ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากใบสิบสองราศี

Antioxidant Activity and Total Phenolics of Launaea sarmentosa Leaves Crude Extracts

วัชราภรณ์ ประภาสะโนบล และ สุนันทา แก้วสระแสน
หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี เมืองเพชรบุรี 76000

บทคัดย่อ

สิบสองราศี (*Launaea sarmentosa* (Willd) Sch.Bip.ex.Kuntze) เป็นพืชในวงศ์ Compositae พบที่บริเวณชายฝั่งใกล้ทะเลที่มีสภาพชื้นในท้องถิ่นวัดเขาตะเครา ตำบลบางครก อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี และพบว่ายังไม่เคยมีการรายงานสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกในพืชชนิดนี้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ของใบสิบสองราศีด้วยวิธี DPPH จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดเอทานอลและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบสิบสองราศีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.397 และ 1.390 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดทั้งสองชนิดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu phenol test จากผลการศึกษาพบว่า ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกคิดเป็นร้อยละของสารสกัดเอทานอล และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีค่าเท่ากับ 33.684 และ 2.382 มิลลิกรัมกรดแกลลิค ตามลำดับ

คำสำคัญ: สิบสองราศี สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิกทั้งหมด

Abstract

Launaea sarmentosa (Willd) Sch.Bip.ex.Kuntze (Compositae) is Thai medicinal plant, which is distributed in Phetchaburi province. This plant was collected from Bangkrok sub-district of Phetchaburi province. There were no reports data about the antioxidation activity of phenolic compounds in the plant *L. sarmentosa.* The aim of this work was to investigate antioxidation activity of ethanol and petroleum ether crude extracts of the leaves of *L. sarmentosa* by using DPPH method. The results showed that ethanol and petroleum ether crude extracts exhibited antioxidation activity with IC_{50} values of 0.397 and 1.390 mg/mL, respectively. In addition, the total phenolic content was also evaluated by using Folin-Ciocalteu phenol test method. The results showed that the percentage of phenolic content of ethanol and petroleum ether crude extract were 33.684 and 2.382 mg GAE/100 g DW, respectively.

Keywords: *Launaea sarmentosa,* antioxidant activity, total phenolic content

บทนำ

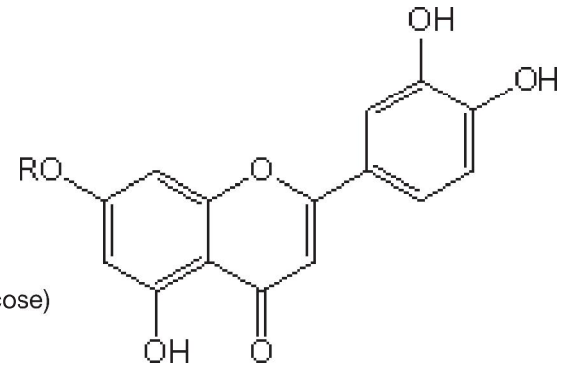
สิบสองราศีมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Launaea sarmentosa* (Willd) Sch.Bip.ex.Kuntze วงศ์ Compositae ในประเทศไทยพบได้ 3 ชนิด คือ *L.acaulis*, *L.sarmentosa* และ *L.asplenifolia* [1] มีชื่อสามัญว่าสิบสองราศีหรือผักลิ้นห่าน มีลักษณะอยู่ในประเภทเดียวกับเบญจมาศ เป็นพืชล้มลุก เป็นเถาเลื้อยติดดิน มีใบรอบลำต้น ใบยื่นยาวคล้ายลิ้น รอบขอบใบหยัก ปลายใบโค้ง ใน 1 ต้นมีหลายใบ โดยจะแตกต้นอ่อนออกจากเถา ซึ่งยื่นออกไป ระหว่างเถาจะมีใบห่างวางเป็นคู่ ใบยาวประมาณ 20-25 เซนติเมตร มีสีเขียวชีด ฐานใบแคบคล้ายเป็นก้าน แต่ปลายแผ่ป้านออก ดอกสีเหลือง ก้านดอกยาวประมาณ 3-5 เซนติเมตร กลีบดอกเป็นแฉก 8-10 กลีบ ดอกคล้ายกระดุมทอง (Figure 1) สภาพแวดล้อม สภาพอากาศที่เหมาะสมคืออากาศชื้น พบบริเวณชายฝั่งใกล้ทะเล สรรพคุณแก้ปวดร้อน แก้เจ็บคอ แผลในช่องปาก ฝี แผลเปื่อย ไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แผลอักเสบเป็นหนอง [2]

(a)

(b)

Figure 1. *Launaea sarmentosa* (Willd) Sch.Bip.ex.Kuntze (a) leaves and (b) flowers.

สิบสองราศี เป็นสมุนไพรที่ชาวบ้านในท้องถิ่นวัดเขาตะเครา ตำบลบางครก อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี ใช้ใบสดรักษาแผลหลายชนิดที่เกิดกับผิวหนัง ทั้งแผลที่เกิดจากอาการคัน แผลสด แผลเน่าเปื่อย แผลอักเสบเป็นหนอง แผลผุพอง เริม งูสวัด เพื่อรักษาอาการปวดแสบปวดร้อนลดอาการบวมและอักเสบได้เป็นอย่างดี [3] จากการตรวจสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นจากใบสิบสองราศีแห้งโดยนำสารสกัดเมทานอลมาทดสอบพบว่า มีสารประกอบกลุ่มแอลคาลอยด์ สเตอรอยด์ ฟลาโวนอยด์ และแทนนิน [4] ต่อมามีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีโดยสามารถแยกสารที่เคยมีรายงานมาแล้ว 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสเตอรอยด์ คือสารผสมสเตอรอยด์ (β-sitosterol และ stigmasterol) กลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ luteolin จากสารสกัดเอทิลอะซิเตทและสารสกัดเมทานอล และพบสารกลุ่มกลัยโคไซด์ 1 ชนิดคือ luteolin-7-*O*-glucoside (Figure 2) [5]



Luteolin (R = H)
Luteolin-7-O-glucoside (R = glucose)

Figure 2. Flavonoid in *Launaea sarmentosa* (Willd) Sch.Bip.ex.Kuntze leaves

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากใบสิบสองราศีแห้ง โดยนำสารสกัดเฮกเซน เอทิลอะซิเตทและเมทานอลมาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์พบว่าสารสกัดเมทานอลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ 7 ชนิด คือ *Staphylococcus aureues, Micrococcus lutues, Escherichia coli, Salmonella sp., Enterobacter aerogenes, Klebsiella pneumonia และ Pseudomonas aeruginosa* [6] แต่สารสกัดทั้ง 3 ชนิดไม่แสดงฤทธิ์ต้านเชื้อยีสต์ *Candida albicans* เชื้อไวรัสเริม (Herpes simplex virus type 1) และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ Vero ที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร [5] จากที่กล่าวมาข้างต้นเป็นการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดจากใบสิบสองราศี พบว่าสารสกัดจากใบสิบสองราศีมีฤทธิ์ทางชีวภาพหลายอย่างที่น่าสนใจ และเนื่องจากในใบสิบสองราศีมีสารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มักจะแสดงฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ [7] จากการศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง พบว่ายังไม่เคยมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิระและปริมาณสารประกอบฟีนอลในพืชชนิดนี้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดจากใบสิบสองราศี เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการวิจัยเพื่อพัฒนาสารสกัดจากใบสิบสองราศีต่อไป

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์ที่สำคัญที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Vacuum Rotary Evaporator, Buchi) และเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Shimadzu, รุ่น UV 1601) สารเคมีที่ใช้ได้แก่ เมทานอล เอทานอล ปิโตรเลียมอีเทอร์ (b.p. 40-60˚ C) สารละลาย DPPH กรดแกลลิก และ Folin–Ciocalteu phenol

วิธีการทดลอง

ตอนที่ 1 การเตรียมสารสกัดจากใบสิบสองราศี

เก็บตัวอย่างใบสิบสองราศีจากตำบลบางครก อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี โดยการเก็บใบสิบสองราศีในระยะเวลาเริ่มมีดอก คัดเลือกใบ ทำความสะอาด ใส่ตะแกรงผึ่งลมให้แห้งและบดให้ละเอียด แช่ใบแห้ง 300 กรัมในเอทานอล 95% ปริมาตร 500 mL เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองได้ส่วนกากที่เหลือนำไปแช่ในเอทานอล 95% ทำซ้ำ 4 ครั้ง และส่วนที่เป็นสารละลายเอทานอลนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน และนำมาระเหยตัวทำละลายออกจนหมดบนเครื่องอังไอน้ำอีกครั้ง จะได้สารสกัดเอทานอล 95% จากนั้นนำสารสกัดเอทานอล 95% มาสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ 4 ครั้ง ครั้งละ 10 mL

สารสกัดชั้นบนจะได้สารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ ส่วนชั้นล่างจะเป็นสารสกัดเอทานอล และนำมาระเหยตัวทำละลายออก เก็บสารสกัดในขวดสีชาที่อุณหภูมิ 4 ˚C

ตอนที่ 2 การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทำได้โดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhdrazyl (DPPH) ตามวิธีการของ Yen และ Hsieh [8] ทำโดยเตรียมสารละลาย DPPH 0.2 mM และนำสารสกัดเอทานอลและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากตอนที่ 1 มาเตรียมเป็นสารละลายที่มีความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 mg/mL ในเมทานอลและผสมกับสารละลาย DPPH 2 mL ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 518 nm และนำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นความสามารถดักจับอนุมูล DPPH (% DPPH radical scavenging) จากสูตร

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

เมื่อ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดตัวอย่าง

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูล DPPH ได้ที่ 50% (IC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % radical scavenging กับความเข้มข้นของสารสกัด

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเอทานอลและสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบสิบสองราศีด้วยวิธี Folin–Ciocalteu Phenol Test ตามวิธีของ Chang et al. [9] ใช้กรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน โดยใช้สารมาตรฐานกรดแกลลิคที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 mM และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 nm ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก จากนั้นเตรียมสารสกัดเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu Phenol Test ตามวิธีของ Chang et al. [9] และนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาหาค่าเฉลี่ยและนำไปเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกเพื่อคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวมและแสดงผลเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างแห้ง 100 กรัม (mg GAE/100 g dry weight)

ผลการศึกษา

สารสกัดเอทานอล 95% จากใบสิบสองราศีมีลักษณะข้นหนืดสีเขียวเข้มจึงมีการนำมาสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์เพื่อแยกส่วนที่มีสีเขียวออก ทำให้ได้สารสกัดสองส่วนคือ สารสกัดเอทานอลเป็นสารกลุ่มที่มีขั้ว และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นส่วนที่มีสารขั้วต่ำ การเลือกใช้เอทานอลในการสกัดสารจากใบสิบสองราศีเพราะสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถละลายได้ดีในเอทานอลที่เป็นโมเลกุลที่มีขั้วดังที่มีการรายงานไว้ในงานวิจัยของ Luengthanaphol et al. [10]

การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ผลการตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารสกัดเอทานอลให้ค่าความสามารถดักจับอนุมูล DPPH สูงสุดที่ความเข้มข้น 1.0 mg/mL (Figure 3)

ส่วนสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ให้ค่าความสามารถดักจับอนุมูล DPPH สูงสุดที่ความเข้มข้น 2.0 mg/mL (Figure 4)

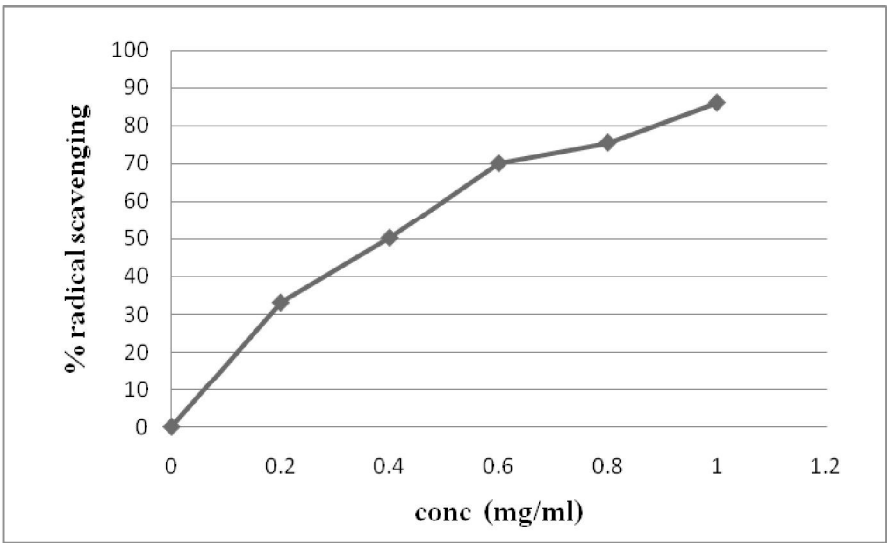


Figure 3. Radicals scavenging activity of ethanol extracts

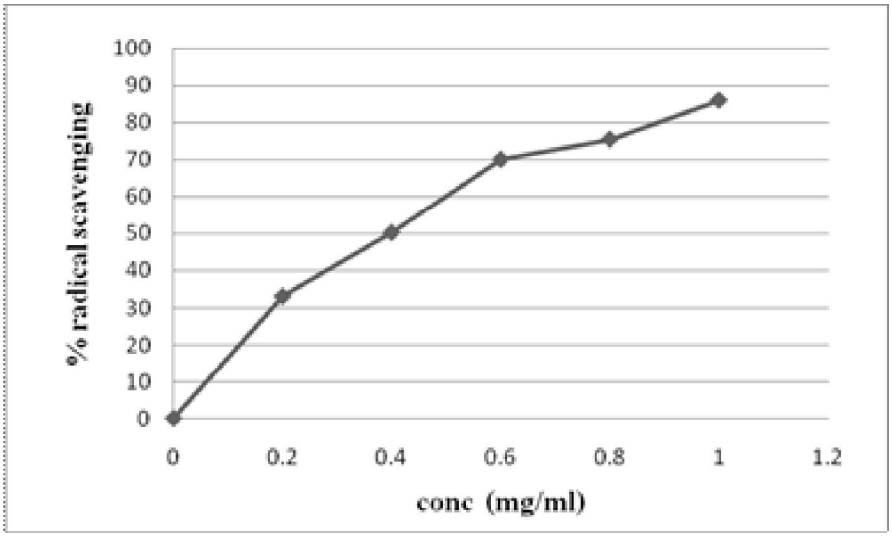


Figure 4. Radicals scavenging activity of petroleum ether extracts

จากกราฟ (Figure 3 และ Figure 4) พบว่า สารสกัดเอทานอลจากใบสิบสองราศีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.397 mg/mL ส่วนสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์จากใบสิบสองราศีจากมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.390 mg/mL

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัด

ในการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานกรดแกลลิคด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 725 nm โดยใช้สารมาตรฐานกรดแกลลิคที่มีความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.15 และ 0.20 mM นำมาคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้จาก linear regression equation ของกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคโดยสมการเส้นตรงที่ได้คือ

$$Y = 0.242x - 0.002 \quad (r^2 = 0.997)$$

โดย Y คือความเข้มข้นของสารมาตรฐานกรดแกลลิค (mM) และ x คือค่าการดูดกลืนแสง

จากผลการทดลอง พบว่าค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดแกลลิค และสามารถนำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดที่สมมูลกับกรดแกลลิคในหน่วยมิลลิโมลาร์ (mM) และค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกในตัวอย่างแห้ง 100 กรัม (mg GAE/100 g dry weight) จากการคำนวณปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกโดยรวมของสารสกัดใบสิบสองราศี พบว่าสารสกัดใบสิบสองราศีจากเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Table 1)

Table 1 The absorbance and phenolic compounds from *Launaea sarmentosa* Leaves Crude Extracts

Solvents	Absorbance	phenolic compounds (mM)	phenolic compounds (mgGAE/100 gDW)
ethanol	0.8230.001	0.198	33.684
petroleum ether	0.0720.002	0.014	2.382

อภิปรายผล

เมื่อศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากตัวทำละลายที่ใช้สกัดใบสิบสองราศี คือ เอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตร พบว่าสารสกัดเอทานอล มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.397 mg/mL และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.390 mg/mL จากการศึกษาผลการทดลองของ Pinelo et al. [11] ที่ศึกษาผลของตัวทำละลาย ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ แล้วพบว่าตัวทำละลายเอทานอลแสดงสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด และสอดคล้องกับผลการวิจัยในครั้งนี้ที่พบว่าสารสกัดเอทานอลของใบสิบสองราศีมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลาย เอทานอล เนื่องมาจากการเกิดพันธะไฮโดรเจนจะทำให้ความสามารถในการให้อะตอมไฮโดรเจนของสารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนแปลงไป [12]

จากผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสารสกัดใบสิบสองราศี ในตัวทำละลายเอทานอลและปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu Phenol test แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 nm แล้วนำไปเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิค พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดเจน ซึ่งสารสกัดเอทานอล 95% มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 33.684 mg GAE/100 g DW และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิคเท่ากับ 2.382 mg GAE/ 100 g

DW จากการศึกษาคุณสมบัติของสารประกอบฟีนอลิก กลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วอย่างเอทานอล [11] ซึ่งสอดคล้องกับชนิดของกลุ่มสารที่พบในใบสิบสองราศีที่เป็นฟลาโวนอยด์ชนิด luteolin และ luteolin-7-*O*-glucoside ซึ่งเป็นสารประเภทฟลาโวนอยด์กลัยโคไซด์ [5] จึงถูกสกัดออกมาในสารสกัดเอทานอลได้ดีกว่าปิโตรเลียมอีเทอร์ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกยังมีหมู่ ไฮดรอกซิลบนวงเบนซีน ซึ่งสามารถให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนแก่อนุมูลอิสระจึงช่วยยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ [13] ทำให้สารสกัดเอทานอล 95% และสารสกัดปิโตรเลียมอีเทอร์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สัมพันธ์กัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของนันท์นภัส เติมวงศ์ [14] ที่พบว่าเมื่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนางปิยะพร ศรีพลาวงษ์ (ครูแมว) ที่ช่วยเก็บตัวอย่างใบสิบสองราศี และขอขอบคุณสาขาวิชาเคมี หน่วยวิจัยเคมีผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ และศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรีที่ให้สถานที่ทำวิจัยและให้การสนับสนุนงานวิจัยในทุกด้าน

เอกสารอ้างอิง

1. Hiroshig, K. 2001. *Taxanomic studies in the Compositae of Thailand 13 Tribe Lactucae*. Department of Botany. National Science Museum : Tokyo, 133-143.
2. กัญจนา ดีวิเศษ. 2542. *ผักพื้นบ้านภาคใต้*. กรุงเทพมหานคร: สถาบันการแพทย์แผนไทย กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.
3. กี่ คูหลำ. *ผู้ใช้สิบสองราศี*. [สัมภาษณ์] ตำบลบางครก อำเภอบ้านแหลม จังหวัดเพชรบุรี. 2550.
4. อรวิชญ์ ทองมาก บุษราคัม ทรัพย์อุดมผล และปรีชา ภูวไพรศิริศาล. 2551. *ผลของสารสกัดจากใบสิบสองราศีต่อเชื้อแบคทีเรีย Staphylococus aureus และการระบุชนิดเบื้องต้นของสารทุติยภูมิ*. การประชุมนำเสนอผลการวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ครั้งที่ 1 วันที่ 19-20 กันยายน 2551.
5. บุษราคัม ทรัพย์อุดมผล และปรีชา ภูวไพรศิริศาล. 2551. *องค์ประกอบทางเคมีจากผักลิ้นห่าน*. การประชุมนำเสนอผลการวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ครั้งที่ 1 วันที่ 19-20 กันยายน 2551.
6. ตรีบุปผา มิ่งเมือง ดำรงค์ พงศ์พุทธชาติ และ บุษกร อุ่ยวงษ์. 2551. *ฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากใบสิบสองราศี*. การประชุมนำเสนอผลการวิจัยมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี ครั้งที่ 1 วันที่ 19-20 กันยายน 2551.
7. Packer, L., Hiramatsu, M. and Yoshikawa,T. 1999. Antioxidant Food Supplements in Human Health. *Academic Press*. U.S.A.
8. Yen, G.C. and Hsieh, G.L. 1997. Antioxidant effects on dopamine and related compounds. *Biosci. Biotech. Biochem.* 61(10): 1646 -1649.
9. Chang, C.H.,H.Y.Lin, C.Y. Chang and Y.C. Liu. 2005. Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. *J. Food Eng.* 77: 478-485.

10. Luengthanaphol, S., Mongkholkhajornsilp, D., Douglas, S., Douglas, P.L., Pengsopa, L., & Pongamphai, S. 2004. Extraction of antioxidants from sweet Thai tamarind seed coat preliminary experiments. *J. Food Eng.* 63(3) : 247-252.
11. Pinelo, M., M. Lara, J. S. Maria and C. N. Maria. 2004. Solvent effect on quercetin antioxidant capacity. *Food Chem.* 88 (2): 201-207.
12. Valgimigli, L., J. T. Banks, K.U. Ingold and J. Lusztyk. 1995. Kinetic solvent effect on hydroxylic hydrogen atom abstractions are independent of the nature of the abstraction radicals. Two extreme tests using vitamin E and phenol. *J. Am. Chem. Soc.* 117(40): 9966-9971.
13. Hu, C. and D. D. Kitts. 2000. Studies on the antioxidant activity of Echinacea root extract. *J. Agric. Food Chem.* 48: 1466-1472.
14. นันท์นภัส เติมวงศ์. 2551. ศึกษาหาปริมาณและความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ. *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์,* 8(2): 114-121.