การตรวจวิเคราะห์และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี ในผัก ผลไม้ และสมุนไพร

(The Analysis and Relation of Total Antioxidant Activity, Total Phenolic Compounds and Vitamin C in Vegetables, Fruits and Herbs)

นันท์นภัส เติมวงศ์*

*สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

บทคัดย่อ

สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผัก ผลไม้ และ สมุนไพรมีความสัมพันธ์กับการลดปัจจัยเสี่ยงของโรคต่างๆ หลายชนิด วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อตรวจวิเคราะห์และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีในผัก ผลไม้ และสมุนไพร จำนวน 10 ชนิด ผลการวิจัยพบว่าปริมาณสารของตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันระหว่าง 4.4-74.7 FeFmM/gFW (ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP) 0.23-2.5 TEmM/gFW (ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC) 3.4-29.9 GAEmM/gFW (ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก) และ 11.8-108.7 AEACmM/gFW (วิตามินซี) ข่ามีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC และปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ฝักบัวมีวิตามินซีสูงที่สุด บวบมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีน้อยที่สุด เห็ดหูหนูขาวมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยที่สุด จากการหาความสัมพันธ์พบว่าปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์สูงในเชิงบวกกับปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (r = 0.94) ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC (r = 0.83) และวิตามินซี (r = 0.94) ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่ามีความสัมพันธ์สูงในเชิงบวกระหว่างปริมาณ

รวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC (r = 0.83) และวิตามินซี (r = 0.94) ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC มีความสัมพันธ์ในเชิงบวกกับวิตามินซี (r = 0.76)

คำสำคัญ: อนุมูลอิสระ/ สารต้านอนุมูลอิสระ/ สารประกอบฟีนอลิก/ วิตามินซี

Abstract

Natural antioxidants, particularly in vegetables, fruits and herbs are related to reduce risk factors of many diseases. The objectives of this research were to conduct the analysis and relation of total antioxidant activity by the FRAP and TEAC methods, total phenolic compounds and vitamin C in 10 vegetables, fruits and herbs. In this study, the results revealed that the sample contents varied between 4.4-74.7 FeFmM/gFW (FRAP), 0.23-2.5 TEmM/gFW (TEAC), 3.4-29.9 GAEmM/gFW (total phenolic compounds) and 11.8-108.7 AEACmM/gFW (vitamin C). *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz. showed the highest total antioxidant activity by the FRAP and TEAC assays and total phenolic compounds. *Nymphaea lotus* Linn. had the highest vitamin C. *Luffa acutangula* (Linn.) Roxb. had the lowest total antioxidant activity by the TEAC assay, total phenolic compounds and vitamin C. The lowest total antioxidant activity by the FRAP assay was *Tremella fuciformis* Berk. Correlation analysis showed that total phenolic compounds had high positive relationships with total antioxidant activity by the FRAP assay (r = 0.94) total antioxidant activity by the TEAC assay (r = 0.83) and vitamin C (r = 0.94). Total antioxidant activity by the FRAP assay showed high positive relationships between total antioxidant activity by the TEAC assay (0.83) and vitamin C (0.94). Total antioxidant activity by the TEAC assay had a positive relationship with vitamin C (r = 0.76)

Keywords: Free radicals/ antioxidant/ phenolic compounds/ vitamin C

บทนำ

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต โดยมีออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอนเพื่อสร้างสารพลังงานสูง (ATP) ซึ่งในกระบวนการดังกล่าวมักพบว่ามีการปล่อยสารอนุมูลอิสระของออกซิเจนที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเรียกว่า reactive oxygen species (ROS) สารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมออกซิเจน (reactive oxygen species, ROS) และสารก่อปฏิกิริยาที่ประกอบด้วยอะตอมไนโตรเจน (reactive nitrogen species, RNS) ซึ่งเป็นกลุ่มสารที่มีออกซิเจนเป็นองค์ประกอบ บางตัวจัดเป็นอนุมูลอิสระที่มีอิเล็กตรอนไม่ครบคู่ บางตัวไม่ใช่ แต่ทุกตัวมี

ความสามารถหรือมีความว่องไวมากในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ชนิดของสารอนุมูลอิสระที่พบบ่อยเช่นsuperoxide radical ($O_2^{\bullet}$), hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$), peroxyl radical ($ROO^{\bullet}$), hydrogen peroxide (H_2O_2) และ singlet oxygen ($^1O_2$) เป็นต้น อนุมูลอิสระเหล่านี้สามารถผลิตขึ้นเองในร่างกายจากกระบวนการหายใจระดับเซลล์ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในการฆ่าเชื้อโรคของเม็ดเลือดขาวและระบบส่งสัญญาณระหว่างเซลล์ (signal transduction) นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเกิดขึ้นได้จากการได้รับสารพิษจากสิ่งแวดล้อม สารเคมี รังสี ยาบางชนิด อนุมูลอิสระเป็นโมเลกุลที่ไม่คงตัวมีความสามารถหรือความว่องไวมากในการที่จะไปออกซิไดส์สารชีวโมเลกุลต่างๆ ของร่างกายไม่ว่าจะเป็นไขมันโดยเฉพาะอย่างยิ่งโคเลสเตอรอล กรดไขมันไม่อิ่มตัว โปรตีน และสารพันธุกรรมของร่างกาย จึงทำให้โครงสร้างบทบาทการทำงานของสารชีวโมเลกุลนี้มีความผิดปกติไปและสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อเนื่องจากสารชีวโมเลกุลหนึ่งไปยังสารชีวโมเลกุลอื่นจนเกิดอนุพันธ์ใหม่เป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ทำให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ ของเซลล์หรือเนื้อเยื่อตามมา และเซลล์อาจถูกทำลายได้ในที่สุด หากเป็นการทำลายหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างดีเอ็นเอทำให้มีการสร้างยีนที่ผิดปกติจนอาจกลายเป็นเซลล์มะเร็ง (ไกรสิทธิ์ ตันติศิรินทร์, 2538; วาริน แสงกิตติโกมล, 2543; Halliwell and Gutteridge, 1989; Rimm *et al.*, 1996; Steinmetz and Pottor, 1996; Lander, 1997; Lionis *et al.*, 1998; Koksal *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังส่งผลให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ หัวใจวาย ไตวาย เบาหวาน ความชรา ต้อกระจก โรคอัลไซเมอร์ (Armstrong *et al.*, 1984; Knight, 1995; Beckman and Ames, 1998; Lai et.al., 2008) เป็นต้น ในสภาวะปกติร่างกายจะมีกระบวนการควบคุมอนุมูลอิสระไม่ให้มากเกินไป โดยอาศัยสารต้านอนุมูลอิสระหรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) เป็นสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระโดยยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายมนุษย์ สารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้นเองเช่น กลุ่มของเอนไซม์ได้แก่ superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น และกลุ่มโปรตีนที่จับกับโลหะ (metal-binding protein) ได้แก่ ferritin, ceruloplasmin, transferrin (Halliwell and Gutteridge, 1989; Ames *et al.*, 1993; Koksal *et al.*, 2008) หากกระบวนการเหล่านี้ต่ำลงหรือมีภาวะที่ทำให้อนุมูลอิสระสูงขึ้นมากในร่างกาย จะทำให้สมดุลเสียไปเรียกว่าเกิดภาวะความเครียดจากการออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดการทำลายสารชีวโมเลกุล ได้แก่ ไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และสารพันธุกรรม ส่งผลให้เป็นอันตรายต่อเซลล์และเนื้อเยื่อต่างๆ จึงต้องได้รับสารที่ช่วยจัดการกับอนุมูลอิสระเพิ่มเติมจากภายนอกร่างกายเช่น อาหารจำพวกผัก ผลไม้ และสมุนไพร ซึ่งมีสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด เช่น

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และวิตามินซี เป็นต้น (วาริน แสงกิตติโกมล, 2546; Halliwell and Gutteridge, 1989; Middleton *et al.*, 2000; Helmja *et al.*, 2007; Lai *et al.*, 2008) สารประกอบฟีนอลิกพบได้มากตามธรรมชาติและพบได้ในอาหารและเครื่องดื่มที่ได้จากพืชเช่น ผัก ผลไม้ สมุนไพร ธัญพืชต่างๆ ไวน์ เบียร์ ชา กาแฟ เป็นต้น สารประกอบฟีนอลิกมีมากกว่า 8000 ชนิด ซึ่งสารที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ flavonoids, flavones, gallic acid, ellagic acid, lignins, tannins, anthocyanins, carotenoids และอนุพันธ์ของ cinnamic acid (Cowan, 1999; Helmja *et al.*, 2007) สารในกลุ่มนี้เป็นสารที่ให้สีสันแก่พืช ผัก ผลไม้เช่น สารแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ให้สีส้ม เหลืองในแครอท ฟักทอง มะละกอ สาร แอนโทไซยานิน (anthocyanins) พบในผลเชอร์รี่ทำให้มีสีแดง ผลองุ่น และ ดอกอัญชันมีสีม่วง ซึ่งมีประโยชน์ใช้ล่อแมลง นก หรือผึ้งเข้ามาผสมเกสร สารต้านอนุมูลอิสระพวกนี้ทำให้พืชมีภูมิคุ้มกันจากการติดเชื้อต่างๆ และสามารถทนต่อปฏิกิริยา โฟโทไซยานิน (photooxidation) ในการสร้างอาหารได้ (วาริน แสงกิตติโกมล, 2543, 2546; ศรีจันทร์ พรจิ-ราศิลป์, 2546; โอภา วัชระคุปต์, 2549) สารประกอบฟีนอลิกนอกจากจะมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระแล้วยังมีคุณสมบัติอื่นๆ เช่น ช่วยขยายหลอดเลือด ลดการอักเสบ กระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกัน ต้านมะเร็ง ต้านโรคภูมิแพ้ ทำลายเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการกลายพันธุ์ (โอภา วัชระคุปต์, 2549; Shahidi *et al.*, 1992; Kinsella *et al.*, 1993; Chen *et al.*, 1996; Bourgou *et al.*, 2008) สำหรับวิตามินซีหรือกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายน้ำที่สำคัญภายในร่างกาย เนื่องจากร่างกายมนุษย์ไม่สามารถที่จะสร้างวิตามินซีได้ จึงจำเป็นต้องได้จากการรับประทานเข้าไป อาหารที่มีวิตามินซีสูงได้แก่ ผักสด ผลไม้สด โดยเฉพาะพืชสกุลส้ม (Levine *et al.*, 1986; Sies and Stahl, 1995; Levine *et al.*, 1995; Bendich, 1997) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติอื่นๆ เช่น ช่วยลดความดันโลหิต ลดระดับโคเลสเตอรอล ช่วยในการสังเคราะห์คอลลาเจน ต้านมะเร็ง ลดการอักเสบ ลดการเกิดต้อ (ธาดา สืบหลินวงศ์ และนวลทิพย์ กมลวารินทร์, 2542; สมทรง เลขะกุล, 2543; Rath, 1993; Nicolle *et al.*, 2003; Genkinger *et al.*, 2004; Christen *et al.*, 2005; Wannamethee *et al.*, 2006) การได้รับอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระมากทำให้ร่างกายมีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นในกระแสเลือด (Cao *et al.*, 1998) ซึ่งสามารถป้องกันอันตรายที่เกิดจากการทำลายของอนุมูลอิสระได้ จากการวิจัยที่ผ่านมาพบว่าถ้ารับประทานอาหารประเภทผักใบเขียว ผลไม้และสมุนไพรเป็นประจำทำให้ลดปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรค เช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ เบาหวาน โรคมะเร็ง โรคไต โรคข้ออักเสบ โรคอักเสบเรื้อรัง รวมทั้งความแก่ชราได้ (Steinberg, 1991; Ascherio *et al.*,

1992; Block *et al.*, 1992; Ames *et al.*, 1993; Gillman *et al.*, 1995; Middleton *et al.*, 2000; Saleem *et al.*, 2002; Chen *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2007) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์และศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ (total antioxidant activity) ด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และวิตามินซีด้วยวิธี 2,4-dinitrophenyl-hydrazine ในผักผลไม้และสมุนไพร เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกรับประทานผัก ผลไม้ และสมุนไพร เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาทางด้านโภชนาการและประยุกต์ใช้ทางด้านชีวเคมีและเภสัชวิทยาระดับสูงต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

เตรียมผัก ผลไม้ และสมุนไพร จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ บวบ ขิง เห็ดหูหนูดำ เห็ดหูหนูขาว องุ่นดำ ฝักบัว ข่า พริกหยวกแดง พริกหยวกเหลือง พริกหยวกเขียว ชนิดละ 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 100 กรัม จากนั้นนำมาล้างให้สะอาด ทำการสกัดด้วย HCl ร้อยละ 2 ที่ละลายในเมทานอล (methanol) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ดัดแปลงจาก Bonilla *et al.*, 2003) โดยสกัดตัวอย่างละ 3 ครั้ง เมื่อสกัดครบทุกขั้นตอนแล้วให้นำมาวิเคราะห์ทันที โดยทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ 2 วิธี คือ Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC assay) (Re, 1999) ผลที่ได้แสดงค่าในหน่วย TEmM/gFW (Trolox equivalents mmol/g of fresh weight) และ Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) (Benzie and Strain, 1996) ผลที่ได้แสดงค่าในหน่วย FeFmM/gFW (ferrous equivalents mmol/g of fresh weight) ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก (total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu (Piljac *et al.,* 2005) ผลที่ได้แสดงค่าในหน่วย GAEmM/gFW (gallic acid equivalents mmol/g of fresh weight) และตรวจวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีด้วยวิธี 2,4-dinitrophenyl-hydrazine (Roe and Kuether, 1943) ผลที่ได้แสดงค่าในหน่วย AEACmM/gFW (ascorbic acid equivalents antioxidant capacity mmol/g of fresh weight)

ผลการวิจัย

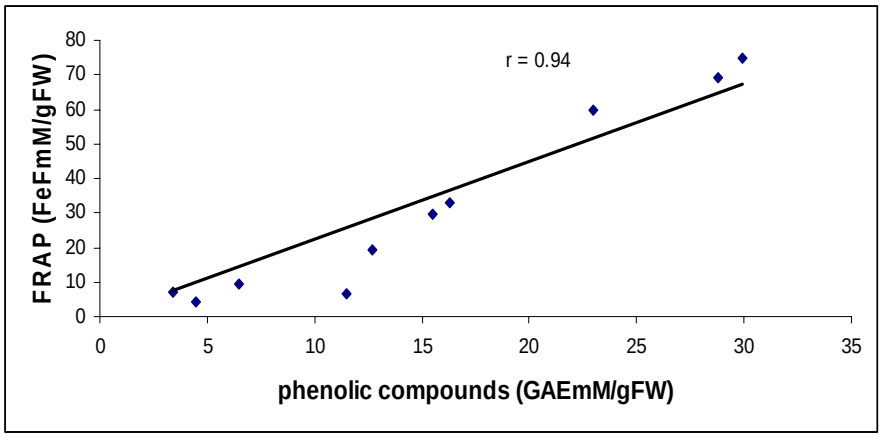
การตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีในผัก ผลไม้ และสมุนไพร จำนวน 10 ชนิด ได้แก่ บวบ ขิง เห็ดหูหนูดำ เห็ดหูหนูขาว องุ่นดำ ฝักบัว ข่า พริกหยวกแดง พริกหยวกเหลือง พริกหยวกเขียว (ตารางที่ 1) พบว่าข่ามีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC และปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดคือ 74.7 FeFmM/gFW, 2.5 TEmM/gFW และ 29.9 GAEmM/gFW ตามลำดับ ฝักบัวมีวิตามินซีสูง

ที่สุดคือ 108.7 AEACmM/gFW บวบมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีน้อยที่สุด คือ และ 0.23 TEmM/gFW, 3.4 GAEmM/gFW และ 11.8 AEACmM/gFW ตามลำดับ เห็ดหูหนูขาวมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีFRAP น้อยที่สุด คือ 4.4 FeFmM/gFW

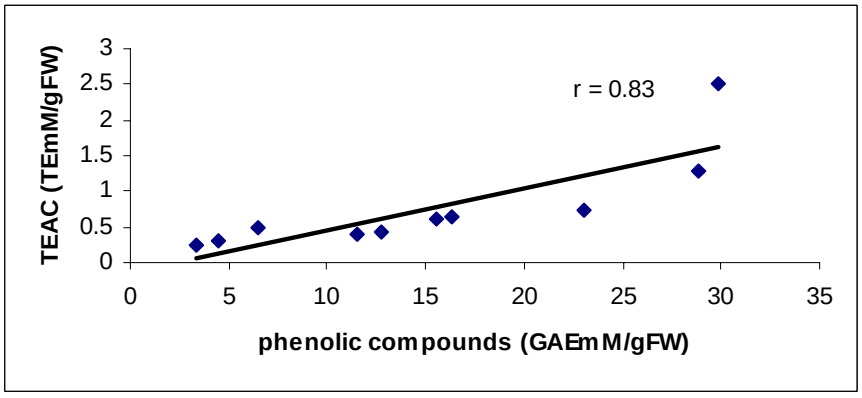
จากการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.94 ดังภาพที่ 1 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.83 ดังภาพที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบ ฟีนอลิกและวิตามินซีพบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.94 ดังภาพที่ 3 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.83 ดังภาพที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และวิตามินซีพบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.94 ดังภาพที่ 5 และเมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC และวิตามินซี พบว่าค่าที่ได้มีความสัมพันธ์กันในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.76 ดังภาพที่ 6

ตารางที่ 1 ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้ และสมุนไพรด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี

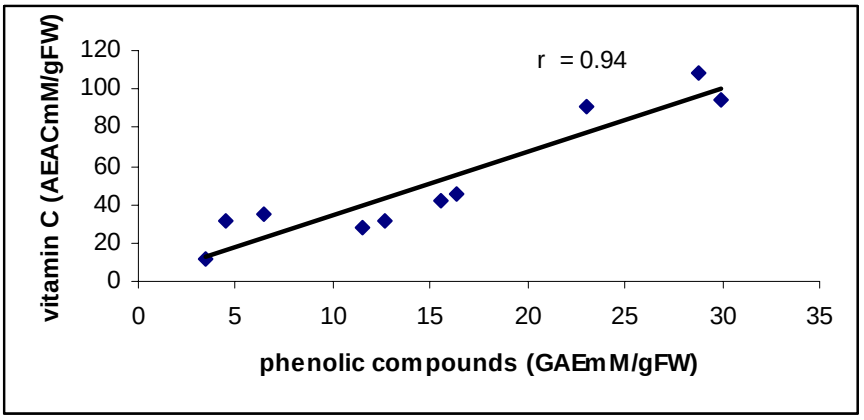
พืช	สารต้านอนุมูลอิสระ FRAP (FeFmM/gFW)	สารต้านอนุมูลอิสระ TEAC (TEmM/gFW)	สารประกอบฟีนอลิก (GAEmM/gFW)	วิตามินซี (AEACmM/gFW)
1. ข่า	74.7	2.5	29.9	93.8
2. ฝักบัว	69.2	1.3	28.8	108.7
3. อุ่นดำ	59.9	0.74	23	91.2
4. ขิง	32.9	0.65	16.3	45.7
5. พริกหยวกเหลือง	29.7	0.6	15.5	41.5
6. พริกหยวกแดง	19.3	0.44	12.7	30.9
7. พริกหยวกเขียว	6.8	0.39	11.5	27.5
8. เห็ดหูหนูดำ	9.3	0.5	6.5	34.6
9. เห็ดหูหนูขาว	4.4	0.32	4.5	31.3
10. บวบ	7.2	0.23	3.4	11.8



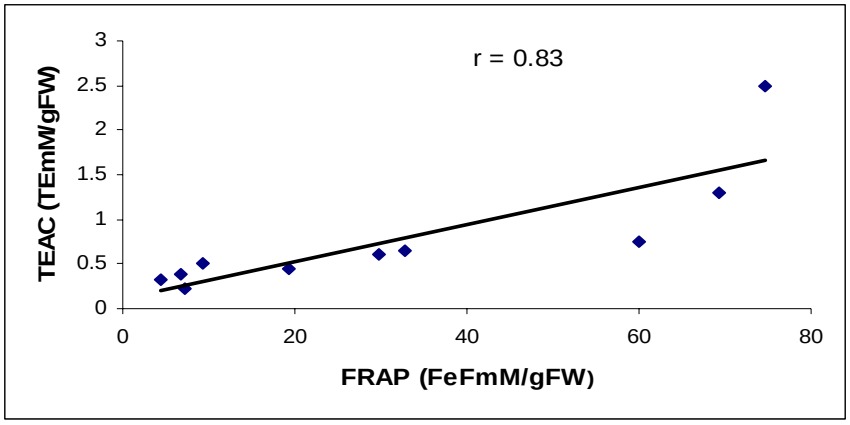
ภาพที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP



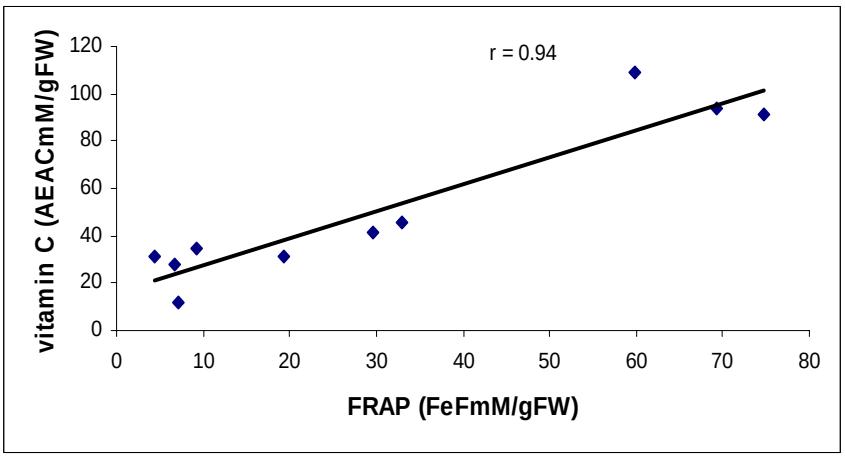
ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC



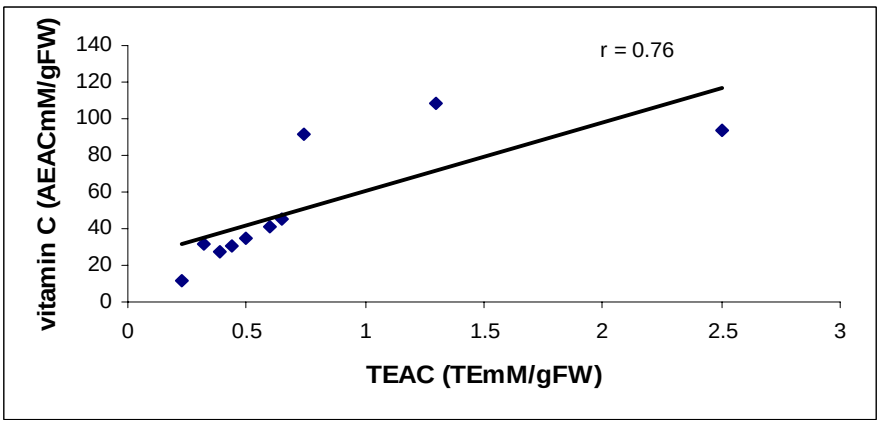
ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซี



ภาพที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC



ภาพที่ 5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และวิตามินซี



ภาพที่ 6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC และวิตามินซี

อภิปรายผล

จากผลการวิจัยเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบ-ฟีนอลิก และวิตามินซีในผัก ผลไม้ และสมุนไพร จำนวน 10 ชนิด พบว่าผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่นำมาศึกษามีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี เป็นองค์ประกอบ แต่มีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอ-ลิก และวิตามินซีที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของผัก ผลไม้ และสมุนไพร ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยที่ผ่านมาของ วาริน แสงกิตติโกมล (2543), นันท์นภัส เติมวงศ์ (2551ก, ข, ค), Kaur and Kapoor (2002), Ou *et al.* (2002), Thaipong *et al.* (2005) และ Helmja *et al.* (2007) โดยมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ระหว่าง 4.4-74.7 FeFmM/gFW มีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีTEAC ระหว่าง 0.23-2.5 TEmM/gFW ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก ระหว่าง 3.4-29.9 GAEmM/gFW และวิตามินซีระหว่าง 11.8-108.7 AEACmM/gFW พบว่าข่ามีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC และปริมาณรวมของสารประกอบ-ฟีนอลิกสูงที่สุด คือ 74.7 FeFmM/gFW, 2.5 TEmM/gFW และ 29.9 GAEmM/gFW ตามลำดับ ฝักบัวมีวิตามินซีสูงที่สุดคือ 108.7 AEACmM/gFW บวบมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีน้อยที่สุด คือ 0.23 TEmM/gFW, 3.4 GAEmM/gFW และ 11.8 AEACmM/gFW ตามลำดับ เห็ดหูหนูขาวมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยที่สุด คือ 4.4 FeFmM/gFW และจากผลการวิจัยของวาริน แสงกิตติโกมล (2546) ซึ่งทำการศึกษาในผัก ผลไม้ และสมุนไพรตากแห้ง แต่จากผลการวิจัยของ นันท์นภัส เติมวงศ์ (2551ก, ค) ซึ่งทำการศึกษาในผัก ผลไม้ และสมุนไพรสดชนิดเดียวกัน พบว่าปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีสูงกว่าผัก ผลไม้และสมุนไพรตากแห้งเป็น 100 เท่า ซึ่งแสดงให้เห็นว่าความสดใหม่ของผัก ผลไม้ และสมุนไพรมีผลต่อปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี นอกจากนี้ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีอาจเกิดจากสถานที่ในการเพาะปลูกที่แตกต่างกัน ความอุดมสมบูรณ์ วิธีการเก็บรักษาพืช รวมถึงวิธีการสกัดและวิธีการวิเคราะห์ซึ่งวิธีการทั้งหมดที่กล่าวมามีผลทำให้ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟี-นอลิก และวิตามินซีในแต่ละพื้นที่แตกต่างกัน (นิธิยา รัตนปนนท์ และดนัย บุญยเกียรติ, 2548)

จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ของปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกกับปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC พบว่ามีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวกมีค่า r เท่ากับ 0.94 และ 0.83 ตามลำดับ

จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAPและวิตามินซีพบว่ามีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก มีค่า r เท่ากับ 0.94 จากการศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC และวิตามินซีพบว่ามีความสัมพันธ์กันในเชิงบวกมีค่า r เท่ากับ 0.76 และจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีพบว่ามีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก โดยมีค่า r = 0.94 จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซี มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระอย่างสูง ฉะนั้นถ้ามีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีสูง ก็มีค่าปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระสูง และถ้ามีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีต่ำก็มีค่าปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระต่ำร่วมด้วย จากผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Kaur and Kapoor (2002) และ Thaipong *et al.* (2005) ที่พบว่าผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่มีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีสูงมักมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระสูงร่วมด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้ และสมุนไพร ด้วยวิธี FRAP และ TEAC มีความสัมพันธ์กันสูงในเชิงบวก r เท่ากับ 0.83 จึงเป็นไปได้ว่าทั้ง 2 วิธี คือ FRAP และ TEAC ซึ่งสามารถที่จะทำหน้าที่ในการต้านออกซิเดชันอาศัยกลไกในการออกฤทธิ์โดยการส่งผ่านอิเล็กตรอนเหมือนกัน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระได้ผลที่สอดคล้องกันไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นสามารถเลือกใช้วิธี FRAP หรือ TEAC วิธีใดวิธีหนึ่งในการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งผลการวิจัยในครั้งนี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ วาริน แสงกิตติโกมล (2546) ช่อเพชร สระทองช่วง (2550) นฤภัทร ฤทธิ์นภา (2550) นันท์นภัส เติมวงศ์ (2551ค) Ou *et al.* (2002) Javanmardi *et al.* (2003) Luximon-Ramma *et al.* (2003) Sangkittikomol (2003) Djeridane *et al.* (2006) Ana *et al.* (2007) ทั้งวิธี FRAP และ TEAC เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากอนุมูลอิสระ ซึ่งเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วภายในเวลา 4-6 นาที วิธี FRAP มีข้อดีคือเป็นวิธีที่ง่ายใช้เวลาน้อย ไม่แพง และไม่ต้องใช้เครื่องมือพิเศษ แต่มีข้อเสียคือกลไกของปฏิกิริยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ไม่เกี่ยวข้องกับกลไกในร่างกาย ส่วนข้อดีของวิธี TEAC คือทำง่าย อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที ปกติจะใช้เวลาประมาณ 5 นาที อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ใช้วิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นสารที่ละลายน้ำหรือสารที่ละลายในไขมัน ส่วนข้อเสียของวิธี TEAC คือ $ABTS^{\bullet+}$ ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือในร่างกายเช่นเดียวกับ Fe^{3+}-TPTZ (โอภา วัชระ-คุปต์, 2549)

สรุปและข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยครั้งนี้ทำให้ทราบถึงปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีในผัก ผลไม้ และสมุนไพร 10 ชนิด โดยผัก ผลไม้ และสมุนไพร แต่ละชนิดมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีแตกต่างกัน โดยพบว่าข่ามีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ TEAC และปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ฝักบัวมีวิตามินซีสูงที่สุด และบวบมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี TEAC ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีน้อยที่สุด เห็ดหูหนูขาวมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยที่สุด

โดยผัก ผลไม้และสมุนไพรที่มีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีสูงมักมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระสูงร่วมด้วยดังเช่น ฝักบัว องุ่นดำ และขิง เป็นต้น ในทางกลับกันผัก ผลไม้ และสมุนไพรที่มีปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินซีน้อยมักมีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระน้อยร่วมด้วยเช่น เห็ดหูหนูดำ เห็ดหูหนูขาว และบวบ เป็นต้น ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบ-ฟีนอลิกและวิตามินซีในผัก ผลไม้และสมุนไพรแต่ละชนิดอยู่กับชนิดของพืช สถานที่เพาะปลูก วิธีการเก็บรักษา ความสด และวิธีการตรวจวิเคราะห์ เป็นต้น ฉะนั้นในขั้นตอนการปรุงอาหารโดยใช้ความร้อนอาจทำให้มีการสูญเสียปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซี โดยเฉพาะวิตามินซีจะสลายตัวได้ง่าย ถูกทำลายได้โดยออกซิเจนในอากาศ ความร้อนและสภาวะด่าง นอกจากนี้ยังพบว่าการตรวจวิเคราะห์ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP หรือ TEAC ได้ผลที่สอดคล้องกันไปในทิศทางเดียวกัน ดังนั้นสามารถเลือกใช้วิธี FRAP หรือ TEAC วิธีใดวิธีหนึ่งในการตรวจวิเคราะห์ได้

ฉะนั้นเมื่อทราบว่าผัก ผลไม้ และสมุนไพรมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นประโยชน์นานาประการต่อร่างกาย ช่วยควบคุมการทำงานในระบบต่าง ๆของร่างกายให้เกิดความสมดุล ช่วยชะลอความเสื่อม ช่วยป้องกันและรักษาโรคเป็นประโยชน์ต่อภูมิต้านทานของร่างกาย มีเส้นใยสูงจึงป้องกันโรคอ้วน เพื่อเป็นประโยชน์ทางด้านโภชนาการจึงควรบริโภคผัก ผลไม้และสมุนไพรที่มีปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก และวิตามินซีสูงหรือบริโภคผักหลากหลายชนิดร่วมกันเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย และถ้าบริโภคผัก ผลไม้และสมุนไพรที่ผ่านการปรุงอาหารแล้วควรบริโภคในปริมาณที่มากขึ้นหรือบริโภคผัก ผลไม้และสมุนไพรที่สดสะอาดเพื่อที่จะได้รับสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้ครบและได้รับคุณค่าทางด้านโภชนาการสูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ไกรสิทธิ์ ตันติศิรินทร์, ประภาศรี ภูวเสถียร และริญ เจริญศิริ. (2538). **โภชนาการและส่งเสริมสุขภาพ.** กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ช่อเพชร สระทองช่วง และอรนาถ สุนทรวัฒน์. (2550).ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากผลพิกุลดิบ. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 38(5): 59-62.

นฤภัทร ฤทธิ์นภา หิรัญรัตน์ สุวรรณนที และอรนาถ สุนทรวัฒน์. (2550). ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดลูกหว้า. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 38(suppl5): 63-65.

นันท์นภัส เติมวงศ์. (2551ก). ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกส์ และวิตามินซีในผักและสมุนไพร.**ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,** 8(1): 41-48.

นันท์นภัส เติมวงศ์. (2551ข). ความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกส์ และวิตามินซีกับความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระในใบบัวบก. **ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,** 8(1): 117-126.

นันท์นภัส เติมวงศ์. (2551ค). ความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกส์กับความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระในพืช. **ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,** 8(2): 114-124.

นิธิยา รัตนปนนท์ และดนัย บุญยเกียรติ. (2548). **การปฏิบัติการภายหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้.** กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

ธาดา สืบหลินวงศ์ และ นวลทิพย์ กมลวารินทร์. (2542). **ชีวเคมีทางการแพทย์.** กรุงเทพมหานคร: จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมทรง เลขะกุล. (2543). **ชีวเคมีของวิตามิน.** กรุงเทพมหานคร: ศุภวนิชการพิมพ์.

วาริน แสงกิตติโกมล. (2543). ปริมาณรวมของสารต้านอนุมูลอิสระในผัก ผลไม้และสมุนไพร. **วารสารสหเวชศาสตร์,** 1(1): 11-18.

วาริน แสงกิตติโกมล. (2546). การเปรียบเทียบปริมาณสารโพลีฟีนอลิกส์และปริมาณรวมการต้านสารอนุมูลอิสระในผักและสมุนไพร. **วารสารสหเวชศาสตร์,** 3(1): 91-99.

ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์. (2546). **ความก้าวหน้าทางเภสัชวิทยา**. กรุงเทพมหานคร: นิวไทยการพิมพ์.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์ และมาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2549). **สารต้านอนุมูลอิสระ.** กรุงเทพมหานคร: พี.เอส.พริ้นท์.

Ames, B. M., Shinena, M. K., and Hagen, T. M. (1993). Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,** 90(17): 7915-22.

Ana, Z., Maria, J. E., Isabel, F., and Ana, F. (2007). Vitamin C, vitamin A, phenolic compounds and total antioxidant capacity of new fruit juice and skim milk mixture beverages marketed in Spain. **Food Chemistry**, 103(4): 1365-1374.

Armstrong, D., Sohal, R. S., and Cuter, R. G. (1984). **Free radical in molecular biology, aging and disease.** New York: Raven Press.

Ascherio, A., Rimm, E. B., Glovannucci, E. L., Colditz, G. A., Rosner, B., Willett, W. C., Sacks and Stampfer, M.J. (1992). A prospective study of nutritional factors and hypertension among US men. **Circulation**, 86(5): 1475-1484.

Beckman, K. B., and Ames, B. N. (1998). The free radical theory of aging matures. **Physiological Reviews**, 78(2): 547-581.

Bendich, A. (1997). **Vitamin C safety in humans. In: Packer, L. and J. Fuchs (Eds.). Vitamin C in Health and Disease,** New York: Marcel Dekker Inc.

Benzie, I. F., and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**, 239(1): 70-76.

Block, G., Patterson, B., and Subar, A. (1992). Fruits vegetables and cancer preventive: a review of the epidemiological evidence. **Nutrition Cancer**, 18(1): 1-29.

Bonilla, E. P., Akoh, C. C., Sellappan, S. and Krewer, G. (2003). Phenolic content and antioxidant capacity of Muscadine Grapes. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 51(18): 5497-5503.

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H. and Marzouk, B. (2008). Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. **Comptes Rendus Biologies**, 331(1): 48-55.

Cao, G., Booth, S. L., Sadowski, J. A. and Prior, R. L. (1998). Increase in human plasma antioxidant capacity after consumption of controlled diets high in fruit and vegetables. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 68(5): 1081-1087.

Chen, Z. Y. and Chan, P. T. (1996). Antioxidation activity of green tea catechins in canola oil. **Chemistry and Physics of Lipids**, 82(2): 163-172.

L-K., Hsu, J-D., Huang, H-P., Yang, M-Y., and Wang, C-J. (2005). Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Food Chemistry**, 91(4): 601-607.

Christen, W. G., Liu, S., Schaumberg, D. A. and Buring, J. E. (2005). Fruit and vegetable intake and the risk of cataract in women. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 81(6) : 1417-1422.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicroagents. **Clinical Microbiology**, 12(4): 564-582.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P. and

Genkinger, M. J., Platz, E. A., Hoffman, S. C., Comstock, G. W. and Helzlsouer**,** K. J. (2004). Fruit, vegetable, and antioxidant intake and all-cause, can**c**er, and cardiovas**c**ular disease mortality in a community dwelling population in Washington Country, Maryland. **American Journal of Epidemiology**, 160(12): 1223-1233.

Gillman, M. W., Cupples, L. A., Gagnon, D., Posner, B. M., Ellison, R. C., Castelli, W. P. and Wolf, P. A. (1995). Protective effect of fruits and vegetables on development of stroke in men. **The Journal of the American Medical Association**, 273(14):113-117.

Halliwel, B. and Gutteridge, J. M. C. (1989). **Free radicals in biology and medicine.** 2nd ed. USA: Oxford Clarendon Press.

Helmja, K., Vaher, M., Gorbatsova, J., and Kaljurand, M. (2007). Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis**. Proceedings of the Estonian Academy of Sciences. Chemistry**, 56(4): 172-186.

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Lock, E. and Vivanco, J. M. (2003). Antioxidant activity and total phenolics content of Iranian *Ocimum* accessions. **Food Chemistry**, 83(4): 547-550.

Kaur, C. and Kapoor, H.C. (2002). Antioxidant activity and total phenolic content of some asian vegetables. **International Journal of Food Science and Technology**, 37(2): 153-161.

Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B. and Kanner, J.(1993). Possible mechanism for the protection role of antioxidants in wine and plant food. **Food Technology**, 47(4): 85-89.

Knight, J.A. (1995). The process and theories of aging. **Annals of Clinical Laboratory Science,** 25(1): 1-12.

Koksal, E., Gulcin, I. (2008). Antioxidant activity of cauliflower (*Brassica oleracea* L.). **The Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, 32: 65-78.

Lander, H. M. (1997). An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. **The Journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, 11(2): 118-124.

Lai, Y-J., Chen, J-N., and Wu J. S-B. (2008). Antibacterial activity and antioxidant properties of water extract from the residue of Jelly fig (*Ficus awkeotsang* Makino)Achenes. **Journal of Food and Drug Analysis**, 16(3): 31-38.

Levine, M. (1986). New concepts in the biology and biochemisty of ascorbic acid. **New England Journal of Medicine**, 314(14): 892-902.

Levine, M., Dhariwal, K. R., Welch, R. W., Wang, Y. and Park, J. B. (1995). Determination of optimal vitamin C requirements in humans. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 62(6): 1347S- 1356S.

Lin, J-Y., and Tang, C-Y. (2007). Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. **Food Chemistry**, 101(1): 140-147.

Lionis, C., Faresjo, A., Skoula, M., Kapsokefalou, M. and Faresjo, T. (1998). Antioxidant effects of herbs in Crete. **The lancet**, 352(9145): 1987-1988.

Luximon-Ramma, A., Bahorun, T. and Crozier, A. (2003). Antioxidant actions and phenolic and vitamin C contents of common Mauritian exotic fruits. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, 83(5): 496-502.

Middleton, E., Jr., Kandaswami, C., and Theoharides, T.H. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. **Pharmacological Reviews**, 52(4): 673-751.

Nicolle, C., Cardinault, N., Gueux, E., Jaffrelo, L., Rock, E., Mazur, A., Amouroux, P. and Rémésy, C. (2003). Health effect of vegetable

based diet: lettuce consumption improves cholesterol metabolism and antioxidant status in the rat. **Clinical Nutrition**, 23(4): 605 – 614.

Ou, B., Huang, D., Woodill, M. H., Flanagan, J. A. and Deemer, E. K. (2002). Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural Food Chemistry**, 50(11): 3122-3128.

Piljac, J., Martinez, S., Valek, L. and Ganic, K.K. (2005). A comparison of methods used to define the phenolic content and antioxidant activity of Croatian wines. **Food Technology and Biotechnology**, 43(3): 271-276.

Rath, M. (1993). **Eradicating Heart Disease**, San Francisco: Health Now.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine**, 26(9-10): 1231-1237.

Rimm, E. B., Ascherio, A., Giovannucci, E., Spiegelman, D., Stampfer, M. J. and Willett, W. C. (1996). Vegetable, fruit and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. **The Journal of the American Medical Association**, 275(6): 447-451.

Roe, J. H. and Kuether, C. A. (1943). The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. **The Journal of Biological Chemistry**, 147: 399-407.

Saleem, A., Husheem, M., Harkonen, P. and Pihlaja, K. (2002). Inhibition of cancer cell growth by crude extract and the phenolics of *Terminalia chebula* retz. Fruit. **Journal of Ethnopharmacology**, 81(3): 327-336.

Sangkittikomol, W. (2003). Comparison of antioxidant activites and total phenolics in tea extracts. **Journal of Allied Health Sciences**, 3(1): 100-108.

Shahidi, F. and Wanasundara, P. K. J. (1992). Phenolic antioxidant. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 32(1): 67-103.

Sies, H. and Stahl, W. (1995). Vitamins E and C, beta-carotene, and other carotenoids as antioxidants. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 62(6): 1315S- 1321S.

Steinberg, D. (1991). Antioxidants and atherosclerosis: a current assessment. **Circulation**, 84(3): 1420-1425.

Steinmetz, K. A. and Pottor, J. D. (1996). Vegetable, fruit and cancer prevention: a review. **Journal of the American Dietetic Association**, 96(10): 1027-1039.

Thaipong, K., Boonprakob, U., Zevallos, L. S. and Byrne, D. H. (2005). Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of guava fruits. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health**, 36 (suppl4): 254-257.

Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. **Food Chemistry**, 97(4): 654-660.

Wannamethee, S. G., Lowe, G. D., Rumley, A., Bruckdorfer, K. P. and Whincup, P. H. (2006). Associations of vitamin C status, fruit and vegetable intakes and markers of inflammation and hemostasis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 83(3): 567-574.

Zhang, Y., Vareed, S. K., and Nair, M. G. (2005). Human tumor cell growth inhibition by nontoxic anthocyani dins, the pigments in fruits and vegetables. **Life Sciences**, 76(13): 1465-1472.