

การต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้งก่อนและหลังการให้ความร้อน

Antioxidant Activity of Herbal Vegetables in Tom Yum Goong, Before and After Heat Treatment.

ธิดารัตน์ สมดี^{1*}, ณัฐจาพร พิชัยณรงค์², สุณิรัตน์ ยั่งยืน³, อุดมศักดิ์ มหาวีรวัฒน์⁴, จินดาวลัย วิบูลย์อุทัย⁵
Thidarat Somdee^{1*}, Nuthjaporn Pichainarong², Suneerat Yangyeun³, Udomsak Mahaweerawat⁴,
Jindawan Wibuloutai⁵

Received: 11 October 2013; Accepted: 27 December 2013

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรจำนวน 6 ชนิด (ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด ผักชี พริก และเห็ดฟาง) ในต้มยำกุ้งตามสูตรตำรับอาหารไทยของสถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) และวิธี Ferric reducing/antioxidant potential (FRAP) ก่อนและหลังการให้ความร้อน (อุณหภูมิ 100°C, เวลา 10 นาที) ผลการศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชผักสมุนไพร 6 ชนิด ด้วยวิธี DPPH พบว่า พืชผักสมุนไพรก่อนการให้ความร้อน มีค่าแสดงสมบัติ ดังนี้ คือ พริก ข่า เห็ดฟาง ผักชี ตะไคร้ และใบมะกรูด ตามลำดับ ซึ่งมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 52.78, 59.65, 65.05, 75.23, 81.25 และ 81.95 ส่วนพืชผักสมุนไพรหลังการให้ความร้อน มีค่าแสดงสมบัติ ดังนี้ คือ ใบมะกรูด ผักชี เห็ดฟาง พริก ข่า และตะไคร้ ตามลำดับ มีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง เท่ากับ 64.35, 74.54, 83.35, 88.66, 92.83 และ 94.44 ซึ่งจากการวิเคราะห์สถิติพบว่า สมบัติต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังการให้ความร้อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ข่า ใบมะกรูด พริก และผลการศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชผักสมุนไพร ด้วยวิธี FRAP พบว่าพืชผักสมุนไพรก่อนการให้ความร้อน มีค่าแสดงสมบัติจากสูงไปต่ำ ดังนี้ คือ ตะไคร้ ผักชี ข่า เห็ดฟาง ใบมะกรูด และพริก ซึ่งมีค่า เท่ากับ 7952.5 ± 6.93 , 7775.8 ± 3.87 , 7569.2 ± 73.77 , 7408.1 ± 289.32 , 5746.9 ± 29.65 และ 1600.3 ± 11.99 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์สารสกัดจากพืชผักสมุนไพรหลังการให้ความร้อน มีค่าแสดงสมบัติจากสูงไปต่ำ ดังนี้ คือ เห็ดฟาง ตะไคร้ ผักชี ข่า ใบมะกรูด และพริก ซึ่งมีค่า เท่ากับ 7112.5 ± 37.17 , 7041.4 ± 171.82 , 6091.4 ± 10.70 , 5900.3 ± 6.70 , 4790.3 ± 1315.28 , และ 3554.7 ± 178.35 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์สถิติพบว่าสมบัติต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังการให้ความร้อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ผักชี และพริก เป็นที่น่าสังเกตว่าผลการทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าใบมะกรูดที่ผ่านการให้ความร้อนแล้วมีสมบัติยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น และจากการทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี FRAP พบว่า พริกที่ผ่านการให้ความร้อน มีสมบัติยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีขึ้นเช่นกัน ดังนั้นการศึกษานี้เป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของพืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้ง แม้ผ่านกระบวนการให้ความร้อน ก็ยังคงมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระอยู่ และพืชผักสมุนไพรบางชนิด เมื่อโดนความร้อนจะทำให้มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นด้วย เช่น ใบมะกรูดและพริก แต่การศึกษานี้ยังไม่สามารถบอกได้ชัดเจนว่ามีสารสำคัญชนิดใดบ้างที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

คำสำคัญ: การต้านอนุมูลอิสระ ต้มยำกุ้ง

^{1,3,5} ผู้ช่วยศาสตราจารย์, ⁴ รองศาสตราจารย์ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

^{1,3,5} Assistant professor, ⁴ Associate professor, Faculty of Public Health, Mahasarakham University

* Corresponding author: Thidarat Somdee, Faculty of Public Health, Mahasarakham University E-mail: ttotoxic@windowslive.com

Abstract

This research aimed to investigate the active antioxidants of 6 herbal types (Galangal, Lemon grass, Kaffir lime leaf, Coriander, Chili, and Straw mushroom) in spice prawn soup (Tom Yum Goong) according to Thai National Food Institute's (NFI) recipe. The antioxidant was assayed by 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) and Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) methods. The results found that the percentage of inhibition based on the DPPH method of all 6 herbal types before heat treatment was as follows: Chili, Galangal, Straw mushroom, Coriander, Lemon grass and Kaffir lime leaf with the value of 52.78, 59.65, 65.05, 75.23, 81.25, 81.95 and after heat treatment (100°C, 10 minute) as following: Kaffir lime leaf, Coriander, Straw mushroom, Chili, Galangal, Lemon grass with the value of 64.35, 74.54, 83.35, 88.66, 92.83, 94.44., respectively. Statistical analysis revealed that Galangal, Kaffir lime leaf, Chili showed significant difference in inhibition activity at $p < 0.05$. The FRAP value ($\bar{X} \pm S.D$ $\mu\text{mol/g}$) of 6 herbal types before heat treatment as follow: Lemon grass, Coriander, Galangal, Straw mushroom, Kaffir lime leaf, Chili with the value of 7952.5 ± 6.93 , 7775.8 ± 3.87 , 7569.2 ± 73.77 , 7408.1 ± 289.32 , 5746.9 ± 29.65 , 1600.3 ± 11.99 $\mu\text{mol/g}$ and after heat treatment as follows: Straw mushroom, Lemon grass, Coriander, Galangal, Kaffir lime leaf, Chili with the value of 7112.5 ± 37.17 , 7041.4 ± 171.82 , 6091.4 ± 10.70 , 5900.3 ± 6.70 , 4790.3 ± 1315.28 and 3554.7 ± 178.35 $\mu\text{mol/g}$ respectively. Statistical analysis revealed Galangal, Lemon grass, Kaffir lime leaf, Chili showed significant differences in FRAP at $p < 0.05$. The antioxidant activity of Kaffir lime leaf based on DPPH assay and that of Chili based on FRAP assay after heat treatment was increased. This investigation suggested that all six types of herbal vegetables in Tom Yum Goong possessed antioxidant activity although they were heat treated. It cannot be concluded from this study what kind of active compounds exhibited antioxidant, therefore further study needs to be carried out.

Keywords: Antioxidant, Tom Yum Goong

บทนำ

ปัจจุบันมนุษย์ต้องเผชิญกับภาวะการเปลี่ยนแปลงของโลก ทั้งจากสิ่งแวดล้อมและอาหารซึ่งส่งผลกระทบต่อระบบสมดุลทางชีวเคมีของร่างกาย เมื่อเราบริโภคอาหารปิ้งย่าง หรือทอดจนไหม้เกรียม หรืออาหารที่ปนเปื้อนสารเคมี ซึ่งอาจเกิดจากการใช้สารเคมีในการฆ่าแมลง สารกันบูด สีผสมอาหารบางสีและอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นพิษ จะทำให้ร่างกายของเราเกิดปฏิกิริยาการสูญเสียอิเล็กตรอนไปจากโมเลกุลของเซลล์ เมื่อเซลล์สูญเสียอิเล็กตรอน จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในโมเลกุลของร่างกาย โมเลกุลเหล่านั้นจะพยายามปรับตัวเองเพื่อให้สมดุลดังเดิม โดยการดึงอิเล็กตรอนมาจากโมเลกุลข้างเคียง จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระแบบลูกโซ่ในระหว่างที่มีปฏิกิริยาดึงและสูญเสียอิเล็กตรอนนั้นทำให้เกิดพลังงานขึ้นอย่างมหาศาล ซึ่งเป็นต้นเหตุความเสื่อมของเซลล์ ที่มีผลต่อเนื่องทำให้อวัยวะเสื่อม ในที่สุดร่างกายก็เสื่อมและอาจเป็นเหตุให้เกิดโรคมะเร็งได้ อันเป็นมูลเหตุให้เสียชีวิตในที่สุด เรื่องสุขภาพจึงเป็นเรื่องสำคัญสำหรับการดำเนินชีวิตอย่างปกติสุขของคนเรา มีปัจจัยหลายอย่างที่ยับยั้งหรือส่งเสริมสุขภาพเราย่ำแย่และขาดความสุข ซึ่งตัวการสำคัญก็คือ อนุมูลอิสระ¹

ปัจจุบันนี้มีการศึกษาสารอาหารที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสารอาหารเหล่านี้จะมีอยู่ในธรรมชาติ อันได้แก่ ผัก

และผลไม้ อาหารจากธรรมชาติเหล่านี้จะมีสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) โดยที่อาหารไทยจะมีไขมันน้อยกว่าอาหารทางซีกโลกตะวันตก คนซีกโลกตะวันตกกินไขมันมากกว่าคนเอเชียจึงมีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคมะเร็งมากกว่า² และอาหารไทยจะเป็นอาหารประเภทต้มยำ และอาหารประเภทปิ้งย่าง อาหารไทยหลายชนิดที่ได้รับความนิยมรับประทานทั้งในหมู่ชาวไทยและต่างชาติ เช่น ต้มยำกุ้ง ผัดไทย ยำเนื้อ แกงเขียวหวานไก่ หรือแม้กระทั่ง ส้มตำไก่ย่าง เนื่องจากความหลากหลายและความอุดมสมบูรณ์ของภูมิประเทศ ทำให้อาหารของแต่ละภูมิภาคมีความโดดเด่นแตกต่างกันออกไปในแต่ละพื้นที่ ในสังคมปัจจุบันร้านอาหารไทยประมาณ 5,000 ร้าน ที่กระจายอยู่ในประเทศต่างๆ ทั่วโลก ซึ่งชาวต่างประเทศนิยมรับประทานอาหารไทยเป็นประจำ ได้แก่ ต้มยำกุ้ง เพราะมีรสชาติอร่อยไม่เลี่ยน มีกลิ่นหอมของสมุนไพร (ข่า ตะไคร้ และ ใบมะกรูด) และให้ประโยชน์ต่อร่างกายในเชิงอาหารเพื่อสุขภาพ³

จากการศึกษาของเพลินใจ ดังคณะกุลและคณะ⁴ ทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระในใบมะกรูด ตะไคร้ ผักชี ข่า พบว่าข่ามีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด นอกจากนั้น แก้ว กังสดาลอำไพ และมฤดี สุขประเสริฐทรัพย์⁵ ได้มีการศึกษาดำรงอาหารไทยด้านโรคมะเร็ง ซึ่งการวิจัยใช้

สารสกัดจากตำบักขี้เฒ่าและทำวิจัยในแบบจำลองที่มีสภาพใกล้เคียงกับกระเพาะอาหารคน โดยการกินตำบักขี้เฒ่าร่วมกับอาหารประเภทแป้ง ย่าง รมควัน ทั้งนี้ พบว่า ตำบักขี้เฒ่าให้ผลยับยั้งสารก่อกลายพันธุ์มะเร็งในระดับกลางซึ่งเหตุผลข้างต้นจึงเป็นแรงจูงใจในการศึกษาเปรียบเทียบสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรในตำบักขี้เฒ่าทั้งก่อนและหลังการให้ความร้อน ด้วยวิธี 1,1 Diphenyl 1 - 2 picrylhydrazyl (DPPH) และวิธี Ferric reducing/ antioxidant potential (FRAP) โดยทำให้เราทราบถึงสรรพคุณของพืชผักสมุนไพรในตำบักขี้เฒ่าที่เมื่อผ่านความร้อนจะยังคงสมบัติต้านอนุมูลอิสระเช่นเดิมหรือไม่ เนื่องจากการศึกษาส่วนใหญ่มักศึกษาสมบัติการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพรที่ไม่ผ่านความร้อน แต่การบริโภคจริงนั้นมักจะเป็นการบริโภคที่ผ่านการให้ความร้อนทั้งสิ้น

ดังนั้นการศึกษาค้นคว้านี้เป็นประโยชน์ทั้งทางยาและคุณค่าทางอาหารซึ่งสามารถใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีและสามารถนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากมายเกี่ยวกับด้านโภชนาการทางอาหารของไทยได้ นอกจากนี้เพื่อเพิ่มความมั่นใจให้แก่ผู้บริโภคที่จะเลือกบริโภคตำบักขี้เฒ่าและพืชผักสมุนไพรในตำบักขี้เฒ่าที่มีสรรพคุณในการต้านอนุมูลอิสระแม้ผ่านความร้อน

วิธีดำเนินงาน

- ตัวอย่างทดลอง

พืชผักสมุนไพรในตำบักขี้เฒ่า 6 ชนิด ประกอบด้วย ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด ผักชี พริกขี้หนู และ เห็ดฟาง ตามสูตรตำรับอาหารไทยของสถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม⁶ และแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ส่วน คือ ตัวอย่างพืชผักสมุนไพรก่อนและหลังการให้ความร้อน

- การเตรียมสารสกัดจากตัวอย่าง

นำตัวอย่างพืชผักสมุนไพรทั้ง 2 ส่วน แล้วนำไปทำแห้ง (freeze dry) หลังจากนั้นบดตัวอย่างให้เป็นผงละเอียดใส่บีกเกอร์ เก็บไว้ในโถสุญญากาศ เพื่อเตรียมทำการสกัดโดยใช้ตัวอย่าง 5 กรัม ใส่ในกรวยสกัด นำสารตัวอย่างมาสกัดด้วย สารละลาย 80 % เมทานอล 200 มิลลิลิตร ลงกรวยสกัด เขย่า 15 นาที กรองสารสกัดด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยให้แห้งโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporator) และนำสารสกัดไปชั่ง บันทึกน้ำหนักที่ได้ จากนั้นนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์สารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง (% yield) (จำนวน 2 ซ้ำ)

- การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระ⁷

การทดสอบด้วยวิธี DPPH

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 150

มิลลิโมลาร์ แล้วนำสารละลาย DPPH ที่เตรียมไว้มา 200 ไมโครลิตร ไปทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่ต้องการทดสอบซึ่งเตรียมความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 22 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดเพื่อให้เกิดการทำปฏิกิริยากันเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วนำไปวัดค่าด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microplate reader) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร หลังจากนั้นคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (% DPPH Inhibition) และสร้างกราฟมาตรฐานของ Trolox (Trolox) ความเข้มข้น 1.28, 0.64, 0.32, 0.16, 0.08 มิลลิโมลาร์ แล้วพล็อตความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (x-axis) กับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารมาตรฐาน (y-axis)

การทดสอบด้วยวิธี FRAP

เตรียมสารละลาย FRAP (ประกอบด้วย อะซิเตท บัฟเฟอร์ (acetate buffer) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ : 2,4,6-ไตร(2-ไพริดีล)-1,3,5-ไตรอะซีน หรือทีพีทีแซด (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ : สารละลายไอโรน (III) คลอไรด์เฮกซาไฮเดรต ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์) โดยนำสารละลาย FRAP ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่ต้องการทดสอบซึ่งเตรียมความเข้มข้น 500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วนำไปวัดค่าด้วย microplate reader โดยวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร หลังจากนั้นคำนวณหาค่า FRAP โดยการสร้างกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ความเข้มข้น 1000, 500, 250, 125, 62.5 ไมโครโมลาร์ แล้วพล็อตความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (x-axis) กับค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของสารมาตรฐาน (y-axis)

- การวิเคราะห์ข้อมูล (Statistical analysis) ใน

การศึกษามัธยัสถ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH และ FRAP โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง การวิเคราะห์ข้อมูลใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ซึ่งสถิติที่ใช้ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm$ S.D.) Paired sample t-test และ One way ANOVA

ผลการวิจัย

1. เปอร์เซ็นต์สารสกัดที่ได้ต่อน้ำหนักพืชแห้ง (% yield) จากการสกัดพืชผักสมุนไพรในตำบักขี้เฒ่าทั้งก่อนและหลังการให้ความร้อน พบว่า ก่อนการให้ความร้อน ผักชี ให้ปริมาณ % yield มากที่สุด (Table 1) ส่วนหลังให้ความร้อน พบว่า ตะไคร้ ให้ % yield มากที่สุด

Table 1 Extraction yields of 6 herbal vegetables in Tom Yum Goong

Herbal Vegetables	Scientific name	Edible part	% yield (w/w)	
			Before Heat treatment	After Heat treatment
Galangal	<i>Alpinia galanga</i> (Linn.) Swartz.,	rhizome	0.5964 ± 0.0045	0.7658 ± 0.0121
Lemon grass	<i>Cymbopogon citratus</i> Stapf.	trunk	0.8900 ± 0.0009	1.2979 ± 0.0145
Kaffir lime leaf	<i>Citrus hystrix</i> DC.	leaf	0.7938 ± 0.0098	0.9326 ± 0.0064
Coriander	<i>Coriandrum sativum</i> L.	leaf	0.9605 ± 0.0106	0.4155 ± 0.0087
Chili	<i>Capsicum frutescens</i> Linn.	fruit	0.3997 ± 0.0052	0.4875 ± 0.0039
Straw mushroom	<i>Volvariella volvacea</i>	fruit	0.8182 ± 0.0071	0.6794 ± 0.0197

2. การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบในต้มยำกุ้ง จำนวน 6 ชนิด โดยใช้ Trolox (Trolox) เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบพบว่าพืชผักสมุนไพรก่อนการให้ความร้อน ใบมะกรูดมีค่า Trolox equivalent มากที่สุด รองลงมาคือ ตะไคร้ ผักชี เห็ดฟาง ข่า และพริก ซึ่งมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 0.510 ± 0.090 , 0.429 ± 0.050 , 0.366 ± 0.100 , 0.247 ± 0.010 , 0.177 ± 0.060 และ 0.166 ± 0.033 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ ส่วนพืชผักสมุนไพรหลัง

การให้ความร้อน ตะไคร้มีค่ามากที่สุด รองลงมาคือ ข่า พริก เห็ดฟาง ผักชี และใบมะกรูดซึ่งมีค่าเฉลี่ย เท่ากับ 1.813 ± 0.630 , 0.375 ± 0.054 , 0.153 ± 0.038 , 0.090 ± 0.019 , 0.042 ± 0.01 และ 0.023 ± 0.014 มิลลิโมลาร์ ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรแต่ละชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อน พบว่า พืชผักสมุนไพรแต่ละชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อน มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.001$ และ $p < 0.001$ ตามลำดับ (Table 2)

Table 2 Comparison of antioxidant activity (Trolox equivalent) of herbal vegetables in Tom Yum Goong with DPPH method

Herbal vegetable	Herbal vegetable	Before Heat treatment		After Heat treatment	
		Mean difference	p-value*	Mean difference	p-value*
Galangal	Lemon grass	0.252	< 0.001**	0.018	0.795
	Kaffir lime leaf	0.260	< 0.001**	0.335	< 0.001**
	Coriander	0.181	0.005**	1.961	< 0.001**
Lemon grass	Kaffir lime leaf	0.008	0.882	0.353	< 0.001**
	Coriander	0.071	0.204	1.979	< 0.001**
	Chili	0.333	< 0.001**	0.067	0.354
	Straw mushroom	0.189	0.004**	0.130	0.089
Kaffir lime leaf	Coriander	0.787	0.160	1.626	< 0.001**
	Chili	0.341	< 0.001**	0.186	0.002**
	Straw mushroom	0.197	0.003**	0.223	0.008**
Coriander	Chili	0.263	< 0.001**	1.912	< 0.001
	Straw mushroom	0.119	0.043**	1.849	< 0.001**

* p-value from One way ANOVA

**significant level $\alpha < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้ง 6 ชนิด ก่อนและหลังการให้ความร้อนโดยใช้สถิติ paired sample t-test ในการวิเคราะห์พบว่าสมบัติต้านอนุมูลอิสระก่อนการให้ความร้อนและหลังการให้ความร้อน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ข่า ใบมะกรูด พริก ดังแสดง Table 3 โดยที่ใบมะกรูด ก่อนให้ความร้อนมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระมากกว่าหลังการให้ความร้อน ส่วนข่าและพริกหลังให้ความร้อนมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

Table 3 Comparison of antioxidant activity (% inhibition) of herbal vegetable in Tom Yum Goong with DPPH method, before and after heat treatment

Herbal vegetable	Heat treatment	Mean $\pm$ S.D.	t-test*	p-value
Galangal	Before	59.65 $\pm$ 6.95	12.381	0.006**
	After	92.83 $\pm$ 5.60		
Lemon grass	Before	81.25 $\pm$ 27.54	4.212	0.052
	After	94.44 $\pm$ 3.78		
Kaffir lime leaf	Before	81.95 $\pm$ 14.81	-7.968	0.015**
	After	64.35 $\pm$ 22.36		
Coriander	Before	75.23 $\pm$ 3.05	-0.071	0.950
	After	74.54 $\pm$ 10.73		
Chili	Before	52.78 $\pm$ 9.31	7.325	0.018**
	After	88.66 $\pm$ 18.71		
Straw mushroom	Before	65.05 $\pm$ 17.77	3.608	0.069
	After	83.35 $\pm$ 20.70		

* t from Paired sample t-test

** significant level $\alpha < 0.05$

3. การทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี

FRAP

พืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้ง จำนวน 6 ชนิด ที่ทำการทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP โดยใช้เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ พบว่า ตะไคร้มีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น มากที่สุด รองลงมาคือผักชี ข่า เห็ดฟาง ใบมะกรูด และพริก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 7952.5 ± 6.93 , 7775.8 ± 3.87 , 7569.2 ± 73.77 , 7408.1 ± 289.32 , 5746.9 ± 29.65 และ 1600.3 ± 11.99 ไมโครโมลต่อกรัมตามลำดับ ส่วนการวิเคราะห์สารสกัดจากพืชผักสมุนไพรหลังการให้ความร้อน ในเห็ดฟางมีค่าเฉลี่ย มากที่สุด รองลงมาคือตะไคร้ ผักชี ข่า ใบมะกรูด และพริก ซึ่งมีเท่ากับ 7112.5 ± 37.17 , 7041.4 ± 171.82 , 6091.4

± 10.70 , 5900.3 ± 6.70 , 4790.3 ± 1315.28 , และ 3554.7 ± 178.35 ไมโครโมลต่อกรัม ตามลำดับ และพบว่าสารสกัด ให้ความร้อน ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด ผักชี และ เห็ดฟาง ส่วนสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรหลังการให้ความร้อนมีค่าสูงกว่าก่อนการให้ความร้อน ได้แก่ พริก ซึ่งแสดงว่าการให้ความร้อนจะมีผลไปเพิ่มคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระได้ดีขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรแต่ละชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อน พบว่า พืชผักสมุนไพรแต่ละชนิด ก่อนและหลังให้ความร้อน มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $p < 0.001$ และ $p < 0.001$ ตามลำดับ (Table 4)

Table 4 Comparison of antioxidant activity of herbal vegetables in Tom Yum Goong with FRAP method

Herbal vegetable	Herbal vegetable	Before Heat treatment		After Heat treatment	
		Mean difference	p-value	Mean difference	p-value
Galangal	Lemon grass	383.33	0.002**	1,141.10	0.025**
	Kaffir lime leaf	1,822.23	< 0.001**	1,110.00	0.029**
	Chili	5,968.90	< 0.001**	2,345.57	< 0.001**
	Straw mushroom	161.13	0.134	1,212.23	0.019**
Lemon grass	Kaffir lime leaf	2,205.56	< 0.001**	2,251.10	< 0.001**
	Chili	6,352.23	< 0.001**	3,486.67	< 0.001**
Kaffir lime leaf	Coriander	2,028.86	< 0.001**	1,301.10	0.013**
	Chili	4,146.66	< 0.001**	1,235.57	0.017**
	Straw mushroom	1,661.10	< 0.001**	2,322.23	< 0.001**
Coriander	Chili	1,675.53	< 0.001**	2,536.67	< 0.001**
	Straw mushroom	367.76	0.003**	1,021.13	0.041**
Chili	Straw mushroom	5,807.76	< 0.001**	3,557.80	< 0.001**

* p-value from One way ANOVA

**significant level $\alpha < 0.05$

เมื่อเปรียบเทียบสมบัติต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้ง 6 ชนิด ก่อนและหลังการให้ความร้อนโดยใช้สถิติ paired sample t-test ในการวิเคราะห์ พบว่าสมบัติต้านอนุมูลอิสระก่อนการให้ความร้อนและหลังการให้ความร้อนมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ผักชี และพริก ดังแสดง Table 5

Table 5 Comparison of antioxidant activity of herbal vegetables in Tom Yum Goong with FRAP method, before and after heat treatment

Sample	Heat treatment	Mean $\pm$ S.D.	t-test*	p-value
Galangal	Before	7569.2 $\pm$ 73.77	39.507	0.001**
	After	5,900.3 $\pm$ 6.70		
Lemon grass	Before	7952.5 $\pm$ 6.93	9.311	0.011**
	After	7,041.4 $\pm$ 171.82		
Kaffir lime leaf	Before	5,746.9 $\pm$ 29.65	1.233	0.343
	After	4,790.3 $\pm$ 1315.28		
Coriander	Before	7775.8 $\pm$ 3.87	422.239	<0.001**
	After	6,091.4 $\pm$ 10.70		
Chili	Before	1,600.3 $\pm$ 11.99	-20.346	0.002**
	After	3,554.7 $\pm$ 178.35		
Straw mushroom	Before	7,408.1 $\pm$ 289.32	1.781	0.217
	After	7,112.5 $\pm$ 37.17		

* t from Paired sample t-test

** significant level $\alpha < 0.05$

สรุปและวิจารณ์

การศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรในตั้มยำกุ้ง จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด ผักชี พริก และเห็ดฟาง ก่อนและหลังการให้ความร้อนพบว่าสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ทั้งก่อนและหลังการให้ความร้อน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพื่อการศึกษาด้วยวิธี DPPH และ FRAP ซึ่งจากการศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด มีค่าความเข้มข้นก่อนการให้ความร้อนมากกว่าหลังการให้ความร้อน เมื่อใช้ไทรอิก เป็นสารละลายมาตรฐาน (positive control) นั่นคือ หลังให้ความร้อนมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าก่อนการให้ความร้อน ยกเว้น ใบมะกรูดและผักชี และการวิเคราะห์เปรียบเทียบสมบัติต้านอนุมูลอิสระก่อนและหลังการให้ความร้อนด้วยสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ได้แก่ ข่า ใบมะกรูดและ พริก ซึ่งพริกเป็นพืชผักสมุนไพรชนิดเดียวที่เมื่อให้ความร้อนจะมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นและในปัจจุบันมีการศึกษาวิจัยที่ศึกษาถึงผลของความร้อนต่อสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในพืชผักสมุนไพรหลายชนิด ซึ่งผลการทดลองให้ผลที่ขัดแย้ง บางงานวิจัยรายงานว่าก่อนการให้ความร้อนมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า และอีกบางงานวิจัยระบุว่าหลังการให้ความร้อนมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า และการศึกษาค้นคว้า พบว่าหลังการให้ความร้อนพริก ข่า ตะไคร้ และเห็ดมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระมากกว่าก่อนให้ความร้อนซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Xu และคณะ⁹ ที่ได้รายงานผลการศึกษาอิทธิพลของความร้อนต่อสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) และสมบัติต้านอนุมูลอิสระพบว่าเมื่อให้ความร้อนแล้วจะมีสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดเพิ่มขึ้น และทำให้คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของนวลศรี รักวริยะธรรมและอัญญา เจนวิถีสุข⁹ พบว่าพืชผักมีสารสำคัญ คือ สารประกอบฟีนอลิก และจากการศึกษาของ Mayachiew and Devahastin¹⁰ พบว่าข่ามีสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่ง Choi และคณะ¹¹ อธิบายว่าสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในพืช โดยจะอยู่ในรูปพอลิเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ และความร้อนอาจทำให้ผนังเซลล์ของพืชแตกแล้วมีผลทำให้สารละลายที่สำคัญในเซลล์พืชที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกออกมาภายนอกเซลล์ จึงเป็นผลทำให้มีสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อให้ความร้อน รวมทั้ง Ng และคณะ¹² อธิบายเพิ่มเติมว่า การต้มพืชผัก จะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารฟีนอลิกที่สามารถละลายน้ำได้ โดยการต้มทำให้เกิด

การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารฟีนอลิกเป็นโมเลกุลอิสระและถูกละลายออกมาในไฮโดรฟาสของเซลล์พืช จึงทำให้สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรก่อนให้ความร้อนมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าหลังการให้ความร้อนทุกชนิด ยกเว้น พริก ที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระหลังการให้ความร้อนสูงกว่าก่อนการให้ความร้อน จากการศึกษานิลบล พรพิทักษ์พันธุ์และคณะ¹³ พบว่าพริกชี้ฟ้ามีสารเบต้าแคโรทีนและวิตามินซี ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ การศึกษาของ Mia และคณะ¹⁴ ทำการศึกษาหาสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ในพริกแดง ซึ่งพบว่าไลโคพีน แคโรทีน และโทโคฟีรอล เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจะเห็นได้ว่าจากผลการทดลอง พริกมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากเมื่อผ่านการให้ความร้อนจะได้สารสกัดละลายออกมาและทนความร้อนได้ดี จากการศึกษานอนเสและคณะ¹⁵ รายงานว่าไลโคพีนจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อนำไปทำให้สุกหรือผ่านกระบวนการให้ความร้อน พบว่ามะเขือเทศสุกมีไลโคพีนมากกว่ามะเขือเทศสดถึงสี่เท่า เพราะไลโคพีนไม่ละลายน้ำ และจับตัวแน่นกับ ไฟเบอร์ ดังนั้นจะเห็นว่าพริกเมื่อผ่านการให้ความร้อนจะมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น อาจจะเนื่องจากมีสารสำคัญ คือ ไลโคพีนที่คงตัวเมื่อโดนความร้อนจะมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น

จากการทดลองพบว่าผลที่ได้จากวิธี DPPH กับ FRAP มีความแตกต่างกันเนื่องจากว่าวิธี DPPH เป็นวิธีเบื้องต้นที่ใช้ทดสอบสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ แต่มีข้อเสียว่าวิธีนี้ไม่ไวต่อสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ ดังจะเห็นได้จากผลการวัดสมบัติต้านอนุมูลอิสระของ พริก ที่ไม่ให้ผลไวกับวิธี DPPH แต่ไวกับการวัดโดยวิธี FRAP เนื่องจาก พริกมีสารสำคัญ คือแคโรทีนอยด์เป็นองค์ประกอบหลักและจากผลของ DPPH ให้ผลไวต่อใบมะกรูด ซึ่งใบมะกรูดมีปริมาณคลอโรฟิลล์สูง เนื่องจากวิธี DPPH เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ของสารที่ต้องการทดสอบ และคลอโรฟิลล์เป็นสารที่อยู่ในกลุ่มโพลีฟีนอล ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยกลไกของแมกนีเซียมไอออนซึ่งจะช่วยเสริมสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (strong antioxidant activity) ของคลอโรฟิลล์ เนื่องจากโครงสร้างแมกนีเซียมไอออน มีแนวโน้มที่ให้อิเล็กตรอนแก่โมเลกุลอื่นซึ่งมีโมเลกุลที่ไม่เสถียร¹⁶

จากการวิเคราะห์สมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชผักสมุนไพรทั้ง 6 ชนิด ล้วนแล้วแต่เป็นสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจากผลการศึกษาของ วาริรัตน์ บุญเอก¹⁷ เห็ดฟางมีปริมาณสารฟีนอลิกสูง Ayda และคณะ¹⁸ ศึกษา

กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในตะไคร้พบสารฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในตะไคร้ นวลศรี รักจริยะธรรมและอัญญา เจนวิถีสุข¹⁰ ได้ทดสอบสารสกัดจากใบผักชี พบว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกเป็นองค์ประกอบ และพบสารประกอบฟีนอลิกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า ยูจีนอล (eugenol) ในข่า และพบสารแซนโทฟิลล์ แทนนินและสารประกอบฟีนอลิก ในตะไคร้ ข่า ใบมะกรูด และผักชี ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารกลุ่มใหญ่ที่พบมากในพืชผัก เป็นสารที่มีขั้วละลายได้ดีในแอลกอฮอล์ และสารประกอบฟีนอลิกมีกลไกที่แสดงสมบัติต้านอนุมูลอิสระ คือ เมื่อมีอนุมูลอิสระจะเกิดการดึงอิเล็กตรอนเข้าหาตัว แต่ในโครงสร้างมีอิเล็กตรอนหนาแน่น จึงสามารถเกิดการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนไปทั่วโครงสร้าง (delocalization) ทำให้โครงสร้างเสถียรไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระต่อไป¹⁹ นอกจากนั้นในพืชผักสมุนไพรยังมีสารกลุ่มที่มีแคโรทีนอยด์และวิตามินอี ดังนั้นอาจจะสามารถสรุปกลไกการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชผักสมุนไพรอาจจะมียกลไกดังนี้ 1) สารสกัดจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่สารอนุมูลอิสระที่มีความไม่เสถียรเมื่อได้รับอิเล็กตรอนเข้าไปจะเกิดเป็นโมเลกุลที่เสถียร 2) สารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของออกซิเจนอะตอมเดี่ยว (singlet oxygen) โดยการเปลี่ยนออกซิเจนอะตอมเดี่ยวให้อยู่ในรูปออกซิเจนที่มีความเสถียร 3) สารสกัดสามารถจับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ 4) สารสกัดสามารถหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ 5) สารสกัดจะช่วยสนับสนุนให้สารต้านอนุมูลอิสระอื่นๆ ทำงานได้ดีขึ้น และ 6) สารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ

ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ทราบถึงประโยชน์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของพืชผักสมุนไพรในต้มยำกุ้ง แม้ผ่านกระบวนการให้ความร้อน พืชผักสมุนไพรที่ยังคงมีสมบัติต้านอนุมูลอิสระอยู่ รวมทั้งการให้ความร้อนยังเพิ่มสมบัติต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นด้วย และยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สำคัญในการทำให้คนไทยมองเห็นถึงประโยชน์และเห็นความสำคัญของการดูแลสุขภาพแล้ว ยังเป็นการส่งเสริมความรู้ด้านการบริโภคต้มยำกุ้งและส่วนประกอบของต้มยำกุ้งที่มีสรรพคุณที่ดีมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยมหาสารคามที่ให้การสนับสนุนด้านงบประมาณ และขอขอบคุณคณะสาธารณสุขศาสตร์ ที่เอื้อเพื่อให้การสนับสนุนห้องปฏิบัติการและอำนวยความสะดวก ทำให้การศึกษานี้สามารถดำเนินการจนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. พรพิมล เรืองศิริ. สวนสวยกินได้. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ซีเอ็ดบุ๊คเซ็น; 2544.
2. เพ็ญนภา ทรัพย์เจริญ. โภชนาการและคุณค่าผักพื้นบ้านอาหารต้านโรค. กรุงเทพฯ: ศูนย์พัฒนาตำราการแพทย์แผนไทยมูลนิธิการแพทย์แผนไทยพัฒนา; 2548.
3. กัญจน์ย์ ผลวงศ์. ธิดา ชนารักษ์. ความรู้เรื่องอาหารไทย. สาขาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏอุดรดิตถ์; 2547.
4. เพลินใจ ดังคณะกุล, เกศศิณี ตระกูลทิวากร. การศึกษาคุณค่าอาหารพื้นบ้านมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระสูงลดโรคอัลไซเมอร์มะเร็ง; 2550.ได้จาก: <http://www.oknation.net/blog/print.php?id=105574> June15 2011.
5. แก้ว กังสดาลอำไพ, มลฤดี สุขประสารทรัพย์. กินอาหารไทย ห่างไกลมะเร็ง. กรุงเทพฯ: สถาบันโภชนาการมหาวิทยาลัยมหิดล; 2552
6. สูตรตำรับอาหารไทย. สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม; 2552.
7. Kruawan K., Kangsadalampai K. Antioxidant activity, phenolic compound contents and antimutagenicity of some water extract of herbs. Food Chemistry 2006; 30: 28-35.
8. Xu G, Ye X, Chen J, Liu D. Effect of heat treatment on the phenolic compounds and antioxidant capacity of citrus peel extract. J Agric Food Chem 2007; 55: 330-5.
9. นวลศรี รักจริยะธรรม, อัญญา เจนวิถีสุข. แอนติออกซิแดนท์ สารต้านมะเร็งในผัก สมุนไพรไทย. เชียงใหม่: นพบุรีการพิมพ์; 2545.
10. Mayachiew P, Devahastin S. Antimicrobial and antioxidant activities of Indian gooseberry and galangal extracts. Food Chemistry 2008; 41(7): 1153-9.
11. Choi Y, Lee SM, Chum J, Lee HB, Lee J. Influence of heat treatment on the antioxidant activity and polyphenolic compounds of shiitake (*Lentinus edodes*). Food Chemistry 2006; 99: 381-9.
12. Ng ZX, Chai JW, Kuppusamy UR. Customized cooking method improves total antioxidant activity in selected vegetables. Int J Food Sci Nutr 2011; 62: 158-63.
13. นิบุล พรพิทักษ์พันธุ์. มหัศจรรย์อาหารต้านโรค. กรุงเทพฯ: ริดเดอร์ส ไตเจสท์ ประเทศไทย; 2549.

14. Mia I, Bee LL, Meng TL, Woon PK, Dejian H, Choon NO. Antioxidant activity and profiles of common vegetables in Singapore. Food Chemistry 2010; 120(4): 993-1003.
15. Anese, L. Manzocco, C.M. Nicoli and R.C. Lericci, Antioxidant properties of tomato juice as affected by heating. J Sci Food Agric 1999; **79**: 750-4.
16. รัชยาพร อโนราช, นาถริดา วีระปรียากร. วิธีทดสอบฤทธิ์ต้านอิสระ ในหลอดทดลอง.วารสารวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2548; 33(1-2): 13-8.
17. วาริรัตน์ บุญเอก. การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเห็ดเศรษฐกิจในฟาร์ม. วารสารสถาบันอาหาร 2549; 47(8). 20-5.
18. Ayda K, Mohamed N, Samira S, Pedro F, Rosa LL, Luisa M, Eduarda M. Antioxidant, antiacetylcholinesterase and antimicrobial activities of *Cymbopogonitalic schoenanthus* L. Spreng (lemon grass) from Tunisia. Food Sci Tech 2010; 43(2): 331-6.
19. Pietta P, Simonetti P, Gardana C, Mauri P. Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) of *Ginkgo biloba* flavonol and *Camellia sinensis* catechin metabolites. J Pharma Biomed Anal 2000; 23(1): 223-6.