ลักษณะทางกายวิภาค ปริมาณสารพฤษเคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือด (*Dioscorea alata* L.)

Anatomical characteristics, phytochemical content and biological activities from the tubers extract of *Dioscorea alata* L.

ชนาภร คุณวงศ์[1], วิลาวัณย์ พร้อมพรม[2*], วรรณชัย ชาแท่น[2], ศจีรา คุปพิทยานันท์[3]
Chanapon Khunwong[1], Wilawan Promprom[2*], Wannachai Chatan[2], Sajeera Kupittayanant[3]

Received: 24 May 2022 ; **Revised**: 22 August 2022 ; **Accepted**: 8 September 2022

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อตรวจสอบจุลทรรศน์ลักษณะของกายวิภาคศาสตร์ของใบ และลักษณะรูปร่างเม็ดแป้ง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินมันเลือดด้วยเอทานอล ศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อและโครงสร้างของใบสดและผงใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวใบด้านบนมีรูปร่างหลายเหลี่ยม และรูปร่างปากใบเป็นแบบอะนอโมไซติก ลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้งของลำต้นใต้ดินมันเลือด มีลักษณะคล้ายจอบปลายตัด (spade-shaped) มีผิวหน้าเรียบ อยู่ในเนื้อเยื่อ พาเรงคิมา การวิเคราะห์สารสำคัญ พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และปริมาณแอนโทไซยานินรวม มีค่าเท่ากับ 310.30 ± 0.39 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัม สารสกัด 323.05 ± 3.92 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด และ10.26 ± 1.34 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธีการขจัดอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical scavenging assay รายงานผลในหน่วยค่าความเข้มข้นที่ให้ผลต้านออกซิเดชันครึ่งหนึ่ง ได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 4.90 ± 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขณะที่สารสกัดแสดงความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกให้เป็นเฟอร์รัสมีค่า เท่ากับ 61.27 ± 5.02 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ถูกนำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์โดยมีสารอะคาร์โบสเป็นตัวยับยั้งมาตรฐานได้ค่า IC_{50} เท่ากับ 1.25 ± 6.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการศึกษาในครั้งนี้เป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการควบคุมคุณภาพสมุนไพรและเป็นข้อมูลสำคัญในการสนับสนุนการใช้ยาสมุนไพร และนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ

คำสำคัญ: มันเลือด ลักษณะทางกายวิภาค สารพฤกษเคมี ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

Abstract

The present research aimed to determine the characteristics of leaf anatomy and starch granules, total phenolic, total flavonoid and total anthocyanin contents, antioxidant activity, and α-amylase inhibition activity of *D. alata* tuber ethanolic extract. A microscope was used to examine the microscopic structure of tissue from D. alata fresh leaves and traditional medicine powder. The results showed that the shapes of the epidermal cells are polygonal, anomocytic stomatal type. The yam starch granules were spade-shaped with a truncated and smooth surface in the parenchyma tissue. The phytochemical analysis revealed that the total phenolic, total flavonoid, and anthocyanin contents of crude tuber extract were 310.30 ± 0.39 mgGAE.g^{-1}, 323.05 ± 3.92 mgQE.g^{-1} and 10.26 ± 1.34 µg/ml of extract, respectively. The antioxidant screening activity using DPPH radical scavenging assay is represented by a half maximal effective

---

[1] นักศึกษา, หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
[2] รองศาสตราจารย์, ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
[3] รองศาสตราจารย์, สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
[1] Master of Science (Biology), Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Mahasarakham Province. 44150
E-mail: chanapon.khu@msu.ac.th
[2] Associate Professor, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Mahasarakham Province. 44150
[3] Associate Professor, Department of pre-clinic, Institute of Science Suranaree University of Technology, Mueang Nakhon Ratchasima District, Nakhon Ratchasima 30000
* Correspondent author: Wilawan.pp@msu.ac.th

concentration IC_{50} value of 4.90 ± 2.50 mg/ml. While the extract showed the strongest capability to reduce Fe^{3+} to Fe^{2+} with reduction activity at 61.27 ± 5.02 mM$FeSO_4$/g of extract, and α-amylase inhibition activity was measured using the enzyme activity of acarbose as a standard inhibitor, IC_{50} of 1.25 ± 6.32 mg/ml. The results of this study are very useful in the quality control of herbs and provide important information to support the use of medicinal plants and functional foods.

Keywords: *Dioscorea alata* L., Anatomical characteristics, Phytochemical, Antioxidant activities

บทนำ

มันพื้นเมืองสกุลแยม (*Dioscorea*) จัดอยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae พบว่ามีการกระจายอยู่ทั่วโลกในแถบทวีปแอฟริกา ตอนกลางและตอนใต้ของทวีปอเมริกา และทวีปเอเชียประมาณ 600 ชนิด สำหรับประเทศไทยพบเพียงประมาณ 42 ชนิด (Wilkin & Thapyai, 2009) และมีเพียง 15-20 ชนิดที่สามารถใช้เป็นอาหารและยารักษาโรคได้ (Briggs *et al*., 1990) เป็นพืชพื้นบ้านมีประโยชน์ในการใช้เป็นอาหารคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน นอกจากนี้ยังมีประโยชน์ทางการแพทย์ ช่วยล้างสารพิษในร่างกาย และมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน ทั้งแป้ง น้ำตาล โปรตีน และธาตุอาหารที่มีประโยชน์ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม กรดโฟลิก และสารแอนโทไซยานิน มันพื้นบ้านบางชนิดเป็นแหล่งของวิตามินซีที่สำคัญ (Chen *et al*., 2003) พบการรายงานวิจัยพืชสกุลนี้บางชนิดที่น่าสนใจ และเป็นชนิดที่มีการกระจายในประเทศไทย คือ มันเลือด หรือ มันเสา (*D. alata* L.) ลักษณะเด่นทางสัณฐานวิทยาของมันเลือดที่ทำให้แยกชนิดได้คือ ลักษณะลำต้นมีปีก (wing stems) รูปทรงของหัว ใบ ก้านใบ และสีของเนื้อหัวมันเลือด เป็นพืชที่มีลักษณะลำต้นเลื้อย ลำต้นใต้ดินรูปทรงกระบอก เปลือกหัวสีน้ำตาลแกมเทา เนื้อในหัวมีสีขาวแกมเหลืองไปจนถึงสีม่วงอมแดง ลำต้นส่วนใหญ่สีม่วงอมแดง มีครีบตามยาว 4 ครีบ ใบเดี่ยว เรียงตรงข้าม ดอกเพศผู้ขนาดเล็กเกิดรวมกันเป็นช่อ ดอกเพศเมียมีรังไข่รูปรีแกมรูปไข่ มักมีสีม่วงอมแดงตามแกนกลาง ผลทรงกลม แผ่ออกเป็น 3 พู เมล็ดรูปหยดน้ำ มีปีกกลมสีน้ำตาลล้อมรอบ (เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่, 2560) มันเลือดเป็นมันพื้นบ้านที่ปลูกง่ายมีหัวไว้บริโภค มีประโยชน์ในการใช้เป็นอาหาร เป็นแหล่งโปรตีนร้อยละ 7.4 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 75-84 และมีไขมัน ไฟเบอร์ แร่ธาตุที่จำเป็นได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โพแทสเซียม ฟอสฟอรัสและ โซเดียม เป็นต้น นอกจากนี้มีวิตามินที่สำคัญ เช่น วิตามิน ซี อี เค เอ และวิตามินบี (Chandrasekara, 2016) มีองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ saponins, sapogenins, mucin, dioscin, dioscorin, allantoin, choline, polyphenole, diosgenin, carotenoids และ tocopherols (Podolak *et al*., 2010)

นอกจากนี้ยังพบว่า มันเลือดมีสารกลุ่มแอนโทไซยานิน ที่มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (สมนึก พรมแดง และคณะ, 2561) พบสาร diosgenin และ corticosteroids (Satour *et al*., 2007) จากรายงานการวิจัยพบว่ามันเลือดมีฤทธิ์ทางชีวภาพคือ มีฤทธิ์ต้านเบาหวานและลดระดับไขมันในเลือด (Maithili *et al*., 2011) ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย (Miksusanti *et al*., 2013) โดยทั่วไป มันเลือดที่พบในประเทศไทยมีหลากหลายสายพันธุ์ของแหล่งที่ปลูกตามธรรมชาติ การตรวจเอกลักษณ์หรือการศึกษาทางเภสัชเวทจึงมีความสำคัญ นอกจากจะจัดทำมาตรฐานลักษณะวินิจฉัยชนิดพืชสมุนไพร ยังใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาและการใช้ประโยชน์ในวิทยาศาสตร์สาขาอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไปโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันซึ่งมีรายงานการศึกษามากมายถึงความสัมพันธ์ของสารต้านอนุมูลอิสระต่อบทบาทสำคัญในการป้องกันและยับยั้งโรคต่าง ๆ มากมาย รวมทั้งภาวะโรคเบาหวาน การรับประทานมันเลือดยังช่วยเพิ่มฮอร์โมนเพศ ลดไขมันและเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระ ผลกระทบเหล่านี้อาจช่วยลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งเต้านมและโรคหลอดเลือดหัวใจในผู้หญิงวัยหมดประจำเดือนได้ (Wu *et al*., 2005) มันเลือดบางสายพันธุ์ที่มีปริมาณอะไมเลส และเส้นใยอาหารสูงเหมาะที่จะนำมาประกอบอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 (Oko & Famurewa, 2015)

จากบทนำดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่า มันเลือดมีความน่าสนใจในด้านประสิทธิภาพ และฤทธิ์ทางชีวภาพด้านการรักษาโรคต่าง ๆ และปัจจุบันมีการบริโภคมันเลือดซึ่งเป็นพืชพื้นเมืองกันอย่างกว้างขวาง ในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ศึกษาตัวอย่างจากมันพื้นบ้านที่มีชื่อท้องถิ่นว่ามันเลือดจากจังหวัดสกลนคร โดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของมันเลือดและเม็ดแป้งจากลำต้นใต้ดินของมันเลือด เพื่อใช้ศึกษาความเป็นเอกลักษณ์ของพืชสมุนไพรมันเลือด ด้านจุลทรรศน์ลักษณะ (microscopic identification) รวมทั้งศึกษาสารพฤกษเคมีและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสมุนไพรมันเลือด ด้วยวิธี DPPH และ FRAP และฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการวิจัยพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ (Basic science) เพื่อใช้สนับสนุนการศึกษาวิจัยในลำดับที่สูงขึ้นต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของผิวใบและเม็ดแป้งที่สะสมในลำต้นใต้ดินมันเลือด

2. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโทไซยานิน ของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือด

3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ชีวภาพของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือด

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเก็บตัวอย่างพืช

เก็บตัวอย่างพืชมันเลือดที่พบในพื้นที่ป่าธรรมชาติ ในเดือนมีนาคม 2561 จากอำเภอสว่างแดนดิน จังหวัดสกลนคร ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประเทศไทย แล้วนำมาตรวจสอบระบุชื่อวิทยาศาสตร์ โดยมีตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัยคือ (Khunwong CH. 001) เก็บรักษาไว้ที่ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม และระบุชนิดพืชจากตัวอย่างพรรณไม้อ้างอิงงานวิจัย ตรวจสอบจากเอกสารทางอนุกรมวิธานคือ Wilkin and Thapyai (2009)

2. ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของผิวใบและเม็ดแป้งของมันเลือด

2.1 ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวใบ โดยวิธีการลอกผิว

ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของเนื้อเยื่อชั้นผิวใบ โดยนำตัวอย่างที่รักษาสภาพเซลล์ในเอทานอล 70% มาลอกผิวใบด้านที่ไม่ต้องการศึกษาออกด้วยใบมีดโกน ย้อมสีตัวอย่างด้วยสีซาฟรานิน (safranin) ความเข้มข้น 1% ที่ละลายในน้ำ เป็นเวลา 30 วินาที ล้างสีส่วนเกินออกด้วยน้ำ และดึงน้ำออกจากชิ้นตัวอย่าง (dehydration) โดยแช่ในเอทานอลที่มีความเข้มข้น 30%, 50%, 70%, 95%, 100% และเอทานอลความเข้มข้น 100% ผสมกับไซลีน (xylene) อัตราส่วน 1:1 ตามลำดับขั้นตอนละ 10 นาที ทำชิ้นตัวอย่างให้ใสโดยแช่ในไซลีนนาน 5 นาที และผลึกสไลด์ด้วย DePeX

2.2 ศึกษาลักษณะของเนื้อเยื่อผงใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เตรียมผงใบ จากใบแก่มันเลือด นำมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมาบดให้ละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงเบอร์ 100 ผนึกสไลด์โดยใช้น้ำกลั่น จากนั้นตรวจสอบเนื้อเยื่อชั้นผิวใบของผงใบภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 40X

2.3 ศึกษารูปร่างเม็ดแป้งจากลำต้นใต้ดินมันเลือด

การศึกษารูปร่างลักษณะเม็ดแป้งจากลำต้นใต้ดินมันเลือดสด โดยใช้ปลายมีดขูดเนื้อเยื่อบริเวณกึ่งกลางของหัวมันเลือด นำเนื้อเยื่อที่ได้มาวางบนแผ่นสไลด์ หยดสารละลายไอโอดีน 2 % ลงบนเนื้อเยื่อ 1-2 หยด ใช้ด้ามเข็มเขี่ยขยี้ให้เม็ดแป้งหลุดออกจากเนื้อเยื่อ คีบเอาเศษเนื้อเยื่อที่เหลือทิ้งไป วางแผ่นกระจกปิดสไลด์ทับลงไป นำแผ่นสไลด์ไปศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การเตรียมแป้งมันเลือด นำมาล้างน้ำให้สะอาด ปอกเปลือกออก แล้วบดโดยใช้น้ำด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำมากรอง ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4องศาเซลเซียส จากนั้นเทน้ำส่วนบนออกและล้างแป้งซ้ำด้วยน้ำหลายๆ ครั้ง นำตะกอนแป้งที่ได้มาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำมาบดละเอียดอีกครั้งแล้วร่อนผ่านตะแกรงร่อน (sieve) นำผงแป้งมาศึกษาลักษณะรูปร่างเม็ดแป้ง โดยใช้กล้อง Scanning electron microscopy (SEM) ยี่ห้อ JEOL รุ่น JSM 6460LV

3. การศึกษาพฤกษเคมีและฤทธิ์ชีวภาพ

3.1 วิธีการสกัดสารตัวอย่าง

นำลำต้นใต้ดินมันเลือด มาล้างให้สะอาด หั่นและนำไปอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำไปบดให้ละเอียด สกัดผงด้วยเอทานอล 95 % ด้วยวิธีการแช่ (maceration) ผู้วิจัยได้นำผงพืชสมุนไพรมาผสมกับตัวทำละลายที่ใช้ด้วยสัดส่วนโดยมวลผงพืชต่อปริมาตรตัวทำละลายเป็น 1 ต่อ10 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำมากรองผ่านกระดาษกรอง เพื่อนำกากที่แยกได้ไปสกัดต่ออีก 1 รอบ ด้วยสภาวะและกระบวนการสกัดเดียวกัน จากนั้นนำสารละลายที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 รอบมาระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator) แล้วนำสารสกัดหยาบแห้งที่ได้มาใส่ในโถดูดความชื้นเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์สารพฤกษเคมีและฤทธิ์ชีวภาพในลำดับต่อไป

3.2 การตรวจสอบหาปริมาณฟีนอ- ลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมตามวิธีการของ Basma *et al*. (2011) นำสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือดมาละลายในเอทานอล 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu 10% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร น้ำกลั่น ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และเติมสารละลาย Sodium carbonate 7.5% (w/v) ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 750 นาโนเมตร โดยใช้ความเข้มข้นของสารตัวอย่างและสารมาตรฐานตั้งแต่ 5-30 มิลลิกรัมต่อ

ลิตร และคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

3.3 การตรวจสอบหาปริมาณฟลาโว-นอยด์รวม

การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ใช้วิธี Aluminium Chloride Colorimetric โดยวิธีของ Prommuak *et al*. (2008) ทำได้โดยผสมสารละลายของสารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรกับเอทานอล 1.5 มิลลิลิตรแล้วเติม 10% Aluminium Chloride ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติม 1 โมลาร์ Potassium Acetate ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เทียบกับกราฟมาตรฐานของเคอร์ซิติน แสดงผลในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด

3.4 การตรวจสอบหาแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยดัดแปลงตามวิธีการของ Giusti *et al*. (2001) โดยนำสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือด 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด หลอดที่ 1 เติมสารละลาย potassium chloride buffer ที่มีค่า pH 1.0 ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร หลอดที่ 2 เติมสารละลาย sodium acetate buffer ที่มีค่า pH 4.5 ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดแสงที่ความยาว คลื่น 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer และใช้ Cyanidin-3-O-glucoside ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือด (มิลลิกรัมต่อลิตร)

3.5 การทดสอบฤทธิ์ชีวภาพ

3.5.1 การทดสอบฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH free radical scavenging Ayoola *et al*. (2008) เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 10 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 500มิลลิลิตร และเตรียมสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือด ที่ความเข้มข้น 36.5 -1000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำสารสกัดจากที่เตรียมข้างต้น จำนวน 750 ไมโครลิตร และ DPPH 0.1 ไมโครลิตร ในอัตราส่วน 1:1 ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วนำไปทิ้งไว้ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer ที่ความยามคลื่น 517 นาโนเมตร วัดค่าดูดกลืนแสงทุกหลอดรวมทั้งหลอดควบคุม (DPPH) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ คำนวณค่า % Radical scavenging activity และค่า IC_{50} โดยใช้สูตรคำนวณ % Radical scavenging ดังนี้

$$\% \text{ Radical Scavenging} = \frac{(\text{A control} - \text{A sample}) \times 100}{\text{A control}}$$

เมื่อ A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH เมื่อเติมสารตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน

3.5.2 การทดสอบฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระโดยวิธี FARP ดัดแปลงของ Benzie *et al*. (1996) เตรียมสารละลาย FRAP (Ferric reducing antioxidant power) reagent ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมล ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และ ชั่งสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ละลายในเอทานอล 10 มิลลิลิตร แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้นในช่วง 50-2,000 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยปิเปตสารละลาย FRAP ปริมาตร 950 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในที่มืดเป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และคำนวณหา mmole $FeSo_4$/g d.wt.extract

3.5.3 การตรวจวัดกิจกรรมแอลฟาอะไมเลส (α-amylase) ทำการชั่งแป้งมันฝรั่ง 100 มิลลิกรัม ใน 5 มิลลิลิตรของฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.0 จากนั้นต้มให้ละลาย รอให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เตรียมสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือดที่ความเข้มข้น 0.1-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและสารละลายแป้ง 50 ไมโครลิตร จากนั้นบ่มไว้ 5 นาทีที่ 37 องศาเซลเซียส เติม 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรของแอลฟาอะไมเลส 20 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นทำการหยุดปฏิกิริยา ด้วย 1 โมลาร์ของกรดไฮโดรคลอริก ปริมาตร 50ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร (Luyen *et al*., 2013)

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งแอลฟาอะไมเลส ทั้งหมดทำการทดสอบซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n=3) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

ผลการวิจัย

1. ศึกษาลักษณะกายวิภาคศาสตร์ของมันเลือด

1.1 เนื้อเยื่อชั้นผิวใบ และเนื้อเยื่อผงใบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เนื้อเยื่อผิวใบด้านบน (upper epidermis) ประกอบด้วยเซลล์ในเนื้อเยื่อรูปร่างหลายเหลี่ยมเซลล์เรียงชิดติดกัน ไม่พบปากใบ และรยางค์ผิว (Figure 1 A) เนื้อเยื่อผิวใบด้านล่าง (lower epidermis) ประกอบด้วยเซลล์ในเนื้อเยื่อชั้นผิวเซลล์เรียงชิดติดกันมีผนังหยักโค้งไม่สม่ำเสมอ ไม่พบคิวทินเคลือบที่ผิว ชนิดปากใบเป็นแบบอะนอโมไซติก (Figure 1 B)

จากการตรวจจุลทรรศน์ลักษณะส่วนผงใบพบว่า มีสีเขียวขี้ม้า ไม่มีกลิ่น มีรสจืด และการศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบ ชิ้นส่วนของผิวใบ มีเซลล์ในเนื้อเยื่อผิวรูปร่างหลายเหลี่ยม (Figure 1 C) พบปากใบแบบอะนอโมไซติก และคลอโรพลาสต์ (Figure 1 D)

1.2 ลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้งจากลำต้นใต้ดินมันเลือด

จากผลการศึกษาลักษณะรูปร่างของเม็ดแป้งจากลำต้นใต้ดินมันเลือดโดยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และอิเล็กตรอนแบบส่งกราด พบว่า เม็ดแป้งของลำต้นใต้ดินมันเลือดมีลักษณะรูปร่างคล้ายจอบปลายตัด และทั้งหมดมีผิวหน้าเรียบ มีการกระจายตัวอยู่ในเนื้อเยื่อพาเรงคิมา (Figure 2)

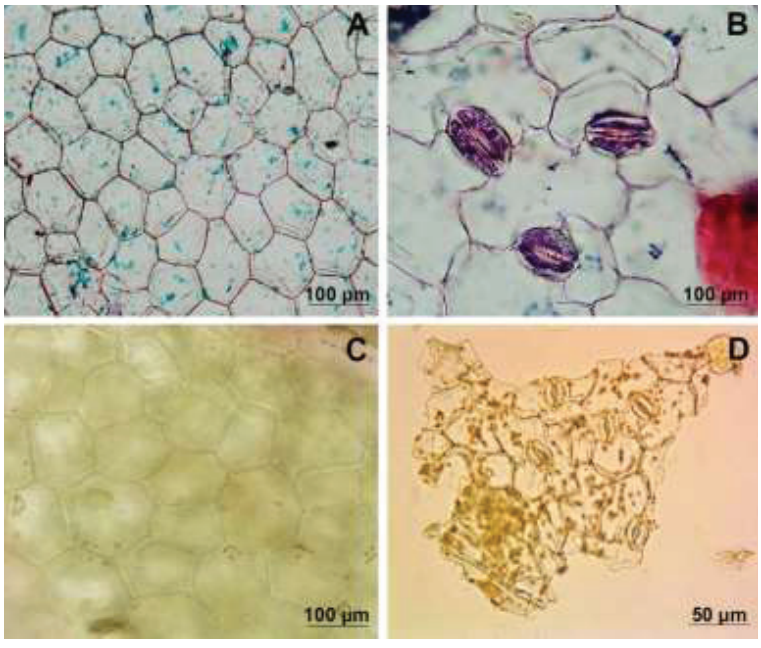

Figure 1 Leaf epidermis of *D. alata*; upper epidermis (A), lower epidermis with anomocytic stomata (B), epidermis feature of traditional medicine powder (C), epidermal cells with stomata observed from traditional medicine powder (D)

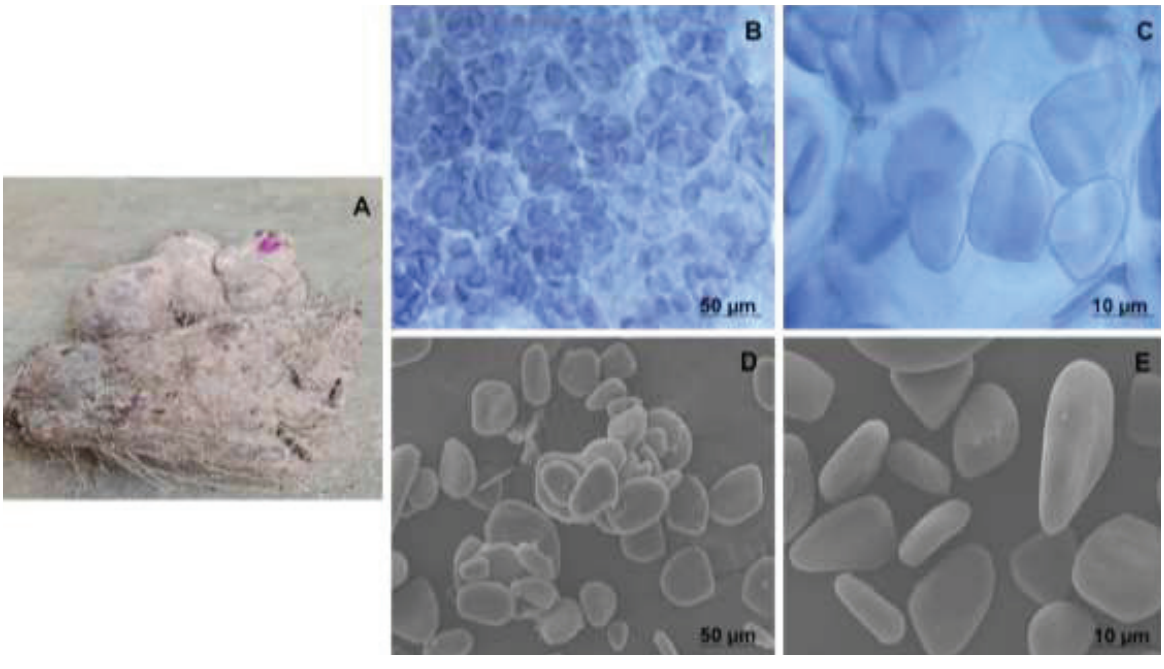

Figure 2 Morphology of yam tuber (*D. alata*) (A), starch granules in cytoplasm (B), isolated starch granules (C), starch granules visualized by SEM the scale bar 50 µm (D) and 10 µm (E)

2. สารสำคัญ ปริมาณฟีนอลิกรวม ปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโทไซยานินรวมของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินของมันเลือด

สารสกัดหยาบที่ได้จากลำต้นใต้ดินมันเลือดที่สกัดด้วยเอทานอลมีลักษณะเหนียวหนืดสีม่วงคล้ำเข้ม น้ำหนักของสารสกัดหยาบและผลการคำนวณร้อยละปริมาณสารสกัด (%yield crude extract) ได้เท่ากับร้อยละ 14.15

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดคำนวณได้จากสมการกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0151x + 0.0629$, $R^2 = 0.9990$) พบว่า สารสกัดเอทานอลจากหัวมันเลือดมีปริมาณฟีนอลิกเท่ากับ 310.30 ± 0.39 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด

ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานเคอร์ซิติน ($y = 0.0047x + 0.004$, $R^2 = 0.9902$) พบว่าสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือดมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 266.74 ± 3.42 มิลลิกรัมสมมูลของเคอร์ซิตินต่อกรัมสารสกัด

สำหรับปริมาณแอนโทไซยานินรวมของสารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือด วิเคราะห์โดยการใช้สารละลาย cyanidin-3-glucoside เป็นสารมาตรฐาน พบว่า สารสกัดมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 10.26 ± 1.34 มิลลิกรัมต่อลิตร แสดงใน Table 1

3. การศึกษาฤทธิ์ชีวภาพ ของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินของมันเลือด

3.1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging ใช้สารสกัดความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ถ้าสารสกัดมีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระมากกว่าร้อยละ 50 จะนำมาหาค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐาน ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากจากลำต้นใต้ดินมันเลือดที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่า IC_{50} เท่ากับ 4.90 ± 2.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบความสามารถเป็นตัวรับอิเล็กตรอนของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือดมีค่าเท่ากับ Fe^{3+} เท่ากับ 61.27 ± 5.02 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ แสดงใน Table 1

3.2 ฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

จากการนำสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือดซึ่งมีความเข้มข้นเท่ากับ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาตรวจสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยใช้สารละลายแป้งข้าวเจ้าเป็นสับสเตรท พบว่า สารสกัดจากลำต้นใต้ดินให้ค่า IC_{50} ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1.25 ± 6.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงใน Table 1

Table 1 Phytochemical, antioxidant activities and α-amylase inhibition activity

Phytochemical Content and Biological Activities	Extract	Standard
Total phenolic content (mgGAE.g^{-1})	310.30 ± 0.39	Gallic acid
Total flavonoid content (mgQE.g^{-1})	323.05 ± 3.92	Quercetin
Total anthocyanin content (mg/L)	10.26 ± 1.34	Cyanidin-3-O-glucoside
1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), IC_{50} (mg/mL)	4.90 ± 2.50	Vitamin C
Ferric reducing ability power (FRAP) assay (mM/g d.wt extract)	61.27 ± 5.02	$FeSO_4$
Alpha-amylase (mg/ml)	1.25 ± 6.32	Acarbose

วิจารณ์และสรุปผล

พืชสกุลกลอยหรือมันพื้นเมืองส่วนใหญ่นำมาเป็นพืชอาหารและยังสามารถนำมาใช้เป็นพืชสมุนไพร ทั่วโลกมีรายงานประมาณ 60 ชนิด (Martin, 1974) ในประเทศไทยมีการศึกษาทบทวนพืชสกุลนี้ พบจำนวน 42 ชนิด (Wilkin & Thapyai, 2009) มีชนิดที่นำมารายงานเป็นพืชสมุนไพร ที่มีความน่าสนใจคือ *D. alata* มีฤทธิ์ต้านเบาหวาน (Maithili *et al*., 2011) จากการสังเกตลักษณะทางสัณฐานวิทยาของมันเลือดจากจังหวัดสกลนคร พบลักษณะเด่น คือ ลำต้นเป็นสี่เหลี่ยมที่เหลี่ยมมีปีก 4 ปีก ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมันเลือดอ้างอิงจากเอกสาร Flora of Thailand (Santisuk & Larsen, 2009) จากการตรวจสอบลักษณะทางกายวิภาคของต้นมันเลือด ส่วนของใบมันเลือดทั้งใบสด และของผงยา พบว่า ใบมีลักษณะเด่นทางกายวิภาคคือ พบปากใบแบบอะนอโมไซติก เป็นปากใบที่ไม่มีเซลล์ข้างเซลล์คุม (subsidiary cell) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Purnomo *et al*. (2020) ศึกษาลักษณะโครงสร้างของ *D. alata* มีลักษณะรยางค์ผิวที่มีหลายรูปแบบ และมีปากใบแบบอะนอโมไซติก ในการศึกษาเนื้อเยื่อผิวใบสด ทำให้เป็นการพิสูจน์เอกลักษณ์ของผงยาของมันเลือดได้ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อวงการแพทย์แผนไทยที่จะนำมาใช้รักษาโรคเบาหวาน เนื่องจากพืชชนิดนี้เมื่อปลูกในพื้นที่ต่างกันมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่คล้ายกัน

แต่เมื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของหัวมันเลือดจากพื้นที่ที่แตกต่างกันก็พบว่ามีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันได้ (สมนึก พรมแดง และคณะ, 2561) ลักษณะของเม็ดแป้งที่ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง และอิเล็กตรอนแบบส่องกราด ได้ผลดังแสดงใน Figure 2 พบว่า แป้งของลำต้นใต้ดินมันเลือด มีลักษณะรูปร่างคล้ายจอบปลายตัด และทั้งหมดมีผิวหน้าเรียบ และจัดเรียงตัวกันอย่างหลวมๆ สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Hongsprabhas *et al*. (2014) พบมีรูปร่างเป็นแบบคล้ายจอบปลายตัดและทั้งหมดมีผิวหน้าเรียบ เป็นมันเลือดจากประเทศไทย ทั้งนี้จากรายงานวิจัยของ Purnomo *et al*. (2020) ที่ศึกษาลักษณะเม็ดแป้งมันเลือดพบรูปร่างเม็ดแป้งเป็นแบบหลายเหลี่ยม (polyhedral shape) อาจเป็นไปได้ว่าตัวอย่างที่ใช้ศึกษาต่างพื้นที่กันซึ่งจากงานวิจัยของ Purnomo *et al*. (2020) ใช้ตัวอย่างมันเลือดจากประเทศอินโดนีเซีย จากลักษณะโครงสร้างนี้อาจใช้ในการจัดจำแนกทางอนุกรมวิธานได้

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือดมีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์รวมสูง ซึ่งน่าจะมาจากอิทธิพลของตัวทำละลายที่สามารถละลายกลุ่มของสารสำคัญในลำต้นใต้ดินมันเลือดออกมา จึงส่งผลให้สารสกัดที่ได้และมีปริมาณสารประกอบฟีนอ- ลิกรวมและฟลาโวนอยด์รวมที่สูง โดยพบว่าเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เหมาะสม มีความสามารถในการละลายสูงในตัวทำละลายที่มีขั้ว ส่งผลให้สารสกัดเอทา-นอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงมีปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในสารสกัดมาก ดังนั้นจึงสามารถสกัดสาร ที่มีขั้วออกมาจากลำต้นใต้ดินมันเลือดได้ ทำให้สารกลุ่มฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบละลายออกมาได้ (Mohsen *et al*., 2009) อีกทั้งยังพบปริมาณแอนโทไซยานินรวมเป็นสารเด่นในมันเลือด จากงานวิจัยของ Yang *et al*. (2019) แอนโทไซยานินเป็นสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบในเม็ดสีของพืชมีตั้งแต่สีแดง สีม่วง หรือ สีน้ำเงิน ในหัวมันเลือดพบแอนโทไซยานินกลุ่มไซยานิดินมากที่สุด ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และต้านแบคทีเรีย และมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Yang *et al*., 2019)

การทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในครั้งนี้ เลือกการทดสอบคุณสมบัติในการเป็นตัวขจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavenger) ด้วยวิธี DPPH assay เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว เนื่องจาก DPPH เป็นอนุมูลอิสระที่ค่อนข้างเสถียร (Ahmad *et al*., 2005)

นอกจากนี้ยังศึกษาคุณสมบัติในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดลำต้นใต้ดินมันเลือด มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ เพื่อให้อยู่ในสภาวะเสถียร เนื่องจากสารสกัดในการศึกษาครั้งนี้เป็นสารสกัดหยาบ ซึ่งประกอบไปด้วยสารหลายชนิด ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการศึกษาในครั้งนี้พบว่า มีปริมาณสารสำคัญคือ ฟีนอลิก ฟลาโว-นอยด์ และแอนโทไซยานินรวม ซึ่งสารที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ เป็นสารที่มีบทบาทที่สำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (Sakthidevi *et al*., 2013) โดยจะช่วยในการขับตัวเร่งปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระ (Das *et al*., 2012) ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่สูงขึ้นก็จะทำให้ความสามารถขจัดอนุมูลอิสระ DPPH และสามารถในการรีดิวซ์เหล็กสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกในพืชยังมีส่วนช่วยป้องกันเซลล์ภายในร่างกายจากการทำลายของสารอนุมูลอิสระ (Zambrowicz *et al*., 2012) ยิ่งไปกว่านั้นสารแอนโทไซยานินที่พบในสารสกัดมันเลือดยังมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีนหลายเท่า (Sakthidevi *et al*., 2013) จากการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องในการลดอัตราการเสี่ยงและเพิ่มอัตราป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือด และโรคเบาหวาน เป็นต้น (Chen *et al*., 2006)

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสด้วยสารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินมันเลือด พบว่า มีความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่มีความสามารถในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ร้อยละ 50 (IC_{50}) เท่ากับ 1.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร แสดงว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นใต้ดินมันเลือดมีประสิทธิภาพยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดมันเลือด ทั้งสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และแอนโทไซยานิน ซึ่งสารพฤกษเคมีดังกล่าวก็สามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของหนูที่เป็นเบาหวานได้ (Kumar *et al*., 2013; Rasamalla *et al*., 2017) โดยออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และแอลฟากลูโคซิเดส (Deshmukh *et al*., 2017; Rasamalla *et al*., 2017) ซึ่งปกติเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จากตับอ่อนจะย่อยแป้งที่ตำแหน่ง α-1,4-glycodidic linkage เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นๆ และน้ำตาลโมเลกุลคู่ จากนั้นถูกย่อยโดยเอนไซม์ α-glucosidase จากลำไส้ต่อไปจนได้น้ำตาลกลูโคส แล้วจึงถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด (Standl & Schnell, 2020) สำหรับการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองดังกล่าวส่งผลให้การเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตไปเป็นน้ำตาลกลูโคสในทางเดินอาหารเกิดน้อยลง จึงช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด สารพฤกษเคมีดังกล่าวยังสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดหลังรับประทานอาหาร (postprandial hyperglycemia) ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ โดยการกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองต่อฮอร์โมนอินซูลิน (Johnston *et al*., 2005) และขัดขวาง

การขนส่งกลูโคสจากลำไส้เล็กเข้าสู่กระแสเลือด โดยการเข้าจับกับโปรตีนที่ทำหน้าที่ขนส่งกลูโคส (Na^+-dependent glucose transporters) ทำให้กลูโคสไม่สามารถเข้าจับได้จึงไม่ถูกขนส่งเข้าสู่กระแสเลือด (Kobayashi *et al*., 2000) สำหรับการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากลำต้นใต้ดินมันเลือดซึ่งเป็นส่วนที่รับประทานและใช้สารละลายแป้งข้าวเจ้าเป็นสับสเตรท เนื่องจากต้องการให้การทดลองในหลอดทดลองมีรูปแบบที่ใกล้เคียงกับในระบบย่อยอาหารของคนให้มากที่สุด และให้เหมาะสมกับคนไทยที่นิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือดมีสารพฤกษเคมีที่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ หรือลดอัตราการย่อยสลายแป้งข้าวเจ้าได้ ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งนี้สอดคล้องกับปริมาณสารพฤกษเคมีที่มีในสารสกัดจากลำต้นใต้ดินมันเลือด

นอกจากนี้ยังมีสารประกอบฟลาโวนอยด์ และฟีนอลิกที่มีคุณสมบัติลดระดับน้ำตาลในเลือด และป้องกันเบาหวานชนิดที่ 1 (Maithili *et al*., 2011)

จากข้อมูลดังกล่าวนี้ จึงเป็นที่น่าสนใจในการนำลำต้นใต้ดินมันเลือดไปใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน เพื่อยับยั้งการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะมีผลช่วยลดปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่จะดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยสำหรับนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา (ปริญญาโท) งบประมาณเงินรายได้ ประจำปี 2563 คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ได้สนับสนุนการดำเนินงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

เชิดศักดิ์ ทัพใหญ่ มานะ จิตฤทธิ์ และเทพณรงค์ ยะสุข. (2560). การศึกษาพฤกษศาสตร์พื้นบ้านของของชนเผ่ามลาบรีกรณีศึกษา: มันป่าบริเวณศูนย์การเรียนรู้เพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตขุนน้ำสะเนียน-ห้วยลู่ อำเภอเมือง จังหวัดน่าน. *วารสารวนศาสตร์,1*, 33-46.

สมนึก พรมแดง, รงรอง หอมหวล, มณฑา วงศ์มณีโรจน์,รัตนา เอการัมย์ และสุลักษณ์ แจ่มจำรัส. (2561). สารสำคัญทางโภชนาการของมันเลือด.*วารสารวิชาการเกษตรศาสตร์กำแพงแสน สายวิทยาศาสตร์, 1* (1), 19-27.

Ahmad, R., Ali, A. M., Israf, D. A., Ismail, N. H., Shaari, K., & Lajis, N. H. (2005). Antioxidant, radical-scavenging, anti-inflammatory, cytotoxic and antibacterial activities of methanolic extracts of some Hedyotis species. *Life sciences, 76* (17), 1953-1964.

Ayoola, G. A., Coker, H. A., Adesegun, S. A., Adepoju-Bello, A. A., Obaweya, K., Ezennia, E. C., & Atangbayila, T. O. (2008). Phytochemical screening and antioxidant activities of some selected medicinal plants used for malaria therapy in Southwestern Nigeria. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 7* (3), 1019-1024.

Basma, A. A., Zakaria, Z., Latha, L. Y., & Sasidharan, S. (2011). Antioxidant activity and phytochemical screening of the methanol extracts of *Euphorbia hirta* L. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, *4* (5), 386-390.

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.

Briggs, C. J. (1990). Herbal medicine: Dioscorea: the yams-a traditional source of food and drugs. *Canadian Pharmacists Journal, 123*, 413-415.

Chandrasekara, A., & Josheph Kumar, T. (2016). Roots and tuber crops as functional foods: a review on phytochemical constituents and their potential health benefits. *International Journal of Food Science*.

Chen, P. N., Chu, S. C., Chiou, H. L., Kuo, W. H., Chiang, C. L., & Hsieh, Y. S. (2006). Mulberry anthocyanins, cyanidin 3-rutinoside and cyanidin 3-glucoside, exhibited an inhibitory effect on the migration and invasion of a human lung cancer cell line. *Cancer letters*, *235* (2), 248-259.

Chen, Y., Fan, J., Yi, F., Luo, Z., & Fu, Y. (2003). Rapid clonal propagation of *Dioscorea zingiberensis*. *Plant cell, tissue and organ culture*, *73* (1), 75-80.

Das, A., Chaudhuri, D., Mandal, N., & Chatterjee, A. (2012). Study of antioxidant and reactive oxygen species scavenging activity of the edible tuber of "greater yam" (*Dioscorea alata* L.) from north-east India. *Flora, 11*, 12.

Deshmukh, N.A., Okram, S., Angami, T., Rymbai, H. and Jha, A.K. (2017). Elephant apple (*Dillenia indica*). Minor fruits: nutraceutical importance and cultivation. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *9* (2), 209-212.

Giusti, M. M., & Wrolstad, R. E. (2001). Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry, 1*, F1-2.

Hongsprabhas, P., Israkarn, K., Kananurux, N., Sajjaanantakul, T., Idhipong, S. and Sakuanrungsirikul, S. (2014). Characteristics of Thai yam (*Dioscorea alata* L.) and spherulitic structure in starch film. *In Proceedings of the 52nd Kasetsart University Annual Conference Agro-Industry* (pp. 4-7).

Johnston, K., Sharp, P., Clifford, M., & Morgan, L. (2005). Dietary polyphenols decrease glucose uptake by human intestinal Caco-2 cells. *FEBS letters*, *579* (7), 1653-1657.

Kobayashi, Y., Suzuki, M., Satsu, H., Arai, S., Hara, Y., Suzuki, K., Miyamoto, Y. and Shimizu, M. (2000). Green tea polyphenols inhibit the sodium-dependent glucose transporter of intestinal epithelial cells by a competitive mechanism. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48* (11), 5618-5623.

Kumar, S., Kumar, V., & Prakash, O. (2013). Enzymes inhibition and antidiabetic effect of isolated constituents from *Dillenia indica*. *BioMed Research International*.

Luyen, N. T., Hanh, T. T. H., Binh, P. T., Dang, N. H., Van Minh, C., & Dat, N. T. (2013). Inhibitors of α-glucosidase, α-amylase and lipase from *Chrysanthemum morifolium*. *Phytochemistry Letters*, *6* (3), 322-325.

Maithili, V., Dhanabal, S. P., Mahendran, S., & Vadivelan, R. (2011). Antidiabetic activity of ethanolic extract of tubers of *Dioscorea alata* in alloxan induced diabetic rats. *Indian journal of Pharmacology*, *43* (4), 455.

Martin, F. W. (1974). *Tropical yams and their potential. Part 2.* Dioscorea bulbifera. Agriculture Handbook, United States Department of Agriculture.

Miksusanti, M., Herlina, H., & Masril, K. M. K. (2013). Antibacterial and antioxidant of uwi (*Dioscorea alata* L.) starch edible film incorporated with ginger essential oil. *International Journal of Bioscience, Biochemisty and Bioinformatics, 3* (4), 354-356.

Mohsen, S. M., & Ammar, A. S. (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, *112* (3), 595-598.

Oko, A. O., & Famurewa, A. C. (2015). Estimation of nutritional and starch characteristics of *Dioscorea alata* (water yam) varieties commonly cultivated in the South-Eastern Nigeria. *British Journal of Applied Science & Technology, 6* (2), 145.

Podolak, I., Galanty, A., & Sobolewska, D. (2010). Saponins as cytotoxic agents: a review. *Phytochemistry Reviews*, *9* (3), 425-474.

Prommuak, C., De-Eknamkul, W., & Shotipruk, A. (2008). Extraction of flavonoids and carotenoids from Thai silk waste and antioxidant activity of extracts. *Separation and Purification Technology, 62* (2), 444 - 448.

Purnomo, Sumardi, I., Rugayah, & Daryono, B. S. (2020). Identification and phenetic analysis of Dioscorea spp. and *Dioscorea alata* L. cultivars based on anatomical caharacters. *In AIP Conference Proceedings* Vol. 2260, (p. 020024). AIP Publishing LLC.

Rasamalla, S., Mandava, K., Pal, B.C., Madhira, S., Rajeswari, B.U. and Chandra, J.N. (2017). Bio-assay guided fractionation and isolation of α-glucosidase inhibitory constituents from *Dillenia indica* L. fruit extracts. *IOSR Journal of Pharmacy and Biological Sciences*, *12* (6), 68-74.

Sakthidevi, G., & Mohan, V. R. (2013). Total phenolic, flavonoid contents and in vitro antioxidant activity of *Dioscorea alata* L. tuber. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 5* (5), 115.

Santisuk, T. & K. Larsen. (2009*). Flora of Thailand. Vol. 10 Part 1*. The Forest Herbarium, National Park, Wildlife and Plant Conservation Department.

Standl, E., & Schnell, O. (2012). Alpha-glucosidase inhibitors 2012-cardiovascular considerations and trial evaluation. *Diabetes and Vascular Disease Research*, *9* (3), 163-169.

Wilkin, P. & Thapyai, C. (2009). *Dioscoreaceae*. In Santisuk T. & Larsen K., eds. Flora of Thailand. Prachachon.

Wu, W. H., Chung, C. J., Liu, L. Y., Jou, H. J., & Wang, T. A. (2005). Estrogenic effect of yam ingestion in healthy postmenopausal women. *Journal of the American College of Nutrition, 24* (4), 235-243.

Yang, L., Rong-Rong, C., Ji-Li, F., & Ke, Y. (2019). Total anthocyanins and cyanidin-3-O-glucoside contents and antioxidant activities of purified extracts from eight different pigmented plants. *Pharmacognosy Magazine*, *15* (60), 124.

Zambrowicz, A., Pokora, M., Eckert, E., Szoltysik, M., Dbrowska, A., Chrzanowska, J., & Trziszka, T. (2012). Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes. *Functional Foods in Health and Disease, 2*, 487-500.