การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมจากสมุนไพรจีน : กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ

Determination of total flavonoid compounds from Chinese herbs extracts : *Zingiber offcinale Rosc.*, *Glycyrrhiza uralensis Fisch.*, *Nelumbo nucifera Gaertn.*

สุชา จุลสำลี*, ธนสาร ศิริรัตน์, สมหญิง งามอุรุเลิศ, จิราพัชร คำวงศา, พัชราภรณ์ หอมสุวรรณ, ศศิธร อยู่เจริญ
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
*Email : staveesit@gmail.com

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์งานวิจัยนี้ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งโดยวิเคราะห์การดูดกลืนแสงตามวิธี Aluminium nitrate colorimetric method ในสารสกัดสมุนไพรจีน 3 ชนิด ได้แก่ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ สกัดหยาบในตัวทำละลายเมททานอล 95%ผลการวิจัยพบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดสมุนไพรจากกันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ มีปริมาณ 12.56±0.86, 12.22±3.87 และ 2.14±0.41 mg QE/g dry mass ตามลำดับ โดยพบว่าสารสกัดสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงที่สุดคือกันเจียง ส่วนสารสกัดสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุดคือเหลียนจื่อ ดังนั้นจึงอาจสรุปได้ว่าสารสกัดสมุนไพรในกันเจียงมีสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

คำสำคัญ : สารต้านอนุมูลอิสระ ฟลาโวนอยด์ กันเจียง กันเฉ่า เหลียนจื่อ

Abstract

The objective of this research was to study the content of flavonoid compounds by aluminum nitrate colorimetric method in 3 Chinese herb extracts : *Zingiber officinale Roscoe*., *Glycyrrhiza uralensis Fisch*. and *Nelumbo nucifera Gaertn.* using 95% methanol as solvent. The results showed that the total flavonoid compounds in *Zingiber officinale Roscoe., Glycyrrhiza uralensis Fisch.* and *Nelumbo nucifera Gaertn.* were 12.5625±0.86, 12.2158±3.87 and 2.1417±0.41 mg QE/g dry mass, respectively. The highest total flavonoid compound was found in *Zingiber officinale Roscoe.* while *Nelumbo nucifera Gaertn.* showed the lowest amount of total flavonoid compound. Therefore, it can be concluded that *Zingiber officinale Roscoe.* showed the most antioxidant activity.

Keywords : antioxidants, total flavonoid compounds, *Zingiber officinale Roscoe.*, *Glycyrrhiza uralensis Fisch.*, *Nelumbo nucifera Gaertn.*

บทนำ

ในปัจจุบันสังคมและรูปแบบการใช้ชีวิตของคนไทยเปลี่ยนแปลงไป ทั้งต้องเผชิญอยู่กับปัญหาสุขภาพที่มาจากการใช้ชีวิตของตนเองหรือจากสิ่งแวดล้อมรอบข้าง เช่น การได้รับสารเคมีที่แฝงอยู่ในสินค้าต่าง ๆ การรับประทานอาหาร fast food ขาดการออกกำลังกาย รวมทั้งพฤติกรรมความเครียดที่เพิ่มมากขึ้น ปัจจัยเหล่านี้ล้วนส่งผลเสียต่อภาวะสุขภาพ ส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ อาทิ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง โรคอ้วน และโรคเรื้อรังทางเดินหายใจส่วนล่าง เป็นต้น ภาวะที่มีความเสื่อมของร่างกายหรือการเป็นโรคเรื้องรังนาน ๆ อาจทำให้พบภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) คือ ภาวะของความไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระในเซลล์หรือร่างกายโดยเอนไซม์และ สารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) โดยมีการสร้างอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ(อรอุมา สร้อยจิต, สุวิทย์ คล่องทะเล, ภูมภัสส์ พุทธผดุงวิพล, 2564)

สารอนุมูลอิสระเป็นสารที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เซลล์ ถูกทำลายหรือเสื่อมสภาพและก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา ในปัจจุบันการบริโภคสมุนไพร ถูกนำมาใช้เพื่อป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระ ซึ่งสารฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Yoosatit N. and Klinchan C.,2016) ประกอบด้วย ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และ แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) (Suttana W.,2013)

จากการศึกษางานวิจัยพบว่าสมุนไพรจีนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีหลายชนิด ได้แก่ หวงฉี (*Astragalus membranaceus*) (Zeng P,Li J., Chen Y., Chang L., 2019) โสม (Ginseng) (Bai L., Gao J., Wei F., Zhao J., Wang D., Wei J., 2018) หวงฉิน (*Scutellaria radix*) (Huang T., Liu Y., and Zhang C., 2019) และเก๋ากี้ (*Lycii fructus*) (Lam P., Cheung F., Tan HY., Wang N., Yuen MF., Feng Y., 2016) คณะวิจัยจึงเลือกศึกษาสมุนไพรจีนที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ มาศึกษา โดยสมุนไพรที่คณะวิจัยเลือก คือ กันเจียง (*Zingiber offcinale Rosc.*) กันเฉ่า (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*) เหลียนจื่อ (*Nelumbo nucifera Gaertn.*) เป็นสมุนไพรจีนที่หาได้ง่ายในประเทศไทย มีการนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมเพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในกันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ

ทบทวนวรรณกรรม

อนุมูลอิสระ (free radical) อนุมูลอิสระ คือ สารประกอบอิเล็กตรอนเดี่ยวซึ่งจะอยู่วงนอกสุดของออร์บิทัล มีความเสถียรต่ำ เมื่อเกิดการรวมตัวกันจะทำให้เกิดปฏิกิริยาที่รุนแรง เนื่องจากอิเล็กตรอนเดี่ยวที่ไม่เสถียรจะพยายามจับคู่กับอิเล็กตรอนเดี่ยวอื่นจึงมีความไวสูงในการเกิดปฏิกิริยา (โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์, และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง, 2549) ซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกาย (endogenous free radical) ภาวะที่ร่างกายปกติจะเกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมใน ไมโตคอนเดรียและภาวะผิดปกติ เกิดจากการอักเสบ มีการติดเชื้อ เป็นต้น ส่วนอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอกร่างกาย (exogenous free radical) เกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น ควันบุหรี่

ยาฆ่าแมลง แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา และยา เป็นต้น (ศริศักดิ์ สุนทรไชย, 2558) มีผลทำให้เซลล์ถูกทำลายหรือเสื่อมสภาพและก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่ทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระได้โดยตรง ช่วยลดปริมาณอนุมูลอิสระไม่ให้ไปทำลายเซลล์ สามารถกำจัดอนุมูลอิสระให้หมดไป โดยไปยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือเป็นสารต้านออกซิเดชัน (โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทนา บุณยะรัตน์, และ มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง, 2549) ซึ่งมีกลไกการทำงานที่หลากหลาย อาทิ การดักจับอนุมูลอิสระ (free radicals scavenging) การจับกับโลหะหนักที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อสร้างอนุมูลอิสระ (metal chelation) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) การหยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูล-อิสระ (chain breaking) และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids phenolic acid) ที่ยับยั้งการทำงานของ lipoxygenase (Devasagayam TPA., Tilak JC., Boloor KK., Sane SK., Ghaskadbi SG., R.D. Lele., 2004)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จัดเป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลที่พบมากในพืชผัก ผลไม้ ดอกไม้ ไวน์ และเครื่องดื่ม เป็นต้น ตัวอย่างพืชที่มีสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ได้แก่ ใบชา ส้ม หอมใหญ่ และพืชตระกูลถั่ว สารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีผลทำให้สุขภาพแข็งแรง ชะลอความแก่ ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือดและป้องกันมะเร็ง ดังนั้นการรับประทานพืชผักผลไม้ที่มีสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณมากช่วยลดโรคภัยไข้เจ็บได้ สารฟลาโวนอยด์ที่พบในธรรมชาติมีมากกว่า 8,000 ชนิด ฟลาโวนอยด์สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายชนิดขึ้นอยู่กับความสามารถในการเกิดปฏิกิริยา oxidation ของออกซิเจนในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ กลุ่มฟลาโวนอยด์ที่สำคัญได้แก่ flavonols, Isoflavones, flavanols, flavanones, flavones และ anthocyanins

สมุนไพร (herbs) สมุนไพร (herbs) หมายถึง สิ่งที่ครอบคลุมทั้งพืชและสัตว์ ที่สามารถนำมาใช้เป็นประโยชน์ในด้านยาบำบัดรักษาโรคและบำรุงร่างกายให้แข็งแรง (เพ็ญนภา ทิพย์สุราษฎร์ธานี, 2558) ส่วนประกอบต่าง ๆ พืชสมุนไพรทั้งแบบสดและแห้ง มีคุณสมบัติในการรักษาโรคและบำรุงร่างกายที่แตกต่างกัน ดังนั้นควรทำการศึกษาโดยละเอียดก่อนนำมาใช้

รูปที่ 1 กันเจียง (*Zingber offcinale Rosc*.)

ที่มา : ข้อมูลสมุนไพรจีน. (2564). สืบค้นเมื่อ 13 มิถุนายน 2564, จาก หัวเฉียวแพทย์แผนจีน เว็บไซต์: https://www.huachiewtcm.com/content/8169/กันเจียง-干姜-ขิง-ข้อมูลสมุนไพรจีน.

ชื่อสมุนไพร : กันเจียง

ชื่อสามัญ : Ginger

ชื่ออื่น ๆ : ขิงแกลง ขิงแดง ขิงเผือก สะเอ

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Zingiber officinale Roscoe.*

ชื่อพ้อง : *Zingiber majus Rumph.*

ชื่อวงศ์ : Zingiberaceae

สารสกัดขิงสามารถฆ่าเชื้อ *Helicobacter pylori* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคแผลในกระเพาะอาหาร ทั้งยังช่วยลดการอักเสบ ลดระดับน้ำตาลและไขมันในเลือด นอกจากนี้ขิงยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเรียนรู้และความจดจำต่อสิ่งเร้าเร็วขึ้น (วทันยา ลิมปพยอม, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, ภรณ์ทิพย์ ดุษฎีลาวัณย์, เกษรา วามะศิริ, 2557) ช่วยชะลอความชราและต้านอนุมูลอิสระ (Leal PF., Braga MEM., Sato DN., Carvalho JE., Marques MOM., Meireles MAA., 2003) รักษาไข้หวัดจากการกระทบ ลมเย็น บรรเทาอาการคลื่นไส้อาเจียน ท้องเสีย (อรสา ดิสถาพร, 2551)

รูปที่ 2 กันเฉ่า (*Glycyrrhiza uralensis Fisch.*)

ที่มา : ข้อมูลสมุนไพรจีน. (2564). สืบค้นเมื่อ 13 มิถุนายน 2564, จาก หัวเฉียวแพทย์แผนจีน เว็บไซต์: https://www.huachiewtcm.com/content/7970/กันเฉ่า-甘草-ข้อมูลสมุนไพรจีน.

ชื่อสมุนไพร : กันเฉ่า

ชื่อสามัญ : Licorice Root

ชื่ออื่น ๆ : ชะเอมเทศ กำเช่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Glycyrrhiza uralensis Fisch.*

ชื่อพ้อง : *Glycyrrhiza glandulifera Ledeb.*

ชื่อวงศ์ : Leguminosae

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์:

กันเฉ่ามีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนจากต่อมหมวกไต ทำให้มีการกักเก็บน้ำในร่างกาย ลดการขับออกของน้ำและเกลือโซเดียมทางปัสสาวะและมีฤทธิ์ต้านอักเสบ สารออกฤทธิ์ คือ glycyrrhizin และ glycyrrhetinic acid และกลุ่มเฟลโวนในกันเฉ่า มีฤทธิ์รักษาแผลในกระเพาะอาหารโดยลดการหลั่งกรดในกระเพาะอาหาร ระบายความร้อน ขับพิษ ระงับไอ ขับเสมหะ (กรมพัฒนาการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข, 2553)

รูปที่ 3 แสดงเหลียนจื่อ (*Nelumbo nucifera Gaertn.*)

ที่มา : ข้อมูลสมุนไพรจีน. (2564). สืบค้นเมื่อ 13 มิถุนายน 2564, จาก หัวเฉียวแพทย์แผนจีน เว็บไซต์: https://health.kapook.com/view57030.html.

ชื่อสมุนไพร : เหลียนจื่อ

ชื่อสามัญ : Sacred lotus

ชื่ออื่น ๆ : บุณฑริก ปทุม ปัทมา สัตตบงกช บัวฉัตรขาว

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Nelumbo nucifera Gaertn.*

ชื่อพ้อง : *Nymphaea nelumbo.*

ชื่อวงศ์ : Nelumbonaceae

ผลบัวหลวงหรือเมล็ดบัวหลวง มีประโยชน์คือใช้เป็นส่วนประกอบของยารักษาโรคผิวหนังเปลือกของเมล็ดบัวตากแห้งสามารถนำไปเพาะเห็ดฟาง (สุรัตน์วดี วงค์คลัง, 2558) เป็นยาบำรุงกำลังรักษาอาการร้อนใน กระหายน้ำ ขับเสมหะ ลดระดับน้ำตาลในเลือด (ธาริณี แดงน้อย, 2559)

จากการศึกษาของธาริณี แดงน้อย พบว่าสารพฤกษเคมีของสารสกัดหยาบเอทานอล จากบัวหลวง 2 สายพันธุ์ คือ บัวหลวงสีขาว (white Nelumbo nucifera) และบัวหลวงสีชมพู (pink Nelumbo nucijfera) พบสารพฤกษเคมี คือ ซาโปนิน แทนนิน เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ คูมารินคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ และสเตียรอยด์นอกจากนี้สารสกัดดังกล่าวยังได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม (3.76 0.17 ถึง 36.95 1.72 mg QE/g crude extract) โดยใช้วิธี Aluminium trichloride colorimetric (ธาริณี แดงน้อย, 2559)

จากการศึกษาของ Ammar Mohammed Ahmed Ail และคณะ ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเหง้าขิง (Zingiber officinale Rosc.) คลอโรฟอร์ม : เมทานอล (1:1, ปริมาตร/ปริมาตร) (CM) ถูกเตรียมโดยการทำให้เป็นผง วิเคราะห์โดยวิธี Aluminium trichloride colorimetric ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดได้มาจากสารสกัด CM (60.34±0.43 มก. กรดแกลลิก/กรัม) ของเหง้า ตรวจพบสารฟลาโวนอยด์ในเหง้าเท่านั้น (สารสกัด CM 40.25±0.21 มก.เควอซิทิน/กรัม) สารสกัดจากเหง้าทั้งสองมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดี (Ali AMA., El-Nour MEM., Yagi SM., 2018)

การศึกษาของนวลน้อย จูฑะพงษ์ ในการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดน้ำจากต้นชะเอมเหนือ พบว่าประกอบด้วยสาร เทอร์ปีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แทนนิน และสารประกอบพวกฟีนอลิก การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ใช้วิธี Aluminium chloride colorimetric method ในการวิเคราะห์โดยใช้สาร

catechin เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบ พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดมีค่าเท่ากับ 54.72 ± 1.81 mg catechin/g ของสารสกัด (นวลน้อย จูฑะพงษ์, 2562)

จากการศึกษาของ เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์ ที่ได้ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method ซึ่งสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองได้แก่ อัญชัน ขมิ้น ใบเตย มะรุม กระเจี๊ยบ โหระพา สะระแหน่ มะตูม ข่า ขิง มะขาม กะเพรา ตะไคร้ แมงลักและมะนาว พบว่าการสกัดสมุนไพรด้วยเมทานอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์ในขิง 0.09 mg catechin/g (เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์, 2540)

สมมติฐาน

สารสกัดจากกันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

กรอบแนวคิดการวิจัย

นำสารสกัดจากสมุนไพรจีน 3 ชนิด ได้แก่ กันเฉ่า กันเจียง และเหลียนจื่อ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method เพื่อให้ทราบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมในสมุนไพรจีนแต่ละชนิดที่มีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ

การเตรียมสารสกัดสมุนไพร 3 ชนิด การวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารสกัดจากสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ นำมาปั่นกับ Ethanol จนละเอียดแล้วใส่ขวดกันแสง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น เวลา 1 สัปดาห์ แล้วนำมากรองตะกอนออกด้วยกระดาษ Whatman NO.2 จำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 1 อาทิตย์ จากนั้นนำสารที่กรองได้ไประเหยด้วยเครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Evaporator) หลังจากนั้นนำสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิดไปเตรียมเป็น Stock solution เพื่อนำไปใช้ในการทดลอง และทำให้แห้ง ด้วยเครื่อง Freezer dryer หลังจากระเหยตัวทำละลายออกหมดแล้ว สารที่ได้ เรียกว่า สารสกัดหยาบ (Crude extract) ดังตารางที่ 3.1 จากนั้นนำสารสกัดหยาบไปชั่งน้ำหนักแล้วคำนวณ % yield จากสูตร ดังต่อไปนี้

% yield =

เมื่อคำนวณจากสูตร จะได้ปริมาณของสมุนไพรที่สกัดได้จริงนำมาทดลอง

ตารางที่ 1 ปริมาณของสมุนไพรก่อนบด หลังบด และสารสกัดหยาบ

สมุนไพร	น้ำหนักก่อนบด (กรัม)	น้ำหนักหลังบด (กรัม)	สารสกัดหยาบ (กรัม)
กันเจียง	500	478.73	23.05
เหลียนจื่อ	500	480.83	12.09
กันเฉ่า	500	474.44	35.62

ตารางที่ 2 แสดงค่าความเข้มข้นของสมุนไพรที่ใช้ในการทดลอง

สารสกัดสมุนไพร	Stock solution (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
กันเจียง	100	1
กันเฉ่า	100	1

สารสกัดสมุนไพร	Stock solution (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นที่ใช้ในการทดลอง (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)
เหลียนจื่อ	100	5

การเตรียมสาร

1. เจือจางสารสกัดกันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ เข้มข้น 1 mg/ml กับ DMSO แล้วหาปริมาตร ที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม
2. สารละลาย $NaNo_2$ เข้มข้น 5% w/v เตรียมโดยผสม $NaNo_2$ กับน้ำกลั่น
3. สารละลาย $AlCl_3$ เข้มข้น 10% w/v เตรียมโดยผสม $AlCl_3$ กับน้ำกลั่น
4. สารละลาย 1M NaOH (MW=40) เตรียมโดยผสมกับน้ำกลั่น
5. Quercetin เข้มข้น 10 mg/ml เตรียมโดยละลาย Quercetin 10 mg ด้วย 95% methanol ปริมาตร 1 ml จากนั้นเตรียมให้มีความเข้มข้น 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 และ 0.1 mg/ml เพื่อทำกราฟมาตรฐาน
6. วัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 510 nm ด้วยเครื่อง GENESYS 10S UV-Vis spectrophotometer รุ่น G10S UV-Vis โดยมี Quercetin เป็นสารละลายมาตรฐาน

การวิเคราะห์สมุนไพร

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method

Reagent	Sample (µl)	Standard Quercetin (µl)	Negative control (µl)	Blank (µl)
DMSO	-	-	400	-
น้ำกลั่น	-	-	-	400
Sample	400	-	-	-
Quercetin	-	400	-	-
$NaNo_2$	30	30	30	30
เขย่า ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที				
$AlCl_3$	30	30	30	30
เขย่า ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 นาที				
1M NaOH	200	200	200	200

การทดสอบสมมติฐาน

คำนวณหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ใช้หลักการของ Fekadu Gemede H. และคณะ โดยมีการดัดแปลงการคำนวณค่าปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์รวมเทียบกับกราฟมาตรฐาน Quercetin รายงานผลเป็นปริมาณของ Quercetin ต่อ สมุนไพรที่สกัดได้ (mgQE/g) (Fekadu Gemede H., Desse Haki G., Beyene, F., Woldegiorgis A., Rakshit S., 2019)

คำนวณได้จากสูตร

T คือ ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวม มีหน่วยเป็น mg/g dry mass

C คือ ความเข้มข้นของ Quercetin ที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน มีหน่วยเป็น mg/ml

V คือ ปริมาณของสารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์ มีหน่วยเป็น ml

M คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ มีหน่วยเป็น g

ผลการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้ได้ทำการทดลองหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method ในสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ โดยสมุนไพรแต่ละชนิดจะทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้งเป็นเวลา 3 วัน

ตารางที่ 4 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ วันที่ 1

สมุนไพร	**ความเข้มข้น**	**ค่าการดูดกลืนแสง (510 nm)**			
	(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	**OD.1**	**OD.2**	**OD.3**	**OD. ค่าเฉลี่ย**
กันเจียง	1	0.128	0.122	0.123	0.124
กันเฉ่า	1	0.145	0.142	0.142	0.143
เหลียนจื่อ	5	0.084	0.084	0.083	0.084

นำค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพรมาคำนวณค่า Total flavonoid content จากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโดยมีสมการเส้น คือ y = 4.0003x และ R^2= 0.9994 ได้ค่าดังตารางที่ 4

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน Quercetin วันที่ 1

สมุนไพร	**ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**	**Total flavonoid content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**
กันเจียง	1	0.0310
กันเฉ่า	1	0.0357
เหลียนจื่อ	5	0.0210

ตารางที่ 6 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ วันที่ 2

สมุนไพร	**ความเข้มข้น**	**ค่าการดูดกลืนแสง (510 nm)**			
	(มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	**OD.1**	**OD.2**	**OD.3**	**OD. ค่าเฉลี่ย**
กันเจียง	1	0.156	0.145	0.123	0.141
กันเฉ่า	1	0.141	0.161	0.157	0.153
เหลียนจื่อ	5	0.119	0.120	0.124	0.121

นำค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพรมาคำนวณค่า Total flavonoid content จากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐานโดยมีสมการเส้น คือ y = 4.1927x และ R^2 = 0.9982 ได้ค่าดังตารางที่ 6

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน Quercetin วันที่ 2

สมุนไพร	**ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**	**Total flavonoid content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**
กันเจียง	1	0.0336
กันเฉ่า	1	0.0365
เหลียนจื่อ	5	0.0289

ตารางที่ 8 แสดงค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ วันที่ 3

สมุนไพร	**ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**	**ค่าการดูดกลืนแสง (510 nm)**			
		OD.1	**OD.2**	**OD.3**	**OD. ค่าเฉลี่ย**
กันเจียง	1	0.132	0.175	0.144	0.150
กันเฉ่า	1	0.096	0.100	0.101	0.099
เหลียนจื่อ	5	0.154	0.166	0.148	0.156

นำค่าการดูดกลืนแสงของสมุนไพรมาคำนวณค่า Total flavonoid content จากสมการเส้นตรงที่ได้จากกราฟมาตรฐาน โดยมีสมการเส้น คือ $y = 5.1085x$ และ $R^2 = 0.9944$ ได้ค่าดังตารางที่ 8

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน Quercetin วันที่ 3

สมุนไพร	**ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**	**Total flavonoid content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**
กันเจียง	1	0.0294
กันเฉ่า	1	0.0194
เหลียนจื่อ	5	0.0305

สรุป ปริมาณค่าความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่คำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน Quercetin ในสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ ดังตารางที่ 9

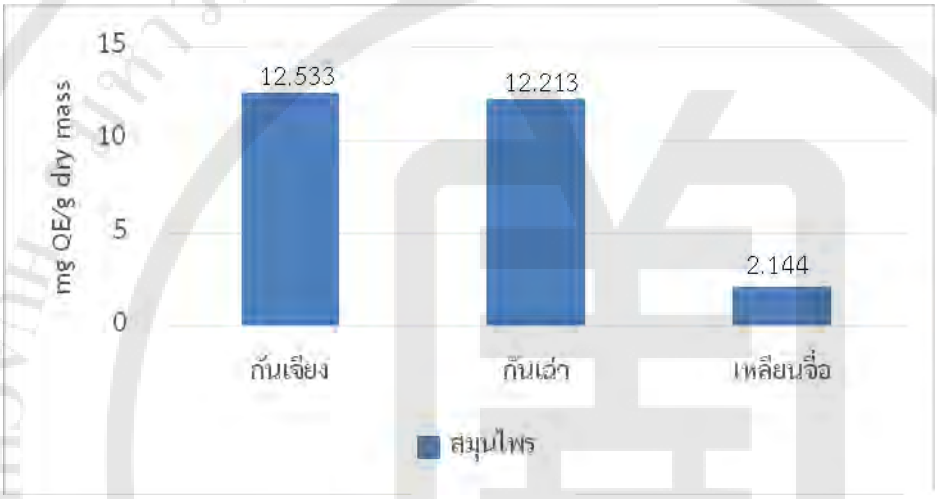
ตารางที่ 10 คำนวณปริมาณความเข้มข้นของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเฉลี่ย 3 วัน

สมุนไพร	**ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**	**Total flavonoid content (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**			**ค่าเฉลี่ย (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)**
		วันที่ 1	**วันที่2**	**วันที่ 3**	
กันเจียง	1	0.0310	0.0336	0.0294	0.0313
กันเฉ่า	1	0.0357	0.0365	0.0194	0.0305
เหลียนจื่อ	5	0.0210	0.0289	0.0305	0.0268

นำปริมาณ Total flavonoid content (mg/ml) เฉลี่ยมาคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ mg GAE/g dry mass ในสมุนไพร 3 ชนิด คือ กันเจียงกันเฉ่า และเหลียนจื่อ ดังตารางที่ 10 และแผนภูมิที่ 1

ตารางที่ 11 ปริมาณ Total flavonoid content (mg/ml) จากกราฟมาตรฐานของสาร Standard Quercetin และคำนวณให้อยู่ในหน่วยของ mg GAE/g dry mass

สมุนไพร	ความเข้มข้น (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Total flavonoid content (mg GAE/g dry mass)			ค่าเฉลี่ย (mg GAE/g dry mass)
		QE 1	QE 2	QE 3	
กันเจียง	1	12.4000	13.4400	11.7600	12.5333
กันเฉ่า	1	14.2800	14.6000	7.7600	12.2133
เหลียนจื่อ	5	1.6800	2.3120	2.4400	2.1440



แผนภูมิที่ 1 แผนภูมิแท่งแสดงการเปรียบเทียบค่า Quercetin ของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ

ถ้าค่า Quercetin ที่มีค่ามากแสดงว่ามีสารประกอบฟลาโวนอยด์จำนวนมาก จากการทดสอบพบว่าค่า ในสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด โดยกันเจียงความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า Quercetin 12.533 mg QE/g dry mass กันเฉ่าความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า Quercetin 12.213 mg QE/g dry mass และเหลียนจื่อ ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีค่า Quercetin 2.144 mg QE/g dry mass

จากการทดสอบด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method สรุปได้ว่าสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ กันเจียง รองลงมา คือ กันเฉ่า ส่วนเหลียนจื่อ มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยที่สุด

สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ในปัจจุบันสังคมและรูปแบบการใช้ชีวิตของคนไทยเปลี่ยนแปลงไป ทั้งต้องเผชิญอยู่กับปัญหาสุขภาพที่มาจากการใช้ชีวิตของตนเองหรือจากสิ่งแวดล้อมรอบข้าง ส่งผลให้เกิดโรคต่าง ๆ ตามมา อาทิ โรคเบาหวาน โรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจขาดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง และโรคอ้วน เป็นต้น โดยภาวะที่มีความเสื่อมของร่างกายหรือการเป็นโรคเรื้อรังนาน ๆ อาจเป็นผลอันเนื่องมาจากความไม่สมดุลระหว่างการเกิดอนุมูลอิสระ (free radicals) และกระบวนการป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระในเซลล์หรือร่างกายโดยเอนไซม์และสารต้านออกซิเดชัน (antioxidants) มีการสร้างอนุมูลอิสระมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งทำให้มีการนำสมุนไพรมาประยุกต์ใช้การรักษา

ร่วมกับแพทย์เป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่ได้รับความนิยม ดังนั้นจึงเป็นจุดมุ่งหมายของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้โดยทำการศึกษาหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% จากสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ได้แก่กันเจียง กันเฉ่า และเหลียนจื่อ โดยวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method จากการศึกษาพบว่าสมุนไพรที่มีปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดคือ กันเจียง มีค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 12.533±0.86 mg QE/g dry mass ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Bursal Ercan และคณะที่ได้ศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกซึ่งมีความสัมพันธ์กันระหว่างคุณสมบัติกับปริมาณฟลาโวนอยด์ของเหง้าขิงด้วยวิธี Aluminium nitrate colorimetric method พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 15.4 mg QE/g dry mass (Bursal E, Koksal E, Gulcin Ð., date unknown) และงานวิจัยของ Ghasemzadeh A. และคณะได้ศึกษาหาปริมาณ ฟลาโวนอยด์จากเหง้าขิงอ่อนด้วยวิธีมี Aluminium chloride colorimetry พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 3.66±0.45 mg QE/g dry mass (Ghasemzadeh A, Jaafar H, Rahmat A., 2010) ซึ่งน้อยกว่างานวิจัยของเราอาจเนื่องมาจากการใช้ขิงอ่อนในการสกัดซึ่งจะได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดน้อยกว่างานวิจัยของเราอีกทั้งงานวิจัยของเราได้ใช้สมุนไพรอบแห้งซึ่งจะสามารถสกัดปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดได้มากกว่า

กันเฉ่า มีค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 12.213±3.87 mg QE/g dry mass ซึ่งต่างจากงานวิจัยของ นวลน้อย จูฑะพงษ์ ที่ได้ศึกษาฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดจากต้นชะเอมเหนือด้วยวิธี Aluminium chloride colorimetry พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 54.72±1.81 mg catechin/g (นวลน้อย จูฑะพงษ์, 2562) ซึ่งมีค่ามากกว่างานวิจัยในครั้งนี้อาจเนื่องมาจากสมุนไพรที่นำมาใช้ถูกเก็บเป็นระยะเวลา 1 ปี ส่งผลให้การสกัดปริมาณฟลาโวนอยด์ลดลงและงานวิจัยของ อนรรฆ พลชาติ และคณะ ได้ทำการศึกษาปริมาณสารในแต่ละช่วงเวลา พบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระลดน้อยลงเมื่อเก็บไว้นานขึ้น (อนรรฆ พลชาติ, นงนุช วงศ์สินชวน, สุจริต ส่วนไพโรจน์, 2558)

เหลียนจื่อ มีค่าสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 2.144±0.41 mg QE/g dry mass แต่งานวิจัยของ Ruvanthika ได้ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ในเมล็ดบัวด้วยวิธี HPLC พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 295.312 mg QE/g dry mass (Ruvanthika, Manikandan, 2019) และงานวิจัยของ Kredy HM. และคณะ ศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดบัวด้วยวิธี HPLC พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 10.2 mg QE/g dry mass (Kredy HM., Huang D., Xie B., He H., Yang .E, Tian B. et al., 2010) ซึ่งวิจัยทั้งสองที่กล่าวมาได้มีค่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากกว่าอาจเนื่องมาจากวิธีที่ใช้แตกต่างกัน โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (HPLC) เป็นเครื่องมือที่มีความไวสูง (sensitivity) สามารถประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณได้อย่างรวดเร็วแม่นยำและมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสารที่ไม่ระเหยและไม่คงตัวต่อความร้อน

ข้อเสนอแนะ

สามารถใช้ตัวทำละลายอื่นมาเป็นทางเลือกในการหารสารประกอบฟลาโวนอยด์ เช่น เอทานอล คลอโรฟอร์ม เป็นต้น และอาจนำสมุนไพรที่ทำการศึกษาในครั้งนี้ไปทำการหาสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่น ๆ อีก เช่น

แคโรทีนอยด์ ฟีนิลโปรพานอยด์ รวมทั้งควรศึกษาช่วงระยะเวลา พื้นที่เพาะปลูก ภูมิประเทศที่เหมาะสมในการสกัดสารสมุนไพรแต่ละชนิด

เอกสารอ้างอิง

ณัฏฐิกา ศิลาลาย. ฟลาโวนอยด์ : วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. หน้าที่ การใช้ประโยชน์ และการวิเคราะห์. 2549;(1): 2-10.

ธาริณี แดงน้อย. การทดสอบสารพฤกษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของบัวหลวง [วิทยานิพนธ์]. ชลบุรี: มหาวิทยาลัยบูรพา; 2559.

นวลน้อย จูฑะพงษ์. การศึกษาฤทธิ์ต้านเบาหวานของสารสกัดจากต้นชะเอมเหนือ. [วิทยานิพนธ์]. โคราช: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี; 2562.

นันทวัน บุณยะประภัศร, อ้อมบุญ วัลลิสุต, วันดี กฤษณพันธ์, วีณา จิรัจฉริยากูล, นพมาศ สุนทรเจริญนนท์, วีณา นุกูลการ และคณะ. (2556). *สารฟลาโวนอยด์และสมุนไพร*. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

เพ็ญนภา ทิพย์สุราษฎร์ธานี. การศึกษาพืชสมุนไพรท้องถิ่นและภูมิปัญญาด้านการใช้พืชสมุนไพรกรณีศึกษา : อุทยานแห่งชาติแก่งกรุง จังหวัดสุราษฎร์ธานี [วิทยานิพนธ์]. สุราษฎร์ธานี: มหาลัยสงขลานครินทร์; 2558.

วทันยา ลิมปพยอม, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, ภรณ์ทิพย์ ดุษฎีลาวัณย์, เกษรา วามะศิริ. องค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยขิง. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 2557;37(3):297-312.

ศริศักดิ์ สุนทรไชย. อนุมูลอิสระกับการเกิดความผิดปกติในร่างกาย. 2558;(3):1-3.

สุรัตน์วดี วงค์คลัง. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของบัวหลวงเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ธัญพืชชนิดแท่ง [วิทยานิพนธ์]. ปทุมธานี: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี; 2558.

อนรรฆ พลชาติ, นงนุช วงศ์สินชวน, สุจริต ส่วนไพโรจน์. ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมดและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในจาวตาลที่อายุการบ่มต่างกัน. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. 2558;กรุงเทพฯ. 622-28.

อรสา ดิสถาพร. การพัฒนาพืชสมุนไพรจีนในประเทศไทย [อินเตอร์เน็ต]. กรุงเทพ: กรมส่งเสริมการเกษตร; 2551 [เข้าถึงเมื่อ 13 มิถุนายน 2564]. สืบค้นจาก: www.agriman.doae.go.th

อรอุมา สร้อยจิต, สุวิทย์ คล่องทะเล, ภูมภัสส์ พุทธผดุงวิพล. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Malondialdehyde ในพลาสมากับพารามิเตอร์ของ การมีภาวะเมตาบอลิกซินโดรมของผู้เข้ารับบริการในคลินิกเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี. วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพ วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนี สรรพสิทธิประสงค์. 2564;(1):107-17.

เอนก หาลี, บุณยกฤต รัตนพันธุ์. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 2540;(ฉบับที่ 2):283-92.

Ali AMA, El-Nour MEM, Yagi SM. Total phenolic and flavonoid contents and antioxidant activity of ginger (Zingiber officinale Roscoe.) rhizome, callus and callus tr some elicitors. J Genet Eng Biotechno 2018;16(2):677-82.

Bai L, Gao J, Wei F, Zhao J, Wang D, Wei J. Therapeutic potential of ginsenosides as an adjuvant treatment for diabetes. Front Pharmacol. 2018 May 1;9:1–14. doi: 10.3389/fphar.2018.00423.

Bursal E, Koksal E, Gulcin Đ. In vitro Antioxidant Properties and Phenolic Content of Ginger (Zingiber officinale Rosc.) Root [dissertation]. Turkey: Mus Alparslan University, Erzincan University, Ataturk University (Date unknown).

Devasagayam TPA, Tilak JC, Boloor KK, Sane SK, Ghaskadbi SG, R.D. Lele. Free Radicals and Antioxidants in Human Health. J Assoc Physicians India. 2004; 52(October):794–804.

Fekadu Gemede H., Desse Haki G., Beyene, F., Woldegiorgis A., Rakshit S. Phenolic profiles and antioxidant activities of Ethiopian Indigenous Okra (Abelmoschus esculentus) pod and seed accessions: A new source of natural antioxidants. Annals. Food Science and Technologu 2019. 20 (4). 219.

Ghasemzadeh A, Jaafar H, Rahmat A. Molecules. Antioxidant Activities, Total Phenolics and Flavonoids Content in Two Varieties of Malaysia Young Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) [internet]. 2010 [cited 2021 Oct 26]; 15, 4324-333; doi:10.3390/molecules15064324 .

Huang T, Liu Y, Zhang C. Pharmacokinetics and Bioavailability Enhancement of Baicalin: A Review. Eur J Drug Metab Pharmacokinet. 2019 Apr ;44(2):159-168. doi: 10.1007/s13318-018-0509-3.

Kredy HM, Huang D, Xie B, He H, Yang E, Tian B et al. European food research&Technology. 2010, 231, pages 387–394.

Lam P, Cheung F, Tan HY, Wang N, Yuen MF, Feng Y. Hepatoprotective effects of Chinese medicinal herbs: A focus on anti-inflammatory and anti-oxidative activities. Int J Mol Sci. 2016 Mar 29;17(4):465. doi: 10.3390/ijms17040465.

Leal PF, Braga MEM, Sato DN, Carvalho JE, Marques MOM, Meireles MAA. Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. J Agric Food Chem. 2003;51:2520-25.

Ruvanthika, Manikandan. A study on antioxidant activity, phenol, and flavonoid content of seedpod of Nelumbo nucifera Gaertn. Drug Invention Today [internet]. 2019 Apr [cited 2021 Oct 26];Vol. 11 Issue 4, p835-40.

Suttana W. Anticancer Activities of Flavonoids : Mechanisms of Actions. Srinagarind Med J. 2013;28(3):567–82.

Yoosatit N, Klinchan C. Determination of flavonoid compounds in Kitchen mint leaves, Pomegranate leaves and Crinum latiffolium leaves for processing of herbal tea products. Natl Acad Conf Kamphaeng Phet Rajabhat Univ. 2016; 3(2):332–8.

Zeng P,Li J, Chen Y, Chang L. The structures and biological functions of polysaccharides from traditional Chinese herbs. Prog Mol Biol Transl Sci. 2019 Mar ;163:423-44. doi: 10.1016/bs.pmbts.2019.03.003.