



การเปรียบเทียบสารพฤกษเคมีและความสามารถ
ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ
ของเนียมอุ้มผาง

Comparison of Phytochemicals and Antioxidant Capacities
of Ethanol Extracts from Different Parts of
Elsholtzia beddomei C.B.Clarke ex Hook. f.

อริศรา ศรีรักษา, พัทวัฒน์ สีขาว*

สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

พิษณุโลก 65000

Aritsara Sriraksa, Pattawat Seekhaw*

Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University,

Phitsanulok 65000

Received 21 September 2023; Received in revised 12 December 2023; Accepted 18 January 2024

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและเปรียบเทียบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากดอก ใบ ลำต้น และราก ของเนียมอุ้มผาง การตรวจสอบสารพฤกษเคมีพบว่าสารสกัดจากส่วนต่างๆ ทั้งหมดของพืชดังกล่าวมี ฟีนอลิก ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ไตเทอร์พีน และไตรเทอร์พีน เป็นองค์ประกอบทางเคมี การหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent และ aluminium chloride colorimetric ตามลำดับ พบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดส่วนอื่น (22.345 ± 0.491 mg GAE/g dry sample และ 52.730 ± 0.344 mg QE/g dry sample ตามลำดับ) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP การศึกษาพบว่าสารสกัดจากใบแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดด้วยวิธีการทดสอบทั้ง 3 วิธี โดยวิธี DPPH และ ABTS รายงานผลเป็นค่า IC_{50} (1.428 ± 0.302 และ 96.433 ± 11.303 μ g/mL ตามลำดับ) ส่วนการทดสอบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนด้วยวิธี FRAP รายงานผลเป็นค่า FRAP value มีค่าเท่ากับ 5.004 ± 0.108 mg FeSO₄ equivalent/g dry sample ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากใบของเนียมอุ้มผาง เป็นแหล่งของสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพ

*ผู้รับผิดชอบบทความ: pattawat.s@psru.ac.th

doi: 10.14456/tstj.2024.9

คำสำคัญ: พฤษเคมี; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; เนียมอัมผาง

ABSTRACT

The objectives of this research were to investigate and compare the phytochemical screening and antioxidant capacity of crude ethanol extracts from flowers, leaves, stems and roots of *Elsholtzia beddomei* C.B. Clarke ex Hook. f. In phytochemical screening, phenolics, saponins, flavonoids, steroids, alkaloids, anthraquinones, diterpenes and triterpenes were found as constituents in all extracts. Determination of total phenolic and flavonoid contents was done using the Folin-Ciocalteu reagent and aluminum chloride colorimetric methods, respectively. It was found that the leaf extract had the highest total phenolic and flavonoid contents (22.345 ± 0.491 mg GAE/g dry sample and 52.730 ± 0.344 mg QE/g dry sample, respectively). The antioxidant activities were investigated using DPPH, ABTS, and FRAP methods. The study found that leaf extracts had the highest antioxidant activity using all three testing methods. The DPPH method and ABTS reported the results as an IC_{50} value (1.428 ± 0.302 and 96.433 ± 11.303 μ g/mL, respectively). The reducing power was assessed for the electron-donating ability test using the FRAP method. The results were reported as a FRAP value equal to 5.004 ± 0.108 mg $FeSO_4$ equivalent/g dry sample. The results of this work indicated that the leaves of *E. beddomei* are good sources of phytochemicals and potential antioxidant activity.

Keywords: Phytochemicals; Antioxidant activity; *Elsholtzia beddomei* C. B. Clarke ex Hook. f.

1. บทนำ

ในช่วงหลายปีที่ผ่านมากระแสในเรื่องการดูแลสุขภาพของผู้คนในหลายๆ ประเทศทั่วโลกกำลังให้ความสนใจในการนำสมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรมาใช้บำรุงรักษาสุขภาพ จากรายงานวิจัยหลายฉบับพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง และโรคหัวใจ [1] สารต้านอนุมูลอิสระเป็นสารประกอบที่ยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของโมเลกุลอื่น โดยยับยั้งการเริ่มต้นหรือการแพร่กระจายของปฏิกิริยาลูกโซ่ออกซิไดซ์ สารต้านอนุมูลอิสระมีสองประเภทพื้นฐาน ได้แก่ สารสังเคราะห์และสารจากธรรมชาติ โดยทั่วไปสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างฟีนอลในระดับต่างๆ ของการแทนที่อัลคิล [2] และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่ทั่วไปในพืชผัก สมุนไพร การบริโภคอาหารที่อุดมด้วยสารประกอบโพลีฟีนอลจะสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคหลอดเลือดสมอง และมะเร็งบางชนิด [3] สารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งฟลาโวนอยด์ แสดงผลทางชีวภาพที่หลากหลาย อาทิเช่นฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ ต้านการแข็งตัวของเลือด การขยายหลอดเลือด และต้านอนุมูลอิสระ เป็นต้น โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจัดเป็นคุณสมบัติพื้นฐานที่สำคัญต่อชีวิต มีหน้าที่ทางชีววิทยาหลายอย่าง เช่น การต่อต้านการกลายพันธุ์ การต่อต้านสารก่อมะเร็ง และการต่อต้านความเป็นพิษ เป็นต้น [4, 5] สารต้านอนุมูลอิสระมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ การลดไอออนของโลหะ และการป้องกันหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ในการประมาณคุณค่าคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระมักจะใช้วิธีหนึ่งหรือสองวิธีซึ่งไม่ได้แสดงลักษณะของสารต้านอนุมูลอิสระที่แท้จริงของสารประกอบหรือกลุ่มสารประกอบที่ตรวจสอบเสมอไป [6]

เนียมอัมผาง (*Elsholtzia beddomei* C. B. Clarke ex Hook. f.) อยู่ในวงศ์กะเพรา (*Lamiaceae*) เป็นไม้พุ่มสูงประมาณ 1-1.7 m มีกลิ่นฉุนเฉพาะตัว ลำต้นตั้งตรง มีขนปกคลุมทั้งลำต้น ใบ ก้านช่อดอก และกลีบเลี้ยง ใบเดี่ยวออกตรงกันข้าม ใบรูปยาวรี ขนาดประมาณ 5-10 x 1-2 cm ปลายใบมน ขอบใบหยักมน ฐานใบเรียวสอบ ดอกออกเป็นช่อบริเวณปลายกิ่งหรือซอกใบ ช่อดอกยาวประมาณ 15-20 cm ดอกย่อยขนาดเล็ก 2-3 mm กลีบเลี้ยง 5 กลีบเชื่อม กลีบดอกสีขาว 5 กลีบเชื่อม เกสรเพศผู้ 4 อัน ติดอยู่ด้านในกลีบดอก ยอดเกสรเพศเมียแบ่งเป็น 2 คาร์เพล พืชชนิดนี้พบกระจายพันธุ์ในพม่าและเขตภาคเหนือของประเทศไทย (ตาก) มักพบบริเวณพื้นที่ป่าเปิดโล่ง ที่ระดับความสูงจากน้ำทะเล 800-900 m ออกดอกในช่วงเดือนพฤศจิกายน-มีนาคม [7] น้ำมันหอมระเหยจากส่วนเหนือดิน (aerial parts) ของเนียมอัมผางซึ่งใช้วิธีการกลั่นด้วยน้ำ ประกอบด้วย linalool (83.67%), perillaldehyde (4.68%), neral (3.68%), perillene (1.65%), E-caryophyllene (1.55%), และ α -zingiberene (1.06%) แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 148.31 และ 172.22 $\mu\text{L/ml}$ และยังพบว่ามีฤทธิ์ต้านจุลชีพ *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* และ *Candida Albicans* โดยมีค่า MIC อยู่ในช่วง 31.25-250.00 $\mu\text{L/ml}$ [8] จากข้อมูลที่ได้กล่าวมาข้างต้นคณะผู้วิจัยจึงได้นำเนียมอัมผางที่เก็บตัวอย่างมาจากอำเภอมัญจาคีรี จังหวัดขอนแก่น มาทำการศึกษาเบื้องต้นพบว่ามีการพบสารฟลักซ์เคมีที่สำคัญหลายชนิด อีกทั้งยังแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ดังนั้นจึงสนใจที่จะศึกษาเปรียบเทียบสารสำคัญทางฟลักซ์เคมี ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากส่วนต่างๆ ของเนียมอัมผาง (ดอก ใบ ลำต้น และราก) เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพต่อไปในอนาคต

2. วิธีการวิจัย

2.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างเนื้อมัสมังจากพื้นที่อำเภอมัสมัง จังหวัดตาก ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2565 และทำการพิสูจน์เอกลักษณ์พืชโดยผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา รัตนพคุณ และเก็บรักษาตัวอย่างไว้ ณ ห้องเก็บรวบรวมตัวอย่างพรรณไม้ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรสุพรรณบุรี (Voucher specimen No. PSRU1142)

2.2 การเตรียมสารสกัดหยาบเนื้อมัสมัง

นำตัวอย่างเนื้อมัสมัง มาแยกออกเป็น ส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ดอก ใบ ลำต้น และราก ล้างทำความสะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนกระทั่งแห้ง และบดให้เป็นผงละเอียด จากนั้นนำส่วนต่าง ๆ ดังกล่าวอย่างละ 20 กรัม มาสกัดด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 วัน กรองสารละลายแต่ละตัวอย่าง นำสารละลายไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบลดความดัน (Rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบและเก็บในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

2.3 การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพิษเคมีเบื้องต้นจากสารสกัดหยาบเอทานอลของดอก ใบ ลำต้น และรากของเนื้อมัสมัง โดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน ประกอบด้วย 9 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ ไกลโคไซด์ แอนทราควิโนน ไคเทอร์พีน และไตรเทอร์พีน [9] โดยมีขั้นตอนดังนี้

2.3.1 การตรวจสอบหาฟีนอลิก

ซึ่งสารสกัด 5 mg ละลายด้วยเอทานอล 1 mL และเติมสารละลาย 5% เฟอริกคลอไรด์ 3-4 หยด หากเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงินหรือสีดำแสดงว่าพบฟีนอลิก

2.3.2 การตรวจสอบซาโปนิน

ซึ่งสารสกัด 5 mg ละลายด้วยเอทานอล 1 mL นำไปอุ่น เติมน้ำกลั่น 2 mL เขย่า หากมีฟองเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องแสดงว่าพบซาโปนิน

2.3.3 การตรวจสอบฟลาโวนอยด์ ทำการทดสอบ 2 วิธี ได้แก่

- การตรวจสอบด้วยน้ำยาอัลคาไลน์

ซึ่งสารสกัด 5 mg ละลายด้วยเอทานอล 1 mL เติมน้ำกลั่น 10% w/v โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2-3 หยด หากเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้มแสดงว่าพบสารฟลาโวนอยด์

- การตรวจสอบด้วยเลดอะซิเตท

ซึ่งสารสกัด 5 mg ละลายด้วยเอทานอล 1 mL เติมน้ำกลั่น 10% w/v เลดอะซิเตท 2-3 หยด หากเกิดตะกอนสีขาวหรือสีเหลืองแสดงว่าพบสารฟลาโวนอยด์

2.3.4 การตรวจสอบสเตียรอยด์

ซึ่งสารสกัด 1 mg เติมน้ำกลั่น 1 mL ค่อย ๆ เขย่า แล้วเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 mL หากเกิดสีแดงในชั้นด้านล่างแสดงว่าพบสเตียรอยด์

2.3.5 การตรวจสอบอัลคาลอยด์

ซึ่งสารสกัด 5 mg ละลายด้วยเอทานอล 1 mL เติมน้ำกลั่นผสม Wagner's 2-3 หยด หากเกิดตะกอนสีน้ำตาลแสดงว่ามีอัลคาลอยด์

2.3.6 การตรวจสอบไกลโคไซด์

ซึ่งสารสกัด 0.5 g เติมน้ำกลั่น 5 mL เติมน้ำกลั่น 2 mL และเติม 5% เฟอริกคลอไรด์ 2-3 หยด และค่อย ๆ เติมน้ำกลั่นฟิวริกเข้มข้น 1 mL ที่ข้างหลอดทดลอง หากเกิดวงแหวนสีน้ำตาลตรงกลางหรืออาจมีวงแหวนสีม่วงปรากฏใต้วงแหวนสีน้ำตาลแสดงว่าพบไกลโคไซด์

2.3.7 การตรวจสอบแอนทราควิโนน

ชั่งสารสกัด 100 mg เติมน้ำกลั่น 5 mL เขย่าและกรอง เติมน้ำ 10% v/v แอมโมเนีย 2 mL หากชั้นแอมโมเนียมีสีส้ม แดง ชมพู และเหลืองส้มแสดงว่าพบอนุพันธ์ของแอนทราควิโนน

2.3.8 การตรวจสอบไดเทอร์พีน

ชั่งสารสกัด 100 mg เติมน้ำกลั่น 5 mL อุณหภูมิ 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น กรองสารละลาย และเติมน้ำกลั่น 10% w/v คอปเปอร์อะซิเตต หากสารละลายเกิดสีเขียว มรกตแสดงว่าพบไดเทอร์พีน

2.3.9 การตรวจสอบไตรเทอร์พีน

ชั่งสารสกัด 100 mg เติมน้ำกลั่น 5 mL เขย่าแล้วกรอง ค่อย ๆ เติมน้ำกลั่น 10% v/v 2-3 นาที หากสารละลายชั้นล่างปรากฏสีน้ำตาล แสดงว่าพบไตรเทอร์พีน

2.4 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม (Total Phenolic Content, TPC)

การหาปริมาณฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent [10] โดยใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน นำสารละลายตัวอย่าง (0.1 mg/mL) ใส่ลงใน 96 well plate 12.5 μ L เติมน้ำกลั่น 12.5 μ L และ Folin-Ciocalteu reagent 12.5 μ L ทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 μ L ตามด้วย 7.5% w/v โซเดียมคาร์บอเนต 125 μ L เขย่าและทิ้งไว้ 90 นาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 760 nm นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก แสดงค่าในหน่วย mg Gallic Acid Equivalent (GAE)/g dry sample ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n=3) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm$ S.D.)

2.5 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total Flavonoid Content, TFC)

การหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี aluminium chloride colorimetric [11] โดยใช้เคออลิตินเป็นสารมาตรฐาน นำสารละลายตัวอย่าง (0.1 mg/mL) ใส่ลงใน 96 well plate 125 μ L เติมน้ำกลั่น 5% w/v โซเดียมไนไตรต์ 12.5 μ L ทิ้งไว้ 5 นาที และเติมน้ำกลั่น 10% w/v อะลูมิเนียมคลอไรด์ 37.5 μ L เขย่าให้เข้ากัน ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 510 nm และนำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับกราฟมาตรฐานในหน่วย mg Quercetin Equivalent (QE)/g dry sample ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n=3) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm$ S.D.)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [12] เตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้น (0.1 mg/mL) ทำการเจือจางสารละลายในความเข้มข้นที่เหมาะสม นำสารละลายตัวอย่าง 100 μ L ใส่ลงใน 96 well plate และเติมน้ำกลั่น 0.2 mM DPPH 100 μ L ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 517 nm นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

% Radical scavenging =

$$[(A \text{ control} - A \text{ sample}) / A \text{ control}] \times 100$$

เมื่อ A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย DPPH (ไม่ผสมสารตัวอย่าง)

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย DPPH กับสารตัวอย่าง

สร้างกราฟเพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ต่างกัน เพื่อคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ($n=3$) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm S.D.$)

2.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS

การตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS) [13] เตรียมสารละลายตัวอย่างเริ่มต้น (0.1 mg/mL) ทำการเจือจางสารละลายในความเข้มข้นที่เหมาะสม เตรียมสารละลาย ABTS⁺ (7 mM ABTS 4 mL กับ 2.4 mM Potassium Persulfate 6 mL) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง เจือจางสารละลาย ABTS⁺ : เอทานอล (8:12) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในช่วง 0.7-0.71 ที่ความยาวคลื่น 734 nm เติมสารละลายตัวอย่าง 20 μ L ใส่ลงใน 96 well plate เติมสารละลาย ABTS⁺ 180 μ L ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 6 นาที ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลท รีดเดอร์ (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 734 nm จากนั้นนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณหาการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) โดยใช้สูตรในการคำนวณ ดังนี้

$$ABTS \text{ scavenging activity (\%)} = \frac{(A_0 - A_1) / A_0}{\times 100}$$

เมื่อ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารละลาย ABTS (ไม่ผสมสารตัวอย่าง)

A_1 คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ของสารผสมระหว่างสารละลาย ABTS กับสารตัวอย่าง

สร้างกราฟมาตรฐานหาความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Radical Scavenging) และความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ต่างกัน เพื่อคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ($n=3$) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm S.D.$)

2.8 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

การตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) [14] เตรียมสารละลายตัวอย่าง (0.01 mg/mL) จากนั้นเตรียมสารละลาย FRAP reagent (300 mM Acetate buffer pH 3.6, 20 mM Ferric chloride, 10 mM TPTZ in 40 mM HCl (10:1:1) ตามลำดับ เติมสารละลายตัวอย่าง 20 μ L ใส่ลงใน 96 well plate เติม FRAP reagent 180 μ L เขย่าและตั้งทิ้งไว้ 6 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลท รีดเดอร์ (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 593 nm นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณของเฟอร์รัสรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต โดยแสดงค่าในหน่วย mg FeSO₄ equivalent/g dry sample ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ($n=3$) และนำมาผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($\pm S.D.$)

2.9 การวิเคราะห์ผลข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากส่วนต่าง ๆ ของเนื้อมังคุดทั้งหมดทำการทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง ($n=3$) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) ด้วยวิธีทดสอบ post-hoc test โดย Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\text{-value} < 0.05$)

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดหยาบเนื้อมั้ผาง

นำดอก ใบ ลำต้น และรากของเนื้อมั้ผาง อย่างละ 20 g นำมาสกัดด้วย 95% เอทานอล เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จะได้สารสกัดหยาบเอทานอลและสามารถคำนวณร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบแต่ละ ส่วนของเนื้อมั้ผาง [%Yield = (น้ำหนักสารสกัดหยาบ (g)/น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (g)) x 100] (Table 1)

3.2 ผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น

การตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากดอก ใบ ลำต้น และรากของเนื้อมั้ผางพบกลุ่มสารพฤกษเคมีจำนวน 8 ชนิด คือ ฟีนอลิก ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ไคเทอร์พีน และไตรเทอร์พีน แต่ไม่พบ ไกลโคไซด์ (Table 2)

Table 1 Crude ethanol extracts of flowers, leaves, stems and roots of *E. beddomei*.

<i>E. beddomei</i>	Characteristics of crude extract	Mass (g)	Yield percentages (%)
Flowers	Dark green sticky	3.42	17.10
Leaves	Dark green sticky	2.50	12.54
Stems	green solid	1.25	6.25
Roots	green solid	0.42	2.11

Table 2 Phytochemicals screening crude extracts of different part from *E. beddomei*.

Phytochemicals		Test results			
		Flowers	leaves	Stems	Roots
Phenolics		+	+	+	+
Saponins		+	+	+	+
Flavonoids	- Alkaline reagent	+	+	+	+
	- Lead acetate	+	+	+	+
Steroids		+	+	+	+
Alkaloids		+	+	+	+
Glycosides		-	-	-	-
Anthraquinones		+	+	+	+
Diterpenes		+	+	+	+
Triterpenes		+	+	+	+

Remark + indicates presence; - indicates absence.

3.3 ผลการตรวจหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม (Total Phenolic Content, TPC และ Total Flavonoid Content, TFC)

การตรวจหาปริมาณฟีนอลิกรวมของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของเนื้อมัสมัง สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 4.3442x + 0.2282$, $R^2 = 0.998$) ซึ่งรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/น้ำหนักตัวอย่างแห้ง 1 g ส่วนการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานเคอซีติน ($y = 1.7194x + 0.1268$, $R^2 = 0.999$) ซึ่งรายงานเป็นมิลลิกรัมสมมูลของเคอซีติน/น้ำหนักตัวอย่างแห้ง 1 g (Table 3)

3.4 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP

การทดสอบคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบเอทานอลจากดอก ใบ ลำต้น และรากของเนื้อมัสมัง ด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP พบว่าสารสกัดหยาบทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน โดยวิธี DPPH และ ABTS รายงานผลเป็นค่า IC_{50} ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริก รายงานผล

ในรูปของค่าสมมูล Fe^{2+} ต่อน้ำหนักสารสกัดแห้ง 1 g (FRAP value) ผลการทดสอบ (Table 3)

จากผลการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบเอทานอลจากส่วนต่าง ๆ ของเนื้อมัสมัง (ดอก ใบ ลำต้น และราก) ใช้วิธีการทดสอบโดยอาศัยปฏิกิริยาการเกิดสีหรือตะกอน พบสารสำคัญ 8 กลุ่ม ได้แก่ ฟีนอลิก ซาโปนิน ฟลาโวนอยด์ สเตียรอยด์ อัลคาลอยด์ แอนทราควิโนน ไตเทอร์พีน และไตรเทอร์พีน ซึ่งสารกลุ่มเหล่านี้จัดเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ โดยเฉพาะกลุ่มฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นโมเลกุลโพลีฟีนอลที่ละลายน้ำได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านการก่อกลายพันธุ์ ต้านเชื้อแบคทีเรีย เชื้อรา และไวรัส และยังมีคุณสมบัติทางชีวภาพมากมายที่ส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ และช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรค [15, 16] นอกจากนี้ฟลาโวนอยด์ที่พบในผลไม้ ผัก ถั่ว และธัญพืชยังมีหน้าที่ช่วยขยายการทำงานของวิตามินซี ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ปกป้องคอเลสเตอรอล LDL จากการออกซิเดชันไปสู่คอเลสเตอรอลออกไซด์ที่ไม่ปลอดภัยยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด และมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ และต้านเนื้องอก [17] กลุ่มสารซาโปนินจากพืช

Table 3 Phytochemical contents and antioxidant activity of DPPH, ABTS and FRAP methods.

Crude extracts	Phytochemical contents		Antioxidant activities		
	TPC (mg GAE/g dry sample)	TFC (mg QE/g dry sample)	IC_{50} of DPPH (μ g/ml)	IC_{50} of ABTS (μ g/ml)	FRAP value (mg $FeSO_4$ equivalent/g dry sample)
Flowers	15.330 $\pm$ 0.284 ^c	26.901 $\pm$ 0.151 ^c	4.71 $\pm$ 0.75 ^a	231.13 $\pm$ 4.57 ^b	1.76 $\pm$ 0.07 ^c
Leaves	22.345 $\pm$ 0.491 ^d	52.730 $\pm$ 0.344 ^d	1.42 $\pm$ 0.30 ^a	96.43 $\pm$ 11.30 ^a	5.00 $\pm$ 0.10 ^d
Stems	4.202 $\pm$ 0.036 ^b	4.320 $\pm$ 0.091 ^b	5.79 $\pm$ 0.40 ^a	288.06 $\pm$ 12.22 ^c	0.53 $\pm$ 0.02 ^b
Roots	1.092 $\pm$ 0.016 ^a	0.584 $\pm$ 0.018 ^a	21.54 $\pm$ 3.69 ^b	548.01 $\pm$ 18.69 ^d	0.05 $\pm$ 0.01 ^a

Remarks IC_{50} of L-Ascorbic Acid (Vitamin C) Standard solution with DPPH and ABTS methods (1.137 $\pm$ 0.158 and 24.938 $\pm$ 0.762 μ g/mL, respectively).

Values are presented as mean $\pm$ SD (n=3), different letters (a-d) indicate statistically significant differences ($p < 0.05$).

สมุนไพรที่มักนำมาทำเป็นยา มีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ขับเสมหะ การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การป้องกันหลอดเลือด ด้านการอักเสบ ภาวะโคเลสเตอรอลต่ำ ภาวะน้ำตาลในเลือดต่ำ ด้านเชื้อรา และกิจกรรมต่อต้านปรสิต [18] [19] สำหรับสารกลุ่มเทอร์พีน ไตรเทอร์พีน ที่พบในพืชสีเขียวมีบทบาทในการทำงานของฮอร์โมนและการควบคุมการเจริญเติบโต (วิตามินเอ) ในร่างกายมนุษย์ [20] จากการรายงานของ [21] พบว่าสารในกลุ่มแอนทราควิโนนมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อมาลาเรีย และเชื้อรา ในสารกลุ่มอัลคาลอยด์มีการรายงานว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งไวรัสประเภทต่าง ๆ เช่น ไวรัสไข้หวัดใหญ่ ไวรัสเริม ไวรัสภูมิคุ้มกันบกพร่องของมนุษย์ และไวรัสตับอักเสบซี [22] พืชหลายชนิดที่ตรวจพบสารฟลักซ์เคมีที่แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพมักจะพบในพืชกลุ่มสมุนไพรหรือพืชที่มีสีเขียว เช่นเดียวกับเนียมอัมผางที่จัดเป็นสมุนไพรเนื่องจากอยู่ในวงศ์เดียวกันกับกลุ่มกะเพรา ผลการหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมจากสารสกัดหยาบส่วนต่าง ๆ ของเนียมอัมผาง พบว่าสารสกัดหยาบจากใบมีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ดอก ลำต้น และราก ตามลำดับ (22.345 ± 0.491 , 15.330 ± 0.284 , 4.203 ± 0.036 และ 1.093 ± 0.016 mg GAE/g dry sample ตามลำดับ) ส่วนการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่ามีสารสกัดหยาบจากใบมีปริมาณสูงที่สุดเช่นกัน รองลงมาได้แก่ ดอก ลำต้น และราก ตามลำดับ (52.730 ± 0.344 , 26.901 ± 0.151 , 4.320 ± 0.091 และ 0.584 ± 0.018 mg QE/g dry sample ตามลำดับ) ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี (DPPH, ABTS และ FRAP) ซึ่งเป็นวิธีที่นำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากพืชเนื่องจากให้ผลลัพธ์ที่รวดเร็วและทำการทดสอบซ้ำได้เพื่อให้ได้ค่าการแสดงผลที่แม่นยำ [23] ผลการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากใบแสดงฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ดอก ลำต้น และราก ตามลำดับ (IC_{50} เท่ากับ

1.428 ± 0.302 , 4.714 ± 0.757 , 5.793 ± 0.409 และ 21.548 ± 3.692 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ) การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS พบว่าสารสกัดจากใบแสดงฤทธิ์ดีที่สุด รองลงมาได้แก่ ดอก ลำต้น และราก ตามลำดับ (IC_{50} เท่ากับ 96.433 ± 11.303 , 234.133 ± 4.574 , 288.067 ± 12.221 และ 548.103 ± 18.691 $\mu\text{g/mL}$ ตามลำดับ) ในการทดสอบด้วยวิธี DPPH และ ABTS จัดเป็นอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียร ทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว [24] ส่วนการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าสารสกัดจากใบมีความสามารถในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระให้อยู่ในสถานะเสถียรที่สุด รองลงมาได้แก่ ดอก ลำต้น และราก ตามลำดับ (FRAP value = 5.004 ± 0.108 , 1.764 ± 0.079 , 0.537 ± 0.027 และ 0.053 ± 0.006 mg FeSO_4 equivalent/g dry sample ตามลำดับ) สอดคล้องกับรายงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่มีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยจาก เนียมอัมผางพบว่า เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ ถึงแม้ว่าวิธีการสกัดและการใช้ตัวทำละลายในการสกัดจะมีความแตกต่างกันกับการศึกษาในครั้งนี้ก็ตาม [8] และจากผลการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของทั้ง 3 วิธี ได้ผลที่สอดคล้องและเป็นไปในทิศทางเดียวกันว่าสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด รวมถึงพบว่ามีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดอีกด้วยเช่นกัน ทำให้เห็นแนวโน้มความสัมพันธ์เชิงบวกของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่พบว่าเมื่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น ปริมาณฟีนอลิกและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมก็เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน [25-29] และค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมรวมถึงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดของส่วนต่าง ๆ (ดอก ใบ ลำต้น และราก) ของเนียมอัมผางมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. สรุปผล

จากผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลจากส่วนต่างๆ ของเนื้อมัสมัง (ดอก ใบ ลำต้น และราก) พบว่าสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดทั้งวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และยังมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุดด้วยเช่นกัน ดังนั้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากใบเนื้อมัสมังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่จะสามารถนำไปต่อยอดเพื่อสร้างมูลค่าเชิงพาณิชย์ได้ต่อไปในอนาคต

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณกองทุนอุดหนุนการวิจัยและนวัตกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ประเภททุนวิจัยและนวัตกรรมสำหรับนักศึกษาและบัณฑิตศึกษา (ระดับปริญญาตรี) ประจำปีงบประมาณ 2566 สาขาวิชาเคมี และศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ทำการวิจัยในการทดลองครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

6. References

- [1] Chew, Y.L., Lim, Y.Y., Omar, M. and Khoo, K.S., 2008, Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia, *J. Food Sci. Technol.* 41(6): 1067-1072.
- [2] Larson, R. A., 1988, The antioxidants of higher plants, *Phytochemistry*. 27(4): 969-978.
- [3] Klimczak, I., Małeczka, M., Szlachta, M. and Gliszczyńska-Świątło, A., 2007, Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices, *J. Food Compost. Anal.* 20(3-4): 313-322.
- [4] Cook, N.C., and Samman, S., 1996, Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, *J. Nutr. Biochem.* 7(2): 66-76.
- [5] Abitha, J., 2016, Role of antioxidants, anti-carcinogens and anti-mutagens, *DJ JECF*, 1(3): 8-16.
- [6] Olszowy, M. and Dawidowicz, A. L., 2016, Essential oils as antioxidants: their evaluation by DPPH, ABTS, FRAP, CUPRAC, and β -carotene bleaching methods, *Monatsh. Chem.* 147: 2083-2091.
- [7] Bongcheewin, B., Chantaranothai, P., Paton, A., 2008, Two new records of *Elsholtzia* Willd. (Lamiaceae) for Thailand, *TNH. J. of Chulalongkorn University*. 8(1): 1-5.
- [8] Teerapong, S., Sarunpron, K., Rawiwan, C., Jantrararuk, T. and Patcharee, P., 2022, Chemical composition, antioxidant, and antimicrobial activity of *Elsholtzia beddomei* C. B. Clarke ex Hook. f. essential oil, *Sci. Rep.* 12: 2225.
- [9] Shaikh, J.R. and Patil, M.K., 2020, Qualitative tests for preliminary phytochemical screening, *Int. J. Chem. Stud.* 8(2): 603-608.
- [10] Majhenic, L., Kerget, M.S. and Knez, Z., 2007, Antioxidant and antimicrobial activity of Guarana seed extracts, *Food Chem.* 104(3): 1258-1268.
- [11] Maninder, K., Bavita, A. and Gulshan, M., 2017, Variation in antioxidants, bioactive

- compounds and antioxidant capacity in germinated and ungerminated grains of ten rice cultivars, *Rice Sci.* 24(6): 349-359.
- [12] Vorarat, S., Managi, C., Iamthanakul, T.L., Soparat, W. and Kamkean, N., 2010, Examination of antioxidant activity and development of rice bran oil and gamma-oryzanol microemulsion, *J. Health Res.* 24(2): 67-72.
- [13] Yuehan, P., Sulaiman, A., Yanjie, X., Trust, B., Zhiwei, Z., Yafang, S. and Jinsong, B., 2018, Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice, *Food Chem.* 240(1): 212-221.
- [14] Benzie, I.F.F. and Strain, J.J., 1996, The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power" The FRAP assay, *Anal. Biochem.* 239(1): 70-76.
- [15] Liang, L., Qian, G., Zhenyang Z. and Xianwen, Z. 2022, *Elsholtzia rugulosa*: phytochemical profile and antioxidant, anti-Alzheimer's disease, antidiabetic, antibacterial, cytotoxic and hepatoprotective activities, *Plant Foods Hum. Nutr.* 77: 62-67.
- [16] Akhtar, S., Ismail, T., Fraternal, D. and Sestili, P., 2015, Pomegranate peel and peel extracts: Chemistry and food features, *Food Chem.* 174: 417-425.
- [17] Winston, C., 1997, Phytochemicals: Guardians of our health, *J. Am. Diet. Assoc.* 97(10): 199-204.
- [18] Vadivel, V., Mahadevan, V. and Brindha, P., 2016, *In vitro* antioxidant and anti-inflammatory activities of aqueous extract of an ayurvedic formulation *Dasamula* and its herbal ingredients, *Int. J. Green Pharm.* 10(4): 211-218.
- [19] Senguttuvan, J. and Subramaniam, P., 2016, HPTLC fingerprints of various secondary metabolites in the traditional medicinal herb *Hypochoeris radicata* L., *J. Bot.* (1): 1-11.
- [20] Dillard, C.J. and German, J. B., 2000, Phytochemicals: nutraceuticals and human health, *J. Sci. Food Agric.* 80(12): 1744-1756.
- [21] Kanokmedhakul, S. and Phatchana, R., 2005, Biological activity of anthraquinones and triterpenoids from *Prismatomeris fragrans*, *J. Ethnopharmacol.* 100(3): 284-288.
- [22] Mohammad, M.B., Sajad, F., Gholamreza, B., Maryam, N., Mohammad, F.H. and Javier E., 2021, Alkaloids as potential phytochemicals against SARS-CoV-2: approaches to the associated pivotal mechanisms, *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021: 1-21.
- [23] Stéphanie, D., Xavier, V., Philippe, C., Marion, W. and Michel, J. M., 2009, Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays *J. Agric. Food Chem.* 57(5): 1768-1774.
- [24] Ahmad, R., Ali, A.M., Israf, D.A., Ismail, N.H., Shaari, K. and Lajis, N.H. 2005, Antioxidant,

- radical-scavenging, anti-inflammatory, cytotoxic and anti-bacterial activities of methanolic extracts of some *Hedyotis* species, Life Sci. 76: 1953-1964.
- [25] Suwadee, P., Piyanee, R., Udomlak, M. and Weerasak, U., 2019, Anti-oxidant activity, phenolic and flavonoid constituents of crude extracts from *Piper ribesioides* and *Zanthoxylum limonella* traditional herbal medicine in Northern R. J. RMUTT. 18(1): 1686-8420. (in Thai)
- [26] Silpi, C., Sayeed, A. and Kuldeep, S., 2014, Comparison of in vitro antioxidant potential of fractioned *Paederia Foetida* leaf extract. Int. J. Drug Dev. Res. 6(2): 105-109.
- [27] Elzaawely, A.A., Xuan, T.D., Koyama, H. and Tawata, S., 2007, Antioxidant activity and contents of essential oil and phenolic compounds in flowers and seeds of *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burt. & R.M. Sm., Food Chem. 104: 1648-1653.
- [28] Pattawat, S., Renuka, C., Panitan, S., Satit, C. and Naruemol, T., 2020, Evaluation of phytochemical screening, antioxidant and antimicrobial activities from ethanolic extracts of the *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. Fruits R. J. RMUTT. 19(1): 1686-8420. (in Thai)
- [29] Yan, S.W. and Asmah, R. 2010, Comparison of total phenolic contents and antioxidant activities of turmeric leaf, pandan leaf and torch ginger flower, Int. Food Res. J. 17: 417-23.