Published Online: 2 Dec 2020

การเตรียมสารสกัดพลูคาวด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟและคลื่นเสียง

Preparation of *Houttuynia cordata* Extracts Using Microwave-Assisted and Ultrasonic-Assisted Extraction Methods

ศศินุช บุญเจริญ

อีเมล: 6151701285@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ปัญญวัฒณ์ ปินตาทอง

อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

พลูคาว (*Houttuynia cordata*) เป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ในพื้นที่ของหลายประเทศในภูมิภาคเอเชียตะวันออกและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทย งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาเกี่ยวกับการเตรียมสารสกัดพลูคาวด้วยน้ำและใช้วิธีสกัด 2 วิธี คือ การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟ (MAE) ที่ระดับพลังงาน 300 500 และ 700 วัตต์ และการสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่สูง (UAE) โดยใช้ความถี่ 50/60 เฮิรตซ์ ที่เวลาต่างกัน คือ 20 40 และ 60 นาที จากการศึกษา พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟด้วยกำลังไฟฟ้า 500 วัตต์ให้ค่าร้อยละของสารสกัดจากการสกัดสูงสุดเท่ากับ 26.33±0.31 ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และสารฟลาโวนอยด์ด้วยวิธี Aluminum chloride พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟด้วยกำลังไฟฟ้า 500 วัตต์ มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและสารฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 44.16±0.16 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 80.09±0.35 มิลลิกรัมสมมูลของสารเควอเซตินต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงเป็นระยะเวลา 60 นาที เท่ากับ 42.00±0.20 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และ 77.45±0.33 มิลลิกรัมสมมูลของเควอเซตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (ABTS radical scavenging activity) และรีดิวซ์เฟอร์ริกไอออน (Ferric reducing antioxidant power, FRAP) พบว่า การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ 700 วัตต์ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดเท่ากับ 153.73±0.27 และ 47.25±0.22 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัม

Published Online: 2 Dec 2020

สารสกัด ตามลำดับ ขณะที่การสกัดด้วยคลื่นเสียง ระยะเวลา 40 นาทีให้ค่าสูงสุด เท่ากับ 172.65±0.15 และ 49.10±0.14 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด แสดงให้เห็นว่า การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์และการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลา 60 นาที ให้ประสิทธิภาพการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงสุดเท่ากับ 252.70±0.20 และ 234.14±0.68 มิลลิกรัมสมมูลของกรดโคจิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ดังนั้น สารสกัดพลูคาวที่เตรียมด้วยวิธีการสีเขียวสามารถน่าจะใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกเพื่อใช้เป็นสารสำคัญในตำรับเครื่องสำอางธรรมชาติได้

คำสำคัญ: พลูคาว, การสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ, การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

Abstract

Plukaow (*Houttuynia cordata*) is traditional herb that can be generally found in East and Southeast Asia regions, including Thailand. This study was aimed to prepare Plukaow extract using water and two extraction methods, i.e., microwave-assisted extraction (MAE) at energy level of 300, 500 and 700 Watts, and ultrasonic-assisted extraction (UAE) using frequency of 50/60 Hertz at 20, 40 and 60 min. Total phenolic content (TPC) and total flavonoid content (TFC) were determined by Folin-ciocalteu and Aluminum chloride colorimetric assays, respectively, while antioxidant capacity was determined by ABTS radical scavenging activity, and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. In addition, tyrosinase inhibition was also measured by using dopachrome method. The results showed that the highest yield (26.33±0.31%) of Plukaow extract was obtained by MAE at 500 Watts. In addition, the MAE at 500 Watts also significantly provided the highest TPC (44.16±0.16 mg GAE/g extract) and TFC (80.09±0.35 mg QE/g extract), while UAE at 60 min gave the highest TPC and TFC which was equal to 42.00±0.20 mg GAE/g extract and 77.45±0.33 mg QE/g extract, respectively (p<0.05). In contrast to antioxidant activities the significantly highest values of 153.73±0.27 and 47.25±0.22 mg TEAC/g extract were obtained by MAE at 700 Watts, while the value of 172.65±0.15 and 49.10±0.14 mg TEAC/g extract were obtained by UAE at 40 min as assayed by ABTS radical scavenging activity and FRAP, respectively (p<0.05). Finally, tyrosinase inhibitory activity of Plukaow extract was highly obtained at 252.70±0.20 and 234±14±0.68 mg KE/g extract when MAE and UAE were supplied at 700 Watts and 60 min, respectively (p<0.05). Therefore, it can be concluded that Plukaow extracts

prepared from the green extraction methods (MAE and UAE) could be used as alternative raw materials for further application in natural cosmetic formulation.

Keywords: *Houttuynia cordata*, Microwave-assisted extraction, Ultrasonic-assisted extraction, Antioxidant activity, Tyrosinase inhibitory activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล (Introduction)

การสกัดและคัดแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชพันธุ์ธรรมชาติมีความสำคัญและเกี่ยวข้องอย่างมากกับงานวิจัยทางด้านการแพทย์และสุขภาพ เนื่องจากโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีความสลับซับซ้อนจึงไม่มีวิธีการสกัดใดที่เฉพาะเจาะจงและเหมาะสมสำหรับใช้ในการสกัดสารจากพืชได้ทุกชนิด (Ignat et al., 2011) นอกจากนี้ขั้นตอนและกระบวนการผลิตสารสกัดในอุตสาหกรรมต้องใช้วัตถุดิบและตัวทำละลายจำนวนมาก ทำให้เกิดความตระหนักถึงผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อลดปัญหาดังกล่าว การสกัดด้วยวิธีสีเขียวหรือขั้นตอนและกระบวนการของการสกัดเพื่อให้ได้สารสกัดหรือผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยและได้คุณภาพ รวมถึงลดการใช้พลังงานมากเกินความจำเป็น โดยใช้ตัวทำละลายทางเลือกที่ยั่งยืนและปราศจากสารพิษหรือผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่กินได้ เช่น น้ำ กลีเซอรอล น้ำมันพืช ฯลฯ จึงได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง (Chemat et al., 2012)

จากงานสำรวจของ รพีพร จันทุมา และสุรนาท ขมะณะรงค์ (2013) พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคกลุ่มตัวอย่างมากที่สุดคือเครื่องสำอางจากสมุนไพรธรรมชาติ แนวโน้มของตลาดจากงานสำรวจมากมายทำให้ผู้ผลิตหลายรายมีการนำสารจากธรรมชาติมาใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางเพื่อทดแทนการใช้สารที่ได้จากการสังเคราะห์มากขึ้น

พลูคาวเป็นพืชสมุนไพรที่พบได้ตามพื้นที่ของหลายประเทศในเอเชียตะวันออกและเอเชียตะวันออกเฉียงรวมถึงประเทศไทย มีการใช้ประโยชน์จากพลูคาวสำหรับการบำรุงมดลูก รักษาอาการตกขาว รักษาโรคกลาก รักษาสิว บรรเทาอาการไซนัสอักเสบเรื้อรัง รักษาหลอดลมอักเสบและโรคเริม (Chiang et al., 2003) นอกจากนี้มีการประยุกต์ใช้พลูคาวเพื่อเป็นส่วนประกอบในอาหารและเครื่องสำอางอีกด้วย ในการตั้งสูตรเครื่องสำอางพลูคาวมักจะถูกใช้เป็นส่วนผสมร่วมกับสารสกัดจากพืชชนิดอื่นเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น สารสกัดจากต้นพลูคาวในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมีประโยชน์ในหลายด้าน เช่น ช่วยต่อต้านริ้วรอย ลดผิวแตกลาย ช่วยให้ผิวกระจ่างใสและช่วยลดฝ้ากระบนใบหน้า (Araki, 2007) ในปัจจุบันงานวิจัยศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพลูคาวด้วยวิธีสีเขียวยังมีปริมาณน้อยและผลที่ได้ยังไม่ชัดเจน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมี

จุดประสงค์ในการเตรียมสารสกัดจากพลูคาวโดยใช้วิธีสกัดสีเขียวที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมเพื่อให้ได้สารสกัดพลูคาวที่มีสารประกอบฟีนอลิกและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อประโยชน์ทางเครื่องสำอางต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อสกัดสารจากพลูคาวด้วยวิธีสีเขียว
2. เพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เตรียมได้จากวิธีสีเขียว

ขอบเขตการวิจัย

1. เตรียมตัวอย่างพลูคาวโดยวิธีอบแห้งด้วยตู้ลมร้อนจากนั้นบดเป็นผงละเอียด
2. เตรียมสารสกัดพลูคาวโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายและใช้วิธีสกัดสีเขียว 2 วิธีได้แก่ microwave-assisted extraction (MAE) และ ultrasonic-assisted extraction (UAE)
3. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพลูคาวที่เตรียมจากวิธีสกัดสีเขียว
4. วิเคราะห์และประเมินผลที่ได้จากการศึกษา

การทบทวนวรรณกรรม

การสกัดสารด้วยวิธีสีเขียว (Green extraction) เป็นการออกแบบกระบวนการสกัดสารแบบหนึ่งซึ่งมีข้อกำหนดในด้านของความปลอดภัยและการได้มาซึ่งสารสกัดหรือผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสูง กระบวนการสกัดสารด้วยวิธีสีเขียวจะลดการใช้พลังงานและมีการใช้ตัวทำละลายทางเลือก สารที่ได้จากขั้นตอนการสกัดด้วยวิธีสีเขียวจะถูกนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ธรรมชาติที่สามารถรับประทานได้อย่างปลอดภัย โดยหลักการของวิธีสกัดสีเขียว คือ สามารถเลือกใช้วัตถุดิบได้หลากหลายและสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ เลือกใช้ตัวทำละลายทางเลือก น้ำ หรือตัวทำละลายจากพืช ลดการใช้พลังงานในกระบวนการสกัดโดยการหมุนเวียนพลังงานกลับมาใช้หรือเลือกใช้นวัตกรรมเข้ามาช่วยเพื่อลดการใช้พลังงาน สร้างผลิตภัณฑ์ร่วมแทนการทิ้งเป็นของเสียจากอุตสาหกรรม ลดขั้นตอนการสกัดควบคู่กับการเพิ่มประสิทธิภาพและความปลอดภัย ได้สารสกัดหรือผลิตภัณฑ์ที่ย่อยสลายได้ ปราศจากการเจือปนหรือทิ้งสารพิษตกค้างในสิ่งแวดล้อม โดยหลักการทั้งหมดนี้ไม่ได้เป็นข้อบังคับแต่เป็นแบบอย่างที่ยึดไปปฏิบัติตามและประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมได้สำเร็จ (Chemat et al., 2012) วิธีสกัดสีเขียวที่ใช้อยู่ในงานวิจัยทั่วไป เช่น การสกัดด้วยของเหลววิกฤตยิ่งยวด การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง การสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟ การสกัด

ของเหลวด้วยแรงดันและน้ำร้อนที่มีแรงดัน (Ameer et al., 2017) ในงานนี้ใช้วิธีสกัดสีเขียวจำนวน 2 วิธี คือการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟและการสกัดสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก ใช้อุปกรณ์น้อย และใช้ระยะเวลาในการสกัดไม่นาน การสกัดด้วยการใช้คลื่นไมโครเวฟ (microwave-assisted extraction) มีการนำคลื่นไมโครเวฟซึ่งเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเข้ามาช่วยในการสกัดสารจากตัวอย่างพืชร่วมกับตัวทำละลาย โดยแรงเสียดทานที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลที่มีขั้วจะทำให้เกิดความร้อนขึ้นภายในเซลล์ของตัวอย่างพืชและทำให้สารที่ต้องการสกัดละลายออกมาจากตัวอย่างพืช การสกัดด้วยวิธีการนี้ใช้ตัวทำละลายในปริมาณน้อยและลดระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดสารลง แต่วิธีการนี้ไม่เหมาะสำหรับการสกัดสารกลุ่มแทนนินและแอนโทไซยานินเนื่องจากสารชนิดดังกล่าวอาจเกิดการสลายตัวเพราะความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างการสกัดได้ (Azwanida, 2015) การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (ultrasonic-assisted extraction) ขนาดของคลื่นเสียงที่ใช้มีความถี่ตั้งแต่ 20 กิโลเฮิรตซ์ขึ้นไป (Handa et al., 2008) การสกัดใช้ประโยชน์จากคลื่นเสียงความถี่สูงซึ่งเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางที่เป็นของเหลวทำให้เกิดการยุบตัวของฟองอากาศขนาดเล็กในของเหลว เมื่อมีโพรงอากาศเกิดขึ้นในของเหลวจะเกิดการสร้างฟองอากาศและแตกตัวอย่างต่อเนื่องอยู่ในของเหลว เหตุการณ์ดังกล่าวจะทำให้เกิดการปลดปล่อยพลังงานรอบฟองอากาศขนาดเล็กเกิดความร้อนและแรงดันที่ช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างตัวทำละลายและชิ้นส่วนของตัวอย่างที่เราต้องการสกัด ประสิทธิภาพของการสกัดด้วยคลื่นเสียงขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ความสัมพันธ์กันของชนิดสารสำคัญและตัวทำละลาย อุณหภูมิ ความดัน ระยะเวลา และความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ การสกัดสารด้วยคลื่นเสียงสามารถใช้ได้กับตัวอย่างที่มีปริมาณมากหรือน้อยก็ได้ (Dhanani et al., 2017)

พลูคาวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Houttuynia cordata* อยู่ในวงศ์ *Saururaceae* มีลักษณะเป็นพืชยืนต้นขนาดเล็กที่มีถิ่นกำเนิดและกระจายตัวในพื้นที่ของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงประเทศไทยและเติบโตได้ในบริเวณที่มีความชุ่มชื้นหรือบริเวณที่มีร่มเงา ในตำราการแพทย์แผนจีนสารสกัดจากใบพลูคาวถูกใช้ในการรักษาและบรรเทาอาการของโรคปอดติดเชื้อที่มีภาวะอักเสบร่วมด้วยและโรคซาร์ส (Chen et al., 2003) ส่วนของใบและลำต้นจะใช้ทำยาสำหรับใช้ในการรักษาทั้งภายนอกและภายในร่างกาย ภายนอกใช้ในการรักษาแผลงูกัดและโรคผิวหนัง และภายในใช้สำหรับการรักษาและบรรเทาอาการของโรค เช่น อาการไอ ไข้หวัด โรคบิด ลำไส้อักเสบ และมะเร็งได้ (Chiang et al., 2003)

ระเบียบวิธีวิจัย (Research Methodology)

1. การเตรียมวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างสดของพลูคาวพันธุ์ก้านเขียวมาจำนวน 5 กิโลกรัมจากสวนคาวตองเชียงราย ในวันที่ 24 มีนาคม พ.ศ. 2563 ช่วงเช้า เวลา 9.00-10.00 น. นำส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือดินไปล้างทำความสะอาดแล้วอบด้วยตู้ลมร้อนให้แห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ตัวอย่างพืชที่ผ่านการอบแห้งจะถูกบดจนละเอียดและเก็บรักษาในที่แห้ง ณ อุณหภูมิห้อง

2. การสกัดสารจากพลูคาว

ผงพลูคาวบดละเอียดถูกนำมาสกัดโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย โดยกำหนดวิธีการสกัด อัตราส่วนของน้ำหนักผงพลูคาวแห้งบดละเอียดต่อปริมาณตัวทำละลาย เวลา กำลังไฟฟ้า และค่าความถี่ที่ใช้สกัด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สภาวะการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟและคลื่นเสียงความถี่สูง

วิธีการสกัด	อัตราส่วนระหว่างตัวอย่างและตัวทำละลาย (กรัม/มิลลิลิตร)	เวลา (นาที)	กำลังไฟฟ้า (วัตต์)	ค่าความถี่ (เฮิรตซ์)
สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ	1:20	3	300	-
สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ	1:20	3	500	-
สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ	1:20	3	700	-
สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง	1:20	20	-	50/60
สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง	1:20	40	-	50/60
สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง	1:20	60	-	50/60

3. การวิเคราะห์สารสกัด

1) การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญ

ก. หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมโดยวิธี Folin-Ciocalteu ดัดแปลงจาก Amin et al. (2006) ใช้สารละลายกรดแกลลิกเป็นสารมาตรฐาน และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ข. หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์โดยวิธี Aluminum Chloride Colorimetri ดัดแปลงมาจาก Pontis et al. (2014) ใช้สารเควอเซตินเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ นำไปวัดค่าการดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

2) การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ก. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ดัดแปลงมาจาก Milat et al. (2019) ใช้สารโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ข. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยวิธี Ferric ion reducing

antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงมาจาก Benzie and Strain (1996) ใช้สารโทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

3) การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสโดยวิธี Dopachrome ดัดแปลงมาจาก Chou et al. (2009) ใช้สารละลายกรดโคจิกเป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 475 นาโนเมตร โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

ผลวิจัยและการอภิปรายผล (Results and discussion)

1. ร้อยละผลผลิตของสารสกัด

สารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้าต่างกันและคลื่นเสียงในระยะเวลา 20 และ 40 นาทีมีปริมาณร้อยละผลผลิตมากที่สุด ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลา 60 นาทีให้ร้อยละผลผลิตต่ำสุด เท่ากับ 19.67±1.01 ดังแสดงในตารางที่ 2 ดังนั้นการสกัดสารด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้าต่างกันให้ร้อยละผลผลิตไม่แตกต่างกัน ในขณะที่ระยะเวลามีผลต่อปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง และเมื่อเปรียบเทียบร้อยละผลผลิตของสารสกัดพลูคาวที่สกัดจากวิธีสีเขียวในงานวิจัยนี้กับงานวิจัยก่อนหน้าซึ่งได้ทำการสกัดพลูคาวในน้ำกลั่นด้วยเครื่องกวนสารแบบให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมงซึ่งได้ร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 7.67±0.33 (Tok et al., 2017) พบว่าการสกัดสารด้วยวิธีสีเขียวในงานวิจัยนี้ให้ร้อยละของผลผลิตสูงกว่าถึงประมาณ 3 เท่า

ตารางที่ 2 ร้อยละผลผลิต ปริมาณสารฟีนอลิกรวม และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของสารสกัด

สารสกัด	ร้อยละผลผลิต	ปริมาณฟีนอลิกรวม (mg GAE/g extract)	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g extract)
MAE กำลังไฟฟ้า 300 วัตต์	23.97 ± 1.74^{aA}	29.68 ± 0.49^{cE}	60.73 ± 0.15^{cE}
MAE กำลังไฟฟ้า 500 วัตต์	26.33 ± 0.31^{aA}	44.16 ± 0.16^{aA}	80.09 ± 0.35^{aA}
MAE กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์	25.87 ± 0.32^{aA}	35.95 ± 0.29^{bD}	73.02 ± 1.69^{bC}
UAE เวลา 20 นาที	23.53 ± 0.99^{aA}	35.78 ± 0.24^{cD}	44.15 ± 0.22^{cF}
UAE เวลา 40 นาที	23.47 ± 1.27^{aA}	38.76 ± 0.12^{bC}	67.46 ± 0.39^{bD}
UAE เวลา 60 นาที	19.67 ± 1.01^{bB}	42.00 ± 0.20^{aB}	77.45 ± 0.33^{aB}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็ก (เปรียบเทียบในกลุ่มวิธีสกัดเดียวกัน) และตัวใหญ่ที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวม

พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 500 วัตต์มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 44.16±0.16 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดที่ได้จากวิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในระยะเวลา 60 นาทีได้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมมากที่สุด เท่ากับ 42.00±0.20 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 300 วัตต์มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมต่ำสุด เท่ากับ 29.68±0.49 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 2 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากำลังไฟฟ้ามีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกรวมของสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกของสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง ในงานวิจัยของ Tok et al. (2017) พบว่าสารสกัดพลูคาวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องกวนสารแบบให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมาจากพลูคาวได้เช่นเดียวกับการสกัดด้วยวิธีสกัดสีเขียวในงานวิจัยนี้ โดยมีปริมาณของสารฟีนอลิกรวม เท่ากับ 96.96±3.04 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 100 กรัม นอกจากนี้ในรายงานวิจัยของ Rincon et al. (2019) ที่ได้ทำการศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีทางเคมีกายภาพเพื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีสกัดสีเขียวพบว่าในการสกัดสารด้วยคลื่นเสียงเมื่อเพิ่มระยะเวลาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่ได้ก็จะเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับในงานวิจัยนี้

3. วิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกรวมในสารสกัดโดยสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 500 วัตต์มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 80.09±0.35 มิลลิกรัมสมมูลของสารเควอเซตินต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นเสียงในระยะเวลา 60 นาทีให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด เท่ากับ 77.45±0.33 มิลลิกรัมสมมูลของสารเควอเซตินต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในระยะเวลา 20 นาทีมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ต่ำสุด เท่ากับ 44.15±0.22 มิลลิกรัมสมมูลของสารเควอเซตินต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 2 ในงานวิจัยของ Tian et al. (2011) ซึ่งได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นกรดจากพลูคาวและสารสกัดพลูคาวที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายต่างกันโดยใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม พบว่าสารสกัดพลูคาวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องกวนสารโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายที่

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมงสามารถสกัดสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ออกมาจากพลูคาวได้เช่นเดียวกับการสกัดด้วยวิธีสีเขียวในงานวิจัยนี้

ตารางที่ 3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัด

สารสกัด	ABTS (mg TEAC/g extract)	FRAP (mg TEAC/g extract)	Tyrosinase inhibitory activity (mg KAE/g extract)
MAE กำลังไฟฟ้า 300 วัตต์	99.07 ± 0.22^{cF}	34.87 ± 0.69^{bD}	194.34 ± 1.23^{cD}
MAE กำลังไฟฟ้า 500 วัตต์	113.51 ± 0.63^{bE}	46.18 ± 0.43^{aC}	212.91 ± 0.17^{bC}
MAE กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์	153.73 ± 0.27^{aC}	$47.25\pm0.22^{aB, C}$	252.70 ± 0.20^{aA}
UAE เวลา 20 นาที	130.65 ± 0.09^{cD}	47.41 ± 0.42^{bB}	124.15 ± 0.88^{cF}
UAE เวลา 40 นาที	172.65 ± 0.15^{aA}	49.10 ± 0.14^{aA}	173.67 ± 1.58^{bE}
UAE เวลา 60 นาที	154.94 ± 0.63^{bB}	$46.81\pm0.39^{bB, C}$	234.14 ± 0.68^{aB}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวเล็ก (เปรียบเทียบในกลุ่มวิธีสกัดเดียวกัน) และตัวใหญ่ที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS

พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดสารด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงในระยะเวลา 40 นาทีให้ประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 172.65 ± 0.15 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ในขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์ มีประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS มากที่สุด เท่ากับ 153.73 ± 0.27 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 300 วัตต์มีประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำสุด เท่ากับ 99.07 ± 0.22 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3 จากผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่ากำลังไฟฟ้าที่ใช้ในการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงมีผลต่อประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 5 ผลของประสิทธิภาพการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ในงานวิจัยนี้เป็นไปในทิศทางเดียวกับรายงานวิจัยของ Rincon et al. (2019) พบว่าเมื่อทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดใบกระวานที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงในระยะเวลาต่างกัน พบว่าประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ที่เวลา 45 นาทีมากกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดในระยะเวลา 60 นาที และ 30 นาทีตามลำดับ

5. การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยวิธี Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP)

พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลา 40 นาทีมีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 49.10±0.14 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยกำลังไฟฟ้า 500 และ 700 วัตต์มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เฟอร์ริกสูงที่สุด เท่ากับ 46.18±0.43 และ 47.25±0.22 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 300 วัตต์มีประสิทธิภาพในการรีดิวซ์เฟอร์ริกต่ำสุด เท่ากับ 34.87±0.69 มิลลิกรัมสมมูลของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3 จากงานวิจัยของ Cai et al. (2013) และ Lin et al. (2015) ได้มีการรายงานว่าประสิทธิภาพในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS ของสารสกัดแปรผันตรงกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก แต่ผลในงานวิจัยนี้กลับพบว่าสารสกัดพลูคาวที่สกัดด้วยคลื่นเสียงในระยะเวลา 40 นาที โดยมีน้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการกวาดจับอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกมากที่สุด โดยที่สารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูงที่เวลา 40 นาทีไม่ได้เป็นสารสกัดที่มีปริมาณของสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีปริมาณสูงของสารสกัดอาจเกิดจากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระ ABTS หรือสารละลาย FRAP กับสารโพลีแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติละลายน้ำ (Tian et al., 2011) และวิธี Folin-Ciocalteu ไม่ได้เป็นวิธีที่เฉพาะเจาะจงต่อสารประกอบฟีนอลิกเท่านั้นแต่ยังสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารชนิดอื่นที่สามารถถูกสารโฟลิน (Folin-Ciocalteu reagent) ออกซิไดซ์ได้อีกด้วย นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกแต่ละกลุ่มมีการตอบสนองต่อสารโฟลินแตกต่างกันขึ้นอยู่กับโครงสร้างหรือหมู่เกาะของสารประกอบฟีนอลิกชนิดนั้น ดังนั้นสารสกัดที่มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงจึงไม่จำเป็นต้องมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงด้วยเสมอไป (Wong et al., 2006)

6. การวิเคราะห์ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

พบว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ให้กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เท่ากับ 252.70±0.20 มิลลิกรัมสมมูลของกรดโคจิกต่อกรัมสารสกัด และสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นเสียงในระยะเวลา 60 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด เท่ากับ 234.14±0.68 มิลลิกรัมสมมูลของกรดโคจิกต่อกรัมสารสกัด ขณะที่สารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นเสียงในระยะเวลา 20 นาที มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสต่ำสุด เท่ากับ 124.15±0.88 มิลลิกรัมสมมูล

ของกรดโคจิกต่อกรัมสารสกัด ดังแสดงในตารางที่ 3 จากผลการทดลองพบว่าการเพิ่มกำลังไฟฟ้าในการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟและการเพิ่มระยะเวลาในการสกัดด้วยคลื่นเสียงจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดสูงขึ้น ในรายงานวิจัยของ Chou et al. (2009) พบว่าสารสกัดพลูคาวที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลพบสารอัลคาลอยด์ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสได้ดี มีค่า IC_{50} เท่ากับ 170 ไมโครโมลเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดโคจิก (IC_{50} เท่ากับ 160 ไมโครโมล) ดังนั้นในงานวิจัยนี้คาดว่านอกจากสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากวิธีสีเขียวทั้ง 2 วิธีซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสแล้ว (Prasad et al., 2009; Zuo et al., 2018) น่าจะเป็นสารอัลคาลอยด์ที่ทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้า 700 วัตต์มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนสมากที่สุด ทั้งที่สารสกัดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์อยู่ในระดับปานกลาง

สรุปผลการวิจัย (Conclusion)

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกำลังไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟและคลื่นเสียงความถี่สูง ตามลำดับ สารสกัดที่ได้จากวิธีสกัดสีเขียวทั้ง 2 วิธีมีสารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส ดังนั้นการสกัดสารด้วยวิธีสีเขียวในงานวิจัยนี้สามารถเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ดีต่อสิ่งแวดล้อมในการเตรียมสารสกัดในตำรับเครื่องสำอางธรรมชาติได้

ข้อเสนอแนะ (Suggestions)

1. ศึกษาเกี่ยวกับกำลังไฟฟ้าและเวลาที่ใช้สกัดในรูปแบบที่หลากหลายมากขึ้น
2. ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเปรียบเทียบกับสารสกัดที่ได้จากการสกัดสีเขียววิธีอื่นเพิ่มเติม

รายการอ้างอิง (References)

รพีพร จันทุมา และสุรนาท ขมะณะรงค์. (2556). การศึกษาพฤติกรรมการเลือกซื้อเครื่องสำอางบำรุงผิวหน้าสมุนไพร: กรณีศึกษาจังหวัดขอนแก่น. *วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน, 9*(1), 250-253.

Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 16*(2), 295-315.

Amin, I., Norazaidah, Y., & Hainida, K. E. (2006). Antioxidant activity and phenolic content of raw and blanched Amaranthus species. *Food chemistry, 94*(1), 47-52.

Araki, M. (2007). *Additives for Cosmetics to Improve the Skin Conditions*. JP Patent No. 200,724,651.6.

Azwanida, N. N. (2015). A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Medicinal and Aromatic Plants, 4*(196), 2167-0412.

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical biochemistry, 239*(1), 70-76.

Cai, W. G., Wu, W., Dai, S., Zhang, P. W., & Zou, J. (2013). Total phenol and favonoid contents and antioxidant activity of *Houttuynia cordata* Thunb. *Food Science, 7*, 89-101.

Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. *International journal of molecular sciences, 13*(7), 8615-8627.

Chen, Y. Y., Liu, T. F., Chen, C. M., Chao, P. Y., & Chang, T. J. (2003). A study of the antioxidative and antimutagenic effects of *Houttuynia cordata* Thunb. using an oxidized frying oil-fed model. *Journal of nutritional science and vitaminology, 49*(5), 327-333.

Chiang, L. C., Chang, J. S., Chen, C. C., Ng, L. T., & Lin, C. C. (2003). Anti-Herpes simplex virus activity of *Bidens pilosa* and *Houttuynia cordata*. *The American journal of Chinese medicine, 31*(03), 355-362.

Chou, S. C., Su, C. R., Ku, Y. C., & Wu, T. S. (2009). The constituents and their bioactivities of Houttuynia cordata. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin, 57*(11), 1227-1230.

Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of Withania somnifera. *Arabian Journal of Chemistry, 10*, S1193-S1199.

Handa, S.S. Preet, S. Khanuja, S. Longo, G. Rakesh, D.D. (2008). Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants, *United Nations Industrial Development Organization, 99*, 342-356.

Ignat, I., Volf, I., & Popa, V. I. (2011). A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food chemistry, 126*(4), 1821-1835.

Lin, S., Ching, L. T., Chen, J., & Cheung, P. C. (2015). Antioxidant and anti-angiogenic effects of mushroom phenolics-rich fractions. *Journal of Functional Foods, 17*, 802-815.

Milat, A. M., Boban, M., Teissedre, P. L., Seselja-Perisin, A., . . . Jourdes, M. (2019). Effects of oxidation and browning of macerated white wine on its antioxidant and direct vasodilatory activity. *Journal of Functional Foods, 59*, 138-147.

Pontis, J. A., Costa, L. A. M. A. D., Silva, S. J. R. D., & Flach, A. (2014). Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, Brazil. *Food Science and Technology, 34*(1), 69-73.

Prasad, K. N., Yang, B., Yang, S., Chen, Y., . . . Jiang, Y. (2009). Identification of phenolic compounds and appraisal of antioxidant and antityrosinase activities from litchi (*Litchi sinensis* Sonn.) seeds. *Food Chemistry, 116*(1), 1-7.

Rincon, E., Balu, A. M., Luque, R., & Serrano, L. (2019). Mechanochemical extraction of antioxidant phenolic compounds from Mediterranean and medicinal *Laurus nobilis*: A comparative study with other traditional and green novel techniques. *Industrial Crops and Products, 141*, 1-6.

Tian, L., Zhao, Y., Guo, C., & Yang, X. (2011). A comparative study on the antioxidant activities of an acidic polysaccharide and various solvent extracts derived from herbal *Houttuynia cordata*. *Carbohydrate Polymers, 83*(2), 537-544.

Tok, N., Jain, K., Sahu, N., Varghese, T., & Dani, D. (2017). Evaluation of antioxidative and biological activity of *Houttuynia cordata* extracts. *International Journal of Scientific and Research Publications, 7*(4), 2250-3153.

Wong, S., Leong, L., & Williamkoh, J. (2006). Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. *Food Chemistry, 99*(4), 775-783.

Zuo, A., Dong, H., Yu, Y., Shu, Q., . . . Cao, S. (2018). The antityrosinase and antioxidant activities of flavonoids dominated by the number and location of phenolic hydroxyl groups. *Chinese Medicine, 13*(1), 51-62.