธีคือสารสกัดจากเนื้อผลมะตาดแห้งมีค่า $IC_{50}$ น้อยที่สุด เท่ากับ 0.004 mg/ml จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ส่วนสารสกัดจากเปลมะตาดแห้ง มีค่า $IC_{50}$ มากที่สุด เท่ากับ 0.26mg/ml มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด สารสกัดหยาบจากเนื้อผลมะตาดแห้งมีปริมาณ Total phenolic มากที่สุดเท่ากับ 80.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม ตัวอย่างรองลงมาเป็นเปลือกผลมะตาดสดและเนื้อผลมะตาดสด และเปลือกผลมะตาดแห้ง มีปริมาณ Total phenolic น้อยที่สุดตามลำดับ (10.29 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง) ผลการวิจัยนี้สรุปว่าสารสกัดจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดมีปริมาณ Total phenolic และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปริมาณสูง อาจมีศักยภาพในการเป็นสารต้านการอักเสบหรือสารต้านมะเร็งควรมีการศึกษาสมบัติอื่นๆเพิ่มเติม

**คำสำคัญ :** มะตาด *(Dillenia indica)* Total phenolic สารต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดเอทานอล

*[1] อาจารย์ หลักสูตรวิทยาศาสตร์ศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี*

*[2] อาจารย์ โรงเรียนนายเรืออากาศนวมินทกษัตริยาธิราช*

**ผู้นิพนธ์หลัก e-mail:sita@vru.ac.th*

# ANTIOXIDANT ACTIVITIES AND TOTAL PHENOLIC CONTENTS OF CRUDE ETHANOLIC EXTRACT FROM MATAT *(DILLENIA INDICA)*

**Sita Tisadondilok[1*] Auamporn Rattanasing[2]**

**Abstract**

Dillenia indica (Matat)) is locally plant in Pathumthani. The fruits are normally used as flavoring agent for curries. Matat plants are used as decoration and locally medicine. The objectives of this research were to analyze the amount of total phenolic and to evaluate antioxidant activities of all crude extracts using DPPH and FRAP assay. Both peel and pulp of fresh and dried Matat were studied. Matat fruits were collected from the village in Pathumthani Province. Fresh Matat fruits were dried at 40-45 $^{O}$C for 48 hours. It was found that the level of moisture from both peels and flesh of fresh Matat were 88.40% and 69.19%, respectively. The percentage yield of crude extracts from dried Matat flesh was the highest (19.06%), whereas the lowest percentage yield of crude extracts was from fresh Matat peels (2.34%). The total phenolic contents of the crude extracts were determined by the Folin–Ciocalteu method using gallic acid as the standard solution. It was found that the level of total phenolic content of crude extracts of both peels and flesh of fresh and dried Matat were 70.91, 10.29, 67.10, and 80.34 mg gallic acid equivalent/ g sample, respectively. The test of antioxidant activities from both peels and flesh of fresh and dried Matat in ethanol via DPPH method was performed. The IC50 values of the fresh and dried Matat peels were obtained at 0.017 mg/ml and 0.26 mg/ml, respectively. By contrast, the IC50 values of the fresh and dried Matat flesh were 0.019 mg/ml and 0.004 mg/ml, respectively. Finally, the IC50 values of the test of antioxidants via FRAP method were 79.634, 0.135, 73.388, and 144.785 mgEqFeSO4 / g sample, respectively. These finding suggest that the extract of dried fruit pulp and friut peels of Matat have high content of phenols and flavonoid may presented the potent antioxidant and anticancer activities. Further study should be determinated.

**Keywords :** *Dillenia indica* (Matat), total phenolic**,** antioxidant, ethanolic extract

*[1] Science Education Teacher, Faculty of Science and Technology Valaya Alongkorn Rajabhat University In the royal patronage Pathum Thani Province*

*[2] Instructor, Naval Air Academy Nawaminthasatthirathirat*

** Co-responding Author e-mail: sita@vru.ac.th*

**บทนำ**

อนุมูลอิสระfree( radical) เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการต่างๆ ภายในเซลล์ เช่นกระบวนการสร้างพลังงานATP() และการเจริญเติบโตของเซลล์ นอกจากนี้ยังเกิดจากการรับสารพิษจากสิ่งแวดล้อม เช่น สารเคมี รังสี หรือยาบางชนิด สารอนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียร ความไวสูง สามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในร่างกายทำให้โครงสร้างการทำงานของเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ ถูกทำลายหรือ เปลี่ยนแปลงไป ทำให้เกิดความเสื่อมของร่างกายและก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่นหลอดเลือดตีบ หัวใจวาย เบาหวานหรือมะเร็ง ในสภาวะปกติร่างกายจะมีกระบวนการควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้มีมากเกินไปโดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระขึ้นมา แต่บางสภาวะถ้าร่างกายมีสารอนุมูลอิสระมากเกินไปหรือกระบวนการควบคุมเสียสมดุล ร่างกายจะอยู่ในภาวะความเครียดจากการออกซิเดชัน (Oxidative stress) เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุลเช่นไขมัน โปรตีน สารพันธุกรรม ทำให้เกิดอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆได้ ดังนั้นร่างกายจึงต้องการสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกหรือธรรมชาติธรรมชาติเช่นจากอาหารจำพวกผัก ผลไม้และสมุนไพร มาช่วยควบคุมหรือกำจัดสารต้านอนุมูลอิสระภายในร่างกาย (อชิดาและคณะ, 2562)

มีงานวิจัยจำนวนมากระบุว่าอาหารจำพวกผัก ผลไม้ และสมุนไพร มีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดเช่น สารประกอบฟินอลิกส์ วิตามินซี วิตามินอี(Rosillo, Alarcon and Sanchez, 2016) กลุ่มสารประกอบฟินอลิกส์ (TP) จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีสารต่างๆ เป็นองค์ประกอบมากเช่ฟลาโวนอยด์ กรดแกลลิก แคโรทีนอยด์ แทนนินและแอนโทไซยานิน เป็นต้น สารเหล่านี้มีส่วนทำให้พืชมีสี ต่างๆกัน นอกจากนี้สารกลุ่มฟินอลิกส์ในธรรมชาติที่พบในพืชจะมีปริมาณแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและส่วนต่างๆ ของพืชด้วย การรับประทานอาหารพวกพืชผัก ผลไม้ ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมาก จะทำให้ร่างกายได้รับสารต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น บรรเทาและช่วยป้องกันอันตรายที่เกิดจากการทำลายเซลล์ของอนุมูลอิสระได้ จึงช่วยป้องโรคต่างๆที่มีสาเหตุจากการทำลายอนุมูลอิสระได้ (นันทิยา, จริญญาพร,ศุภเกต และอัจฉราพร, 2557) และ (Lobo, Phatak, and Chandra, 2010)

มะตาดเป็นไม้ผลมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Dillenia indica ตระกูล Dilleniaceae เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในอินเดีย พม่า และไทย พบได้ทั่วไปในป่าดิบชื้นและริมแม่น้ำลำธาร ในภาคกลาง มีมากที่จังหวัดปทุมธานี และเป็นไม้พื้นบ้านที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะของจังหวัดปทุมธานี เป็นที่รู้จักกันแพร่หลาย โดยเฉพาะในชุมชนชาวไทยเชื้อสายรามัญจะนิยมปลูกต้นมะตาดไว้ในสวนบริเวณบ้านแทบทุกหลัง เพื่อนำผลมะตาดมาประกอบอาหารประจำวัน เช่น แกงส้มมะตาด แกงคั่วมะตาด ใช้เป็นร่มเงาให้ความร่มรื่น เนื่องจากใบมะตาดมีจำนวนมากและมีขนาดใหญ่ นอกจากนี้ยังนิยมปลูกเป็นไม้ประดับเนื่องจากมะตาดมีดอกที่สวยงาม และเส้นใบมีลักษณะเป็นริ้วสวยงาม มะตาดมีประโยชน์มากมาย นอกจากนำมาประกอบ อาหาร เป็นไม้ประดับ ทำเครื่องเรือน เครื่องมือการเกษตรแล้วในตำรายาโบราณได้ระบุสรรพคุณทางยาของ ผลมะตาดว่าผลมะตาดมีรสเปรี้ยว ใช้รับประทานเป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยในการขับถ่าย เมล็ดช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ใบและเปลือกต้นใช้เป็นยาแก้ท้องเสีย นอกจากนี้ชาวอินเดียใช้น้ำคั้นจากใบ เปลือก ต้น และผลมะตาดมาผสมกันแล้วนำมาดื่ม เพื่อใช้รักษาอาการท้องเสียและรักษาโรคมะเร็งSharma;( et al. 2001) และจากการสืบค้นรายงานการวิจัยพบว่า งานวิจัยของ Most และคณะ (2009) ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ของสารสกัดจากส่วนของลำต้นมะตาดที่ปลูกในประเทศบังคลาเทศ พบว่ามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และเชื้อราได้ นอกจากนี้ Arbianti และคณะ (2008) ได้ศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดหยาบจากใบมะตาดที่ปลูกในประเทศอินเดีย ผลการวิจัย พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมะตาดมีสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสำหรับในเมืองไทยจากการศึกษาค้นคว้า ยังไม่พบผู้วิจัยศึกษา

องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ ชีวภาพของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆของมะตาด ทำให้ไม่มีข้อมูลในเชิงวิทยาศาสตร์รับรองเนื่องจากเป็น พืชเฉพาะถิ่นยังไม่มีการศึกษามะตาดปรากฏมากนัก

ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาวิจัยเพื่อหาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเช่นสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟินอลิกที่ได้จากสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเปลือกผลของมะตาด ด้วยการสกัดพืชตัวอย่างด้วยตัวทำละลายเอทานอลซึ่งเป็นพืชพื้นบ้านของจังหวัดปทุมธานีที่ยังไม่ได้รับการส่งเสริมหรือ สนับสนุนให้มีการศึกษาวิจัยถึงฤทธิ์ทางชีวภาพอย่างจริงจัง ผลการวิจัยอาจใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการใช้ ประโยชน์ในด้านต่างๆ หรือนำมาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนามะตาด ให้เป็นผลิตภัณฑ์สุขภาพจำหน่าย เชิงพาณิชย์ต่อไป เช่น สบู่เหลว โลชันจากผลมะตาด และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น แยม หรื สมุนไพร เป็นต้นซึ่งจะเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของมะตาด ผลไม้พื้นเมืองที่เป็นเอกลักษณ์ของจังหวัดปทุมธานีและทำให้ชุมชนมีเศรษฐกิจดีขึ้น

**วัตถุประสงค์ของการวิจัย**

1. วิเคราะห์หาปริมาณTotal phenolic ของสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาด
2. ศึกษาสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay

**วิธีดำเนินการวิจัย**

1. พืชตัวอย่าง

มะตาดที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้จากจังหวัดปทุมธานี ส่วนที่ใช้คือเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดแก่ทั้งแบบสดและอบแห้ง

2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากผลมะตาด

2.1 การเตรียมผลมะตาด

คัดเลือกผลมะตาดสดที่แก่ นำมาล้างด้วยน้ำสะอาดจำนวน 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้ง นำเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆและแยกเป็นสี่กลุ่ม ได้แก่ เนื้อผลมะตาดสด เนื้อผลมะตาดแห้ง เปลือกผลมะตาดสด และเปลือกผลมะตาดแห้ง กลุ่มที่เป็นเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดแห้งทำโดยนำเนื้อผล และเปลือกผลมะตาดสดที่หั่นแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส อบต่อเนื่องจนแห้งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

2.2 การหาค่าความชื้นของเนื้อผลและเปลือกผลมะตาด

ความชื้นของเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดทำโดยชั่งเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดสดจำนวน 200 กรัม ใส่ในถาดอะลูมิเนียมาไปอบที่อุณหภูมิ40-45องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่งน้ำหนักที่หายไปหลังอบ ทำซ้ำ 3 ครั้ง แล้วคำนวณหาร้อยละสารระเหย และปริมาณน้ำในผลมะตาดตัวอย่างจากสูตร

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ})}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} \times 100$$

3. การสกัดพืชตัวอย่าง

สกัดสารสำคัญจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดโดยชั่งเปลือกผล และเนื้อมะตาดสดอย่างละ 2 กิโลกรัม ใส่ในโหลแก้ว แช่ด้วย 95% เอทานอล จำนวน 5 ลิตรและ 3 ลิตร ตามลำดับ ส่วนเปลือก และเนื้อมะตาดแห้งใช้อย่างละ 0.5 กิโลกรัม ใส่ในโหลแช่ด้วย 95% เอทานอล จำนวน 5 ลิตรและ 3 ลิตร ตามลำดับ ปิดปากโหลทั้งสี่ด้วยกระดาษฟอยล์แช่สารตัวอย่างทั้งหมดเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำสารสกัดที่ ได้ในแต่ละโหลมากรองเอากากออกด้วยเครื่อง sunction นำสารสกัดที่ได้ทั้งหมดมาระเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศแบบหมุนที่อุณหภูมิ 40-45องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดหยาบของเนื้อและ เปลือกผลมะตาดทั้งสี่กลุ่มคำนวณหาร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่ได้ทั้งหมด เก็บสารสกัดที่ได้ไว้ในภาชนะ ปิดสนิทและเก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

4. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลเปลือกผลมะตาด

วิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบที่สกัดได้ทั้งสี่กลุ่มโดยใช้วิธี Folin-ciocalteu colorimetric โดยมีกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน โดยการเตรียมสารละลาย มาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 และ 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาเติมน้ำ สารละลายฟอร์ลินและสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แล้วเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ของสารมาตรฐานกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสง จะได้กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม มาชั่งจำนวน 10 มิลลิกรัม และปรับปริมาตรด้วย 99.9% เอทานอล จนได้สารละลาย 5 มิลลิลิตร หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยการนำมาเติมน้ำ สารละลายฟอร์ลิน และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำมาคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะตาดด้วยวิธีDPPH radical scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะตาด ทั้ง 4 กลุ่ม ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay เป็นการศึกษาค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลาย DPPH ซึ่งเป็นสารอนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้ มีสีม่วงเข้ม สามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนหรือสารต้านอนุมูลอิสระแล้ว สารละลาย DPPH จะเกิดเป็นสารประกอบที่เสถียร สีม่วงจะจางลง ซึ่งตรวจสอบได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง วิธีการทดสอบทำโดยเตรียมสารสกัดหยาบมะตาดที่มีความเข้มข้น 100 µg/ml นำมาเจือจางด้วยเอทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 20, 40, 60 และ 80 µg/ml และเตรียมสารละลายมาตรฐาน (Trolox) ที่มีความเข้มข้น 500 µg/ml แล้ว นำมาเจือจางด้วยเอทานอล ให้ได้ความเข้มข้น 31.25, 62.5, 125, 250 และ 500 µg/ml และเตรียมสารละลาย DPPH ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ จากนั้นนำสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร500 ไมโครลิตรมาผสมกับสารละลายDPPH ความเข้มข้น0.1 mM ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและในที่มืดนาน 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสารละลายDPPHที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จะแปรผันตรงกับปริมาณที่เหลือของอนุมูลอิสระ DPPH คำนวณหาค่าร้อยละความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตัวอย่าง เทียบกับความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน Trolox (%inhibition) โดยใช้สูตร

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{control} - \text{sample}}{\text{control}} \times 100$$

ในการรายงานผลจะรายงานค่าเป็น $IC_{50}$ ซึ่งหมายถึง ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดมะตาดที่ทำให้สารละลายDPPH ลดลง 50% โดยตัวเลข $IC_{50}$ ที่มีค่าต่ำ แสดงว่าสารสกัดมะตาดตัวอย่างมีความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะตาดด้วยวิธีFRAP

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ เฟอริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (สารละลายFRAP) เตรียมสารละลาย FRAP โดยใช้ Acetate buffer, TPTZ 10 mM ในสารละลาย HCl เข้มข้น 40 mM และสารละลาย Ferrous chloride 20 mM ในอัตราส่วน 10:1: 1 (v/v) เตรียมสารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออนที่ความเข้มข้น 200,400, 600, 800 และ 1,000 ไมโครโมลาร์จากนั้นนำมาเติมสารละลาย FRAP ที่เตรียมไว้ปริมาตร950 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานเฟอรัสไอออน และค่าการดูดกลืน แสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร จะได้กราฟมาตรฐานเฟอรัสไอออน

เตรียมสารสกัดหยาบมะตาดที่ได้จากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดทั้ง4 กลุ่มให้มีความเข้มข้น2 mg/ml ด้วยตัวทำละลาย99.99 % เอทานอล การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดหยาบจากผลมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม ทำโดยการนำสารละลาย FRAP ปริมาตร 950 ไมโครลิตรเติมสารละลายสารสกัดหยาบจากผลมะตาด จำนวน 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 595 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาปริมาณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากผลมะตาดทั้งสี่กลุ่ม โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ เฟอรัสซัลเฟต รายงานความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูปของ่ FRAP Value ค่า FRAP Value ยิ่งมีค่ามากแสดงว่าสารละลายตัวอย่างมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก

**ผลการวิจัยและอภิปรายผล**

1. ผลการวิเคราะห์หาร้อยละความชื้นของเปลือกผลและเนื้อผลมะตาดสดพบว่าเปลือกมะตาดสดมีร้อยละความชื้นเท่ากับ 88.40 ซึ่งมากกว่าส่วนเนื้อผลมะตาดสดที่มีร้อยละความชื้นเท่ากับ 69.19 สารสกัดหยาบของเปลือกผลและเนื้อผลมะตาดทั้งสดและแห้งทั้งสี่กลุ่มที่เตรียมได้มีลักษณะเป็นของหนืดสีน้ำตาลเข้ม นำมาคำนวณหาร้อยละผลผลิต พบว่า สารสกัดหยาบจากเนื้อผลมะตาดแห้งมี % yield มากที่สุดเท่ากับ 19.06 รองลงมาคือ เนื้อผลมะตาดสด และเปลือกผลมะตาดแห้งมี %yield เท่ากับ 9.40 และ 7.83 ตามลำดับ ส่วนเปลือกผลมะตาดสดมี %yield น้อยที่สุด เท่ากับ 2.34 รายละเอียดดังตารางที่ 1

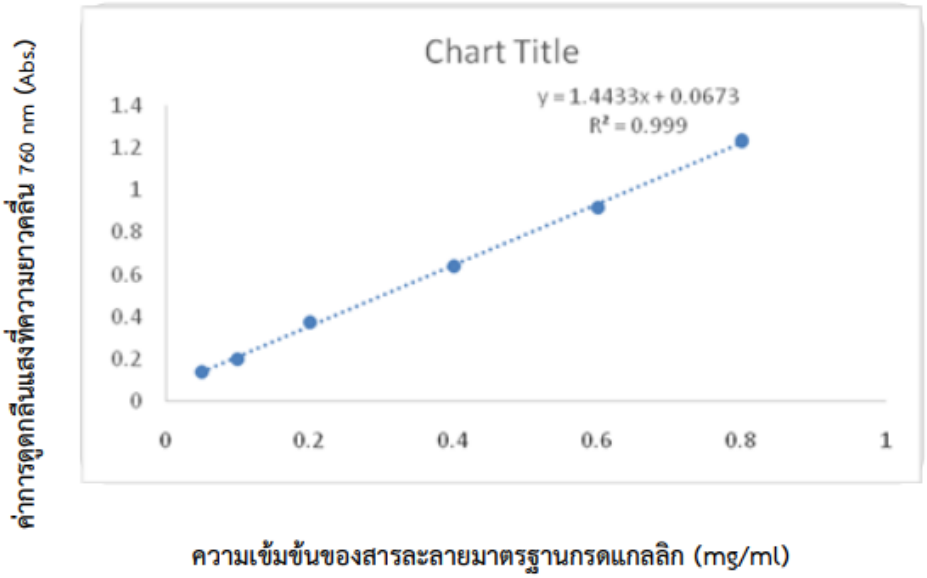
**ตารางที่1** ร้อยละความชื้นและร้อยละผลผลิตของเปลือกผลและเนื้อผลมะตาดทั้งสดและแห้ง

| ชนิดของพืช | ส่วนของพืช | ร้อยละความชื้น (% ความชื้น) | ร้อยละผลผลิต (% yield) |
|---|---|---|---|
| มะตาดสด | เปลือก | 88.40 | 2.34 |
| | เนื้อ | 69.19 | 9.40 |
| มะตาดแห้ง | เปลือก | | 7.83 |
| | เนื้อ | | 19.06 |

2. ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสารสกัดหยาบมะตาดทั้งสี่ กลุ่ม โดยใช้ Folin-ciocalteu colorimetric method วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แสดงในตารางที่ 2 และสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ความเข้มข้นต่างๆ ได้ความสัมพันธ์เป็นกราฟเส้นตรงที่มีสมการ y=1.4433 x คือ + 0.0673 มีค่าR2 เท่ากับ 0.999 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิกและค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร แสดงในภาพที่ 1

**ตารางที่ 2** ค่าการดูดกลืนแสงและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

| ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (mg/mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (abs.) |
|---|---|
| 0.05 | 0.141 |
| 0.1 | 0.200 |
| 0.2 | 0.376 |
| 0.4 | 0.641 |
| 0.6 | 0.97 |
| 0.8 | 1.233 |

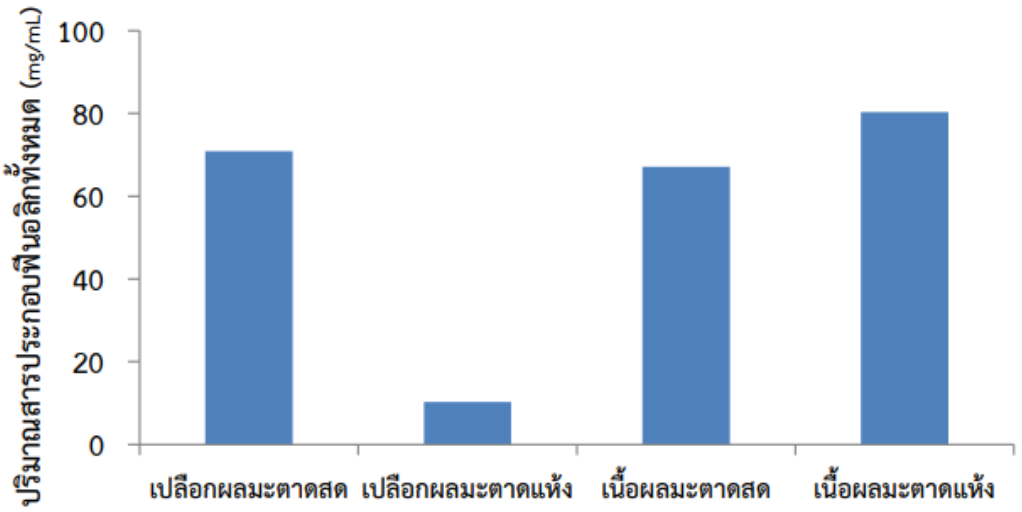



**ภาพที่1** กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

จากการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ผลการวิเคราะห์พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลมะตาดแห้ง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด มากที่สุด คือ เท่ากับ 80.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง สารสกัดหยาบที่สกัดจากเปลือกผลมะตาดสด และเนื้อผลมะตาดสด มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดใกล้เคียงกันคือเท่ากับ 70.91 และ 67.10 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง ส่วนเปลือกผลมะตาดแห้งตามลำดับ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยที่สุดเท่ากับ 10.29 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง รายละเอียดดังตารางที่ 3และภาพที่ 2 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบที่ได้จากผลมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม

**ตารางที่ 3** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธีของสารสกัดหยาบ ที่ได้จากผลมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม

| ส่วนของผลมะตาด | Total phenolic acid (mg of gallic acid /g) | การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ | |
|---|---|---|---|
| | | วิธีDPPH IC50 (mg/ml) | วิธีFRAP (mg of FeSO4 /g) |
| เปลือกสด | 70.91 | 0.017 | 79.634 |
| เปลือกแห้ง | 10.29 | 0.26 | 0.135 |
| เนื้อสด | 67.10 | 0.019 | 73.388 |
| เนื้อแห้ง | 80.34 | 0.004 | 144.785 |



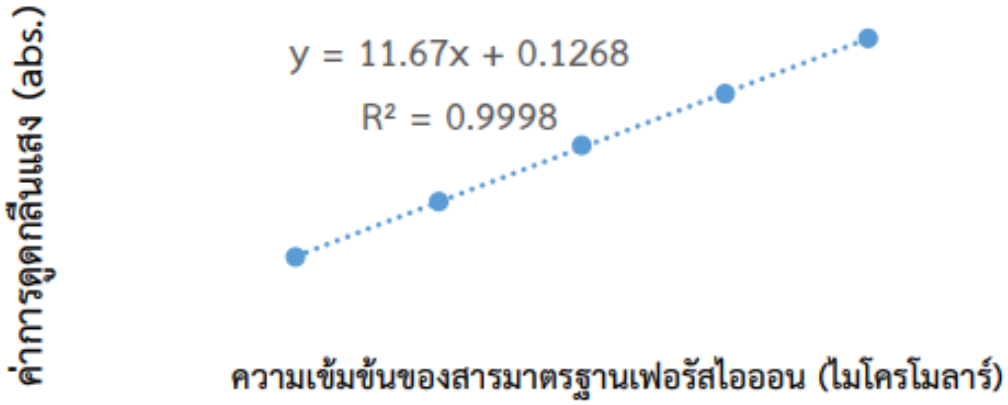

**ภาพที่ 2** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบที่ได้จากผลมะตาดทั้ง4กลุ่ม

3. ผลการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม ด้วยวิธีการ DPPH radical scavenging assay พบว่าสารสกัดจากเนื้อผลมะตาดแห้ง $IC_{50}$ มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 0.004 mg/ml รองมาคือ สารสกัดเปลือกมะตาดสด สารสกัดเนื้อผลมะตาดสด และสารสกัดเปลือกผลมะตาดแห้ง มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ0.017, 0.019 µg/ml และ 0.26 mg/ml ตามลำดับ ส่วนสารมาตรฐาน Trolox มีค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.003 mg/ml แสดงว่าสารสกัดจากเนื้อผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระดีที่สุด ส่วนเปลือกผลแห้งมีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด ส่วนสารสกัดที่ได้จาก สดและเปลือกผลมะตาดสดจะมีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน รายละเอียดดังตารางที่ 3

4. ผลการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จาก เนื้อผลและเปลือกผลมะตาดด้วยวิธี FRAP assay พบว่าค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานเฟอรัส ไอออนมีค่ามากขึ้น เมื่อสารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออนมีความเข้มข้นมากขึ้น รายละเอียดแสดงในตารางที่ 4 สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานเฟอรัสไอออน และค่าการดูดกลืนแสงที่ ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ได้กราฟมาตรฐานเฟอรัสไอออน ที่มีความสัมพันธ์เป็นกราฟเส้นตรงที่มีสมการ คือy = 11.67x + 0.1268 มีค่า $R^2$ เท่ากับ 0.9998 แสดงดังภาพที่ 3

**ตารางที่ 4** ค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออน

| ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเฟอรัสไอออน (mg/mL) | ค่าการดูดกลืนแสง (abs.) |
|---|---|
| 200 | 0.357 |
| 400 | 0.594 |
| 600 | 0.835 |
| 800 | 1.056 |
| 1,000 | 1.293 |




**ภาพที่3** กราฟมาตรฐานเฟอรัสไอออน

ผลการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารละลายสารสกัดหยาบจากผลมะตาดทั้งสี่กลุ่มด้วยวิธีFRAP assay พบว่า เปลือกผลมะตาดสด เปลือกผลมะตาดแห้ง เนื้อผลมะตาดสดและเนื้อ ผลมะตาดแห้ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ79.เท่ากับ634,0.135, 73.388 และ 144.785 มิลลิกรัมสมมูล เฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงในตารางที่3แสดงว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อ ผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รองลงมาเป็นสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมะตาดสด และ สกัดหยาบจากเปลือกผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดจากผลการทดสอบจะเห็นว่ารสกัด หยาบที่ได้จากเนื้อผลมะตาดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมะตาด และถ้า เปรียบเทียบระหว่างสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลสดและผลแห้ง พบว่า สารสกัดหยาบจากเนื้อของผล มะตาดแห้งจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ มากกว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อของผลมะตาดสดส่วน หยาบที่ได้จากเปลือกของผลมะตาดสดจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าสารสกเปลือกของัดหยาบที่ ผลมะตาดแห้ง

**สรุปและอภิปรายผลการวิจัย**

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณTotal phenolic และสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดDPPHด้วยวิธีradical scavenging assay และ FRAP assay ผลการวิจัยพบว่าเปลือกผลมะตาดสดและเนื้อผลมะตาดสดมีปริมาณสารระเหยและปริมาณน้ำ คิดเป็นร้อยละ 88.40 และ 69.19 เมื่อนำสารสกัดหยาบจากมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม มาหาร้อยละ การผลิต (% yield) พบว่าเนื้อผลมะตาดแห้งมี %yield มากที่สุดเท่ากับ 19.06 รองลงมาคือเนื้อผลมะตาด สด และเปลือกผลมะตาดแห้งมี% yield เท่ากับ9.40 และ 7.83 ตามลำดับ ส่วนเปลือกผลมะตาดสดมี %yield น้อยที่สุดเท่ากับ 2.34 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดหยาบที่ ได้จากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดพบว่า สารสกัดหยาบจากเนื้อผลมะตาดแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดเท่ากับ 80.34 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง รองลงมาเป็นเปลือกผล มะตาดสดและเนื้อผลมะตาดสด ส่วนสารสกัดหยาบจากเปลือกผลมะตาดแห้งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดน้อยที่สุด เท่ากับ10.29 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง

ผลการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดทั้งสดและแห้งด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay พบว่า สารสกัดจากเนื้อผลมะตาดแห้ง $IC_{50}$ มีค่าน้อยที่สุด เท่ากับ 0.004 mg/ml ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox (ค่า $IC_{50}$ เท่ากับ 0.003 mg/ml) แสดงว่าสารสกัดจากเนื้อผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน Trolox และดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดมะตาดทั้ง 4 กลุ่ม รองมาคือ สารสกัดจากเปลือกมะตาดสดและสารสกัดจากเนื้อผลมะตาดสดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน มีค่าคือ $IC_{50}$ เท่ากับ 0.017 และ 0.019 µg/ml ตามลำดับ ซึ่งคิดเป็น 5.7 เท่า และ 6.33 เท่า ของสารมาตรฐาน Trolox ตามลำดับซึ่งสอดคล้องกับผลการ ทดลองของ Borah, B และ Bharali, R. (2016) ที่พบว่า สารสกัดจากผลมะตาดสดในประเทศอินเดียมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูง ($IC_{50}$ 46 µg/ml) เมื่อทดสอบด้วยวิธีDPPH radical scavenging assay โดยใช้กรด ascorbic เป็นสารมาตรฐาน (ค่า $IC_{50}$ 41µg/ml) ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกผลมะตาดแห้ง มีค่าIC50 มากที่สุดเท่ากับ0.26 mg/ml ซึ่งคิดเป็น 65ของสารมาตรฐานเท่า Trolox แสดงว่าเปลือก ผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด

สำหรับผลการทดสอบสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบจากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาด ด้วยวิธีFRAP assay ผลการวิจัยพบว่าสรสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกผลมะตาดสด เปลือกผล มะตาดแห้ง เนื้อผลมะตาดสดและเนื้อผลมะตาดแห้ง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAPเท่ากับ79.634, 0.135, 73.388 และ 144.785 มิลลิกรัมสมมูลเฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมตัวอย่าง ในการทดสอบวิธีนี้ถ้าค่า FRAP มากแสดงถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าค่า FRAP ที่ต่ำกว่า ดังนั้นจากผลการวิจัยสารสกัดหยาบจากเนื้อผลมะตาดแห้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด (144.785 มิลลิกรัมสมมูล เฟอรัสซัลเฟตต่อกรัมตัวอย่าง) รองลงมาคือสารสกัดหยาบจากเปลือกผลและเนื้อผลมะตาดสดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงใกล้เคียงกัน ในขณะที่สารสกัดหยาบจากเปลือกผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์หาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลและเปลือกผลมะตาดทั้งสองวิธีจะเห็นว่ามีผลการทดสอบที่เป็นไปในแนวทางเดียวกันคือ สารสกัดหยาบ จากเนื้อผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดและสารสกัดหยาบจากผลมะตาดสดทั้งเปลือกและเนื้อ ผลจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงใกล้เคียงกันนอกจากนี้ยังพบว่าความสามารถในการต้าน อนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อและเปลือกผลมะตาดจะมีความสัมพันธ์ในเชิงตรงกับปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัดหยาบตัวอย่าง นั่นคือสารสกัดจากผลมะตาดส่วนที่มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก

ทั้งหมดมาก จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากเช่นกันส่วนสารสกัดจากผลมะตาดส่วนที่มี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อย จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยด้วย ผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Alabri et.al. (2014); Vaidya et. al. (2014); Tisadondilok S and Senawong T.(2017); Dipal G and Priti M. (2013) และ รัชนี เพ็ชร์ช้าง (2014) ที่พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ทั้งหมดที่พบในสารสกัดหยาบจากพืชจะมีความสัมพันธ์ในเชิงตรงกับปริมาณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า สารสกัดหยาบเอทานอลจากเนื้อมะตาดแห้งและสด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงและค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox ซึ่งเป็นสารบริสุทธิ์ สารสกัดจากมะตาดน่าจะมีประโยชน์ในการเพิ่มความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของร่างกาย อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญและสมบัติทางชีวภาพอื่นๆ ของสารสกัดจากผลมะตาดและส่วนอื่นของต้นมะตาด เพิ่มเติม เช่นสารสกัดจากใบหรือเปลือกต้นมะตาดเพื่อยืนยันผลการศึกษานี้ให้ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

**ข้อเสนอแนะ**

1. ควรมีการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มอื่นเพิ่มเติม เช่น สารกลุ่มสเตอรอยด –เทอร์ปีนส์ และฟลาโวนอยด์ในสารสกัดหยาบที่ได้จากเปลือกผลและเนื้อผลมะตาดแห้ง หรือส่วนอื่นๆ ของมะตาด เช่นใบหรือเปลือกต้น เพื่อศึกษาคุณสมบัติอื่นๆ เพิ่มเติม เช่น สมบัติการต้านมะเร็ง การต้านเชื้อแบคทีเรียและการต้านการอักเสบ เป็นต้น

2. สารสกัดหยาบที่ได้จากเนื้อผลมะตาดแห้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถนำไปพัฒนาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพ หรือใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางหรือผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดได้ เพื่อส่งเสริมปริมาณการบริโภคและสร้างมูลค่าเพิ่มของมะตาด

**กิตติกรรมประกาศ**

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ จังหวัดปทุมธานี

**เอกสารอ้างอิง**

นันทิยา สมภาร จริญญาพร เนาวบุตร ศุภเกต แสนทวีสุข และอัจฉราพร แถวหมอ. (2557). การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผักแพวในหลอดทดลองในร่างกายของหนูแรท. *ธรรมศาสตร์เวชสาร. 14*(1): 60-71.

รัชนี เพ็ชร์ช้าง.(2557). การส่งเสริมสมบัติต้านอนุมูลอิสระปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปลายยอดผักหวานบ้านที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยการฉายรังสียูวีซี. *NaresuanUniversity. Journal: Science and Technology. 22*(2): 116-125.

อชิดาจารุโชติกมล ปวิตรา พูลบุตร คะนึงนิตย์ คาภากุล วราภรณ์ ยุบลพาส ภูริดา นาสิงบุตร กนกนุช จันทะคาม อาภาภิชย์ บัวเขียว เกสราภรณ์ งามญาติและฐิติพร พลศรี. (2562). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำร้อนของยอดอ่อนฟักข้าว.*วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.27*(3): 473-484.

Alabri THA, Musalami AHSA, Hossain MA, Weli AM, and Al-Riyami Q. (2014). Comparative study of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial capacities of fresh and

dry leaves crude plant extracts of Datura metel L. *Journal of King Saud University – Science. 26*(3): 237-243.

Arbianti, R., Utami,T.S., Kurmana, A., & Sinaga, A. (2008). *Comparison of Antioxidant Activity and Total Phenolic Content of Dillenia indica Leaves Extracts Obtained using Various Techniques*.N.P.n.p.

Borah, B and Bharali, R. (2016). In Vitro evaluation of Antioxidant Activities and Chemopreventive Potentioal of Dillena Indica Linn Fruit on DMBA Induced Skin Papillomagenesis in Mice. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 7*(10): 4045-4054.

Dipal Gandhi and Priti Mehta. (2013). Dillenia indica Linn. and Dillenia pentagyna Roxb Pharmacognostic, Phytochemical and Therapeutic aspects. *J App Pharm Sci. 3* (11): 134-142.

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A. and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev. 4*: 118-126.

Most, N. P., Mohammad S. R., Mohammad S. I. and Mohammad, A. R. (2009). Chemical and biological investigations of Dillenia indica Linn. *A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS) Bangladesh J Pharmacol. 4*: 122-125.

Riachi LG, De Maria CAB. (2015). Peppermint antioxidants revisited. *Food Chemistry. 176*:72-81.

Rosillo, M., Alarcon, C. and Sanchez, M. (2016). An update on dietary phenolic compounds in the prevention and management of rheumatoid arthritis, Chem. *Sci. 7*: 2943-2969.

Sharma, H. K., Chhangte, L., & Dolai, A. K. (2001). Traditional medicinal plants in Mizoram, India. *Fitoterapia. 72*: 146-161.

Tisadondilok S, Senawong T. (2017). Antioxidant activities and anticancer screening of ethanolic extracts from Baccaurea macrophylla Muell and Elateriospermum tapos Blume. *Journal of Thai Interdisciplinary Research. 12*(5): 11-18.

Vaidya BN, Brearley TA, Joshee N. (2014). Antioxidant capacity of fresh and dry leaf extracts of sixteen Scutellaria species. *Journal of Medicinally Active Plants. 2*(3): 42-49.

WetWitayaklung, Penpun., Charoenteeraboon, Juree., Limmatvapirat, Chutima., and Phaechamud, Thawatchai. (2012). Antioxidant Activities of some Thai Exotic Fruits Cultivated in Thailand. *Research Journal of Phamaceutical, Biological and Chemical Sciences . 3*(1): 12-21.