การตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบมะขาม ที่ปลูกในประเทศไทย

ศุภรัตน์ ดวนใหญ่[1,*] เพชรน้ำผึ้ง รอดโพธิ์[2] อัจฉรา แก้วน้อย[1]
อรุณรัตน์ แซ่อู้[2] วิชุดา ฉันวิจิตร[2]
วิภารัตน์ ปัตถานะ[2] นุชบา สุวรรณโคตร[2]

[1]สาขาวิชาเภสัชกรรมไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพ ฯ
[2]สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพ ฯ
Corresponding author e-mail: suppharat.du@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteu และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radial scavenging capacity assay (DPPH) การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบมะขามไทย (*Tamarindusindica* Linn.) ที่เก็บจาก 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดสุพรรณบุรี และกรุงเทพมหานคร นำมาสกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซีเตท พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะขามแสดงผลการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดเอทิลอะซีเตท โดยสารสกัดเอทานอลมีค่าการต้านอนุมูลอิสระของใบมะขามจากจังหวัดนครสวรรค์สูงที่สุด มีค่า IC_{50} = 79.439 ppm และสารสกัดเอทานอลของใบมะขามจากกรุงเทพมหานคร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด เท่ากับ 178.34 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารสกัด เมื่อตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ในสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทย ไม่พบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ ซาโปนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ส่วนสารสกัดเอทิลอะซีเตท ไม่พบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ และแอนทราควิโนน

คำสำคัญ : การต้านอนุมูลอิสระ/ มะขามไทย/ สารประกอบฟีโนลิก

The Phytochemical Screening, Antioxidant Activity and Total Phenolic Compounds of Extracts of *Tamarindus indica* Linn Leaves Cultivated in Thailand

Supharat Duanyai[1,*] Petnumpung Rodpo[2] Atchara Kaewnoi[1]
Arunrat Saeou[2] Wichuda Chanwijit[2]
Wiparat Patthana[2] Nuchaba Sunwannakotr[2]

[1]Thai Traditional Pharmacy Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok
[2]Thai Traditional medicine Program, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok
Corresponding author e-mail: suppharat.du@gmail.com

Abstract

This study aimed to determine the phenolic compounds by Folin-Ciocalteu method and the antioxidant activity by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging capacity (DPPH) method. The phytochemical screening was analyzed in the ethanolic and ethyl acetate extracts of leaves of *Tamarindusindica* Linn. harvesting in 5 provinces of Thailand; Sisaket, Phetchaburi, Nakhonsawan, Suphanburi and Bangkok. The results showed the ethanolic extracts of *Tamarindusindica* Linn. Leaves contained higher antioxidant activity and total phenolic compounds than the ethyl acetate extracts. The ethanolic extract of *Tamarindusindica* Linn. From Nakhonsawan showed the highest antioxidant activity of IC_{50} of 16.664. The phenolic compound content of the ethanolic extract of *Tamarindusindica* Linn. from Bangkok was 178.34 mgGAE/g. The phytochemical screening of the ethanolic extracts did not contain alkaloids, saponin and cardiac glycosides, whereas the ethyl acetate extracts did not contain alkaloids, cardiac glycosides and anthraquinones.

Keywords: antioxidant/ phenolic compounds/ *Tamarindus indica* Linn.

บทนำ

มะขามไทย (*Tamarindus indica* Linn.) เป็นสมุนไพรในวงศ์ Leguminosae (Fabaceae) จัดเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย และมีบทบาทในด้านการแพทย์แผนไทยและแพทย์ทางเลือก จากข้อมูลบัญชียาสมุนไพรที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิม ตามประกาศคณะกรรมการแห่งชาติด้านยา (ฉบับที่ 4) มีการใช้ใบมะขามร่วมกับสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ในตำรับยา 2 ตำรับ คือยาถ่ายดีเกลือฝรั่ง และลูกประคบสมุนไพรบัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 4) พ.ศ.2554 จากข้อมูลคัมภีร์เภสัชรัตนโกสินทร์ได้กล่าวถึงสรรพคุณทางยาไทยไว้ดังนี้ มะขามมีรสเปรี้ยว ช่วยขับเสมหะฟอกโลหิต เป็นยาระบาย แก้บิด แก้ไอ ขับเลือด และลมในลำไส้ เป็นต้น (วุฒิ, 2550) นอกจากนี้ใบมะขามสดสามารถต้มอาบน้ำได้ โดยเอาใบมะขามสดที่เป็นใบแก่มาต้มกับน้ำที่เป็นสมุนไพรอื่น ๆ หรือไพล และเครื่องยาอื่นที่เป็นส่วนประกอบของยาลูกประคบสมุนไพรที่มีข้อบ่งใช้ คือประคบเพื่อลดอาการปวด ช่วยคลายกล้ามเนื้อ เอ็น และข้อ (คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ, 2554) นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางชีวภาพ และกลุ่มสารสำคัญที่พบในส่วนต่าง ๆ ของมะขาม เช่น จากรายงานการวิจัยของ Padalia *et al*. (2015) พบสารสกัดจากใบมะขามมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย สารสกัดเอทานอลจากใบมะขามสด ใบมะขามแห้งและน้ำมันหอมระเหยจากใบมะขามสามารถยับยั้งเชื้อ *Bacillus subtilis, Enterococcus faecalis, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Salmonella typhimurium, Pseudomonas aeruginosa* และ *Candida albicans* (Escalona-Arranz *et al*., 2010) สารสกัดเมทานอลของใบและเมล็ดมะขามแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตท และสารสกัดเฮกเซน สารสกัดเมทานอลของใบมะขามยังพบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดซึ่งมีปริมาณอยู่ในช่วง 3.17 ถึง 309 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารตัวอย่าง (*Razali et al*., 2012) นอกจากนี้สารสกัดอะซิโตนของใบมะขามยังพบกลุ่มสารแทนนิน ฟลาโวนอยด์ สเตอยรอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ (Padalia *et al*.,2015) สารแทนนิน ฟลาโวนอยด์จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี (Antioxidant) (ดลฤดีและ นพรัตน์, 2557) สารสกัดจากเปลือกหุ้มเมล็ดมะขามเปรี้ยวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 41.01±4.92 และมีปริมาณฟีนอลอยู่ในช่วง 0.233±0.001 ไมโครกรัม (Sittikijyothin & Cherdwongcharoensuk, 2011) ยังพบว่าสารสกัดจากเมล็ดมะขามมีสารฟีนอลิกที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นองค์ประกอบ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสาร Procyanidin ได้แก่ สาร Oligomeric procyanidin tetramer procyanidin hexamer procyanidin trimer procyanidin pentamer

procyanidin B_2 และ (–)-epicatechin (Sudjaroen *et al*., 2005) จากงานวิจัยของสารสกัดมะขามนั้นส่วนใหญ่จะเป็นการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด และเมล็ดของมะขาม แต่การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในส่วนของใบมะขามนั้นยังมีไม่มากนัก และยังไม่มีการศึกษาสารสกัดใบมะขามไทยที่ปลูกในท้องถิ่นที่ต่างกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะขามไทย เพื่อจะได้เป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะเป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยและพัฒนาต่อไป โดยผู้วิจัยได้นำตัวอย่างพืชสมุนไพรใบมะขามไทยที่เก็บจากพื้นที่ 5 จังหวัดของประเทศไทย คือ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดสุพรรณบุรี และกรุงเทพมหานคร นำมาตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะขามไทย และตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบมะขามไทย

วัตถุประสงค์ในการวิจัย

เพื่อตรวจสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของสารสกัดใบมะขามไทย

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การตรียมผงสมุนไพรใบมะขาม เก็บตัวอย่างพืชสมุนไพรใบมะขามไทย ในเขตพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดสุพรรณบุรี และกรุงเทพมหานคร แล้วนำพืชสมุนไพรใบมะขามไทยมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นแล้วผึ่งให้แห้ง จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อบจนแห้งแล้วนำมาคัดแยกเอาเฉพาะส่วนใบแล้วนำใบมะขามมาบดให้ละเอียด จากนั้นแร่งด้วยตะแกรงร่อน (Sieve) ขนาด 60 ไมครอน

2. การเตรียมการสกัดสมุนไพรใบมะขามไทย นำผงสมุนไพรใบมะขามไทยทั้ง 5 จังหวัด มาชั่งน้ำหนักให้ได้ 200 กรัม และบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นนำมาสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) โดยสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol) และตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate) อย่างละ 800 มิลลิลิตร เขย่าเป็นระยะ ๆ ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมากรองและนำสารสกัดที่กรองได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศแบบหมุน (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสำหรับใช้ในการวิเคราะห์ในลำดับต่อไป

3. การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะขามไทย โดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radial scavenging capacity assay (DPPH assay)

เตรียมสารละลาย Methanolic DPPH radical ให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และเตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้น (Stock solution) ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm โดยชั่งสารสกัดใบมะขามไทยมา 0.01 กรัม ละลายในเมทานอล (Methanol) 10 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางสารละลายให้มีความเข้มข้นในช่วง 200-1,000 ppm และเติม DPPH ลงไปในสารละลายแต่ละความเข้มข้น 9 มิลลิลิตร ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 วิธีการเตรียมตัวอย่างสารสกัดใบมะขามไทยที่ใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

Conc. (ppm)	Sample (มิลลิลิตร)	MeOH (มิลลิลิตร)	DPPH (มิลลิลิตร)
200	0.2	0.8	9
400	0.4	0.6	9
600	0.6	0.4	9
800	0.8	0.2	9
1000	1	-	9

เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่อง UV-VIS spectroprotometer ทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง สำหรับสารมาตรฐานวิตามินซีทำการทดสอบเหมือนกับการทดสอบตัวอย่าง นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% radical scavenging) ของสารสกัดตัวอย่างและสารมาตรฐานวิตามินซีได้จากสมการ

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

เมื่อ A_{sample} คือ ค่า Absorbance ที่วัดได้ของสารละลายที่ผสมกับ DPPH แล้ว

$A_{control}$ คือ ค่า Absorbance ที่วัดได้ของ DPPH และตัวทำละลายที่ใช้

4. การตรวจสอบหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Phenolic compound) ของสารสกัดใบมะขามไทย โดยวิธี Folin reagent method

การเตรียมตัวอย่างของสารสกัดสมุนไพร โดยนำสารสกัดหยาบมาเตรียมให้ได้ความเข้มข้นที่ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจากนั้นดูดสารละลายตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7% Na_2CO_3) 4 มิลลิลิตร และเติม Folin-Ciocalteu reagent 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS spectroprotometer ทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงไปเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) โดยสารมาตรฐานกรดแกลลิกใช้ความเข้มข้นที่ 0.06, 0.08, 0.10, 0.12, 0.16 และ 0.18 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ขั้นตอนการทดสอบเหมือนกับการทดสอบตัวอย่าง จากนั้นนำค่าที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง และความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

5. การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบมะขามไทย

การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 กลุ่ม ได้แก่ แอนทราควิโนน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน แอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ของสารสกัดเอทิลอะซิเตท และสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทย ตรวจสอบโดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน (Usman, 2009; ศรินรัตน์ และคณะ, 2013) ดังนี้

5.1 การตรวจสอบสารฟลาโวนอยด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายสารสกัดด้วยสารละลายร้อยละ 50 ของเอทานอลปริมาตร 3 มิลลิลิตร ใส่ลวดแมกนีเซียมชิ้นเล็ก ๆ ลงไป 2-3 ชิ้น นำไปต้มจากนั้นหยดกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น หากสารละลายมีการเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลือง ส้ม หรือแดง แสดงว่าพบสารฟลาโวนอยด์

5.2 การตรวจสอบสารแทนนิน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ กรอง จากนั้นหยดสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 2-3 หยด ลงไปในสารละลาย หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำ แสดงว่าพบสารแทนนิน

5.3 การตรวจสอบสารซาโปนิน ใช้การทดสอบฟอง โดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มให้เดือด กรอง นำสารละลายที่ผ่านการกรอง (Filtrate) มาเติมน้ำกลั่น 2-3 มิลลิลิตร เขย่าอย่างแรง จะเกิดฟองรูปหกเหลี่ยมลักษณะคล้ายรังผึ้ง และเมื่อตั้งทิ้ง

ไว้ฟองจะคงตัวอยู่ประมาณ 30 นาที แสดงว่าพบสารซาโปนิน

5.4 การตรวจสอบสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แบ่งการทดสอบออกเป็น 3 ส่วน ตามโครงสร้างพื้นฐานของสารคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ โดยการทดสอบปฏิกิริยาการเกิดสีนั้นต้องให้ผลการทดสอบทั้งสามส่วน ดังนี้คือส่วนสเตอรอยด์ ส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัว และส่วนน้ำตาลดีออกซี การทดสอบทำได้ดังนี้ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยร้อยละ 80 ของเอทานอล 5 มิลลิลิตร สกัดสีออกด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ 2-3 ครั้ง ๆ ละ 3 มิลลิลิตร ในกรวยแยก สารจะแยกออกเป็น 2 ชั้น ให้เก็บชั้นเอทานอลมาใช้ในการทดสอบ โดยแบ่งใส่หลอดทดลองจำนวน 3 หลอด โดยหลอดที่ 1 ใช้ทดสอบส่วนของสเตอรอยด์ด้วยวิธีลีเบอร์แมน (Liebermann test) โดยเติมกรดแกลเชียลแอซีติก 3 หยด และกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 3 หยด ถ้าปรากฏสีน้ำเงินหรือน้ำเงินเขียวแสดงว่าพบสารสเตอรอยด์ หลอดที่ 2 ทดสอบส่วนวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัวด้วยน้ำยาเคดเด (Kedde reagent) จำนวน 0.5 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1 โมลต่อลิตร จำนวน 4 หยด สังเกตสารละลายจะให้สีม่วง แสดงว่ามีวงแหวนแล็กโทนไม่อิ่มตัว และหลอดที่ 3 ทดสอบส่วนน้ำตาลดีออกซีด้วยการทดสอบของเคลเลอร์-คิเลียนิ (Keller-Kiliani test) โดยการเติมสารละลายร้อยละ 1 ของเฟอริกคลอไรด์ จำนวน 5 หยด เขย่า แล้วเติมกรดแกลเชียลแอซีติก จำนวน 5 หยด เขย่า และค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ถ้าปรากฏวงแหวนสีน้ำตาลตรงรอยต่อระหว่างสารสกัดกับกรดซัลฟิวริก แสดงว่าพบน้ำตาลดีออกซี

5.5 การตรวจสอบสารแอนทราควิโนน ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม เติมสารละลายร้อยละ 10 ของกรดซัลฟิวริก 10 มิลลิลิตร นำไปอุ่นบนเครื่องอังน้ำ (Water bath) 5 นาที กรอง แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นสกัดด้วยคลอโรฟอร์มโดยใช้กรวยแยก สารจะแยกออกเป็น 2 ชั้น ให้แยกเก็บชั้นคลอโรฟอร์มมาเติมสารละลายร้อยละ 10 ของแอมโมเนีย 2-3 หยด หากปรากฏสีชมพูแดงแสดงว่าพบสารแอนทราควิโนน

5.6 การตรวจสอบสารแอลคาลอยด์ ชั่งสารสกัด 0.2 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก 15 มิลลิลิตร นำไปอุ่น 2-3 นาที กรอง นำของเหลวที่ได้ ไปหยดน้ำยาดราเจนดอร์ฟ (Dragendorff's reagent) หากปรากฏตะกอนสีส้มแดงแสดงว่าพบสารแอลคาลอยด์

5.7 การตรวจสอบสารเทอร์พีนอยด์ ใช้วิธีของซาลโควสกี (Salkowski test) ในการทดสอบ โดยชั่งสารสกัด 0.2 กรัม สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ ครั้งละ 3-5 มิลลิลิตร 2-3 ครั้ง ในกรวยแยก เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่า ปล่อยทิ้งไว้สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น ให้แยกเก็บชั้นคลอโรฟอร์มมาทำการทดสอบ โดยค่อย ๆ เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นลงไปหากปรากฏสี

น้ำตาลแดงระหว่างรอยต่อของสารละลาย แสดงว่าพบสารเทอร์พีนอยด์

ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ และองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น ในใบมะขามไทยที่เก็บจากพื้นที่ 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี กรุงเทพมหานคร จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรี แสดงผลดังรายละเอียดต่อไปนี้

ผลการสกัดสารจากใบมะขามไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เอทานอล และเอทิลอะซิเตท สกัดด้วยวิธี Maceration พบว่าปริมาณร้อยละของสารสกัดมีปริมาณใกล้เคียงกัน ดังตารางที่ 2

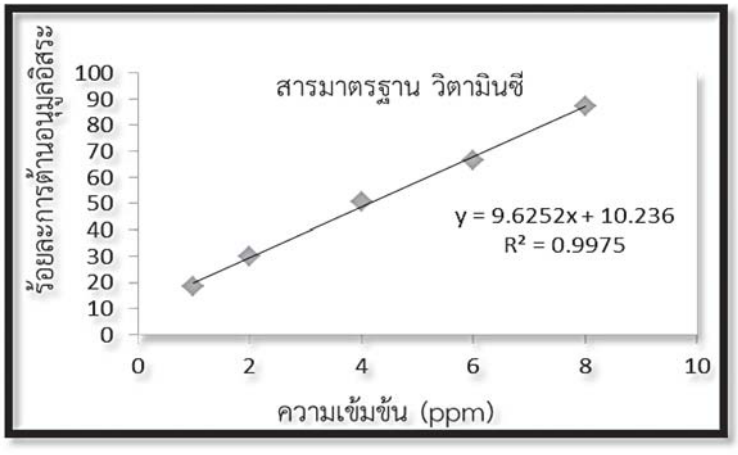
ผลการทดสอบร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเอทานอลและสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm และค่าความเข้มข้นที่สามารถลดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ50 (IC_{50}) พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตท โดยสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยจังหวัดนครสวรรค์มีค่ามากที่สุด คือมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 91.081±0.013 (IC_{50}=79.439 ppm) รองลงมาคือ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดศรีสะเกษ

ตารางที่ 2 ผลการสกัดสารจากใบมะขามไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเอทิลอะซิเตท

ตัวอย่าง	ลักษณะของสารสกัด		ร้อยละของผลผลิต	
	ตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol)	ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate)	ตัวทำละลายเอทานอล (Ethanol)	ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate)
ศรีษะเกษ	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	75.73	79.92
เพชรบุรี	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	77.75	78.81
กรุงเทพ ฯ	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	82.71	79.84
นครสวรรค์	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	80.53	88.11
สุพรรณบุรี	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	สีเขียวเข้ม ลักษณะเป็นของเหลวหนืด	87.77	87.17

ตารางที่ 3 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดใบมะขามไทย ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ค่าความเข้มข้นที่สามารถลดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ50 (IC_{50}) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตท

sample	สารสกัดเอทานอล			สารสกัดเอทิลอะซิเตท		
	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	IC_{50} (ppm)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/1g.)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH	IC_{50} (ppm)	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mgGAE/1g.)
จังหวัดศรีสะเกษ	71.243±0.031	109.144	158.74±0.002	24.028±0.022	2,070.000	86.23±0.007
จังหวัดเพชรบุรี	79.573±0.019	240.990	101.28±0.004	56.556±0.015	842.590	89.27±0.003
กรุงเทพ ฯ	21.182±0.023	2,104.430	178.34±001	80.687±0.014	256.520	91.55±0.003
จังหวัดนครสวรรค์	91.081±0.013	79.439	84.26±0.006	14.666±0.039	5,397.900	74.83±0.006
จังหวัดสุพรรณบุรี	18.409±0.023	4,602.440	126.36±0.011	47.877±0.039	1,045.000	145.97±0.005
วิตามิน ซี	IC_{50} = 4.131 ppm					



ภาพที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับร้อยละการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานวิตามินซี

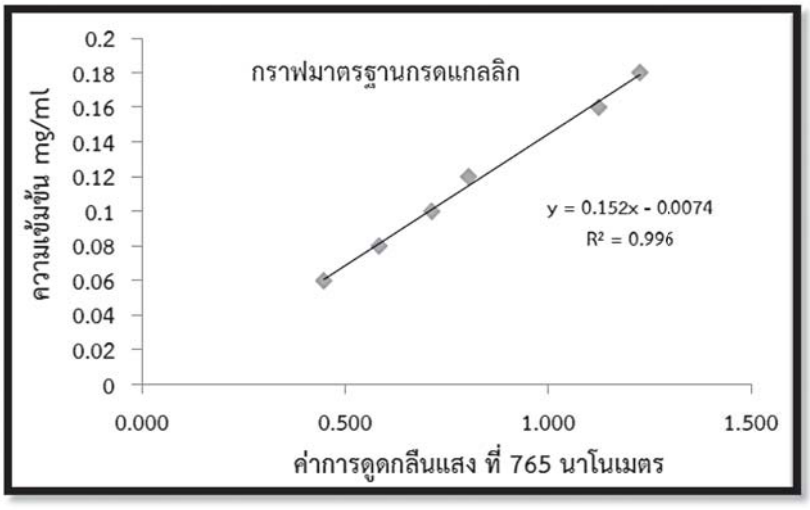
กรุงเทพมหานคร และจังหวัดสุพรรณบุรี มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 79.573±0.019 (IC_{50}= 240.990 ppm), 71.243±0.031 (IC_{50}= 109.144 ppm), 21.182±0.023 (IC_{50}= 2,104.430 ppm) และ 18.409±0.023 (IC_{50}= 4,602.440 ppm) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย พบว่ากรุงเทพมหานครมีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ 80.687±0.014 (IC_{50}= 256.520 ppm) รองลงมาคือจังหวัดเพชรบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดศรีสะเกษ และจังหวัดนครสวรรค์ มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 56.556±0.015 (IC_{50}= 842.590 ppm), 47.877±0.039 (IC_{50}= 1,045.00 ppm), 24.028±0.022 (IC_{50}= 2,070.000 ppm) และ 14.666±0.039 (IC_{50}= 5,397.900 ppm) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และเมื่อนำฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมะขามไทยเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี พบว่าสารสกัดจากใบมะขามไทยมีค่าน้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี โดยสารมาตรฐานวิตามินซี มีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.131 ppm

ผลการตรวจสอบหาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบมะขามไทย

กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสร้างจากความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) และค่าการดูดกลืนแสง จากการหาค่าความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Correlation coefficient; R^2) ดังภาพที่ 2 มีค่า Correlation coefficient (R^2) เท่ากับ 0.996 ซึ่งกราฟมาตรฐานที่ได้มีความเป็นเส้นตรง (R^2 มีค่าเข้าใกล้ 1) ดังนั้นสามารถใช้กราฟมาตรฐานนี้ในการคำนวณหาปริมาณความเข้มข้นของสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดใบมะขามไทยได้อย่างถูกต้อง

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบมะขามไทยในตัวทำละลายเอทานอล และตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดใบมะขามไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตท โดยสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยกรุงเทพมหานครมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 178.34±001 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมาคือจังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดสุพรรณบุรี จังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดนครสวรรค์ คือมีค่าเท่ากับ 158.74±0.002, 126.36±0.011, 101.28±0.004 และ 84.26±0.006 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย จังหวัดสุพรรณบุรี มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 145.97±0.005 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารสกัด รองลงมา คือกรุงเทพมหานคร จังหวัด

ศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี และจังหวัดนครสวรรค์ คือมีค่าเท่ากับ 91.55±0.003, 86.23±0.007, 89.27±0.003 และ 74.83±0.006 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารสกัด (ตารางที่ 3) ตามลำดับ ซึ่งจากผลการวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Razali *et al*. (2012) ซึ่งพบสารประกอบ ฟีนอลิกทั้งหมดมีปริมาณอยู่ในช่วง 3.17 ถึง 309 มิลลิกรัมของกรดแกลิกต่อกรัมสารตัวอย่าง



ภาพที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นกับค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid)

จากการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทานอล และสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย พบว่าสารสกัดใบมะขามไทยด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างจะไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ยกเว้นสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยจังหวัดสุพรรณบุรี และสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งจากผลการวิจัยนี้สามารถบอกได้ว่ากลุ่มสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบมะขาม จากจังหวัดศรีสะเกษ เพชรบุรี กรุงเทพ นั้นส่วนใหญ่จะเป็นสารในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (สุวรรณี และคณะ, 2555) ส่วนสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยจังหวัดสุพรรณบุรี และสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย จังหวัดนครสวรรค์ ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยแต่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง จากผลการวิจัยดังกล่าวอาจจะเนื่องมาจากสารสกัดมีสารชนิดอื่นที่ไม่ใช่ฟีนอลิก เช่น น้ำตาล Aromatic amines กรดแอสคอร์บิค

กรดออร์แกนิค และอื่น ๆ อีกมาก ซึ่งสารเหล่านี้สามารถรีดิวซ์ Folin-Ciocalteu reagent ได้สีน้ำเงินเช่นเดียวกัน จึงทำให้การรายงานผลนั้นสูงเกินจริง และการวัดสีด้วยวิธีนี้ไม่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกแต่อย่างใด (วรานนท์, 2557) ส่วนสารสกัดใบมะขามที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกน้อย แต่ให้ผลการต้านอนุมูลอิสระที่มาก แสดงว่าสารต้านอนุมูลอิสระอาจจะเป็นสารในกลุ่มอื่น ๆ เช่น สารไกลโคไซด์ เอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ฮอร์โมน หรือโปรตีนต่าง ๆ ที่มีอยู่ในสารสกัด (วรานนท์, 2557) ที่ไม่ใช้สารประกอบฟีนอลิก และเมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบมะขามไทยในตัวทำละลายเอทานอล และตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทย จะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกจะมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระด้วย เนื่องจากโครงสร้างหลักประกอบด้วย Aromatic ring แทนที่ด้วย Hydroxy group ซึ่งสารดังกล่าวส่วนใหญ่เป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วเหมือนกัน เช่น น้ำ แอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งสารกลุ่มฟีนอลิกจะมีออกซิเจนอยู่ถึง 2 อะตอม ทำให้มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนเข้าหาตัวเองได้ดีหรือมีค่าพลังงานอิเล็กโตรเนกาติวิตีสูง ทำให้มีความเป็นลบมาก แล้วทำให้ไฮโดรเจนตัวที่อยู่ไกลที่สุดมีความเป็นบวกมาก และไฮโดรเจนอะตอมนั้นจะสามารถหลุดออกให้แก่อนุมูลอิสระได้ง่าย ทำให้อนุมูลอิสระนั้นมีอิเล็กตรอนครบคู่เกิดความเสถียร (ประภัสสร และวัชรี, 2554) และถึงแม้ว่าสารกลุ่มฟีนอลิกจะให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระไปแล้ว แต่ตัวมันเองก็ยังมีความเสถียรอยู่เนื่องจากมีอิเล็กตรอนหนาแน่นจึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนได้ทั่วโครงสร้าง ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระ (สุชาดา และปวีณา, 2558)

ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบมะขามไทย

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 ชนิด ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน แอลคาลอยด์ และเทอร์พีนอยด์ของใบมะขามไทย ทั้ง 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี กรุงเทพมหานคร จังหวัดนครสวรรค์ และจังหวัดสุพรรณบุรี ที่ใช้ระยะเวลาสั้น ง่าย และใช้เครื่องมือน้อยที่สุด โดยใช้ปฏิกิริยาทางเคมีง่าย ๆ ซึ่งจะให้ผลเป็นสีต่าง ๆ หรือการตกตะกอนเพื่อบอกถึงกลุ่มสารสำคัญที่สกัดด้วยเอทานอลและเอทิลอะซิเตท แสดงผลดังตารางที่ 4 และและตารางที่ 5 การตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสกัดเอทิลอะซิเตท และสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยที่เก็บได้จากทั้ง 5 จังหวัด พบว่าสารสกัดเอทานอล

ของใบมะขามไทย พบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี ทั้งหมด 4 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน แอนทราควิโนน และเทอร์พีนอยด์ (ตารางที่ 4) ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย พบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีทั้งหมด 4 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และเทอร์พีนอยด์ (ตารางที่ 5) ซึ่งในสารสกัดใบมะขามไทยที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด จะไม่พบสารกลุ่มแอลคาลอยด์ และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นที่สกัดด้วยเอทานอล

ตัวอย่าง	กลุ่มสารพฤกษเคมี						
	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	แอนทราควิโนน	แอลคาลอยด์	เทอร์พีนอยด์
ศรีษะเกษ	√	-	√	-	√	-	√
นครสวรรค์	√	-	√	-	√	-	√
สุพรรณบุรี	√	-	√	-	√	-	√
เพชรบุรี	√	-	√	-	√	-	√
กรุงเทพ ฯ	√	-	√	-	√	-	√

ตารางที่ 5 ผลการตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท

ตัวอย่าง	กลุ่มสารพฤกษเคมี						
	ฟลาโวนอยด์	ซาโปนิน	แทนนิน	คาร์ดิแอกไกลโคไซด์	แอนทราควิโนน	แอลคาลอยด์	เทอร์พีนอยด์
ศรีษะเกษ	√	√	√	-	-	-	√
นครสวรรค์	√	√	√	-	-	-	√
สุพรรณบุรี	√	√	√	-	-	-	√
เพชรบุรี	√	√	√	-	-	-	√
กรุงเทพ ฯ	√	√	√	-	-	-	√

สรุปผลการวิจัย

จากการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin reagent method ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay และตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดใบมะขามไทยที่เก็บจาก 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดศรีสะเกษ จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดนครสวรรค์ จังหวัดสุพรรณบุรี และกรุงเทพมหานคร สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตท พบว่าสารสกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 1,000 ppm มีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดเอทิลอะซิเตท โดยสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทย จังหวัดนครสวรรค์ มีปริมาณสูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับร้อยละ 91.081±0.013 (IC_{50} =79.439 ppm) และสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า สารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทย โดยสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยจังหวัดศรีสะเกษมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 160 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และเมื่อนำสารสกัดทั้ง 2 ชนิด มาตรวจสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น 7 กลุ่ม ดังนี้ ฟลาโวนอยด์ แอลคาลอยด์ แทนนิน คาร์ดิแอกไกลโคไซด์ เทอร์พีนอยด์ แอนทราควิโนน และซาโปนิน พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบมะขามไทยทั้ง 5 จังหวัด พบสารพฤกษเคมีทั้งหมด 4 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน แอนทราควิโนน และเทอร์พีนอยด์ ไม่พบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ ซาโปนิน และคาร์ดิแอกไกลโคไซด์ ส่วนสารสกัดเอทิลอะซิเตทของใบมะขามไทยทั้ง 5 จังหวัด พบสารพฤกษเคมี 4 ชนิด คือ ฟลาโวนอยด์ แทนนิน ซาโปนิน และเทอร์พีนอยด์ ไม่พบกลุ่มสารแอลคาลอยด์ คาร์ดิแอกไกลโคไซด์และแอนทราควิโนน ซึ่งจากผลการวิจัยจะเห็นได้ว่าตัวทำละลายต่างชนิดกัน และสภาพแวดล้อมภูมิประเทศ พื้นที่ในการปลูกที่ต่างกัน จะมีผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และองค์ประกอบทางพฤกษเคมีของใบมะขามไทย

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการพัฒนาระบบยาแห่งชาติ. (2554). **บัญชียาหลักแห่งชาติ (ฉบับที่ 4) พ.ศ.2554 ประกาศ ณ วันที่ 25 พฤษภาคม พ.ศ.2554**. ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ลงวันที่ 28 มิถุนายน 2554.

เจนจิรา จิรัมย์ และคณะ. (2554). อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์**, 1(1), 59-70.

ดลฤดี พิชัยรัตน์ และนพรัตน์ มะเห. (2557). ผลของการลวกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสมบัติการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของผักพื้นบ้านภาคใต้บางชนิด. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย**, 6(2), 36-46.

บุหรัน พันธ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**, 21(3), 275-286.

ประภัสสร วีระพันธ์ และวัชรี คุณกิตติ. (2554). คุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยในหลอดทดลอง. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน**, 7(3), 30-38.

วรวรรณ เฑียรพังษ์. (2548). **การสกัดการตรวจสอบแอลคาลอยด์และกลัยโคไซด์**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). ปทุมธานี : ศูนย์สนับสนุนและพัฒนาการเรียนการสอน มหาวิทยาลัยรังสิต.

วรานนท์ ทองอินลา ชลธิชา วรรณวิมลรักษ์ และภารดี ช่วยบำรุง. (2557). ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยวิธี DMPD กับปริมาณฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน. **วารสารวิทยาศาสตร์บรูพา**, 19(2), 93-104.

วุฒิ วุฒิธรรมเวช. (2550). คัมภีร์เภสัชรัตนโกสินทร์. (พิมพ์ครั้งที่ 3). กรุงเทพ ฯ.

สุชาดา มานอก และปวีณา ลิ้มเจริญ. (2558). การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. **วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์**, 15(1), 107-117.

สุวรรณี แสนทวีสุข ดวงใจ จงตามกลาง ทัศน์วรรณ สมจันทร์ และปิติพงษ์ โตบันลือภพ. (2555). ปริมาณสารฟีนอลิคทั้งหมด ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูล อิสระ และความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของสมุนไพรบางชนิด. **วารสารแก่นเกษตร,** 40(ฉบับพิเศษ), 480-483.

ศรินรัตน์ ฉัตรธีระนันท์ วรางคณา สบายใจ และสิริมาส นิยมไทย. (2556). การทดสอบองค์ประกอบทางพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของใบข่อยดำ. **วารสารวิทยาศาสตร์ มข.,** 41(3), 723-730.

อ้อมบุญ ล้วนรัตน์. (2536). **การสกัดและการตรวจสอบสาระสำคัญจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ**. (พิมพ์ครั้งที่ 1). กรุงเทพฯ : คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

Escalona-Arranz, J.C., *et al*. (2010). Antimicrobial activity of extracts from *Tamarindus indica* L. leaves. **Pharmacogn Mag,** 6(23), 242-247.

Razali, N., *et al*. (2012). Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seed, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, 131(2), 441-448.

Bondet, V., *et al*. (1997). Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH·free radical method. **Food Science Tech**, 30(6), 609-615.

Usman, H., Abdulrahman, F., & Usman, A. (2009). Qualitative Phytochemical Screening and *In Vitro* Antimicrobial Effects of Methanol Stem Bark Extract of *Ficus Thonningii* (Moraceae). **Afr J Tradit Complement Altern Med**, 6(3), 289-295.

Padalia, H., Moteriya, P., & Chanda, S. (2015). Phytochemical Analysis and Effect of Solvents on Antibacterial Activity of *Tamarindus Indica* Leaf and Stem. International **Journal of Current Engineering and Technology**, 5(4), 2716-2721.

Sittikijyothin, W., & Cherdwong-charoensuk, D. (2011). Free Radical Scavenging Activity of Seed Coat Extracts of Sweet and Sour Tamarinds. **Burapha. Sci. J**, 16(1), 47-55.

Sudjaroen, Y., *et al*. (2005). Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp. **Food Chem Toxico**, 43(11), 1673-1682.