

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน 3 ชนิด

Plant bioactive compounds and the antioxidant capacity of 3 local vegetables

นกน้อย ชุกคงคา¹, ธัญรัตน พานแก้ว², ณัฏฐา พลเสน¹ และ ทรงศิลป พจน์ชนะชัย^{1*}
Noknoi Chookhongkha¹, Thanwarat Pankaew², Nakanya Ponsen¹ and Songsin Photchanachai¹

Abstract

Plant bioactive compounds and the antioxidant capacity of 3 local vegetables, neem, finger grass and sea blite were investigated. Neem exhibited the highest chlorophyll a, total chlorophyll and vitamin c contents (6.94, 10.08 and 29.20 mg/100g FW, respectively), followed by finger grass and sea blite. Sea blite had the highest chlorophyll b content (5.88 mg/100 g FW), followed by finger grass and neem. However, neem contained the highest total phenolic compounds (208.18 mg/100 g FW). The carotenoid content of finger grass (0.71 mg/100 g FW) was higher than neem (0.62 mg/100 g FW) and sea blite (0.44 mg/100 g FW). The best antioxidant capacity, monitored by DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) method, was observed in finger grass (78.26%) which probably was due to low phenolic content but relatively high vitamin c and chlorophyll contents which highly responded to DPPH analysis. Even though neem exhibited the highest vitamin c and total chlorophyll contents; the high phenolic compounds might interfere with DPPH reaction leading to low antioxidant capacity. It should, however, be mentioned that finger grass and neem showed high potential for bioactive compound and antioxidant capacity and would be able to be applied for healthy food.

Keywords: Bioactive compounds, Antioxidant capacity, Local vegetables

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน 3 ชนิด คือ สะเดา แขียง และชะครามพบว่า สะเดา มีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์บี ทั้งหมดและวิตามินซีมากที่สุด (6.94, 10.08 และ 29.20 mg/100 g FW ตามลำดับ) รองลงมาคือ แขียงและชะคราม สวยงามปริมาณคลอโรฟิลล์บี เพิ่มมากที่สุดในชะคราม (5.88 mg/100 g FW) รองลงมาคือ แขียงและสะเดา แต่สะเดามีปริมาณสารประกอบพื้น柢ทั้งหมด (208.18 mg/100 g FW) หากที่สุด ขณะที่แขียงมีปริมาณแคลอร์โธนอยด์ (0.71 mg/100 g FW) สูงกว่าสะเดา (0.62 mg/100 g FW) และชะคราม (0.44 mg/100 g FW) เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (78.26%) สูงที่สุด เนื่องจากแขียงมีปริมาณสารประกอบพื้น柢น้อย แต่วิตามินซีและคลอโรฟิลล์ค่อนข้างมากซึ่งตอบสนองต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) พบว่า แขียงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (78.26%) สูงที่สุด เนื่องจากแขียงมีปริมาณสารประกอบพื้น柢น้อย แต่วิตามินซีและคลอโรฟิลล์ค่อนข้างมากซึ่งตอบสนองต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ได้ดี ขณะที่สะเดามีปริมาณวิตามินซีและคลอโรฟิลล์ ทั้งหมดสูงแต่มีปริมาณสารประกอบพื้น柢มาก จึงทำให้มีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าด้วยวิธีนี้ต่ำ ดังนั้น จากผลการทดลองอาจกล่าวได้ว่า ทั้งแขียงและชะเดามีศักยภาพสูงในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และน่าจะสามารถนำไปประยุกต์เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ รวมทั้งการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ผักพื้นบ้าน

บทนำ

เนื่องจากผู้บริโภคต้องการอาหารที่มีความสะอาด ปราศจากสารพิษตกค้าง และมีสารอาหารที่มีสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพ การบริโภคผักและผลไม้ช่วยในการป้องกันและบำบัดโรคได้หลายชนิด โดยเฉพาะการบริโภคผักพื้นบ้านซึ่งรายงานว่ามีศักยภาพในการเป็นสารต้านมะเร็งและโรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด รวมทั้งการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีการรณรงค์

¹หลักสูตรเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพ 10140

¹Postharvest Technology Program, School of Bioresources and Technology, King Mongkut's University Thonburi, Bangkok, 10140

²โรงเรียนเบญจมราษฎร์ดับง่างคีนเป็ด อ. เมือง จ. ฉะเชิงเทรา 24000

² Benchamaratrungsarit school, Bangtreenped, Muang, Chachoengsao, 24000

*Corresponding Author

ให้บริโภคผักพื้นบ้านมากขึ้น (บังครอ และศิลักษณ์, 2549) อย่างไรก็ตาม ผักพื้นบ้านมักมีรสเผ็ดหรือเผ็ดเป็นส่วนประกอบในการปุงจานอาหารทำได้ยาก จึงมีการศึกษาวิจัยถึงกระบวนการแปรรูปเบื้องต้นเพื่อสะดวกในการบริโภค สำหรับผักพื้นบ้านที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ ได้แก่ แขยง (*Limnophila aromatica* Merr.) ซึ่งบริโภคส่วนของยอดอ่อน ลำต้นสีขาวถึงเขียวอ่อน ขอบน้ำ มีกลิ่นหอมหรือกลิ่นฉุนนุ่มนวล ใบเขียวอ่อน ขนาดเล็ก ฐานใบเป็นรูปไข่ ฐานใบจะหุ้มลำต้นเอาไว้ ด้านบนของใบมีต่อมเล็ก ๆ (Figure 1A) พับบริเวณคันนา นาข้าว ตามที่ชื่นและรวมกันน้ำ มีสรรพคุณช่วยลดไข้ แก้คัน ฝี กลาง ลดอาการบวม และเป็นยาเรabay อ่อน ๆ (ก่องกานดา, 2544) สะเดา (*Azadirachta indica* Juss. var. *siamensis* Valeton) นิยมบริโภคส่วนของยอดอ่อนและดอก ใบอ่อนมีสีเขียว ลักษณะแผ่นใบบาง (Figure 1B) สามารถเจริญเติบโตได้ทุกภาคของประเทศไทย มีสรรพคุณส่งเสริมการสร้างภูมิต้านทานให้ร่างกาย แก้ไข้ ช่วยย่อยอาหาร และช่วยให้นอนหลับสบาย (โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชช้อนเนื่องมาจากพระราชดำริ, 2554) และชะคราม (*Suaeda maritime*) นิยมนำส่วนยอดอ่อนมาบริโภค ใบมีลักษณะขอบน้ำสีเขียวสดหรือสีเขียวอมม่วง มีนวลดีผิวใบ ในฤดูแล้งจะเปลี่ยนเป็นสีแดงอมม่วงอ่อน (Figure 1C) สามารถเจริญได้ในบริเวณดินเค็ม พื้นที่โล่ง ส่วนของรากใช้เป็นยาบำบัดกระดูก แก้พิษฝีภัยใน ดับพิษในกระดูก น้ำเหลืองเสีย ผื่นคัน โรคผื่นหนัง และเลื่อนเนินพิการ (ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย, 2554) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานการตรวจวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารต้านอนุมูลอิสระของผักแขยง สะเดา และชะคราม เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ หรือเป็นข้อมูลให้กับผู้บริโภคที่มีความสนใจในการบริโภคผักพื้นบ้าน และเป็นการขยายตลาดผักพื้นบ้านให้มีมูลค่าทัดเทียมกับผักเศรษฐกิจชนิดอื่น ๆ ต่อไป



Figure 1 Characteristic of Finger grass (A), Neem (B) and Sea blite (C)

อุปกรณ์และวิธีการ

นำส่วนที่บริโภคได้ของแขยง (ลำต้นและใบอ่อน) สะเดา (ใบอ่อนไม่รวมก้านใบ) จากตลาดสดทุ่งคุ กทม. และชะคราม (ลำต้นและใบอ่อน) เก็บจากบริเวณชายเลน บางปูนเทียน กทม. ช่วงเดือนเมษายน 2553 มาตรวจนิวเคลียร์บริเวณคลอร์ฟิลล์ เอ และบี คลอร์ฟิลล์ทั้งหมด และแครอททีนอยด์ โดยวัดค่าการดูดลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470, 645, 663 นาโนเมตร ด้วย UV-1601 spectrophotometer เทียบกับ Blank (80 เปอร์เซ็นต์ อะซีตออล) (ดัดแปลงจาก Arnon, 1949) ปริมาณวิตามินซี วัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐานของแอกซอนบิก แอซิด (Roe et al., 1948) ปริมาณสารประกอบพื้นоздทั้งหมดโดยวิธี Folin-Ciocalteau (Singleton และ Rossi, 1965) และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (%DPPH radical scavenging activity) (ดัดแปลงจาก Thaipong et al., 2006) ทำการทดลอง 3 ชั้น วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SAS ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์

ผักพื้นบ้าน 3 ชนิด คือ แขยงซึ่งนำส่วนของลำต้นลักษณะขอบน้ำ สีขาวถึงเขียวอ่อน และใบมีสีเขียวอ่อน ส่วนสะเดา นำส่วนใบอ่อนมีสีเขียว ลักษณะแผ่นใบบาง ไม่รวมก้านใบ และชะคราม นำส่วนของลำต้นและใบอ่อนลักษณะขอบน้ำ มีนวลดีเขียว ส่วนยอดสีเขียวแกมม่วง เมื่อวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่า สะเดามีปริมาณคลอร์ฟิลล์ทั้งหมด และคลอร์ฟิลล์ เอ สูงที่สุด (10.08 และ 6.94 mg/100 g FW) (Table 1) เนื่องจากคลอร์ฟิลล์ เอ เป็นวงค์ตุที่มีสีเขียวอมน้ำเงิน (ลิลลี่ และคณะ, 2552) และสะเดาที่นำมาวิเคราะห์มีสีเขียวเข้มกว่าทั้งแขยงและชะครามซึ่งมีวงค์ตุชนิดอื่น ๆ ซึ่งสังเกตได้จากปริมาณคลอร์ฟิลล์ บี เป็นวงค์ตุที่มีสีเขียวอมเหลือง (ลิลลี่ และคณะ, 2552) พับมากที่สุดในชะคราม รองลงมาคือแขยงและสะเดา (5.88, 4.44 และ 3.06 mg/100 g FW) ตามลำดับ (Table 1) ขณะเดียวกันแขยงมีปริมาณแครอททีนอยด์ที่เป็นวงค์ตุสีแดง สำลี เหลือง (ลิลลี่ และคณะ, 2552) สูงที่สุด (5.98 mg/100 g FW) แต่ไม่แตกต่างจากชะคราม (5.30 mg/100 g FW) (Table 1) เนื่องจากความแตกต่างของส่วนที่นำมาวิเคราะห์และพันธุกรรมของผัก

พื้นบ้าน 3 ชนิด โดยสามารถสังเกตได้จากสีใบส่งผลให้หั้งแขขง สะเดา และชะคราม มีสัดส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด คลอโรฟิลล์ เอ และบีแตกต่างกัน โดยทั่วไปปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด และคลอโรฟิลล์ เอ พบร่วมกับปริมาณ วิตามินซี (Gonçalves et al., 2009) ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองนี้ เช่นกันคือ พบร่วมกับปริมาณ วิตามินซีมากที่สุดในสะเดาคือ 29.20 mg/100 g FW รองลงมาคือแขขง (11.70 mg/100 g FW) และชะคราม (10.58 mg/100 g FW) (Table 1) แต่มีรายงานว่า สะเดาที่เก็บเกี่ยวช่วงเดือนธันวาคมถึงกุมภาพันธ์มีปริมาณวิตามินซีสูงถึง 194 mg/100 g FW แสดงว่าความแตกต่างของ ปริมาณวิตามินซี นอกจากรากจะมาจากชนิดของพืชหรือส่วนที่นำมารีเคราะห์แล้ว ยังมีผลจากการเพาะปลูก วิธีการเก็บรากษา ความสดใหม่ รวมถึงวิธีการสกัดและวิธีการรีเคราะห์อีกด้วย (นันท์นภัส, 2554 ใน นิธิยา รัตนานนท์และนันัย บุญเย่ กีญอรติ, 2548) เมื่อเปรียบปริมาณวิตามินซีของสะเดา กับผลไม้ที่นิยมบริโภคสุดหรือนำใส่ไปแปรรูป เช่น แอปเปิลเขียวหรือแดง มีวิตามินซี 1-2 mg/100 g FW ส้มเขียวหวาน และสับปะรด (20 และ 22 mg/100 g FW) ซึ่งน้อยกว่าสะเดาถึง 20 เท่า (สำนักโภชนาการ, 2554 และ Hassimotto et al., 2005) เป็นต้น สารสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระอีกชนิดคือ ปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดซึ่งพบมากที่สุดในสะเดาและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (208.18 mg/100 g FW) เมื่อเปรียบเทียบกับ ชะครามและแขขงซึ่งมีเพียง 38.52 และ 30.94 mg/100 g FW (Table 1) ทั้งนี้อาจเนื่องมาการผสมของใบสะเดาที่เป็นผลมา จากสารในกลุ่มฟีโนอล (จริงแท้, 2542) สารที่ให้รสขมในสะเดาได้แก่ นิมบิน (nimbin) นิมบินีน (nimbinene) นิมบันดิโอล (nimbandiol) นิมโบไลเด (nimbolide) 6-เดส-อะซีติล นิมบินีน (6-desacetyl nimbinene) และเควคิติน (quercetin) (ขวัญชัย, 2554) Ghimeray et al. (2009) พบร่วมกับฟีโนอล มีความสัมพันธ์กับปริมาณสารนิมบินในใบสะเดา นอกจากนี้สะเดา ยังมีปริมาณสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดสูงกว่าพืชชนิดอื่นที่ให้รสขม เช่น มะละ (bitter melon) ที่มีเพียง 143.6 mg /100 g FW (Lin and Tang, 2007) จากปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันส่งผลให้ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยแขขงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ 78.26% รองลงมา คือ ชะคราม 68.73% และสะเดา 55.98% (Table 1) เนื่องจากแขขงมีปริมาณสารประกอบฟีโนอลน้อย แต่มีปริมาณวิตามินซี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดซึ่งตอบสนองต่อการวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH ได้ดี ขณะที่ สะเดา มีปริมาณวิตามินซีและคลอโรฟิลล์ ทั้งหมดสูงแต่มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลมาก จึงทำให้มีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ตัวจัดตัววัดด้วยวิธีนี้ต่ำ ดังนั้น การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จึงน่าจะไม่เหมาะสมสำหรับพืชผักที่มีปริมาณสารประกอบฟีโนอลสูง ส่วนชะครามแม้จะพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพชนิดต่างๆ ไม่สูงมากเท่ากับพืชทั้งสองชนิดแต่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสะเดามากกว่า 50% อาจเป็นไปได้ว่าในชะครามมีสารที่อยู่ในกลุ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ที่ตอบสนองต่อการตรวจวัดด้วยวิธี DPPH (ระวีวรรณและทรงพร, 2549) อย่างไรก็ตาม ควรทำการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น วิธี ABTS (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonate) และ FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) เป็นต้น เพื่อนำมาเปรียบเทียบและยืนยันผลการทดลอง ฉะนั้น เพื่อให้ทราบชนิดของสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ นี้จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติม จากผลการวิเคราะห์อาจกล่าวได้ว่าแขขงมีศักยภาพเป็นพืชผักที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด และน่าจะเป็นพืชทางเลือกหนึ่งในการนำไปสกัดเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ หรือเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้บริโภค

สรุป

พื้นบ้าน 3 ชนิด คือ สะเดา ชะคราม และแขขง มีสารอุอกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยสะเดามีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด วิตามินซีและสารประกอบฟีโนอลทั้งหมดมากที่สุด ส่วนชะคราม มีปริมาณคลอโรฟิลล์ ปีมากที่สุด ขณะที่แขขงมีปริมาณแครอทินอยู่มากที่สุด และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ดังนั้น แขขงมีศักยภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

Table 1 The chlorophyll a and b, total chlorophyll, carotenoids, vitamin c, total phenolic compounds contents and antioxidant capacity of 3 local vegetables.

Local vegetables	Plant bioactive compounds						
	Chlorophyll a (mg/100g FW)	Chlorophyll b (mg/100g FW)	Total chlorophylls (mg/100g FW)	Carotenoids (mg/100g FW)	Vitamin C (mg/100g FW)	Total phenolic compounds (mg/100 g FW)	Antioxidant capacity (%DPPH)
Finger grass	4.41b	4.44b	5.98b	0.71	11.70b	30.94b	78.26a
Neem	6.94a	3.06c	10.08a	0.62	29.20a	208.18a	55.98c
Sea blite	4.13b	5.88a	5.30b	0.44	10.58b	38.52b	63.98b
C.V. (%)	21.04	11.78	23.12	27.98	7.08	11.18	5.39
F-test	*	**	*	ns	**	**	**

Means in the same column followed by same letter are not significantly different by Duncan's Multiple Range Test (DMRT) at $P \leq 0.05$

ns = not significantly different, * = significantly different $p \leq 0.05$, ** = significantly different $p \leq 0.01$

เอกสารอ้างอิง

- ก่องานด้วยมูลค่าและลักษณะพิเศษของพืชในประเทศไทย ตอนที่ 7. บริษัทประชาชนจำกัด. กรุงเทพฯ.
- ข้อมูลชัย สมบัติศรี. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ฉบับที่ 1 โครงการเกษตรกรรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.eto.ku.ac.th/neweto/e-book/plant/herb_gar/neem2.pdf (7 มิถุนายน 2554).
- โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ. สรวบคุณสมุนไพร [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_09_15.htm (2 มิ.ย. 2554).
- จริงแท้ ศรีพานิช. 2542. สรวบวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ. 396 น.
- ฐานข้อมูลสมุนไพรไทย [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://thaiherb.most.go.th/?q=node/176> (4 มิถุนายน 2554).
- ผันท์นภัส เติมวงศ์. 2554. บทความวิจัย: ความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีโนไลค์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในพืช. สาขาวิชาเทคโนโลยีการแพทช์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรบูรณะ. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://sci.bsru.ac.th/dept/_mt/picnew/n1.doc (5 มิถุนายน 2554).
- บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน. โครงการพิเศษบริโภคญาเสี้ยวศาสตร์บัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. นครปฐม. 51 น.
- ระวีวรรณ แห้วออมดวง และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีโนลดรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. ว.วิชาการ ม. อป. 2:76-88.
- ลิลิต กำรีดี นาลี ณ นคร ศรีสม สุวรรณวงศ์ และสรวยา ตันติวัฒน์. 2552. สรวบวิทยาของพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. 261 น.
- สำนักโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://nutrition.anamai.moph.go.th/temp/main/view.php?group=3&id=117> (5 มิถุนายน 2554).
- Arnon, D.T. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast polyphenol oxidase in *Beta vulgaris*. Plant Physiology 24 :1-15.
- Ghimeray, A.K., C.W. Jin, B.K. Ghimire and D.H. Cho. 2009. Antioxidant activity and quantitative estimation of azadirachtin and nimbin in *Azadirachta Indica* A. Juss grown in foothills of Nepal. AJB.8: 3084-3091. [Online]. Available source: <http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/viewFile/60994/49201> (6 June 2011).
- Gonçalves, E.M., R.M.S. Cruz, M. Abreu, T.R.S. Brandão and C.L.M. Silva. 2009. Biochemical and colour changes of watercress (*Nasturtium officinale* R. Br.) during freezing and frozen storage. J. Food Eng. 93: 32-39.
- Hassimotto, N.M.A., M.I. Genovese and F.M. Lajolo. 2005. Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. J. Agric. Food Chem. 53: 2928-2935.
- Lin, J.Y. and C.Y. Tang. 2007. Determination of total phenolic and flavonoid contents in selected fruits and vegetables, as well as their stimulatory effects on mouse splenocyte proliferation. Food Chemistry 101: 140-147.
- Roe, J.H. and C.A. Kuether. 1943. Determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative of dehydroascorbic acid. J. Biol. Chem. 147: 399-407.
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteau reagent. Meth. Enz. 299: 152-178.
- Thaipong, K., U. Boonprakob, K. Crosby, L. Cisneros-Zevallos and D.H. Byrne. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. J. Food Comp. Anal. 19: 669-675.