

การเตรียมสารสกัดหยาบจากรากแดงกวาจิน (เทียนฮวาเฟิน) โดยใช้วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียง
Preparation of Crude Extracts From *Trichosanthes Kirilowii* Roots Using
Ultrasonic-Assisted Extraction Method

ธนภรณ์ แสงธรรมชัย

อีเมล: 6651701265@lamduan.mfu.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปัญญาวัฒน์ ปินตาทอง

อีเมล: punyawatt.pin@mfu.ac.th

สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

รากแดงกวาจิน หรือเทียนฮวาเฟิน (*Trichosanthes kirilowii* root) เป็นสมุนไพรที่ใช้ในแพทย์แผนจีน แต่การศึกษาสารออกฤทธิ์เพื่อใช้ในเครื่องสำอางยังมีจำกัด งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเตรียมสารสกัดโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเป็นขั้นตอนปรับสภาพก่อนการสกัดด้วยคลื่นเสียง และประเมินผลต่อร้อยละผลผลิต สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเทียนฮวาเฟินถูกปรับสภาพด้วยเซลลูเลส 200 ยูนิต (1 ยูนิต/มิลลิกรัม) 500 ยูนิต (2.5 ยูนิต/มิลลิกรัม) และ 1000 ยูนิต (5 ยูนิต/มิลลิกรัม) ในอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH 5.5 แล้วสกัดด้วยคลื่นเสียง 60 นาที สารละลายส่วนใตเตรียมเป็นสารสกัดน้ำ ส่วนกากนำไปสกัดต่อแบบลำดับขั้นด้วยเอทานอลร้อยละ 95 เพื่อเตรียมเป็นสารสกัดเอทานอล นอกจากนี้ยังเตรียมสารสกัดด้วยคลื่นเสียงโดยใช้น้ำและเอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายเพื่อเปรียบเทียบ ผลการศึกษาพบว่า การใช้เซลลูเลสร่วมกับคลื่นเสียงช่วยเพิ่มผลผลิตของสารสกัดในระบบน้ำอย่างมีนัยสำคัญ โดยเซลลูเลส 1000 ยูนิตให้ผลผลิตสูงสุดร้อยละ 32.40 ± 1.11 ขณะที่สารสกัดน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ให้ผลผลิตเพียงร้อยละ 13.33 ± 1.09 ส่วนสารสกัดในระบบเอทานอลให้ผลผลิตต่ำและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตาม ปริมาณฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดที่เตรียมร่วมกับเอนไซม์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยคลื่นเสียงเพียงอย่างเดียว ดังนั้น การใช้เซลลูเลสร่วมกับคลื่นเสียงเหมาะสำหรับการเพิ่มปริมาณสารสกัดหยาบ ขณะที่การสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ยังคงเหมาะสำหรับการเตรียมสารสกัดที่มีสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า

คำสำคัญ: รากแดงกวาจิน, เทียนฮวาเฟิน, เซลลูเลส, การสกัดด้วยคลื่นเสียง, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Abstract

Trichosanthes kirilowii roots is a Chinese medicinal herb, but studies on its active compounds for cosmetic applications remain limited. This study aimed to prepare crude extracts using cellulase pretreatment combined with ultrasound-assisted extraction and to evaluate the effect on extraction yield, total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity. The root samples were pretreated with cellulase at 200 units (1 U/mg), 500 units (2.5 U/mg), and 1000 units (5 U/mg) in acetate buffer (pH 5.5), followed by ultrasound-assisted extraction for 60 minutes. The liquid fraction was collected as the aqueous extract. The remaining residue was sequentially extracted with 95% ethanol to obtain the ethanolic extract. In addition, ultrasound-assisted extraction using water and 95% ethanol as solvents was performed for comparison. The results showed that cellulase pretreatment combined with ultrasound significantly increased the aqueous extraction yield. The aqueous extract obtained with 1000 units of cellulase gave the highest yield of $32.40 \pm 1.11\%$, whereas the aqueous extract without cellulase gave a yield only $13.33 \pm 1.09\%$. In contrast, the ethanolic extracts showed lower yields (0.63 - 1.17%) with no significant differences among the groups. However, the total phenolic content, total flavonoid content, and antioxidant activity of the enzyme-assisted extracts tended to decrease compared with ultrasound extraction alone. Therefore, cellulase pretreatment combined with ultrasound extraction is effective in enhancing crude extract yield, whereas ultrasound extraction using 95% ethanol remains more appropriate for obtaining extracts with higher levels of bioactive compounds and antioxidant activity.

Keywords: *Trichosanthes kirilowii*, Cellulase, Ultrasound-Assisted Extraction, Sequential Extraction, Antioxidant Activity

บทนำ/หลักการและเหตุผล

Trichosanthes kirilowii เป็นพืชในวงศ์แตง (Cucurbitaceae) ที่ใช้เป็นสมุนไพรจีนหลายส่วน ได้แก่ กวาวี (ผลสุกแห้ง) กวาวี (เปลือกผล) กวาวี (เมล็ด) และเทียนฮวาเฟิน (ราก) ซึ่งทั้งหมดได้รับการบรรจุในตำรายาจีน โดยเทียนฮวาเฟินมีสรรพคุณขจัดความร้อน ดับพิษร้อน

เพิ่มสารน้ำในร่างกาย ลดอาการบวมและขับหนอง ใช้รักษาโรคเบาหวาน ผี แผลพุพอง (Tang et al., 2020) และยังรักษาอาการอ่อนเพลีย โรคไขข้อ และโรคผิวหนังได้ (Yu et al., 2018) ทั้งสิว หนอง สะเก็ดเงิน กลากเกลื้อน ผื่นคัน ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นการนำสมุนไพรชนิดนี้ไปใช้ประโยชน์ทางเภสัชวิทยา งานวิจัยที่ผ่านมาได้สกัดสารสำคัญด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ เช่น เอทานอล เมทานอล และน้ำ พบสารออกฤทธิ์หลายชนิด เช่น อัลคาลอยด์ นิเวคลิโอไทด์ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ โพลีแซ็กคาไรด์ โปรตีน และลิแกน (Chai et al., 2014; Minh et al., 2015) และมีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านมะเร็งตับ (Mondal, 2014) ต้านมะเร็งปอด (Li et al., 2010) ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Ahmad et al., 2024) รักษาโรคเบาหวาน (Lo et al., 2017) ต้านการอักเสบ (Ha et al., 2019) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Ma et al., 2018)

การสกัดสารสำคัญจากพืชมีหลากหลายวิธี ปัจจุบันวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม เช่น การแช่หมัก การสกัดด้วยซอกซ์เลต ยังมีข้อจำกัดในด้านประสิทธิภาพ เนื่องจากใช้เวลานานในการสกัด และใช้ปริมาณตัวทำละลายอินทรีย์มาก อีกทั้งความร้อนที่ใช้ในกระบวนการอาจส่งผลให้สารสำคัญที่ไวต่ออุณหภูมิเสื่อมสลายได้ จึงมีการพัฒนาวิธีที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมถึง green process เช่น การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงเมื่อเทียบกับวิธีแบบดั้งเดิม ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด ลดเวลาและพลังงาน ควบคุมปัจจัยต่าง ๆ ได้อย่างแม่นยำ เช่น อุณหภูมิ เวลา และอัตราส่วนระหว่างน้ำต่อวัตถุดิบได้อย่างละเอียด (Ma et al., 2018) ในด้านการสกัดสารออกฤทธิ์ วิธีการใช้คลื่นเสียงจะช่วยเพิ่มการแตกตัวของผนังเซลล์พืชผ่านปรากฏการณ์ Cavitation ทำให้สารออกฤทธิ์ เช่น โพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในเซลล์ถูกปลดปล่อยออกมาในปริมาณที่มากกว่า ซึ่งมีประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าวิธีแบบดั้งเดิม และยังลดระยะเวลาในการสกัด (Majid et al., 2015)

อีกทั้งการสกัดด้วยเอนไซม์ เช่น เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเพกติเนส สามารถย่อยผนังเซลล์พืชและเพิ่มการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้ (วีรภัทร วิโนทพรรษ์, 2557) นอกจากนี้ การนำเอนไซม์มาสกัดร่วมกับวิธีการใช้คลื่นเสียง ยังเพิ่มผลการผลิตได้ดี มีงานวิจัยที่ใช้วิธีการสกัดด้วยคลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการสกัดโพลีแซ็กคาไรด์จาก *Trichosanthes Fructus* (Chen et al., 2017) และมีงานวิจัยในการสกัดสารจากเสาวรส โดยการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส ทำให้มีประสิทธิภาพการสกัดมากขึ้น (Wang et al., 2021)

เนื่องจากการศึกษาเบื้องต้นของเทียนฮวาเฟิน (*Trichosanthes kirilowii* root) พบงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับทางเครื่องสำอางยังไม่แพร่หลาย และยังไม่มีการนำมาสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลส จึงสนใจที่จะนำส่วนรากนี้มาศึกษาการสกัดสารสำคัญด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียง และวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อวิเคราะห์ร้อยละผลผลิต ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อนำสารสกัดธรรมชาติอย่างเทียนฮวาเฟินมาเป็นสารออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเตรียมสารสกัดจากเหียนฮวาเฟินโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสเป็นขั้นตอนปรับสภาพก่อนการสกัด
2. เพื่อเปรียบเทียบแนวโน้มร้อยละผลผลิต ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเหียนฮวาเฟินด้วยวิธีการสกัดโดยใช้คลื่นเสียง และวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเหียนฮวาเฟิน

ซื้อเหียนฮวาเฟินแบบแห้งที่ร้านขายยาคุยลิมฮึง คลินิกแพทย์แผนจีน 135 ถนน พระรามที่ 4 แขวงป้อมปราบ เขตป้อมปราบศัตรูพ่าย กรุงเทพมหานคร 10100 จากนั้นนำเหียนฮวาเฟินมาบดเป็นผงละเอียดด้วยเครื่องปั่น ใส่ในถุงซิปล็อค และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การสกัดสารสำคัญด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียง

เตรียมตัวอย่างพืชในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลาย 1:10 น้ำหนัก/ปริมาตร โดยใช้ตัวทำละลาย (น้ำ และเอทานอลร้อยละ 95) และใช้คลื่นเสียงความถี่ 40 kHz เวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หลังสกัดเสร็จแยกชั้นส่วนของพืชโดยใช้เครื่องกรองสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 นำสารละลายส่วนใสที่ได้มาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักสารละลายนิ่ง และนำมาแช่เยือกแข็ง จะได้เป็นสารสกัด aqueous extract และสารสกัด ethanolic extract จากนั้นชั่งน้ำหนัก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3. การสกัดสารสำคัญด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส

เตรียมตัวอย่างโดยผสมตัวอย่างพืชกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ pH5.5 ในอัตราส่วนพืชต่ออะซิเตตบัฟเฟอร์ 1:10 น้ำหนัก/ปริมาตร เติมเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Aspergillus niger* (Cellulase from *Aspergillus niger*; Sigma, USA) ที่ความเข้มข้น 200 ยูนิต (1 ยูนิต/มิลลิกรัม) 500 ยูนิต (2.5 ยูนิต/มิลลิกรัม) และ 1000 ยูนิต (5 ยูนิต/มิลลิกรัม) ใช้คลื่นเสียงความถี่ 40 kHz เวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส หลังสกัดเสร็จให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส 2 นาที เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ จากนั้นปั่นเหวี่ยง 5,000 rpm 30 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักสารละลายนิ่ง และนำมาแช่เยือกแข็ง ชั่งน้ำหนักและเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสารสกัด Enzyme-treated aqueous extract ส่วนกากตะกอนที่ได้จากการปั่นเหวี่ยง นำไปสกัดต่อแบบลำดับขั้นโดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 อัตราส่วน 1:10 โดยน้ำหนัก/ปริมาตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร ความเร็ว 150

รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที และปั่นเหวี่ยง 5,000 rpm 30 นาที นำสารละลายส่วนใสที่ได้ระเหยตัว ทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักสารละลายนิ่ง และนำมาแช่เยือกแข็ง ซึ่งน้ำหนักและเก็บไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส จะได้เป็นสารสกัด Enzyme-treated ethanolic extract

4. ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิธี Folin-Ciocalteu (ดัดแปลงจาก Siddiqui et al., 2017) นำสารละลายตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 0.95 มิลลิลิตร เติม Folin ciocalteu's reagent 0.25 มิลลิลิตร และโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7.5 ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร คำนวณโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิกที่เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.001-0.008 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยกราฟมาตรฐานให้สมการ $y = 123.39x$ ($R^2 = 0.9989$) และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด

5. ศึกษาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

วิธี Aluminum chloride colorimetric method (ดัดแปลงจาก Fattah et al., 2014) นำสารละลายตัวอย่าง 0.6 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 3.10 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไนไตรด์ร้อยละ 5 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร และอะลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 ปริมาตร 0.15 มิลลิลิตร ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 8 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร คำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานของควอซิทีนที่เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.005-0.070 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยกราฟมาตรฐานให้สมการ $y = 9.462x$ ($R^2 = 0.9903$) และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่าควอซิทีนต่อกรัมของสารสกัด

6. ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเทียนฮวาเฟิน

1) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Assay

นำสารละลายตัวอย่าง 0.09 มิลลิลิตร ผสมกับเอทานอล 0.910 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ จากความต่างของค่าการดูดกลืนแสงระหว่างชุดควบคุมและชุดทดลอง นำค่าที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของโทรลอกซ์ที่เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.00065-0.00780 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยกราฟมาตรฐานให้สมการ $y = 13366x$ ($R^2 = 0.9949$) และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมเทียบเท่าโทรลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

2) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP Assay

เตรียมสารละลาย FRAP โดยเตรียมสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลายอะซิเตตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 ในอัตราส่วน 1:1:10 (ปริมาตร/ปริมาตร) และอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลเซียสก่อนใช้งาน นำสารละลายตัวอย่าง 0.05 มิลลิลิตร ผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ 1.450 มิลลิลิตร เติมน้ำสารละลาย FRAP 1.50 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร คำนวณโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของไทโรลอกซ์ที่เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.0004-0.0054 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยกราฟมาตรฐานให้สมการ $y = 216.24x$ ($R^2 = 0.9981$) และรายงานผลเป็นมิลลิกรัมไทโรลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด

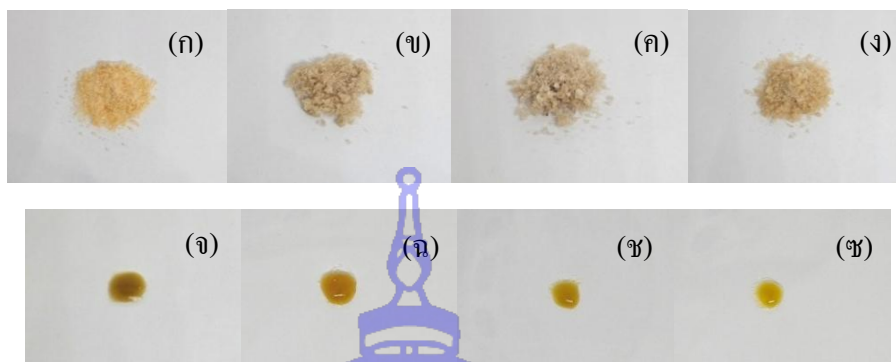
7. การวิเคราะห์ข้อมูลด้วยสถิติ

วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 21 โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่างด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่ด้วยวิธี Duncan test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 ($p < 0.05$) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรด้วยสถิติสหสัมพันธ์แบบเพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.01 ($p < 0.01$)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

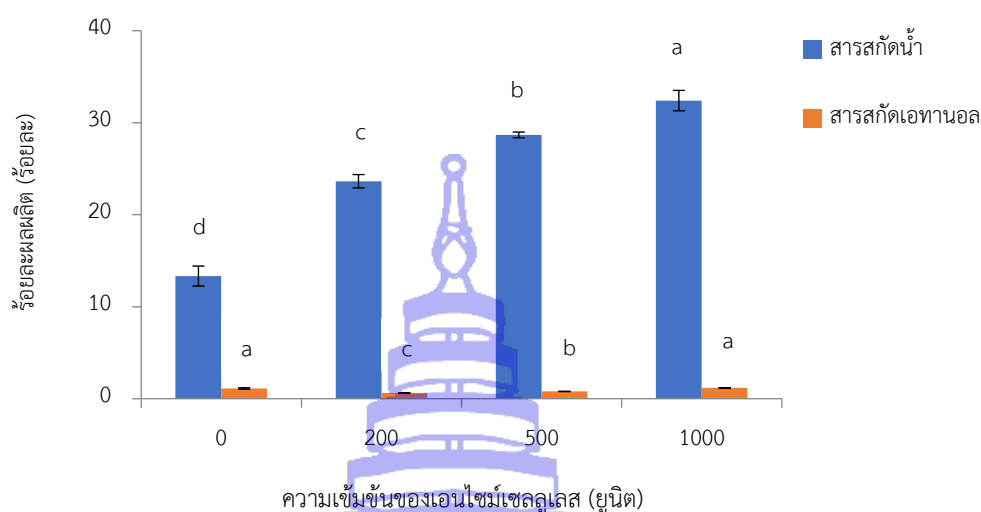
1. สารสกัดเทียนฮวาเผิน

การสกัดเทียนฮวาเผินด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียง โดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำ และเอทานอลร้อยละ 95 และสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่ 200 ยูนิต 500 ยูนิต และ 1000 ยูนิต จากนั้นนำกากตะกอนที่เหลือมาสกัดต่อด้วยวิธีเขย่า โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งสามารถแสดงเป็นลักษณะของสารสกัด ได้ดังนี้ สารสกัดน้ำ มีลักษณะเป็นเกล็ดผง สีน้ำตาลออกเหลืองอ่อน กลิ่นคล้ายเนื้อไม้ ไม่มีกลิ่นฉุน สารสกัดน้ำด้วยเซลลูเลส 200, 500 และ 1000 ยูนิต เป็นเกล็ดผง สีน้ำตาล สีน้ำตาลอ่อน สีน้ำตาลออกเหลือง ตามลำดับ กลิ่นของสารสกัดน้ำด้วยเซลลูเลสทั้งหมดจะมีกลิ่นฉุนเด่นชัดกว่าสารสกัดน้ำ สารสกัดเอทานอล มีลักษณะขุ่นหนืด สีน้ำตาลออกเขียว กลิ่นคล้ายเนื้อไม้ปนกลิ่นหมัก สารสกัดเอทานอลด้วยเซลลูเลส 200, 500 และ 1000 ยูนิต ขุ่นหนืด สีน้ำตาลออกเหลืองเข้ม สีน้ำตาลออกเหลือง สีน้ำตาลออกเหลืองอ่อน ตามลำดับ กลิ่นของสารสกัดเอทานอลด้วยเซลลูเลสทั้งหมดจะมีกลิ่นคล้ายเนื้อไม้และแบ่ง โดยมีกลิ่นหมักเด่นชัดกว่าสารสกัดเอทานอล ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะสารสกัดจากเทียนฮวาเฟิน (ก) สารสกัดน้ำ (ข) สารสกัดน้ำด้วยเซลลูโลส 200 ยูนิต (ค) สารสกัดน้ำด้วยเซลลูโลส 500 ยูนิต (ง) สารสกัดน้ำด้วยเซลลูโลส 1000 ยูนิต (จ) สารสกัดเอทานอล (ฉ) สารสกัดเอทานอลด้วยเซลลูโลส 200 ยูนิต (ช) สารสกัดเอทานอลด้วยเซลลูโลส 500 ยูนิต (ซ) สารสกัดเอทานอลด้วยเซลลูโลส 1000 ยูนิต

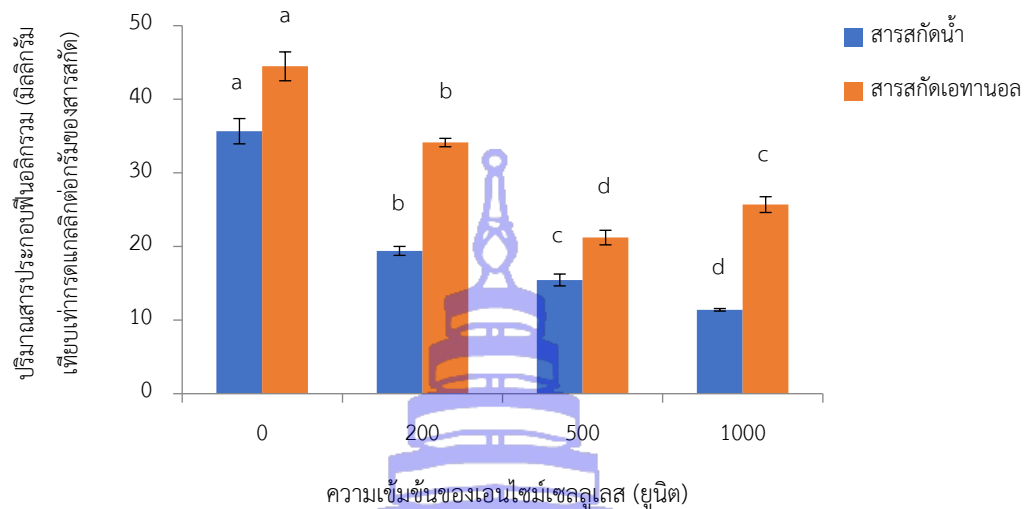
จากการศึกษาร้อยละผลผลิตของสารสกัด พบว่าสารสกัดน้ำด้วยเซลลูโลส 1000 ยูนิต มีร้อยละผลผลิตสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับร้อยละ 32.40 ± 1.11 รองลงมาคือการใช้เซลลูโลส 500 และ 200 ยูนิต ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดน้ำที่ไม่ใช้เซลลูโลสให้ผลผลิตต่ำกว่าเท่ากับร้อยละ 13.33 ± 1.09 ส่วนสารสกัดในระบบเอทานอลให้ร้อยละผลผลิตต่ำมากอยู่ในช่วงร้อยละ 0.63 ถึง 1.17 ที่เซลลูโลส 1000 ยูนิตและที่ไม่ใช้เซลลูโลสให้ผลผลิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ดังภาพที่ 2 การใช้เซลลูโลสช่วยย่อยสลายผนังเซลล์พืช ทำให้สารที่ละลายน้ำถูกปลดปล่อยออกมามากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chen et al. (2017) ที่รายงานว่า การใช้เอนไซม์ร่วมกับคลื่นเสียง เพิ่มประสิทธิภาพการสกัดและฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่าแบบไม่ใช้เอนไซม์ นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mudondo et al. (2025) ที่ระบุว่าองค์ประกอบทางเคมีของเทียนฮวาเฟินมีสารหลายกลุ่ม โดยมีความเป็นไปได้ว่าสารที่ละลายน้ำกลุ่มหลัก คือ โพลีแซ็กคาไรด์ และโปรตีน



ภาพที่ 2 ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อปริมาณผลผลิตของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอล จากเหียนฮวาเฟิน ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันภายใต้ตัวทำละลายชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

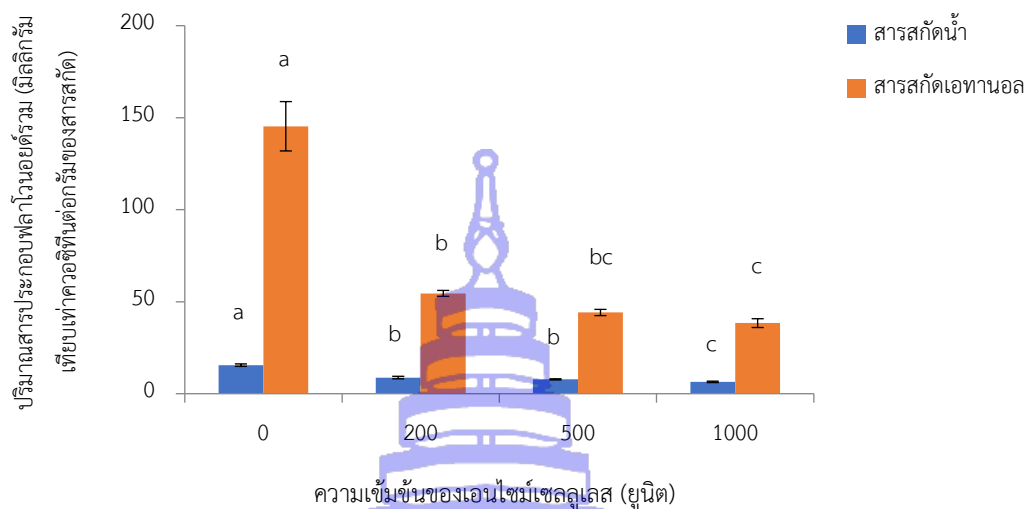
ผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 44.47 ± 1.96 มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และเมื่อใช้เอนไซม์เพิ่มขึ้นค่ามีแนวโน้มลดลงตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำที่ไม่ใช้เซลลูเลส มีค่าเท่ากับ 35.66 ± 1.72 มิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และเมื่อใช้เอนไซม์เพิ่มขึ้นมีค่าลดลงเช่นกัน ดังภาพที่ 3 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Machado et al. (2025) รายงานว่าการใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้ความดัน ทำให้สารฟีนอลิกลดลงต่ำกว่าวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว และแสดงให้เห็นว่าเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากสารฟีนอลิกบางชนิดมีคุณสมบัติทั้งมีขั้ว และละลายได้ดีกว่าในเอทานอล แม้วิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์จะเพิ่มร้อยละผลผลิต แต่กลับทำให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมลดลง อาจเกิดจากการปลดปล่อยสารหลายชนิดออกมาจนเกินจนเกิด dilution effect สอดคล้องกับงานวิจัยของ เรวดี มีสัจย์ และคณะ (2568) ที่พบว่าการสกัดด้วยเอนไซม์ให้ผลผลิตสูงกว่า แต่ปริมาณสารฟีนอลิกกลับต่ำกว่าวิธีสกัดด้วยน้ำและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 3 ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลจากเทียนฮวาเฟิน ตัวหนังสือยกยอกที่แตกต่างกันภายใต้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม

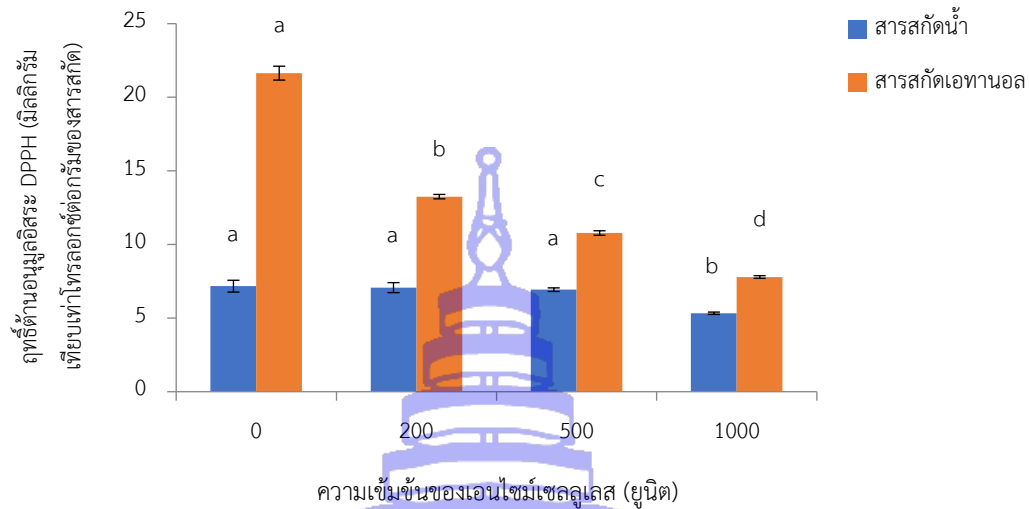
จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่ไม่ใช้เอนไซม์เซลลูเลสมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าสารสกัดที่ใช้เอนไซม์ โดยสารสกัดเอทานอลให้ค่าสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 145.32 ± 13.41 มิลลิกรัมเทียบเท่าควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือการใช้เซลลูเลส 200, 500 และ 1000 ยูนิต ตามลำดับ ส่วนสารสกัดในระบบน้ำทั้งหมดมีค่าต่ำมากและลดลงเมื่อเพิ่มเอนไซม์ ดังภาพที่ 4 สาเหตุอาจมาจากสารฟลาโวนอยด์ละลายได้ดีกว่าในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล และบางส่วนยังคงตกค้างในกากตะกอนหลังการสกัดด้วยเอนไซม์ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ghasemzadeh et al. (2015) ที่ศึกษาพบว่าเอทานอลมีประสิทธิภาพสูงกว่าน้ำในการสกัดฟลาโวนอยด์ และการใช้คลื่นเสียงเพียงอย่างเดียวให้ผลดีกว่าการใช้ร่วมกับเอนไซม์ แม้การสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอนไซม์จะเพิ่มร้อยละผลผลิต แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมกลับลดลง อาจเกิดจากการปลดปล่อยสารหลายชนิดออกมาจนเกิด dilution effect ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Balasubramaniam et al. (2019) ที่พบว่าการใช้เอนไซม์ร่วมกับคลื่นเสียงให้ผลผลิตสูงกว่า แต่ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมต่ำกว่าวิธีใช้คลื่นเสียงเพียงอย่างเดียวเล็กน้อย



ภาพที่ 4 ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลจากเทียนฮวาเฟิน ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันภายใต้ตัวทำละลายชนิดเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

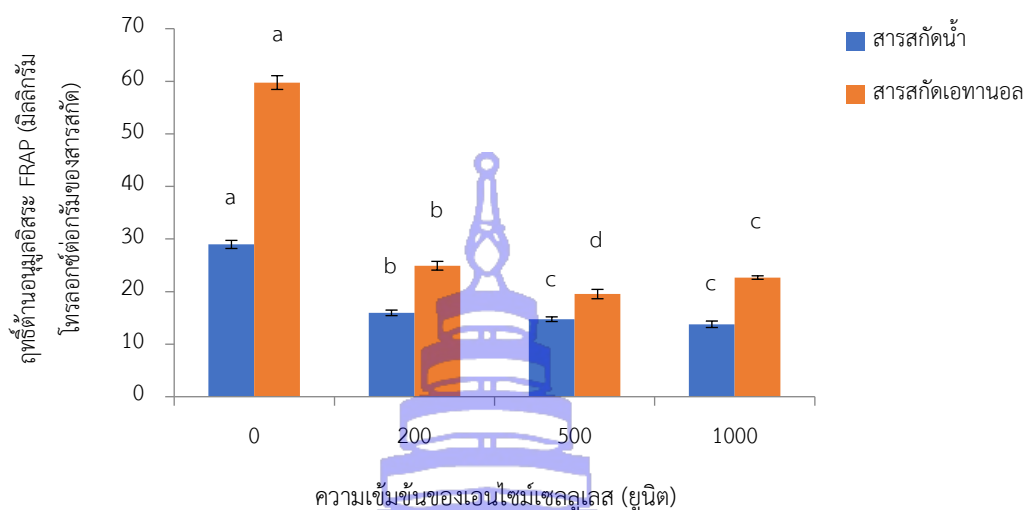
จากผลการศึกษาพบว่าสารสกัดเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 21.64 ± 0.47 มิลลิกรัมเทียบเท่าไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือการใช้เซลลูเลส 200, 500 และ 1000 ยูนิท ตามลำดับ ส่วนสารสกัดในระบบน้ำมีค่าต่ำอยู่ในช่วงระหว่าง 5.33 ถึง 7.17 มิลลิกรัมเทียบเท่าไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด ดังภาพที่ 5 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Stanek-Wandzel et al. (2024) พบว่าการใช้เอนไซม์เกินระดับที่เหมาะสมแล้วจะไม่ช่วยเพิ่มฤทธิ์ DPPH และมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย นอกจากนี้การสกัดด้วยเอทานอลให้ฤทธิ์สูงกว่าน้ำ และการใช้คลื่นเสียงเพียงอย่างเดียวให้ฤทธิ์สูงกว่าการใช้ร่วมกับเอนไซม์อธิบายได้ว่าเอนไซม์ช่วยปลดปล่อยสารหลายชนิดออกมามากขึ้นจนเกิด dilution effect ทำให้ค่าต่อหน่วยน้ำหนักสารสกัดลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ เรวดี มีสัจย์ และคณะ (2568) พบว่าการสกัดด้วยเอนไซม์ให้ผลผลิตสูงกว่า แต่ฤทธิ์ DPPH ต่ำกว่าน้ำและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 5 ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลจากเทียนฮวาเฟิน ตัวหนังสือยกยอกที่แตกต่างกันภายใต้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

5. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP

การศึกษาแสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอล มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เท่ากับ 59.75 ± 1.31 มิลลิกรัมไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด ขณะที่สารสกัดน้ำมีค่าต่ำกว่า 28.96 ± 0.77 มิลลิกรัมไทรอลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัด และเมื่อใช้เอนไซม์เพิ่มขึ้นค่ามีแนวโน้มลดลงทั้งสองระบบ ดังภาพที่ 6 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Seleshe et al. (2022) ที่รายงานว่าเมทานอลมีประสิทธิภาพสูงกว่าเอทานอล และเอทานอลสูงกว่าน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ การสกัดด้วยคลื่นเสียงเพียงอย่างเดียวให้ฤทธิ์ FRAP สูงกว่าการใช้ร่วมกับเอนไซม์ สะท้อนว่าแม้เอนไซม์ช่วยเพิ่มผลผลิต แต่ไม่ได้เพิ่มฤทธิ์ FRAP เนื่องจากสารที่ถูกปลดปล่อยออกมาอาจมีส่วนประกอบที่ไม่สามารถรีดิวซ์ Fe^{3+} เป็น Fe^{2+} ทำให้เกิด dilution effect ส่งผลให้ค่าต่อหน่วยน้ำหนักลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ เรวดี มีสตัย และคณะ (2568) พบว่าแม้การสกัดด้วยเอนไซม์จะให้ผลผลิตสูงกว่า แต่การสกัดด้วยน้ำและเอทานอลให้ฤทธิ์ FRAP สูงกว่าการสกัดด้วยเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)



ภาพที่ 6 ผลของเอนไซม์เซลลูเลสต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP ของสารสกัดน้ำและสารสกัดเอทานอลจากเทียนฮวาเฟิน ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันภายใต้ตัวทำละลายชนิดเดียวกัน แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

6. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเทียนฮวาเฟิน ดังตารางที่ 1 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฟลาโวนอยด์รวมมีความสัมพันธ์เชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ FRAP ($p < 0.01$) โดยเฉพาะสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมซึ่งมีความสัมพันธ์สูงมากกับทั้ง DPPH ($r=0.975$) และ FRAP ($r=0.924$) สะท้อนว่าฟลาโวนอยด์อาจเป็นกลุ่มสารสำคัญที่มีบทบาทหลักต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกรวมก็มีความสัมพันธ์สูงกับ DPPH ($r=0.780$) และ FRAP ($r=0.872$) แสดงว่าฟีนอลิกมีส่วนสำคัญต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเช่นกัน

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม	0.780**	0.872**
ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม	0.975**	0.924**

หมายเหตุ ** แสดงถึงความสัมพันธ์ที่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$, Pearson Correlation test)

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้พบว่าการสกัดเทียนฮวาเฟินด้วยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับคลื่นเสียงช่วยเพิ่มร้อยละผลผลิตของสารสกัดในระบบน้ำได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยแนวโน้มของผลผลิตเพิ่มขึ้นตามปริมาณเอนไซม์ที่ใช้ สารสกัดน้ำด้วยเซลลูเลส 1000 ยูนิตให้ผลผลิตสูงสุดเท่ากับร้อยละ 32.40 ± 1.11 รองลงมาคือสารสกัดน้ำด้วยเซลลูเลส 500 และ 200 ยูนิต ซึ่งให้ผลผลิตเท่ากับร้อยละ 28.67 ± 0.31 และ 23.63 ± 0.73 ตามลำดับ ขณะที่สารสกัดน้ำที่ไม่ใช้เอนไซม์ให้ผลผลิต ร้อยละ 13.33 ± 1.09 สำหรับการสกัดในระบบเอทานอล พบว่าผลผลิตต่ำและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 0.63 - 1.17 อย่างไรก็ตาม เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม รวมถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้งวิธี DPPH และ FRAP ของสารสกัดที่เตรียมร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลสมีแนวโน้มให้ค่าลดลงเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยคลื่นเสียงเพียงอย่างเดียว โดยสารสกัดเอทานอลที่ไม่ใช้เอนไซม์จะให้ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า และสารประกอบฟลาโวนอยด์อาจเป็นกลุ่มสารสำคัญที่มีบทบาทหลักต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด

แนวทางในการศึกษาเพิ่มเติมควรมีการศึกษาสารสำคัญอื่นเพิ่มเติม นอกเหนือจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์รวม เช่น โพลีแซ็กคาไรด์ โปรตีน และควรศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นเพิ่ม นอกจากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส เพื่อประเมินศักยภาพของสารสกัดเทียนฮวาเฟินในการพัฒนาเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

รายการอ้างอิง

- วีรภัทร วิโนทพรรษ์. (2557). การประยุกต์ใช้เอนไซม์ในรูปอิสระและรูปตรึงสำหรับการสกัดสารธรรมชาติจากพืช. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 9(1), 57–70.
- เรวดี มีสัตย์, อภิรตรี ศรีธร, และยุทธศักดิ์ สุกการี. (2568). ผลของวิธีการสกัดและสายพันธุ์บัวบกต่อปริมาณผลผลิตสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด. *Bulletin of Applied Sciences*, 14(1), 66–78.
- Ahmad, M. A., Bhat, S. H., Iqra, Z., Jan, I., Yousuf, S., Syeed, S., . . . Ganaie, A.A. (2024). Unveiling the Therapeutic Potential: Metabolomics Insights into Medicinal Plants and Their Antidiabetic Effects. *Current Food Science and Technology Reports*, 1-19.
- Balasubramaniam, V. G., Ayyappan, P., Sathvika, S., & Antony, U. (2019). Effect of enzyme pretreatment in the ultrasound assisted extraction of finger millet polyphenols. *Journal of Food Science and Technology*, 56(3), 1583–1594. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03672-2>

- Baliyan, S., Mukherjee, R., Priyadarshini, A., Vibhuti, A., Gupta, A., Pandey, R. P., & Chang, C.M. (2022). Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative Phytochemical Analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules*, 27(4), 1326. <https://doi.org/10.3390/molecules27041326>
- Chai, X., Li, S. S., Zhu, L., Wang, Y. F., & Gao, X. M. (2014). Chemical Constituents of the Roots of *Trichosanthes kirilowii*. *Chemistry of Natural Compounds*, 50, 965-967.
- Chen, F. J., Li, D. H., Shen, H. Q., Wang, C. H., Li, E. Z., Xing, H. H., . . . Liu, J. Y. (2017). Polysaccharide from *Trichosanthes Fructus* via Ultrasound-Assisted Enzymatic Extraction Using Response Surface Methodology. *BioMed Research International*, 1-13. <https://doi.org/10.1155/2017/6160784>
- Fattahi, S., Zabihi, E., Abedian, Z., Pourbagher, R., Ardekani, A. M., Mostafazadeh, A., & Akhavan-Niaki, H. (2014). Total Phenolic and Flavonoid Contents of Aqueous Extract of Stinging Nettle and In Vitro Antiproliferative Effect on Hela and BT-474 Cell Lines. *Int J Mol Cell Med*, 3(2), 102-107.
- Fernandes, R. P. P., Trindade, M. A., Tonin, F. G., Lima, C. G., Pugine, S. M. P., Munekata, P. E. S., ... de Melo, M. P. (2016). Evaluation of antioxidant capacity of 13 plant extracts by three different methods: Cluster analyses applied for selection of the natural extracts with higher antioxidant capacity to replace synthetic antioxidant in lamb burgers. *Journal of Food Science and Technology*, 53(1), 451-460. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1996-7>
- Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. Z., Juraimi, A. S., & Tayebi-Meigooni, A. (2015). Comparative evaluation of different extraction techniques and solvents for the assay of phytochemicals and antioxidant activity of hashemi rice bran. *Molecules*, 20(6), 10822-10838. <https://doi.org/10.3390/molecules200610822>
- Ha, M. T., Phan, T. N., Kim, J. A., Oh, W. K., Lee, J. H., Woo, M. H., & Min, B. S. (2019). Trichosanhemiketal A and B: Two 13, 14-seco-13, 14-epoxyporiferastanes from the root of *Trichosanthes kirilowii* Maxim. *Bioorganic chemistry*, 83, 105-110. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.043>

- Li, C. T., Lin, C. H., Kao, T. Y., Wu, M. F., Yeh, C. S., Yeh, K. T., & Ko, J. L. (2010). The mechanisms of action of Tianhua™ on antitumor activity in lung cancer cells. *Pharmaceutical Biology*, 48(11), 1302-1309.
<https://doi.org/10.3109/13880201003713520>
- Lo, H. Y., Li, T. C., Yang, T. Y., Li, C. C., Chiang, J. H., Hsiang, C. Y., & Ho, T. Y. (2017). Hypoglycemic effects of *Trichosanthes kirilowii* and its protein constituent in diabetic mice: the involvement of insulin receptor pathway. *BMC complementary and alternative medicine*, 17, 1-9.
<https://doi.org/10.1186/s12906-017-1584-3>
- Ma, D. L., Du, H. R., Wen, Z. S., Wang, L., Jing, L., & Zheng, Y. G. (2018). Optimization of ultrasonic-assisted extraction of polysaccharides from trichosanthin and antioxidant activities in vitro. *2018 9th International Conference on Information Technology in Medicine and Education*, 894-899.
<https://doi.org/10.1109/ITME.2018.00199>
- Machado, T. O., de AC Kodel, H., dos Santos, F. A., dos Santos Lima, M., Costa, A. S., Oliveira, M. B. P., . . . Souto, E. B. (2025). Cellulase-assisted extraction followed by pressurized liquid extraction for enhanced recovery of phenolic compounds from 'BRS Violeta' grape pomace. *Separation and Purification Technology*, 354, 129218. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2024.129218>
- Majid, I., Nayik, G. A., & Nanda, V. (2015). Ultrasonication and food technology: A review. *Cogent Food & Agriculture*, 1(1), 1071022.
<https://doi.org/10.1080/23311932.2015.1071022>
- Minh, C. V., Nhiem, N. X., Yen, H. T., Kiem, P. V., Tai, B. H., Le Tuan Anh, H., . . . Kim, S. H. (2015). Chemical constituents of *Trichosanthes kirilowii* and their cytotoxic activities. *Archives of pharmacal research*, 38, 1443-1448.
<https://doi.org/10.1007/s12272-014-0490-6>
- Mondal, A. (2014). A novel extraction of trichosanthin from *Trichosanthes kirilowii* roots using three-phase partitioning and its in vitro anticancer activity. *Pharmaceutical Biology*, 52(6), 677-680.
<https://doi.org/10.3109/13880209.2013.864684>

- Mudondo, J., Happy, K., Okello, D., & Kang, Y. (2025). *Trichosanthis Radix*: A comprehensive review on botany, ethnomedicine, phytochemistry, pharmacology, quality control and toxicology. *Fitoterapia*, 183, 106597. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2025.106597>
- Seleshe, S., Ameer, A., & Kang, S. N. (2022). Exploration of the antioxidant chemical constituents and antioxidant performance of various solvent extracts of eighteen plants. *Preventive Nutrition and Food Science*, 27(2), 212. <https://doi.org/10.3746/pnf.2022.27.2.212>
- Siddiqui, N., Rauf, A., Latif, A., & Mahmood, Z. (2017). Spectrophotometric determination of the total phenolic content, spectral and fluorescence study of the herbal Unani drug Gul-e-Zoofa (*Nepeta bracteata* Benth). *Journal of Taibah University Medical Sciences*, 12(4), 360-363. <https://doi.org/10.1016/j.jtumed.2017.03.010>
- Stanek-Wandzel, N., Krzyszowska, A., Zarebska, M., Gebura, K., Wasilewski, T., Hordyjewicz-Baran, Z., & Tomaka, M. (2024). Evaluation of cellulase, pectinase, and hemicellulase effectiveness in extraction of phenolic compounds from grape pomace. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(24), 13538. <https://doi.org/10.3390/ijms252413538>
- Tang, Y. T., Du, Z. C., Hao, E. W., Xie, J. L., Hou, X. T., & Deng, J. G. (2020). Analysis of quality markers based on efficacy and material base of different medicinal parts of *Trichosanthes kirilowii*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 51(6), 1617-1627. <https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2020.06.020>
- Wang, W., Gao, Y. T., Wei, J. W., Chen, Y. F., Liu, Q. L., & Liu, H. M. (2021). Optimization of ultrasonic cellulase-assisted extraction and antioxidant activity of natural polyphenols from passion fruit. *Molecules*, 26(9), 2494. <https://doi.org/10.3390/molecules26092494>
- Yu, X., Tang, L., Wu, H., Zhang, X., Luo, H., Guo, R., ... Wang, Z. (2018). *Trichosanthis Fructus*: botany, traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 224, 177-194. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.012>