

การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเหง้าว่านนางคำ Using Ultrasound-Assisted Solvent Extraction of Phenolic Compounds from *Curcuma aromatica* Salisb. Rhizomes

พรพรรณ สิริมนต์^{1*} และรัตติยา แวนุกุล²
Pornpun Siramon^{1*} and Rattiya Weanukul²

¹มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (ราชบุรี) ราชบุรี 70150

¹ King Mongkut's University of Technology Thonburi (Ratchaburi Campus), Ratchaburi 70150, Thailand

² สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10150

² Pilot Plant Development and Training Institute, King Mongkut's University of Technology Thonburi, Bangkok, 10150, Thailand

*Email: siramon_p@hotmail.com

Received: 8 Sep 18

Revised: 10 May 19

Accepted: 20 Oct 19

บทคัดย่อ

การศึกษผลของการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลในการสกัดแยกสารในกลุ่มฟีนอลิกจากเหง้าว่านนางคำ โดยศึกษา 3 ปัจจัยหลักที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล อุณหภูมิ และระยะเวลาในการสกัด จากผลการศึกษาพบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากเหง้าว่านนางคำโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมในการสกัด คือ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที ที่สภาวะนี้ให้ร้อยละผลได้ของสารสกัดเท่ากับ 23.50 ของน้ำหนักแห้ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้สูงสุดเท่ากับ 120.83 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของน้ำหนักตัวอย่างแห้ง เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากสภาวะการสกัดที่เหมาะสมนี้พบว่ามีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี โดยมีความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) โดยวิธี DPPH เท่ากับ 7,945.32 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม เทียบกับน้ำหนักสารสกัดหยาบ

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ว่านนางคำ ดีพีพีเอช สารประกอบฟีนอลิก อัลตราซาวด์

Abstract

An effect of using ultrasound-assisted solvent extraction of phenolic compounds from Wan nang kham (*Curcuma aromatica* Salisb.) rhizomes was investigated. In the extraction process, 3 experimental parameters affected on extraction such as ethanol concentration, temperature extraction and time extraction were used to determine the optimum extraction condition of phenolic compounds from the sample. The results suggested the optimum extraction condition was 50% (v/v) of ethanol concentration and ultrasonic extraction at 30 °C for 120 min. This condition gave the crude extract yield of 23.50% on dry basis and the highest total phenolic contents of 120.83 µg GAE/g dry weight. The antioxidant activities of crude extract from the optimum extraction condition was further investigated by the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). The results revealed the crude extract exhibited relatively high antioxidant activities with IC₅₀ values of 7,945.32 µg/mL based on crude extract.

Keywords: Antioxidant activity, *Curcuma aromatica* Salisb, DPPH, Phenolic compounds, Ultrasound

1. บทนำ

ว่านนางคำ (*Curcuma aromatica* Salisb.) เป็นพืชล้มลุกอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae อยู่ในวงศ์เดียวกับ ขิง ข่า และขมิ้น ลักษณะคล้ายกับต้นขมิ้นแต่ใบจะกว้าง และใหญ่กว่า มีลำต้นใต้ดินแบบไรโซมหรือเหง้า เหง้ามีสีเหลือง มีกลิ่นหอม [1] มีสรรพคุณตามตำราพื้นบ้าน คือ ใช้แก้ปวดหัว บวม แก้มตุ่ย อักเสบ แก้ปวดท้อง และรักษาแผลในกระเพาะอาหาร มีรายงานฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากว่านนางคำ พบว่ามีฤทธิ์ต้านการอักเสบ [2] ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [3] ฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็ง [4], [5] ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาเหล่านี้เกิดจากสารสำคัญในกลุ่มเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งสารในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วยสารสำคัญ 3 ชนิด คือ 1) demethoxycurcumin 2) bisdemethoxycurcumin และโดยเฉพาะ 3) curcumin ซึ่งเป็นสารหลักที่พบในสารสกัดจากว่านนางคำ [6] จัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) เป็นสารสีเหลืองส้ม ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีใน dimethyl sulfoxide (DMSO) acetone และ alcohol [7] ซึ่งสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกนี้ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี มีคุณสมบัติในการช่วยปกป้องเซลล์ที่ถูกทำลาย หรือได้รับความเสียหายจากอนุมูลอิสระ เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีบทบาทสำคัญที่มีผลต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายแรงที่เป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตในปัจจุบัน เช่น โรคมะเร็ง เนื่องจากความดันโลหิตสูง โรคหลอดเลือดในสมอง และโรคหัวใจ [8] ปัจจุบันจึงพบว่าการนำสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิกนี้ มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอางอย่างแพร่หลาย [9]

กระบวนการสกัดเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืช [10] วิธีการสกัดแยกสารประกอบฟีนอลิกที่ใช้กันโดยทั่วไป คือ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) ร่วมกับการใช้ความร้อน และไม่ใช่ความร้อน [11] ปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ช่วงความถี่ 20-100 kHz) ร่วมกับตัวทำละลายในการสกัดตัวอย่าง (ultrasound-assisted extraction) [12] ซึ่งวิธีการนี้มีข้อดี คือ ช่วยลดระยะเวลาการสกัด ดำเนินการง่าย ใช้อุณหภูมิต่ำ และเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงเนื่องจากทำให้เกิดปรากฏการณ์แควิเทชัน (cavitation) ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถละลายสารสำคัญออกจากเซลล์พืชที่นำมาสกัดได้ง่ายขึ้น [13]

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างเหง้าว่านนางคำโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิก และตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้ ด้วยวิธี 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และเปรียบเทียบประสิทธิภาพฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน Butylated hydroxytoluene (BHT) และ Alpha tocopherol (vitamin E)

2. วัสดุอุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การรวบรวม และเตรียมตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างเหง้าว่านนางคำ จากตำบลนันทะโก อำเภोजอมบึง จังหวัดราชบุรี ในช่วงเดือนมกราคม 2560 นำตัวอย่างที่รวบรวมได้มาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก และหั่นให้มีขนาดเล็ก จากนั้นนำมาอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างมีน้ำหนักคงที่ (ความชื้นน้อยกว่า 10%) แล้วจึงนำมาบดด้วยเครื่องบดละเอียดสำหรับใช้ในการสกัดต่อไป

2.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่าง

ทำการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารกลุ่มฟีนอลิกจากตัวอย่าง โดยออกแบบการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการทดลอง ได้แก่ ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล อุณหภูมิ และระยะเวลาการสกัด กำหนดจำนวนการทดลอง 3 ซ้ำของการทดลอง การทดลองประกอบไปด้วย 2 ขั้นตอน คือ

2.2.1 การหาความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่าง

ทำการสกัดตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 2.1 โดยการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายเอทานอลที่ 3 ระดับความเข้มข้น คือ 50% 70% และ 95% โดยปริมาตร ใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) สกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ทำการกรองแยกกากออก นำไประเหยด้วยเครื่องระเหยแห้งระบบสุญญากาศแบบหมุน จากนั้นหาปริมาณร้อยละผลได้ และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดที่ได้ เพื่อหาความเข้มข้นของตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการสกัดตัวอย่าง

2.2.2 การหาอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก

ทำการสกัดตัวอย่างด้วยตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 2.2.1 คือ สารละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร โดยใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการสกัดด้วย ultrasonic bath (Bandelin sonorex digitec, รุ่น DT 510H, 35 kHz, 16 W) ที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 60 และ 120 นาที จากนั้นหาปริมาณร้อยละผลได้ และตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดที่ได้จากสภาวะต่าง ๆ เพื่อหาอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่าง

2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก
 ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content) ในสารสกัดที่ได้ โดยใช้วิธี Folin-ciocalteu reagent [14] โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid, Sigma-Aldrich)

2.4 การศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.2.2 ด้วยวิธี DPPH [15] โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ และหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) รวมทั้งเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน BHT และ Vitamin E

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยผลการทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

3.1 ความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่าง

การศึกษาความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอลที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างเหง้าจากต้นว่านนางคำ (Figure 1) พบว่าเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร เป็นความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการสกัดตัวอย่าง โดยให้ร้อยละผลได้ของสารสกัด (18.60% ของน้ำหนักแห้ง) และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ (42.56 μg GAE/g ของน้ำหนักแห้ง) สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงผลการวิเคราะห์ใน Table 1



Figure 1 Rhizomes of Wan nang kham

Table 1 Effects of ethanol concentration on the extraction yield and the total phenolic contents of Wan nang kham rhizomes by maceration.

Ethanol concentration	% Yield ^{a, **}	Total phenolic contents ^{a, **} (μg GAE/g)
50% (v/v)	18.60 $\pm$ 0.11 ^a	42.56 $\pm$ 0.33 ^a
70% (v/v)	10.05 $\pm$ 0.05 ^b	36.94 $\pm$ 1.86 ^b
95% (v/v)	5.53 $\pm$ 0.03 ^c	33.90 $\pm$ 2.76 ^b

^aData were based on dry weight basis.

^{**}Value are mean $\pm$ SD (n=3). Different superscripts in the same column indicate the significant differences (p < 0.05).

3.2 อุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากตัวอย่างโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก

การศึกษาเพื่อหาอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เหมาะสมในการสกัดตัวอย่างโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร (ตัวทำละลายที่เหมาะสม) แสดงผลใน Table 2 พบว่าการสกัดตัวอย่างที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที เป็นสภาวะที่ให้ร้อยละผลได้ของสารสกัดสูงสุด (24.64% ของน้ำหนักแห้ง) รวมทั้งให้ค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ (120.59 μg GAE/g ของน้ำหนักแห้ง) สูงที่สุด สำหรับสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที เป็นสภาวะการสกัดที่ให้ร้อยละผลได้ของสารสกัดสูงรองลงมา (23.50% ของน้ำหนักแห้ง) แต่ให้ค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (120.83 μg GAE/g ของน้ำหนักแห้ง) ที่สกัดได้สูงที่สุดเช่นกัน (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) และเมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดตัวอย่างที่สภาวะนี้กับการสกัดโดยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย (ผลการทดลองในข้อ 3.1) พบว่าการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกครั้งนี้ให้ผลการสกัด (ร้อยละผลได้ของสารสกัดและปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้) สูงกว่า โดยใช้ระยะเวลาการสกัดที่สั้นกว่ามาก

3.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดหยาบ

แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Table 2) โดยวิธี DPPH ของตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้จากแต่ละสภาวะการสกัด (ข้อ 3.2) พบว่าสารสกัดหยาบที่ได้จากสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 120 นาที มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (IC_{50} = 7,945.32 $\mu\text{g}/\text{mL}$) เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของตัวอย่างสารสกัดหยาบกับสารมาตรฐาน BHT และ Vitamin E พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบที่ได้จากทุกสภาวะการสกัด มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าสารมาตรฐานทั้งสอง ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษานี้สอดคล้องกับผลการวิจัยของ Lee และคณะ [3] ที่

ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเหง้าวานางคำ โดยพบว่าการสกัดตัวอย่างโดยการแช่ในตัวยาละลายเอทานอลเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (IC_{50} = 270 μ g/mL) ที่ดีกว่าการ

สกัดโดยวิธีการรีฟลักซ์ด้วยน้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง (IC_{50} = 2,760 μ g/mL) และสรุปว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดมีผลโดยตรงกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้

Table 2 Extraction yield, total phenolic contents and antioxidant activity (IC_{50}) of Wan nang kham rhizomes from Ultrasonication.

Extraction Temperature ($^{\circ}$ C)	Extraction time (min)	Yield (%) ^{*, ***}	Total phenolic contents ^{*, ***} (μ g GAE/g)	IC_{50} ^{*, ***} (μ g/ml)
30	30	20.08 $\pm$ 0.33 ^d	118.21 $\pm$ 1.21 ^b	37,832.39 $\pm$ 1.59 ^f
	60	20.31 $\pm$ 0.24 ^d	121.07 $\pm$ 1.68 ^a	9,690.08 $\pm$ 1.25 ^c
	120	23.50 $\pm$ 0.35 ^b	120.83 $\pm$ 1.83 ^{ab}	7,945.32 $\pm$ 1.68 ^a
50	30	24.64 $\pm$ 0.21 ^a	120.59 $\pm$ 1.41 ^{ab}	8,608.47 $\pm$ 1.36 ^b
	60	22.03 $\pm$ 0.30 ^c	118.21 $\pm$ 1.19 ^b	9,957.58 $\pm$ 1.25 ^e
	120	21.62 $\pm$ 0.40 ^c	120.11 $\pm$ 1.11 ^{ab}	9,733.87 $\pm$ 1.65 ^d
BHT				180.32
Vitamin E				383.14

* Data were based on dry weight basis.

**Data were based on crude sample weight.

***Value are mean $\pm$ SD (n=3). Different superscripts in the same column indicate the significant differences (p < 0.05).

4. สรุปผลการทดลอง

สภาวะในการสกัดที่ให้สารฟีนอลิกสูงสุดสำหรับการทดลองนี้ คือ การสกัดตัวอย่างด้วยตัวยาละลายเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตร ใช้อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวยาละลายเท่ากับ 1:100 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ทำการสกัดในอ่างอัลตราโซนิก ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยให้ค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้เท่ากับ 120.83 μ g GAE/g ของน้ำหนักแห้ง และสารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (IC_{50} = 7,945.32 μ g/mL) แต่ที่สภาวะนี้ให้ค่าผลผลิตของสารสกัด (23.50% ของน้ำหนักแห้ง) น้อยกว่าสภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที เมื่อเปรียบเทียบผลการสกัดที่ได้นี้ กับผลการสกัดที่ได้จากวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวยาละลาย (maceration) ที่สภาวะการสกัดเดียวกัน พบว่าการสกัดโดยใช้เทคนิคคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับตัวยาละลายเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงกว่า โดยให้ผลการสกัด (ร้อยละผลได้ของสารสกัด และค่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้) ที่สูงกว่า รวมทั้งสามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดได้เป็นอย่างมากอีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ และโครงการอนุรักษ์พันธุพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริฯ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (อพสธ. มจร.) ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย

6. References

- [1] Haritakun, W., Taworn, W. and Suebsakwong, P. 2016. "Acetylcholinesterase inhibitory activity of a Sesquiterpenoid from *Curcuma aromatica* rhizomes" *SDU Research Journal Sciences and Technology*. 9(3): 51-60. (in Thai)
- [2] Jangde, C.R., Phadnaik, B.S. and Bisen, V.V. 1998. "Anti-inflammatory activity of extracts of *Curcuma aromatica* Salisb". *The Indian Veterinary Journal*. 75: 76-77.
- [3] Lee, Y.L., Weng, C.C. and Mau, J.L. 2007. "Antioxidant properties of ethanolic and hot water extracts from the rhizome of *Curcuma aromatic*". *Journal of Food Biochemistry*. 31: 757-771.

- [4] Li, Y. and et al. 2009. "Chemoprotective effects of *Curcuma aromatica* on esophageal carcinogenesis". **Annals of Surgical Oncology**. 16: 515-523.
- [5] Itokawa, H. and et al. 2008. "Recent advances in the investigation of curcuminoids". **Chinese Medicine**. 3: 11-23.
- [6] Bamba, Y. and et al. 2011. "Compounds isolated from *Curcuma aromatica* Salisb. Inhibit human P450 enzymes". **Journal of Natural Medicines**. 65: 583-587.
- [7] Sungthong, B. and et al. 2013. "Factors influencing the ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from mulberry leaves (*Morus alba* L.)". **Journal of Science and Technology Mahasarakham University**. Special Issue: 567-574. (in Thai)
- [8] Manok, S. and Limcharoen, P. 2015. "Investigating antioxidant activity by DPPH, ABTS and FRAP assay and total phenolic compounds of herbal extracts in Ya-hom thepphachit". **Advance Science**. 15(1): 106-117. (in Thai)
- [9] Murray, J.C. and et al. 2008. "A tropical antioxidant solution containing vitamins C and E stabilized by ferulic acid provides protection for human skin against damage caused by ultraviolet irradiation". **Journal of the American Academy of Dermatology**. 59: 418-425.
- [10] Salomon, S. and et al. 2014. "Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* L. leaves using microwave assisted technique". **Emirates Journal of Food and Agriculture**. 26(7): 616-622.
- [11] Chotimarkon, C., Benjakul, S. and Silalai, N. 2008. "Antioxidant components and properties of five long-grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand". **Food Chemistry**. 111: 636-841.
- [12] Wongwanich, W and Banjong, K. 2016. "Factors affecting on maceration and ultrasound-assisted extraction of unrefined grape seed oil". **King Mongkut's Agricultural Journal**. 34(3): 9-21. (in Thai)
- [13] Rodrigues, S. and Pinto, G.A.S. 2007. "Ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*Cocos nucifera*) shell powder". **Journal of Food Engineering**. 80: 869-872.
- [14] Singleton, V.L. and Rossi, J.A. 1965. "Colorimetry of total phenolics and phosphomolybdicphospho- tungstic acid reagents". **American Journal of Enology and Viticulture**. 6: 144-158.
- [15] Siramon, P. and Ohtani, Y. 2007. "Antioxidative and antiradical activities of *Eucalyptus camaldulensis* leaf oils from Thailand". **Journal of Wood Science**. 53(6): 498-504.