



การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลตำลึงดิบและสุก
 Evaluation of Phytochemical Contents and Antioxidant Activities of Unripe and Ripe *Coccinia grandis* Fruits Extracts

สายัณห์ แป๊ะวงศ์¹, ศวิตา จิวจินดา^{2*}

¹หน่วยเครื่องมือวิจัยกลาง คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

²ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

Sayun Paewong¹, Savita Chewchinda^{2*}

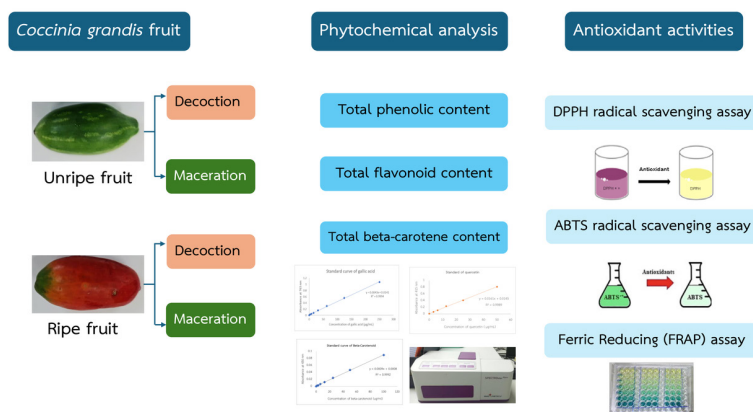
¹Central Research Unit, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

²Department of Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, Bangkok 10400

Received 5 January 2026; Received in revised 4 February 2026; Accepted 18 February 2026

GRAPHICAL ABSTRACT

ABSTRACT



Coccinia grandis (L.) Voigt is a ubiquitous tropical fruit used as food and has attracted attention as a potential natural source of antioxidants. The effects of solvent type and extraction method on *C. grandis* fruit at different ripening stages were investigated in this study. Aqueous extracts were produced by decoction, while ethanolic extracts were prepared through maceration from both unripe and ripe fruits. Total phenolic content, total flavonoid content, and total β -carotene content were determined. Antioxidant activities were evaluated using DPPH radical scavenging, ABTS radical

scavenging, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The results showed that the total phenolics and flavonoids in unripe fruits were highest in the ethanolic extract, while the ethanolic extract of ripe fruits exhibited significantly higher β -carotene content ($p < 0.05$). Importantly, the ethanolic extract from unripe fruits demonstrated the strongest antioxidant activity, as indicated by the lowest half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) of the extract in the DPPH assay ($180.90 \pm 20.25 \mu\text{g/mL}$), along with the highest ABTS and FRAP values ($55.94 \pm 2.04 \text{ mg TE/g extract}$, $105.34 \pm 4.39 \text{ mmol FeSO}_4/100 \text{ g extract}$) among all samples. In comparison, decoction extracts showed relatively poor antioxidant activities, possibly due to heat-induced degradation of phenolic and flavonoid compounds during extraction. These results highlight the potential of ethanolic extracts from unripe *C. grandis* fruits as functional food or dietary supplement materials.

| คำสำคัญ | บทคัดย่อ |
|--|---|
| <p>ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; ตำลึง; วิธีการสกัด; ระยะเวลาสุกของผล; สารพฤกษเคมี</p> <p>Keywords</p> <p>Antioxidant activity; <i>Coccinia grandis</i>; Extraction method; Fruit maturity; Phytochemical content</p> | <p>ตำลึง <i>Coccinia grandis</i> (L.) Voigt เป็นพืชเขตร้อนที่พบได้ทั่วไปและใช้เป็นอาหาร และได้รับความสนใจในฐานะแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ งานวิจัยนี้ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายและวิธีการสกัดต่อสารสกัดจากผลตำลึงที่ได้จากระยะการสุกที่แตกต่างกัน โดยสารสกัดน้ำถูกเตรียมด้วยวิธีต้มและสารสกัดเอทานอลถูกเตรียมด้วยวิธีแช่หมักจากผลทั้งระยะดิบและระยะสุก โดยทำการหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณเบตาแคโรทีนรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระถูกประเมินด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH วิธีการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และการทดสอบความสามารถในการรีดิวซ์เฟอริก (FRAP) ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดเอทานอลในผลตำลึงดิบมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด ในขณะที่สารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงสุกมีปริมาณเบตาแคโรทีนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งได้ครึ่งหนึ่ง (IC_{50}) ต่ำที่สุดในการทดสอบ DPPH ($180.90 \pm 20.25 \mu\text{g/mL}$) และให้ค่าสูงสุดในการทดสอบ ABTS และ FRAP ($55.94 \pm 2.04 \text{ mg TE/g extract}$ และ $105.34 \pm 4.39 \text{ mmol FeSO}_4/100 \text{ g extract}$) เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างทั้งหมด ในทางตรงกันข้าม สารสกัดที่เตรียมด้วยวิธีต้มให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระค่อนข้างต่ำ ซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับการเสื่อมสลายของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อันเกิดจากความร้อน ในระหว่างกระบวนการสกัด ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงศักยภาพของการใช้สารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบในการพัฒนาเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชันหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร</p> |

*ผู้รับผิดชอบบทความ: savita.che@mahidol.ac.th

DOI:

1. บทนำ

อนุมูลอิสระ หมายถึงโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอย่างน้อย 1 อิเล็กตรอนที่ชั้นนอกสุด ทำให้ไม่เสถียรและมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลบริเวณข้างเคียงเพื่อทำให้ตนเองเสถียรขึ้นส่งผลให้โมเลกุลข้างเคียงที่สูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนกลายเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ และเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงอื่นต่อไปเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ [1] อนุมูลอิสระอาจเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมปกติภายในร่างกายหรือปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ปัจจัยภายนอกดังกล่าว ได้แก่ มลพิษทางน้ำและอากาศ การสูบบุหรี่ การดื่มแอลกอฮอล์ โลหะหนัก รังสีต่างๆ เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต หลังจากสิ่งกระตุ้นดังกล่าวเข้าสู่ร่างกาย จะถูกทำลายหรือผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมจนกลายเป็นอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระสามารถทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลสำคัญ เช่น ไขมัน โปรตีน และดีเอ็นเอ ซึ่งนำไปสู่ความเสียหายของเซลล์ทั้งด้านโครงสร้างและการทำงาน อันเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคข้ออักเสบ โรคหอบหืด โรคเบาหวาน โรคอัลไซเมอร์ โรคจอประสาทตาเสื่อม ฯลฯ [2] ดังนั้นการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระหรือการลดความเสียหายที่เกิดจากกระบวนการออกซิเดชันจึงมีความสำคัญต่อการป้องกันและชะลอการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังดังกล่าว

สารต้านอนุมูลอิสระหมายถึงสารที่สามารถป้องกันหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของความเสียหายต่อโครงสร้างและหน้าที่ของเซลล์ ส่งผลให้ระดับความเสียหายของเซลล์ลดลง สารต้านอนุมูลอิสระสามารถพบได้ทั่วไปในผลไม้ เมล็ดพืช อาหาร และผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ อาทิ วิตามินซี วิตามินอี รวมถึงสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีบทบาทในการลดความเสียหายจากกระบวนการออกซิเดชันผ่านกลไกที่หลากหลาย และมีรายงานว่าสามารถช่วยลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังได้ผ่านกลไกการลดความเครียดออกซิเดชัน จากการศึกษาพบว่าสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ที่ดี สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระผ่านการทำหน้าที่เป็นผู้ให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ ส่งผลให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรและลดความเสียหายของเซลล์จากกระบวนการออกซิเดชัน นอกจากนี้ สารกลุ่มดังกล่าวยังมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการออกซิเดชันของไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นต่ำ (LDL) และสามารถกำจัดอนุมูลออกซิเจนก่อปฏิกิริยา (Reactive oxygen species; ROS) ได้อย่างมีประสิทธิภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ [3]

ตำลึง (*Coccinia grandis* (L.) Voigt; syn. *Bryonia grandis* L., *Coccinia indica* Wight & Arn. เป็นพืชในวงศ์ Cucurbitaceae ที่รู้จักอย่างแพร่หลายในภูมิภาคเอเชีย ชื่อพื้นเมืองในประเทศไทยได้แก่ แคเตาะ (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน) ผักแคบ (ภาคเหนือ) และ ผักตำลึง (ภาคกลาง) ตำลึงเป็นไม้เถาเลื้อยแยกเพศต่างต้น มีมือจับออกตามซอกใบ ใบเดี่ยวเรียงเวียน รูปไข่ กว้างหรือเว้าลึกเป็นแฉก 3-5 แฉก แผ่นใบด้านล่างค่อนข้างสากและมีก้านใบยาว 1-2.5 เซนติเมตร ดอกออกเดี่ยวหรือเป็นช่อกระจุกสั้น มีลักษณะเด่นคือกลีบดอกสีขาวประพราง ยาว 1.5-3 เซนติเมตร ผลเป็นผลสดรูปขอบขนาน ยาวประมาณ 2.5-6 เซนติเมตร เมื่อสุกมีสีแดงสด และมีเมล็ดจำนวนมากภายใน [4] ผลตำลึงจัดเป็นแหล่งของพฤกษเคมีที่สำคัญหลายกลุ่ม โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีนซึ่งเป็นสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ ผลตำลึงมีรายงานการพบสารกลุ่มแอลคาลอยด์แทนนิน ซาโปนิน ฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ ซึ่งสะท้อนถึงศักยภาพทางชีวภาพที่หลากหลายของพืชชนิดนี้ [5] งานวิจัยที่ผ่านมาได้ระบุว่าผลตำลึงมีฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาที่สำคัญหลายประการ เช่น ฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ และฤทธิ์ต้านภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ [5-8] ซึ่งบ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ของการประยุกต์ใช้ผลตำลึงในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์ที่เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระระหว่างผลตำลึงสุกและผล

ตำลึงดิบยังมีอยู่อย่างจำกัด การศึกษานี้จึงมุ่งประเมินและเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลตำลึงทั้งสองระยะสุก เพื่อนำไปสู่ความเข้าใจที่ชัดเจนยิ่งขึ้นเกี่ยวกับการเลือกใช้ผลตำลึงที่มีความเหมาะสมต่อการใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ รีเอเจนต์โฟลีน-ซีโอคัลทู (Folin–Ciocalteu reagent), 2,2'-ไดฟิเนล-1-พิกริลไฮดราซิล (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH), 2,2'-อะซิโน-บิส(3-เอทิลเบนโซไทอะโซลีน-6-ซัลโฟนิคแอซิด) [2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid); ABTS] และกรดแกลลิก (gallic acid) จัดซื้อจากบริษัท Sigma (ประเทศสหรัฐอเมริกา) อะลูมิเนียมคลอไรด์ (aluminium chloride) และ แอสคอร์บิกแอซิด (ascorbic acid) จัดซื้อจากบริษัท Ajax Finechem (ประเทศออสเตรเลีย) ส่วนสารเคมีอื่นๆ ที่ใช้ในการทดลองเป็นสารเคมีเกรดงานวิเคราะห์ (analytical grade)

2.2 การเตรียมสารสกัดจากผลตำลึงดิบและตำลึงสุก

ผลตำลึงดิบและสุกเก็บจาก อำเภอแม่ทะ จังหวัดลำปาง เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2568 โดยจำแนกความสุกและดิบของผลตำลึงจากการพิจารณาสีของผิวผลเป็นเกณฑ์หลัก ผลดิบมีผิวสีเขียวสม่ำเสมอ ขณะที่ผลสุกมีผิวสีแดงสม่ำเสมอ โดยคัดเลือกเฉพาะผลที่มีสีดังกล่าวครอบคลุมน้อยกว่า 90% ของผิวผลทั้งหมด ผลที่มีสีผสมหรือมีตำหนิคัดออกจากการศึกษา จากนั้นนำมาล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก 0.5 x 0.5 x 0.5 เซนติเมตร อบแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในภาชนะปิดสนิทเพื่อทำการสกัดในขั้นตอนต่อไป

2.2.1 การต้มด้วยน้ำ (Decoction)

ซึ่งผลตำลึงดิบและผลตำลึงสุกอย่างละ 100 กรัม เติมน้ำ 300 มิลลิลิตร และทำการต้มเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 เก็บส่วนสารสกัดและนำกากไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้รวมเข้าด้วยกันและนำไปประเหยเพื่อลดปริมาณน้ำจนได้สารสกัดหยابที่มีลักษณะเป็นกึ่งแข็งกึ่งเหลวสีน้ำตาล จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

2.2.2 การหมักด้วยเอทานอล (Maceration)

ซึ่งผลตำลึงดิบและผลตำลึงสุกอย่างละ 100 กรัม เติมหอทานอลความเข้มข้น 95% ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเขย่าเป็นครั้งคราว หลังจากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 เก็บส่วนสารสกัดและนำกากที่ได้ไปสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง จากนั้นนำสารสกัดทั้งหมดรวมเข้าด้วยกันและนำส่วนของเหลวไประเหยเพื่อลดตัวทำละลายจนได้สารสกัดหยابที่มีลักษณะเป็นกึ่งแข็งกึ่งเหลวสีน้ำตาล และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์

2.3 การวิเคราะห์ปริมาณพฤกษเคมีในสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของผลตำลึงดิบและสุก

2.3.1 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (Total phenolic content)

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมดำเนินการตามวิธี Folin–Ciocalteu [9] โดยผสมสารสกัดผลตำลึงปริมาตร 20 ไมโครลิตร กับสารละลาย Folin–Ciocalteu reagent ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ในไมโครเพลตชนิด 96 หลุม จากนั้นพักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 7.5% w/v ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และบ่มในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate reader (SPECTROstar

Nano, BMG LABTECH, Germany) ผลการทดสอบรายงานในรูปของกรัมกรดแกลลิกสมมูลต่อ 100 กรัมของสารสกัด (Grams gallic acid equivalents; g GAE/100 g extract)

2.3.2 การหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid content) [10]

ผสมสารสกัดผลตำลึงปริมาณ 100 ไมโครลิตร กับสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 2% ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในไมโครเพลตชนิด 96 หลุม จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที โดยมีการเขย่าเป็นระยะ ทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมรายงานเป็นกรัมเควอซีตินสมมูลต่อ 100 กรัมของสารสกัด (Grams quercetin equivalents; g QE/100 g extract)

2.3.3 การหาปริมาณสารเบต้าแคโรทีนรวม (Total beta-carotene content) [11]

เตรียมสารละลาย Acetonitrile : Methanol : Tetrahydrofuran ในอัตราส่วน 50:45:5 (v/v/v) สำหรับใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีนและสารสกัดผลตำลึง จากนั้นเตรียมสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีนโดยละลายเบต้าแคโรทีน 5 มิลลิกรัม ในตัวทำละลายผสม 10 มิลลิตร แล้วทำการเจือจางเพื่อให้ได้สารมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 และ 1.5625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรโดยเตรียม 3 ซ้ำต่อหนึ่งการทดลอง

สำหรับตัวอย่าง ซึ่งสารสกัดผลตำลึงและละลายในตัวทำละลาย Acetonitrile : Methanol : Tetrahydrofuran นำไปทำการ Sonication เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที และเก็บส่วนสารละลายใสไว้สำหรับวิเคราะห์ นำสารสกัดตำลึงหรือสารมาตรฐานเบต้าแคโรทีน ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมน้ำมันไมโครเพลตชนิด 96 หลุม และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450

นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader ปริมาณเบต้าแคโรทีนรายงานเป็นกรัมต่อ 100 กรัมของสารสกัด (g/100 g extract)

2.4 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของผลตำลึงดิบและสุก

2.4.1 การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH radical scavenging assay) [12]

ผสมสารสกัดผลตำลึงหรือสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิกแอซิด (Ascorbic acid) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 152 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในไมโครเพลตชนิด 96 หลุม จากนั้นบ่มสารผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที การทดสอบนี้ใช้สารมาตรฐาน Ascorbic acid เป็นกลุ่มควบคุมบวก เมื่อครบกำหนดเวลาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ DPPH แสดงผลเป็นร้อยละของการยับยั้ง (% inhibition) โดยใช้สมการดังนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(Ac-As)/Ac] \times 100$$

โดยที่ Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH และ As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

จากนั้นคำนวณค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition และความเข้มข้นของสารสกัดผลตำลึง

2.4.2 การทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ABTS radical scavenging assay) [13]

การเตรียมสารละลาย ABTS reagent ประกอบด้วย Reagent A ซึ่งเป็นสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ และ Reagent B ซึ่งเป็นสารละลาย Potassium persulfate ความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ นำ Reagent A และ Reagent B มาผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 12–16 ชั่วโมง เพื่อให้เกิด ABTS radical จากนั้นเจือจางสารละลาย ABTS ปริมาตร 1 มิลลิตร ด้วยเมทานอลปริมาตร 24 มิลลิตร และ

ปรับความเข้มข้นจนได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.1000 ± 0.0200 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

นำสารสกัดผลตำลึงหรือสารมาตรฐาน Trolox ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย ABTS ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในไมโครเพลตชนิด 96 หลุม บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader และคำนวณค่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของ ABTS โดยรายงานผลในรูปของมิลลิกรัม Trolox equivalent (TE) ต่อกรัมของสารสกัด (mg TE/g extract)

2.4.3 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) [14]

นำสารสกัดผลตำลึงปริมาณ 500 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 0.2 M sodium phosphate buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และสารละลาย 0.1% w/v Potassium ferricyanide ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มสารผสมในอ่างน้ำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลา เติมสารละลาย 10% w/v Trichloroacetic acid ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และผสมให้เข้ากัน จากนั้นแยกสารละลายส่วนใสและดูด ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย 0.1% w/v ferric chloride ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในไมโครเพลตชนิด 96 หลุม วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader โดยรายงานผลปริมาณไอออนเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ในรูปของ mmol $FeSO_4$ ต่อ 100 กรัมของสารสกัด (mmol $FeSO_4$ /100 g extract)

2.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลจากการทดลองทั้งหมดดำเนินการซ้ำ 3 ครั้ง โดยรายงานผลในรูปของค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean \pm standard deviation) การวิเคราะห์ทางสถิติดำเนินการด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ SPSS (IBM SPSS Statistics) โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบสองทาง (Two-way analysis of

variance; two-way ANOVA) เพื่อประเมินผลของปัจจัยหลักและอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัย เมื่อพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างด้วยวิธี Tukey's HSD โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณพฤกษเคมีในสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของผลตำลึงดิบและสุก

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าชนิดของตัวทำละลายและระยะการสุกของผลตำลึงมีอิทธิพลต่อปริมาณพฤกษเคมีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จาก Table 1 พบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 4.85 ± 0.26 g GAE/100 g extract และ 0.40 ± 0.04 g QE/100 g extract ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าสารสกัดจากผลตำลึงสุกและสารสกัดน้ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลดังกล่าวสะท้อนถึงประสิทธิภาพของเอทานอลในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์จากเนื้อเยื่อพืช ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้าที่ระบุว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เนื่องจากมีความเป็นขั้วปานกลางถึงค่อนข้างสูง จึงสามารถสกัดสารออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ในบริบทของการประยุกต์ใช้ในปัจจุบัน การเลือกใช้วิธีการสกัดและตัวทำละลายที่ปลอดภัยต่อสุขภาพของมนุษย์มีความสำคัญอย่างยิ่ง เอทานอลจึงถูกพิจารณาเป็นตัวเลือกที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช เนื่องจากมีต้นทุนต่ำ ความเป็นพิษต่ำ และมีความเสี่ยงต่อการใช้งานในระดับอุตสาหกรรมน้อยกว่าเมทานอล [15]

นอกจากนี้ความร้อนที่ใช้ในกระบวนการต้มเพื่อเตรียมสารสกัดน้ำอาจส่งผลให้สารฟีนอลิกบางชนิดเกิดการออกซิเดชันหรือการแตกตัวของโครงสร้างทางเคมี

โดยเฉพาะสารฟีนอลิกที่มีหมู่ไฮดรอกซิลหลายตำแหน่ง ซึ่งมีความไวต่อความร้อนและออกซิเจน [16] สำหรับสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ความร้อนสามารถเร่งการสลายตัวของโครงสร้างวงแหวนฟลาโวนอยด์ รวมถึงการสูญเสียหมู่ไฮดรอกซิลและการเกิดกระบวนการไอโซเมอไรเซชัน (Isomerization) ส่งผลให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบในสารสกัดน้ำลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเอทานอลซึ่งไม่ใช้ความร้อนในกระบวนการสกัด [17]

ระยะความสุขของผลตำลึงส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าผลตำลึงดิบมีปริมาณสารดังกล่าวสูงกว่าผลตำลึงสุก ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานของ Lee and Joo ซึ่งรายงานว่าสารสกัดเมทานอล 80% ของผลตำลึงดิบและสุก มีปริมาณสารในกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อผลดิบมีการพัฒนาเป็นผลสุก โดยพบว่าปริมาณ Chlorogenic acid ในผลดิบเท่ากับ 56.13 mg/kg ขณะที่ในผลสุกลดลงเหลือเพียง

9.96 mg/kg และปริมาณ Rutin ในผลดิบเท่ากับ 152.40 mg/kg ลดลงเหลือ 114.12 mg/kg ในผลสุก [6] ในขณะที่ปริมาณสารเบต้าแคโรทีนรวมแสดงแนวโน้มแตกต่างกันออกไป โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงสุกมีปริมาณเบต้าแคโรทีนรวมสูงที่สุด (17.91 ± 0.06 g/100 g extract) และสูงกว่าสารสกัดจากผลตำลึงดิบอย่างมีนัยสำคัญ แนวโน้มดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่ากระบวนการสุกของผลไม่มีผลกระทบต่อสารสังเคราะห์และการสะสมของสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีน ซึ่งเป็นรงควัตถุที่เกี่ยวข้องกับสีของผลไม้ในระยะสุก [18]

3.2 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลของผลตำลึงดิบและสุก

ผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลตำลึงแสดงไว้ในตารางที่ 2 โดยพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง

Table 1 Effects of fruit ripening stage and extraction method on the bioactive compound contents of *C. grandis* extracts

| Parameters | Ethanol extract (Maceration) | | Aqueous extract (Decoction) | |
|---|---------------------------------|---------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| | Unripe fruit* | Ripe fruit* | Unripe fruit* | Ripe fruit* |
| Total phenolic content (g GAE/100 g extract) | 4.85 ± 0.26 ^a | 2.35 ± 0.25 ^b | 0.55 ± 0.02 ^c | 1.11 ± 0.02 ^d |
| Total flavonoid content (g QE/100 g extract) | 0.40 ± 0.04 ^a | 0.20 ± 0.02 ^b | 0.01 ± 0.01 ^c | 0.02 ± 0.02 ^c |
| Total beta-carotene (g/100 g extract) | 7.24 ± 0.22 ^b | 17.91 ± 0.06 ^a | 0.03 ± 0.3 ^c | 0.17 ± 0.04 ^c |

*Values are expressed as mean ± SD (n = 3). Data were analyzed using two-way ANOVA ($p < 0.05$). Different superscript letters within the same row indicate significant differences according to Tukey's HSD test. GAE = gallic acid equivalent; QE = quercetin equivalent.

ที่สุดในทุกวิธีการทดสอบที่ใช้ ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Kondhare and Lade ซึ่งระบุว่าเมื่อทำการสกัดผลตำลึงดิบด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ตัวทำละลายเมทานอลสามารถให้ค่า ABTS radical scavenging activities สูงที่สุด รองลงมาคือ น้ำ ไดคลอโรมีเทน อะซีโตน และปิโตรเลียมอีเทอร์ ตามลำดับ ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการใช้เมทานอลในการสกัดผลตำลึงดิบสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ส่งผลให้สารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า [19]

การทดสอบ DPPH เป็นการประเมินความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ DPPH• ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียร โดยค่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) ที่ต่ำบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการให้ไฮโดรเจนที่สูงกว่า ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบให้ค่า IC₅₀ ต่ำที่สุดเมื่อ

เปรียบเทียบกับกลุ่มอื่นโดยมีค่าเท่ากับ 180.90 ± 20.25 µg/mL แสดงถึงศักยภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระผ่านกลไก Hydrogen atom transfer (HAT) ที่เด่นชัด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงกว่าในกลุ่มดังกล่าว ผลดังกล่าวเป็นไปในทางเดียวกับรายงานของ Lee and Joo (2022) ซึ่งพบว่าสารสกัดจากผลตำลึงดิบและผลตำลึงสุกด้วยตัวทำละลาย 80% เมทานอล ให้ค่า IC₅₀ จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH เท่ากับ 5.87 และ 83.97 µg/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลงเมื่อผลตำลึงพัฒนาเป็นผลสุกมากขึ้น [6]

นอกจากนี้ สารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบยังให้ค่า ABTS และ FRAP สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มอื่น คือ 55.94 ± 2.04 mg TE/g extract และ 105.34 ± 4.39 mmol FeSO₄/100 g extract ตามลำดับ

Table 2 Antioxidant activities of *C. grandis* extracts from unripe and ripe fruits obtained using different extraction methods

| Parameters | Ethanol extract (Maceration) | | Aqueous extract (Decoction) | |
|--|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | Unripe fruit* | Ripe fruit* | Unripe fruit* | Ripe fruit* |
| DPPH (IC ₅₀ , µg/mL) | 180.90 ± 20.25 ^a | 348.25 ± 64.85 ^b | 963.53 ± 47.78 ^c | 446.41 ± 40.27 ^b |
| ABTS (mg TE/g extract) | 55.94 ± 2.04 ^a | 30.58 ± 16.39 ^b | 11.13 ± 1.01 ^c | 27.55 ± 9.07 ^b |
| FRAP (mmol FeSO ₄ /100 g extract) | 105.34 ± 4.39 ^a | 86.39 ± 13.04 ^b | 23.87 ± 2.31 ^c | 47.12 ± 2.47 ^b |

The IC₅₀ value of ascorbic acid used as a reference standard in the DPPH assay was 3.03 ± 0.06 µg/mL. *Values are expressed as mean ± SD (n = 3). Data were analyzed using two-way ANOVA (p<0.05). Different superscript letters within the same row indicate significant differences according to Tukey’s HSD test. TE = Trolox equivalent.

ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lee and Joo [6] ที่พบว่าสารสกัด 80% เมทานอล ของผลตำลึงดิบและสุก ให้ค่า ABTS radical scavenging activities เท่ากับ 2.09 และ 0.70 mM Trolox/g ตามลำดับ ผลดังกล่าว บ่งชี้ว่ากระบวนการสุกของผลตำลึงมีอิทธิพลต่อการลดลงของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการลดลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวม โดยพบว่าปริมาณสารออกฤทธิ์ดังกล่าวลดลงประมาณสี่เท่าเมื่อผลพัฒนาจากระยะดิบสู่ระยะสุก ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ [6]

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผลตำลึงสามารถอธิบายได้จากลักษณะโครงสร้างทางเคมีและความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับฤทธิ์ของสารสำคัญที่พบในสารสกัด โดยเฉพาะสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลบนวงแหวนอะโรมาติกทำหน้าที่เป็นแหล่งให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดอนุมูลที่มีเสถียรภาพผ่านการกระจายประจุเรโซแนนซ์ภายในโครงสร้างของโมเลกุลและยุติปฏิกิริยาถูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันกลไกดังกล่าวสอดคล้องกับหลักการของการทดสอบด้วยวิธี DPPH ซึ่งประเมินความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อะตอมไฮโดรเจนแก่อนุมูล DPPH• ส่งผลให้การดูดกลืนแสงลดลง ในทำนองเดียวกัน ความสามารถของสารฟีนอลิกในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจนยังสะท้อนผ่านการทดสอบวิธี ABTS ซึ่งวัดศักยภาพในการกำจัดอนุมูล ABTS^{•+} [20]

Yadav et al. รายงานว่าสารสกัดผลตำลึงดิบจาก 10 สายพันธุ์ของประเทศอินเดียมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเฉลี่ยเท่ากับ 13.06 ± 2.12 mg GAE/100 g ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเฉลี่ยเท่ากับ 6.40 ± 0.80 mg Catechin equivalent/100 g และค่า Ferric reducing antioxidant power (FRAP) เฉลี่ยเท่ากับ 27.95 ± 2.18 μ mol Trolox equivalent/g ผลดังกล่าวบ่งชี้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับ

ค่า FRAP และมีบทบาทสำคัญในการให้หรือถ่ายโอนอิเล็กตรอนแก่ไอออนเหล็กในสถานะออกซิไดซ์ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนจากเฟอร์ริก (Fe^{3+}) เป็นเฟอร์รัส (Fe^{2+}) ตามกลไกพื้นฐานของการทดสอบ FRAP [21] ในทางตรงกันข้ามสารสกัดน้ำที่ผ่านกระบวนการต้มแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าอย่างชัดเจน ซึ่งอาจเกิดจากการเสื่อมสภาพของสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์อันเนื่องมาจากความร้อนในระหว่างกระบวนการสกัด

เบต้าแคโรทีนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมัน มีโครงสร้างแบบสายโพลีอินซึ่งประกอบด้วยพันธะคู่สลับกันหลายตำแหน่ง ส่งผลให้มีความสามารถสูงในการกำจัดออกซิเจนสถานะซิงเกิล (Singlet oxygen quenching) และยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในระบบลิพิด [22] อย่างไรก็ตามกลไกการออกฤทธิ์ดังกล่าวไม่สามารถสะท้อนออกมาได้อย่างชัดเจนภายใต้ระบบการทดสอบแบบสารละลายที่ใช้ในการศึกษาชิ้นนี้ ส่งผลให้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเบต้าแคโรทีนกับค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ประเมินด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP ไม่เด่นชัด เมื่อเปรียบเทียบกับสารประกอบในกลุ่มฟีนอลิก

แม้ว่าสารสกัดจากผลตำลึงในระยะสุกจะมีปริมาณเบต้าแคโรทีนสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ตรวจวัดได้กลับไม่เพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกันอย่างชัดเจน ปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถอธิบายได้จากลักษณะเฉพาะของเบต้าแคโรทีนซึ่งแสดงบทบาทเด่นในการกำจัดออกซิเจนสถานะซิงเกิลมากกว่ากลไกการให้ไฮโดรเจนอะตอมหรือการถ่ายโอนอิเล็กตรอน อันเป็นกลไกหลักที่ใช้ในการทดสอบ DPPH และ ABTS รวมถึงกลไกการรีดักชันของไอออนโลหะที่ใช้ในการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ดังนั้นวิธีการทดสอบดังกล่าวจึงมีความเหมาะสมมากกว่าสำหรับการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบที่มีสมบัติชอบน้ำ เช่น ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ มากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายใน

ไขมันอย่างเบต้าแคโรทีน ผลการศึกษาข้างต้นจึงสะท้อนให้เห็นถึงข้อจำกัดของการใช้วิธีทดสอบแบบสารละลายเพียงอย่างเดียวในการอธิบายบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความจำเพาะต่อระบบลิติด และชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นในการเลือกใช้วิธีประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้สอดคล้องกับลักษณะทางเคมีและกลไกการออกฤทธิ์ของสารสำคัญในสารสกัด

ทั้งนี้การประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในงานวิจัยนี้ดำเนินการในระดับ *in vitro* ซึ่งมีข้อจำกัดในการอธิบายหรือคาดการณ์ฤทธิ์ทางชีวภาพภายใต้ระบบชีวภาพที่มีความซับซ้อน โดยเฉพาะในบริบทของสภาพแวดล้อมที่ประกอบด้วยโครงสร้างลิติดและเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นบริเวณที่เบต้าแคโรทีนสามารถแสดงบทบาทในการป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับระบบสารละลาย นอกจากนี้การวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนรวมในงานวิจัยนี้อาศัยวิธีสเปกโตรโฟโตเมตรี ซึ่งมีข้อจำกัดด้านความจำเพาะเนื่องจากสารในกลุ่มคลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์มีช่วงการดูดกลืนแสงที่ทับซ้อนกัน ส่งผลให้ค่าปริมาณแคโรทีนอยด์ที่ตรวจวัดได้อาจสูงกว่าความเป็นจริง [23]

ด้วยเหตุนี้ผลการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแบบ *in vitro* ที่ได้จากงานวิจัยนี้จึงสะท้อนบทบาทของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์เป็นหลักมากกว่าสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางเคมีและกลไกพื้นฐานของวิธีการทดสอบที่นำมาใช้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้ยังมิได้ทำการวิเคราะห์ชนิดของสารประกอบฟีนอลิกหรือแคโรทีนอยด์ในระดับรายตัว ซึ่งอาจให้ข้อมูลเชิงลึกเพิ่มเติมเกี่ยวกับบทบาทเฉพาะของสารออกฤทธิ์แต่ละชนิด ความแตกต่างของกลไกการออกฤทธิ์ รวมถึงความคงตัวหรือการเสื่อมสภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพภายใต้เงื่อนไขการทดลองที่แตกต่างกันในอนาคต

4. สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากผลตำลึงดิบ เป็นแหล่งสำคัญของสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีบทบาทหลักต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ขณะที่สารสกัดจากผลตำลึงสุกมีความโดดเด่นด้านปริมาณเบต้าแคโรทีน ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการเลือกชนิดตัวทำละลายและระยะเวลาการสุกของวัตถุดิบในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชันหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มุ่งเน้นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ และสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมในระดับชีวภาพที่ซับซ้อนขึ้น เช่น การทดสอบในระดับเซลล์หรือสัตว์ทดลอง เพื่อยืนยันศักยภาพในการนำไปใช้เชิงพาณิชย์ต่อไป

5. References

- [1] Alugoju, P., Dinesh, B.J. and Latha, P., 2015, Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases, *J. Clin. Biochem.* 30(1): 11-26.
- [2] Willcox, J.K., Ash, S.L. and Catignani, G.L., 2004, Antioxidants and prevention of chronic disease, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44(4): 275-295.
- [3] Rahaman, M.M., Hossain, R., Herrera-Bravo, J., Islam, M.T., Atolani, O., Adeyemi, O.S., Owolodun, O.A., Kambizi, L., Daştan, S.D., Calina, D. and Rad, J.S., 2023, Natural antioxidants from some fruits, seeds, foods, natural products, and associated health benefits: An update, *Food Sci. Nutr.* 11(4): 1657-1670.
- [4] E-Flora of Thailand, *Coccinia Grandis* (L.) Voigt, Thailand, Available source: <https://botany.dnp.go.th/eflora/index.html>, December 8, 2025.

- [5] Meenatchi, P., Purushothaman, A. and Maneemegalai, S., 2017, Antioxidant, antiglycation and insulinotropic properties of *Coccinia grandis* (L.) in vitro: Possible role in prevention of diabetic complications, *J. Tradit. Complement. Med.* 7: 54-64.
- [6] Lee, I.Y. and Joo, N., 2022, Identification and quantification of key phytochemicals, phytohormones, and antioxidant properties in *Coccinia grandis* during fruit ripening, *Antioxidants* 11: 2218.
- [7] Chatterjee, A. and Chatterjee, S., 2012, Proximate analysis, phytochemical screening and anti-inflammatory activity of *Coccinia indica*, *Int. J. Pharm. Chem. Biol. Sci.* 2: 299–304.
- [8] Singh, G., Gupta, P., Rawat, P., Puri, A., Bhatia, G. and Maurya, R., 2007, Antidyslipidemic activity of polyphenol from *Coccinia grandis* in high-fat diet-fed hamster model, *Phytomedicine* 14(12): 792-798.
- [9] Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M., 1999, Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin–Ciocalteu reagent, *Methods Enzymol.* 299: 152-178.
- [10] Stanković, M.S., 2011, Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. extracts, *Kragujev. J. Sci.* 33: 63-72.
- [11] Doka, O., Gitta, F., Luterotti, S., Bićanić, D., Spruijt, R., Buijsters, J., G. and Végvári, G., 2013, Simple and rapid quantification of total carotenoids in lyophilized apricots (*Prunus armeniaca* L.) by means of reflectance colorimetry and photoacoustic spectroscopy, *Food Technol. Biotechnol.* 51: 453-459.
- [12] Sithisarn, P., Rojsanga, P., Sithisarn, P. and Kongkiatpaiboon, S., 2015, Antioxidant activity and antibacterial effects on clinical isolated *Streptococcus suis* and *Staphylococcus intermedius* of extracts from several parts of *Cladogynos orientalis* and their phytochemical screenings, *Evid.-Based Complement. Altern. Med.* 2015: 908242.
- [13] Thaipong, K., Boonprakob, U., Crosby, K., Cisneros-Zevallos, L. and Hawkins, B.D., 2006, Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *J. Food Compos. Anal.* 19: 669-675.
- [14] Vongsak, B., Sithisarn, P., Mangmool, S., Thongpraditchote, S., Wongkrajang, Y. and Gritsanapan, W., 2013, Maximizing total phenolics, total flavonoids contents and antioxidant activity of *Moringa oleifera* leaf extract by the appropriate extraction method, *Ind. Crops Prod.* 44: 566-571.
- [15] Sik, B., Hanczné, E.L., Kapcsándi, V. and Ajtony, Z., 2020, Conventional and nonconventional extraction techniques

- for optimal extraction processes of rosmarinic acid from six Lamiaceae plants as determined by HPLC-DAD measurement, J. Pharm. Biomed. Anal. 184: 113173.
- [16] Antony, A. and Farid, M., 2022, Effect of temperatures on polyphenols during extraction, Appl. Sci. 12: 2107.
- [17] Chaaban, H., Ioannou, I., Chebil, L., Slimane, M., Gérardin, C., Paris, C., Charbonnel, C., Chekir, L. and Ghoul, M., 2017, Effect of heat processing on thermal stability and antioxidant activity of six flavonoids, J. Food Process. Preserv. 41: e13203.
- [18] Kapoor, L., Simkin, A.J., Doss, C.G.P. and Siva, R., 2022, Fruit ripening: dynamics and integrated analysis of carotenoids and anthocyanins, BMC Plant Biol. 22: 27.
- [19] Kondhare, D. and Lade, H., 2017, Phytochemical profile, aldose reductase inhibitory, and antioxidant activities of Indian traditional medicinal *Coccinia grandis* (L.) fruit extract, 3 Biotech 7: 378.
- [20] Gulcin, I., 2020, Antioxidants and antioxidant methods: an updated overview, Arch. Toxicol. 94: 651-715.
- [21] Yadav, L.P., Gangadhara, K., Singh, A.K., Yadav, V., Apparao, V.V., Pawar, A., Kumar, S., Janani, P., Sahil, A., Kumar, P. Khaple, P.S., Meena, N., Jinger, D. and Rare, J., 2025, Genetic variability, morphological diversity, and antioxidant potential in gynoeocious *Coccinia* accessions: implications for breeding and biofortification, BMC Plant Biol. 25: 844.
- [22] Nishino, A., Yasui, H. and Maoka, T., 2017, Reaction and scavenging mechanism of β -carotene and zeaxanthin with reactive oxygen species, J. Oleo Sci. 66(1): 77-84.
- [23] Biehler, E., Mayer, F., Hoffmann, L., Krause, E. and Bohn, T., 2010, Comparison of three spectrophotometric methods for carotenoid determination in frequently consumed fruits and vegetables. J. Food Sci. 75(1): C55-C61.