ผลของฤดูการเก็บเกี่ยวต่อลักษณะรูปแบบทางเคมีของสารสำคัญในใบพลู

Impact of Harvesting Season on Chemical Profiling of Major Components in *Piper betle* Linn.

นิรมล สิงห์ทองรัตน์ และจิรดา สิงขรรัตน์*

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

สุมณฑา วัฒนสินธุ์

ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Niramol Singtongrat and Jirada Singkhonrat*

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Sumontha Wattanasin

Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology,

Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ผลกระทบของช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวต่อคุณภาพของสารสกัดใบพลูจากเทคนิคการสกัดด้วยของไหลยวดยิ่งรายงานโดยอาศัยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูงในการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญหลัก ได้แก่ อัลลิวไพรอแคทีชอล และยูกีนอล ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าปริมาณของสารสกัดจากใบพลูที่เก็บเกี่ยวในตอนปลายฤดูฝนมีแนวโน้มการพบสารอัลลิวไพรอแคทีชอลสูงที่สุด และยูกีนอลต่ำ ซึ่งตรงกันข้ามกับสารสกัดใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงหน้าแล้ง สารสำคัญในใบพลูแสดงการเปลี่ยนแปลงตามฤดูการเก็บเกี่ยวที่ต่างกัน โดยมีปัจจัยชักนำจากปริมาณน้ำในแต่ละฤดูกาล ซึ่งส่งผลกระทบต่อการเปลี่ยนรูปของสารในกลุ่มโพรพินิลฟีนอล

คำสำคัญ : ใบพลู; อัลลิวไพรอแคทีชอล; ยูกีนอล; ฤดูการเก็บเกี่ยว

Abstract

The harvest effect of supercritical fluid extraction extracts on quality of betel-leaf extracts (*Piper betle* Linn.) has been reported. A high performance liquid chromatographic (HPLC) method

***Corresponding author:** *jirada@tu.ac.th*

DOI: 10.14456/tjst.2013.20

was used for quantitative determination of allypyrocatechol (APC) and eugenol in extracts of *Piper betle* Linn. The extract from betle leaves harvested in late rainy season showed the highest amount of APC and the low amount of eugenol in contrast to those harvested in summer period. The results indicated that harvest date effected on composition of betel-leaf extracts. The water supply impact in each season could cause bioactive compound transformation in betel leaves, especially those in propenylphenol derivatives.

Keywords: *Piper betle* Linn.; allylpyrocatechol; eugenol; harvesting season

1. คำนำ

พลู (*Piper betel* Linn.) จัดอยู่ในวงศ์ Piperaceae เติบโตในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนชื้นของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ใบพลูสดพบว่ามีความชื้น 85.40 % คาร์โบไฮเดรต 6.10 % โปรตีน 3.00 % เส้นใย 2.30 % เกลือแร่และวิตามิน 2.30 % น้ำตาล 2.40 - 5.60 % แป้ง 1.00 - 1.20 % ไขมัน 0.80 % แทนนิน 1.00 - 1.30 % และน้ำมันหอมระเหย (essential oils) 0.80-1.80 % (Duke, 1985) พลูในประเทศไทยพบสารกลุ่มฟีนอลอยู่ประมาณ 0.72 - 2.40 % มีลักษณะเป็นสีน้ำตาลปนเหลืองและมีกลิ่นฉุน (วันดี, 2539)

ใบพลูมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา เช่น ต้านออกซิเดชัน (Bhattacharya *et al*., 2005) รักษาเบาหวาน (Das, 1976) ป้องกันรังสี (Dubey, 1987) ต้านแบคทีเรีย (Hwang, 1992) สารที่พบในใบพลูตัวสำคัญคืออัลลิวไพรอแคทีชอล (APC หรือ allylpyrocatechol) นั้น พบว่ามีศักยภาพในการรักษาโรคเกาท์ (Massada, 1976) มีศักยภาพในการป้องกันโรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด โดยมีฤทธิ์ต้านการอักเสบและการเกิดเกล็ดเลือด (Jeng *et al*., 2007) ออกฤทธิ์ต้านรา (Khan *et al*.,2010) ออกฤทธิ์ทำลายเซลล์ มะเร็งเม็ดเลือดขาวโดยไม่มีผลต่อเซลล์สำคัญอื่น ๆ (Bandyopadhyay *et al*., 2011) และมีรายงานว่าสารสกัดในพลูด้วยเมทานอล ออกฤทธิ์ในการยับยั้งมาเลเรีย (Adhroey *et al*.,2011)

พลูมีศักยภาพสูงที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใช้เสริมอาหารสัตว์ เพื่อลดการนำเข้าสารปฏิชีวนะ สารเร่งการเจริญเติบโต และโพรไบโอติก (probiotic) ที่ผู้จำหน่ายอาหารสัตว์รายใหญ่ใช้ผสมในอาหารสัตว์เพื่อควบคุมโรคระบาดสัตว์ และสามารถพัฒนาผลการศึกษาไปใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร ยา และเครื่องสำอาง ปัจจัยสำคัญสำหรับการผลิตสมุนไพรเข้าสู่ระดับภาคการผลิตคือการควบคุมคุณภาพ โดยต้องใช้ระบุปริมาณสารสำคัญเป็นสารที่รู้ (known compound) ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์หาสารสำคัญที่เหมาะสม อย่างไรก็ดีการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ง่ายสำหรับพืชบางชนิดและการไม่รู้ว่าโครงสร้างทางเคมีของสารที่สำคัญทำให้การใช้ลักษณะเฉพาะทางเคมี (chemical fingerprint) (Singtongratana *et al*., 2013) เป็นที่นิยมเช่นกัน

การหาปริมาณสารสำคัญสามารถทำได้หลายวิธี โดยพิจารณาเลือกใช้วิธีที่เหมาะกับสารที่ต้องการศึกษา งานวิจัยนี้ได้อาศัยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์สำคัญ ได้แก่ อัลลิวไพรอแคทีชอล (APC) และ ยูกีนอล (eugenol, Eu) จากสารสกัดใบพลู ซึ่งเป็นสารในกลุ่มโพรพานิลฟีนอล การติดตามคุณภาพของปริมาณสารสำคัญโดยวิธีการตรวจความใช้ได้ในการควบคุมคุณภาพซึ่งพัฒนาขึ้นโดย Singkhonrat (2006) เพื่อใช้ใน

การรับรองคุณภาพ ความปลอดภัย และประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์สำคัญ อีกทั้งยังไม่มีรายงานการวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับช่วงเวลาของการเก็บเกี่ยวกับปริมาณสารสำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของสารสกัด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบสารสกัดจากใบพลูกับฤดูกาลเก็บเกี่ยว (ระหว่างปี 2553 - 2555)

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 วัสดุและสารเคมี

ใบพลู (*Piper betle* Linn.) เก็บจากแหล่งปลูกในจังหวัดปทุมธานี แบ่งเป็น 3 ช่วงเวลา ได้แก่ (1) เดือนตุลาคม ปี 2553 (2) เดือนสิงหาคม ปี 2554 และ (3) เดือนกุมภาพันธ์ ปี 2555 สารมาตรฐาน 2,5 dimethylbenzoic acid 98 %, eugenol 95 %, piperine 97 % (acros organics), allylpyrocatechol เตรียมจากการแยกสารสกัดใบพลูให้บริสุทธิ์), เมทานอล (HPLC grade, Merck KGaA), deionized water (DI) เครื่องอบ (EUREKA) เครื่องระเหยสารละลาย (rotary evaporator, Buchi) เครื่องสกัดด้วยของไหลวยวดยิ่ง (supercritical fluid extraction-SFE, รุ่น 24L-SFE, Guangzhou masson New Separation Technology Co., Ltd.) เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC, Shimadzu รุ่น 20AT) เครื่องแมสสเปกโตรมิเตอร์ (mass spectrometer, Shimadzu, QP 2010 Ultra, Japan) เครื่องแมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรมิเตอร์ (nuclear magnetic resonance spectrometer, NMR, Bruker-Ultra Shield, 400 MHz, U.S.A.)

2.2 วิธีการ

2.2.1 การเตรียมใบพลู

นำตัวอย่างใบพลูสดที่มีลักษณะใบสีเขียวแก่มาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วอบให้แห้งด้วยเครื่องอบ โดยควบคุมที่อุณหภูมิ 60 ºC เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างใบพลูไปบดให้เป็นผงละเอียดด้วยเครื่องบดละเอียด (Mill Machine, Model PM1)

2.2.2 การสกัดสารสำคัญในใบพลู

การสกัดด้วยเทคนิคของไหลวยวดยิ่ง (supercritical fluid extraction-SFE) สกัด ณ สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมพัฒนาการแผนไทยและการแพทย์การเลือก กระทรวงสาธารณสุข อุทยานวิทยาศาสตร์ สวทช. สภาวะที่ใช้ในการสกัด ความดัน 9 MPa อุณหภูมิ 60 ºC

2.2.3 การวิเคราะห์สารสำคัญในใบพลู

สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเทคนิคของไหลยวดยิ่ง นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) โดยวิเคราะห์แบบ isocratic ใช้ injuction value loop ที่ 20 µl และจับสัญญาณด้วยยูวี-เวิส ดีเทคเตอร์ (UV-Vis detector) รุ่น SPD-20A สภาวะในการวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ ใช้เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในอัตราส่วนของ เมทานอล : น้ำ (70:30) อัตราการไหล (flow rate) ที่ 0.7 ml/min เวลาในการวิเคราะห์ที่ 15 min และใช้คอลัมน์ RP-C18 (HPLC Column Thermo Scientific Hypersil GOLD ขนาด 5 µm 4.6 x 250 mm) สารมาตรฐานที่ใช้ ได้แก่ 2,5 dimethylbenzoic acid (2,5-DMA) eugenol piperine และ allylpyrocatechol [APC ซึ่งได้จากการแยกจากวิธีการสกัดใบพลูด้วยสารละลายเอทิลอะซิเตดและทำการสกัดซ้ำ ๆ ด้วยเฮกเซน ทดสอบความบริสุทธิ์ด้วย HPLC พบ > 98 % (ผลตรวจสอบความใช้ได้ของเทคนิคดังแสดงในตารางที่ 1) และผลของ ^{1}H NMR (Ramji *et al.*, 2002) ของสารมาตรฐาน allylpyrocatechol (APC) ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm) : 3.24 (2H, dd, 1´-H) 5.05 (2H, dd, 3´-H) 5.95 (2H, m, 3-OH, 4-OH),

6.71 (1H, d, 6-H), 6.75 (1H, m, H-1') 6.9 (1H, dd, H-4,5), Rf = 0.43 (40 % ethyl acetate); mass spectrum ของ APC, M^+ (m/z) : 151 (M^++H, 35), 150 (M^+, 45), 133 (M^+-H_2O, 70)]

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบความใช้ได้ของเทคนิคสำหรับสารมาตรฐานรวม 4 ชนิด (chromatographic condition: RP-C18 HPLC column; mobile phase: เมทานอลต่อน้ำ (70:30); flow rate: 0.7 ml/min; detection: 280 nm

ลำดับ	สารมาตรฐาน (analyte)	กราฟมาตรฐาน (calibration curve)		LOD (mg/L)
		Concentration range (mg/L)	Correlation coefficient	
1	2,5-DMA	30 - 60	0.9998	0.5
2	APC	30 - 100	0.9994	1.0
3	Eugenol	30 - 100	0.9992	0.1
4	Piperine	30 - 80	0.9982	0.5

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัดด้วยเทคนิค HPLC

ลำดับ	ตัวอย่าง	ปริมาณสารที่พบต่อน้ำหนักตัวอย่าง (% w/w)		APC : eugenol
		APC ± SD[a]	Eugenol ± SD	
1	S_1	48.57 ± 0.00	5.66 ± 0.01	8.6 : 1.0
2	S_2	18.95 ± 0.01	4.55 ± 0.00	4.2 : 1.0
3	S_3	17.83 ± 0.01	20.94 ± 0.01	1.0 : 1.2

SD[a] = ความคลาดเคลื่อนของการวิเคราะห์ด้วย HPLC; n = จำนวนครั้งที่วิเคราะห์ (n=3)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 ปริมาณผลผลิตของผงพลูและสารสกัดจากผงพลู

3.1.1 ปริมาณผลผลิตผงพลู

ใบพลูสด หลังจากล้าง หั่น อบ และบดเป็นผงละเอียด พบว่าได้ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 10 % ของน้ำหนักใบพลูสด

3.1.2 ปริมาณผลผลิตสารสกัด

การสกัดด้วยเทคนิค SFE ซึ่งทำการสกัดตัวอย่างผงพลูแห้ง 5 กิโลกรัม ได้สารสกัดหยาบที่ความดัน 9 MPa อุณหภูมิ 60 ºC ได้ปริมาณ 436 ± 512 กรัม ผลผลิตเฉลี่ยประมาณ 8.6 % ของน้ำหนักใบพลูแห้ง โดยมีปริมาตรสารสำคัญดังแสดงในตารางที่ 2 และโครมาโตรแกรมในรูปที่ 1

3.2 ผลการวิเคราะห์สารสำคัญในตัวอย่างสารสกัดด้วยเทคนิค HPLC

3.2.1 ผลการตรวจสอบความใช้ได้ของเทคนิค

พีคของสารมาตรฐานทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ 2,5-DMA, APC eugenol และ piperine ที่ออกมา ณ t_R = 3.16 ± 0.043, 6.71 ± 0.003, 8.52 ± 0.004 และ 10.68 ± 0.016 นาที ตามลำดับ

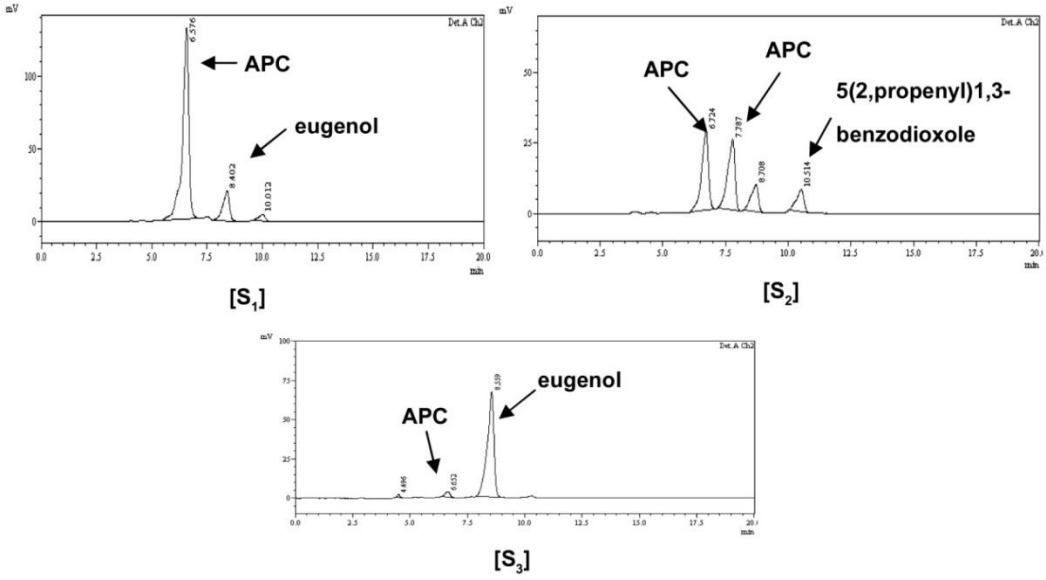
ค่าความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง (limearity, R^2) ของสารสำคัญ APC, eugenol และ

piperine ได้ R^2 = 0.9998, 0.9994, 0.9992 และ 0.9982 ตามลำดับ ผลการรายงานค่าความแม่นยำ (precision) ซึ่งวิเคราะห์ทั้งความแม่นยำของเครื่องมือ (repeatability) (n = 10) สารสำคัญทั้ง 4 ชนิด สารที่ค่า % RSD ไม่เกิน 5 ถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้ และความแม่นยำของผู้วิเคราะห์ (reproduciblity) (n = 10) พบว่า % RSD มีค่าไม่เกิน 10 ถือเป็นค่าที่ยอมรับได้ สำหรับค่าความถูกต้อง (accuracy) ซึ่งรายงานเป็นค่า % recovery พบว่า 2,5-DMA, APC, eugenol และ piperine ในตัวอย่างสารสกัดมีค่าอยู่ในช่วงที่ดี (90 – 110 %) สำหรับค่าการหาขีดจำกัดต่ำสุดในการวิเคราะห์ (LOD) อัตราส่วนของสัญญาณที่เป็น 3 เท่า ของสัญญาณรบกวน พบว่า 2,5-DMA, APC, eugenol และ piperine มีค่าปริมาตรต่ำสุดในการวิเคราะห์ในด้วยวิธีนี้อยู่ที่ 0.5, 1.0, 0.1 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ค่าการหาขีดจำกัดปริมาตรต่ำสุดของวิธี (LOQ) ได้ศึกษาอัตราส่วนของสัญญาณที่เป็น 10 เท่าของสัญญาณ รบกวน พบว่า 2,5-DMA, APC, eugenol และ piperine มีค่าปริมาตรต่ำสุดของสัญญาณรบกวนที่ 2.0, 2.0, 0.2 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

3.2.2 ผลของฤดูกาลเก็บเกี่ยวใบพลูต่อปริมาณสารสำคัญในสารสกัด

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสาร APC และ eugenol ด้วยเทคนิค HPLC พบว่าสารสกัด [S_1] ให้ปริมาณสาร APC สูงสุดที่ 48.57 % โดยน้ำหนักของ [S_1] สำหรับปริมาณของ eugenol เมื่อเปรียบเทียบใน 3 ช่วงเวลาการเก็บเกี่ยว พบว่าสารสกัดช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2555 [S_3] พบสูงสุด (20.94 % โดยน้ำหนัก [S_3]) (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 โครมาโตแกรมของสารสกัดใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงฤดูกาลต่างกัน (chromatographic condition: RP-C18 HPLC column; mobile phase: เมทานอลต่อน้ำ (70:30); flow rate: 0.7 ml/min; detection: 280 nm โดย [S_1] = ใบพลูสดเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนตุลาคม ปี 2553 (ได้รับน้ำฝนมาก) [S_2] = ใบพลูสดเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนสิงหาคม ปี 2554 (ได้รับน้ำฝนปานกลาง) และ [S_3] = ใบพลูสดเก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2555 (ช่วงหน้าแล้ง - ไม่ได้รับน้ำฝน)

ปรากฏว่าใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนตุลาคม ปี 2553 [S_1] ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่พลูได้รับปริมาณน้ำฝนมากแสดงพีคของสาร APC เด่นกว่าสารอื่น แต่ปริมาณสารนี้ลดลงในใบพลูที่เก็บเกี่ยวช่วงเดือนสิงหาคม ปี 2554 [S_2] ซึ่งพลูได้รับน้ำฝนปานกลาง และลดลงมาในสารสกัดจากใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2555 ซึ่งเป็นช่วงหน้าแล้ง นอกจากนี้ยังแสดงพีคของอีกสารหนึ่งซึ่งถูกชะออกมาที่ t_R = 10.514 นาที ซึ่งน่าจะเป็นสารที่มีขั้วต่ำสุด เนื่องจากถูกชะออกมาช้าที่สุด เมื่อพิสูจน์ด้วยการทดสอบค่าความถูกต้องพบว่าพีคนี้ไม่สามารถระบุว่าเป็น piperine

นอกจากนั้น โครมาโตแกรมของสารสกัดใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนสิงหาคม ปี 2554 ปรากฏพีคของสารอื่นเพิ่มขึ้นมาด้วย นอกเหนือจาก APC และ eugenol คือ พีคของสารที่ออกมาที่ t_R = 7.787 นาที ซึ่งเป็นสารอัลลิลไพโรแคทีชอลโมโนอะซิเตท (Ramji *et al.*, 2002) [allylpyrocatechol monoacetate: Rf = 0.44 (40 % ethyl acetate): mass spectrum ของ APC, M^+ (m/z): 193 (M^+-H, 20), 192 (M^+, 100) 150 (M^+-$COCH_3$, 45), 132 (M^+-43-H_2O, 60), 123 (M^+-43-18-CH_2=CH_2, 60), 43 (M^+-150, 96) และพีคของสารที่ออกมาที่ t_R = 10.514 นาที ได้ทดสอบว่าเป็น 5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole (Reynertson *et al.*, 2005) ด้วย ^{1}H NMR ($CDCl_3$, 400 MHz), δ (ppm) : 3.25 (2H, dd, 1´-H) 5.06 (2H, dd, 3´-H) 5.85 (2H, m, O-CH_2-O), 6.58 (1H, dd, H-4,5), 6.67 (1H, m, 2´-H), 6.72 (1H, d, 6-H) ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่ได้จากการสังเคราะห์ทางชีวภาพ (biosynthesis) ของสารสำคัญในใบพลู ในขณะที่สารสกัดจากใบพลูที่เก็บเกี่ยวในช่วงเดือนกุมภาพันธ์ ปี 2555 [S_3] ซึ่งเป็นช่วงหน้าแล้งแสดงพีคของสารที่ t_R = 4.496 นาที ในปริมาณเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้ไม่ทราบว่าเป็นสารใด แต่น่าจะเป็นสารที่มีขั้วสูงกว่า APC แต่ต่ำกว่า 2,5-DMA

4. สรุป

การเก็บใบพลูในช่วงฤดูฝนพบว่าให้ปริมาณ APC สูงกว่าฤดูอื่น ผู้วิจัยพบว่าปริมาณ APC สูงที่สุดในเดือนตุลาคม นอกจากนี้การเก็บเกี่ยวใบพลูในฤดูแล้ง มีปริมาณน้ำน้อย พบปริมาณ eugenol มากกว่าฤดูอื่น ดังนั้นสามารถเป็นข้อมูลในการเลือกเก็บใบพลูตามสารสำคัญที่สนใจหรือตามความต้องการได้ เพราะปัจจัยทางธรรมชาติกำหนดปริมาณสารสำคัญในใบพลูอย่างชัดเจน

งานวิจัยนี้ ได้พบลักษณะการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสาร APC เป็นอัลลิลไพโรแคทีชอลโมโนอะซิเตท และยูกีนอล ตามลำดับ จากฤดูฝนไปฤดูร้อน อีกทั้งยังพบสารที่น่าสนใจระหว่างการเปลี่ยนแปลงนี้ คือ 5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole (ชื่อสามัญคือ safrole) ทั้งนี้ bio-enzyme ในพลูสดอาจเป็นปัจจัยให้พบสาร 5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole นอกจากงานวิจัยนี้แล้ว มีเพียงในปี ค.ศ. 2011 ที่รายงานการพบสาร 5-(2-propenyl)-1,3-benzodioxole ในใบพลู 18.27 % โดยมวล (Sugumaran *et al.*, 2011)

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักวิจัยแห่งชาติ ผ่านมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2554

6. เอกสารอ้างอิง

วันดี กฤษณพันธ์, 2539, สมุนไพรน่ารู้, พิมพ์ครั้งที่ 2, จุฬาลงกรณหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

Adhroey, A., Abdulelah, H., Zuraimee, M.N., Hesham, M., Mekhlafi, A. and Amran, A.A., 2011, Essential oil analysis of 10

Piperaceae species from the Brazilian Atlantic forest, Phytochemistry 58: 547-551.

Bandyopadhyay, S., Chakraborty, J.B., Mahato, S.K., Joshi, K., Shinde, V. and Rakshit, S., 2011, Hydroxychavicol, a *Piper betle* leaf component, induces apoptosis of CML cells through mitochondrial reactive oxygen species-dependent JNK and endothelial nitric oxide synthase activation and overrides imatinib resistance, Japanese Cancer Assoc. 103: 88-99.

Bhattacharya, S., Subramanian, M., Bauri, A., Kamat, J.P., 2005, Radioprotecting property of the ethonolic extract of the piper betel leaf, J. Radiat. Res. 46: 165-171.

Das, P.C., 1976, Patent GB 1445599 760811 Chem. Abstracts, 86: 21786.

Dubey, P., Tripathi, S.C. and Pflanzen-krankh, Z., 1987, Combination of capillary GC, GC/MS and 13C-NMR for the characterization of the rhizome oil of *Piper betle* L. (Piperaceae) from Vietnam, Pfanzenschutz 94: 235-241.

Duke, J.A., 1985, Handbook of Medicinal Herbs: Microbiological Criteria Regulation, CRC Press, England.

Hwang, L.C., Wang, C.K., Sheu, M.J. and Kao, L.S., 1992, Phenolic compounds of *Piper betle* flower as flavoring and neuronal activity modulating agents, ACS Symp. Ser. 506: 200-208.

Jeng, J.H., Chang, M.C., Tsai, C.Y., Wu, H.L., Lin, B.R., LEE, C.S., Chen, Y.J., Chang, C.H., Tsai, Y.L. and Kao, C.J., 2007, Hydroxychavicol, a novel betel leaf component, inhibits platelet aggregation by suppression of cyclooxygenase, thromboxane production and calcium mobilization, Br. J. Pharmacol. 152: 73-82.

Khan, I.A., Ali, I., Khan, F.G., Suri, K.A., Gupta, B.D., Satti, N.K., Dutt, P., Afrin, F. and Qazi, G.N., 2010, *In vitro* antifungal activity of hydroxychavicol isolated from *Piper betle* L., Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 9: 1-9.

Massada, Y., 1976, Analysis of Essential Oil by Gas Chromatography and Mass Spectrometry, John Wiley and Sons, New York.

Ramji, N., Ramji, N., Iyer R. and Chandra-sekaran, S., 2002, Phenolic antibacterials from *Piper betle* in the prevention of halitosis, J. Ethnopharmacol. 83: 149-152.

Reynertson, K.A., Balick, M.J., Lee, R., Raynor, W., Pelep, Y. and Kennelly, E.J., 2005, A traditional method of *Cinnamomum carolinense* preparation eliminates safrole from a therapeutic Pohnpean tea, J. Ethnopharmacol. 102: 269-274.

Singkhonrat, J., 2006, Development of the chromatographic fingerprint of Thai medicineal plant for diabetics, Laos J. Appl. Sci. 1: 644-650.

Singtongratana, N., Vadhanasin, S. and Singkhonrat, J., 2013, Hydroxychavical and eugenol profiling of betel leaves from *Piper betle* L. obtained by liquid-liquid extraction and supercritical fluid extraction,

Kasetsart J. (Nat. Sci.), 47(4): 1-10.

Sugumaran, M., Suresh, G.M., Sankarna-rayanan, K., Yokesh, M., Poornima, M. and Sree, R.R., 2011 Chemical composition and antimicrobial activity of vellaikodi variety of *Piper betle* Linn. Leaf oil against dental pathogens, Int. Pharm. Technol. Res., 3: 2135-2139.