ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านาง

(Phenolic Compound Content, Free Radical Scavenging Activity, and Genetic Relationships of *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels)

นภาพร แก้วดวงดี*

*สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา 1061 ถนนอิสรภาพ แขวงหิรัญรูจี เขตธนบุรี กรุงเทพฯ 10600

บทคัดย่อ

ย่านาง (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels) เป็นพืชในวงศ์ Menispermaceae มีรายงานว่ามีคุณสมบัติเป็นยาสมุนไพร จึงได้นำมาวิเคราะห์สมบัติบางประการของสารสกัด โดยวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากราก ลำต้น และใบ โดยวิธี Folin ciocalteau reagents พบว่าสารสกัดจากราก ลำต้น และใบย่านางจากสามจังหวัด (สุพรรณบุรี ราชบุรี และนครปฐม) มีปริมาณเท่ากับ 145.29±0.007, 116.66±0.005 และ 4,348.40±0.004 mg GAE/g ตามลำดับ โดยปริมาณสูงสุดพบในสารสกัดจากใบ ปริมาณในสารสกัดจากแต่ละส่วนมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p<0.01$ การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH โดยใช้ Trolox เป็นสารมาตรฐาน พบว่า สารสกัดจากราก ลำต้น และใบ มีเปอร์เซ็นต์ในการกำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับ 16.57, 48.58 และ 68.76 ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 549.72 μg/ml จากนั้นวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านางจากทั้งสามจังหวัดโดยใช้บอระเพ็ด (*Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook.f. & Thomson) ซึ่งอยู่ในวงศ์เดียวกันเป็นกลุ่มนอก จากการวิเคราะห์ข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอแบบ random amplified polymorphic DNA (RAPD) พบว่าย่านางมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมระหว่าง 0.60 ถึง 0.86 ซึ่งถือได้ว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง แสดงถึงการที่ย่านางมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันได้เป็นอย่างดีสอดคล้องกับที่พบเจริญได้ทุกภูมิภาคของไทย

คำสำคัญ : ย่านาง / สารประกอบฟีนอลิก / สารต้านอนุมูลอิสระ / ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

Abstract

Yanang (*Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels) belongs to family Menispermaceae. There were reports on its medicinal properties. Therefore, its extracts were partially characterized. Total phenolic compound (TPC) was determined by using Folin ciocalteau reagents from 2% HCl in methanol extracts of roots, stems, and leaves. The amount of TPC from yanang root, stem, and leaf extracts from three provinces (Supanburi, Ratchaburi and Nakhonpathom) were 145.29±0.007, 116.66±0.005, and 4,348.40±0.004 mg GAE/g, respectively. The highest amount of TPC was found in leaf extract. The amount of TPC from the three extracts was significantly difference ($p<0.01$). DPPH radical scavenging activity of the extracts was also studied. The reducing powers of root, stem, and leaf extracts were 16.57%, 48.58%, and 68.76%, respectively. The highest reducing power was shown in the leaf extract. By using Trolox as reference standard, IC_{50} value of the leaf extract was 549.72 μg/ml. Finally, genetic relationships of the samples from the three provinces were studied. *Tinospora crispa* (L.) Miers ex Hook.f. & Thomson of the same family was included as an outgroup in phylogenetic analysis. Determination of random amplified polymorphic DNA (RAPD) fingerprints resulted genetic similarity of the ingroups of 0.60 to 0.86. The values infer that yanang showed high genetic diversity reflecting their high power of adaptation to environmental differences accordingly to their high distribution throughout the country.

Keywords: Yanang / *Tiliacora triandra* / Phenolic compound / Free radical scavenger/ Genetic relationships

บทนำ

ในปัจจุบันหลายประเทศทั่วโลกได้ให้ความสนใจ ในการนำพืชผักและผลไม้มาเป็นอาหารเพื่อใช้บำรุงรักษาสุขภาพและช่วยในการป้องกันและรักษาโรคต่างๆ หลายชนิด โดยเฉพาะการบริโภคผักพื้นบ้าน ซึ่งพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระชนิดหนึ่งที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติจึงมีความปลอดภัยในการบริโภค (Phadungkit et al., 2012) และช่วยลดการใช้สารเคมีในผลิตภัณฑ์อาหารได้ดี ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในพืชผักและผลไม้ (นกน้อย ชูคงคาและคณะ, 2554; โอภา วัชระคุปต์, 2550)

ย่านางเป็นผักที่มีประโยชน์อีกชนิดหนึ่ง มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ใช้ในการประกอบอาหารพื้นบ้านไทยหลายๆ ตำรับ ใน

ใบย่านางมีวิตามินเอและซีสูง นอกจากนี้ยังประกอบด้วยสารอาหารสำคัญอื่นๆ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ไฟเบอร์ แคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก ไทอะมีน ไรโบฟลาวิน และไนอะซีน (ปานทิพย์ บุญส่ง และคณะ, 2552) สำหรับสรรพคุณในทางยา ย่านางถือเป็นยาเย็น มีความโดดเด่นด้านการดับพิษและลดไข้ โดยรากใช้แก้ไข้ทุกชนิด เช่น ไข้พิษ ไข้เหนือ ไข้หัด สุกใส ไข้กาฬ ขับกระทุ้งพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง และแก้เบื่อเมา ส่วนใบและเถา จะใช้แก้ไข้ ลดความร้อน และแก้พิษตานซาง รากย่านางเป็นหนึ่งในส่วนประกอบของตำรับยาเบญจโลกวิเชียร หรือยา 5 ราก หรือแก้วห้าดวง ซึ่งเป็นตำรับยาแก้ไข้ที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศใช้ในบัญชียาจากสมุนไพรที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิม ร่วมกับรากชิงชี่ รากท้าวยายหม่อม รากคนทา และรากมะเดื่อชุมพร ย่านางอยู่ในวงศ์ Menispermaceae มีถิ่นกำเนิดในตอนกลางของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พืชวงศ์ย่านางนี้มีราว 70 สกุล ส่วนใหญ่เป็นไม้เลื้อยในป่าเขตร้อนและในป่าไม้ผลัดใบในทวีปเอเชียและอเมริกาเหนือ ย่านางพบขึ้นตามป่าผลัดใบ ป่าดงดิบและป่าโปร่ง ในทุกภาคของประเทศไทย มีชื่อพื้นเมือง ภาคกลาง เถาย่านาง, เถาหญ้านาง, เถาวัลย์เขียว, หญ้าภคินี ภาคเหนือ จ้อยนาง, จอยนาง, ผักจอยนาง ภาคใต้ ย่านนาง, ยานนาง, ขันยอ สุราษฎร์ธานี ยาดนาง, วันยอ ภาคอีสาน ย่านางไม่ระบุถิ่น เครือย่านาง, ปู่เจ้าเขาเขียว, เถาเขียว, เครือเขางาม (กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ, 2553)

เมื่อศึกษาถึงองค์ประกอบทางเคมี ในรากย่านางส่วนใหญ่เป็นอัลคาลอยด์ในกลุ่ม isoquinoline ในใบประกอบด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ สารโพลีฟีนอล แคลเซียมออกซาเลท และอัลคาลอยด์กลุ่ม isoquinoline (Pavanand et al., 1989) สำหรับการศึกษาวิจัยฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของย่านาง ยังมีไม่มากนัก ส่วนใหญ่เป็นการทดลองในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง ยังไม่พบรายงานการวิจัยในคน โดยพบว่าย่านางมีฤทธิ์ลดไข้ ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรีย *Plasmodium falciparum* แก้ปวด ลดความดันโลหิต ต้านเชื้อจุลชีพ ต้านการแพ้ ลดการหดเกร็งของลำไส้ ต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง ยับยั้งเอนไซม์ acetylcholinesterase และมีฤทธิ์อย่างอ่อนๆ ในการต้านอนุมูลอิสระ

ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงได้นำเอาพืชสมุนไพรที่รู้จักกันดี คือ ย่านาง ซึ่งสามารถรักษาโรคได้อเนกอนันต์ สำหรับสรรพคุณทางยา ย่านางถือเป็นยาเย็น มีความโดดเด่นด้านการดับพิษและลดไข้ โดยรากใช้แก้ไข้ทุกชนิด เช่น ไข้พิษ ไข้เหนือ ไข้หัด สุกใส ไข้กาฬ ขับกระทุ้งพิษไข้ ถอนพิษผิดสำแดง และแก้เบื่อเมา ส่วนใบและเถา จะใช้แก้ไข้ ลดความร้อน และแก้พิษตานซาง รากย่านางเป็นหนึ่งในส่วนประกอบของตำรับยาเบญจโลกวิเชียร หรือยา 5 ราก หรือแก้วห้าดวง ซึ่งเป็นตำรับยาแก้ไข้ที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศใช้ในบัญชียาจากสมุนไพรที่มีการใช้ตามองค์ความรู้ดั้งเดิม นอกจาก นี้ยังสามารถใช้ในการบำบัดโรคตับ

อักเสบ โรคตา เบาหวาน ลดความอ้วน เป็นต้น และที่สำคัญสมุนไพรชนิดนี้เป็นวัตถุดิบที่หาได้ในประเทศและเพาะเลี้ยงง่ายและมีความหลากหลาย จึงได้นำมาทำการศึกษาถึงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม คุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระและสารสำคัญเพื่อนำไปสู่การการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ยาและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากพืชสมุนไพรเพื่อใช้ในการรักษาโรคแผนปัจจุบัน เพื่อช่วยให้ผู้ป่วยมีชีวิตที่ยืนยาวขึ้นโดยได้รับการรักษาด้วยตัวยาที่ราคาไม่สูงเกินไป นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นให้นักวิจัยและแพทย์ทางเลือกนำสมุนไพรมาประยุกต์ใช้ร่วมในการป้องกันและรักษาโรคมะเร็งตามแนวทางการรักษาแผนปัจจุบันได้อย่างแพร่หลายมากขึ้นในอนาคต

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อนำสารสกัดจากย่านางไปศึกษาสารสำคัญที่มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ทางเคมีชีวภาพในการเป็นสารป้องกันและยับยั้งเซลล์มะเร็ง เช่น สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารต้านอนุมูลอิสระ และศึกษาวิเคราะห์ทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ ซึ่งงานวิจัยด้านนี้ยังมีไม่มากในประเทศไทยและต่อยอดการผลิตผลิตภัณฑ์จากย่านาง นอกจากนี้สารสกัดจากย่านางยังมีประโยชน์ในทางการแพทย์และอาจเป็นพืชเศรษฐกิจหรือพืชทางเลือกของการใช้ประโยชน์เป็นยารักษาทางเลือกใหม่จากภูมิปัญญาท้องถิ่นในอนาคตที่สอดคล้องกับนโยบายและยุทธศาสตร์การวิจัย ฉบับที่ 11 (พ.ศ. 2555-2559)

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างย่านางจากจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี และนครปฐม จังหวัดละ 3 จุด ห่างกันจุดละประมาณ 10 กิโลเมตร บันทึกภาพถ่ายและข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2. การเตรียมตัวอย่างและการสกัดสาร

ทำความสะอาดตัวอย่างย่านางแล้วแยกราก ลำต้น และใบ ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นแล้วนำมาชั่งให้ได้ 1 กรัม เติม 2% HCl ในเมทานอล ปริมาตร 4 ml ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 RPM เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์

3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด

วิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธี Folin ciocalteau reagents (Matthaus, 2002; ปานทิพย์ บุญส่ง และคณะ, 2552; วริศรา ชื่นอารมณ์ และคณะ, 2553) โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Gallic acid (50-500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)

4. การทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) (Divi et al., 2008)

โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร แล้วนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของ Trolox (50-800 µg/ml)

5. การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านาง

สกัดดีเอ็นเอจากย่านาง ทั้ง 9 ตัวอย่าง และพืชกลุ่มนอก คือ บอระเพ็ด อีก 2 ตัวอย่าง ด้วยชุดสกัด DNA Extraction Kit (RBC Bioscience) แล้วนำมาสร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยวิธี random amplified polymorphic DNA (RAPD) จากนั้นนำลายพิมพ์ดีเอ็นเอมานับแถบดีเอ็นเอที่เกิดในแต่ละตัวอย่าง โดยในแต่ละตำแหน่งตัวอย่างใดมีแถบดีเอ็นเอให้ค่าเป็น 1 ตัวอย่างใดไม่มีแถบดีเอ็นเอให้ค่าเป็น 0 จากนั้นนำข้อมูล 1-0 มาวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมในรูปแบบเดนโดรแกรมด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.10p (Rohlf, 1998) ซึ่งจะแสดงค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarity) ของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์โดยปฏิบัติตามขั้นตอนในคู่มือการใช้โปรแกรม

ผลการวิจัย

ย่านาง (ภาพที่ 1) ที่เก็บได้จากจุดต่างๆ มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ได้แก่ ขนาดของลำต้นและใบ ความหนาของใบ และความเข้มของสีใบ จากการสอบถามประชาชนในท้องถิ่นต่างๆ ในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี และนครปฐม ได้ข้อมูลว่าชาวบ้านรู้จักและใช้ประโยชน์จากย่านางมายาวนาน พบปลูกทั่วไปตามริมรั้วของแต่ละหลังคาเรือน โดยอาจปลูกไว้ใกล้กับต้นไม้ใหญ่อื่นๆ เช่น คูน มะม่วง น้อยหน่า

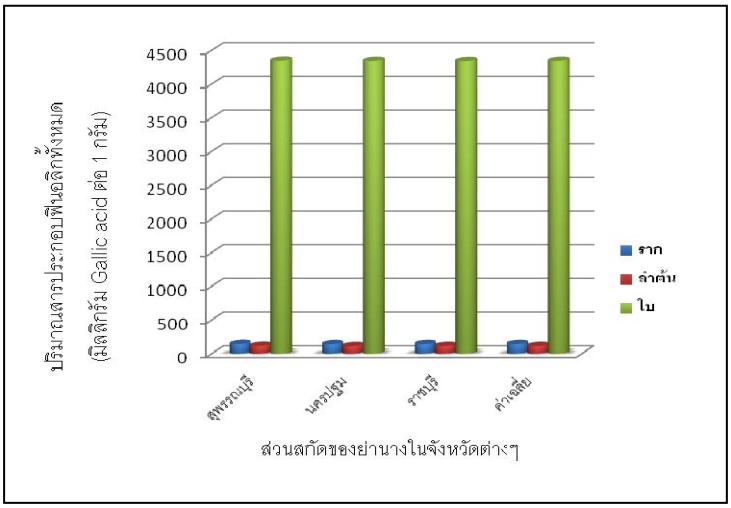
ภาพที่ 1 ลักษณะต้น ใบ ผลดิบและผลสุกของย่านาง

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านาง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid จากสมการ $y = 0.0043x$, $R^2 = 0.9998$ พบว่าสารสกัดจากราก ลำต้น และใบย่านางมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในทุกจังหวัดเฉลี่ยเท่ากับ 145.29±0.007, 116.66±0.005 และ 4,348.40±0.004 mg GAE/g ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 2) ในสารสกัดจากใบจะมีปริมาณสูงสุด ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในแต่ละส่วนสกัดของย่านางในจังหวัดเดียวกันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.01$ ส่วนในแต่ละจังหวัดจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในแต่ละส่วนสกัดชนิดเดียวกันจะไม่มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านางจากแต่ละจังหวัด

ส่วนสกัดย่านาง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัม Gallic acid ต่อสารสกัด 1 กรัม) ในย่านางจากจังหวัดต่างๆ			
	สุพรรณบุรี $\bar{x} \pm SD$	ราชบุรี $\bar{x} \pm SD$	นครปฐม $\bar{x} \pm SD$	เฉลี่ย $\bar{x} \pm SD$
ราก	146.79±0.004	144.87±0.013	144.23±0.006	145.29±0.007
ลำต้น	118.58±0.004	116.98±0.008	114.42±0.005	116.66±0.005
ใบ	4,351.43±0.005	4,345.92±0.003	4,348.40±0.004	4,348.40±0.004



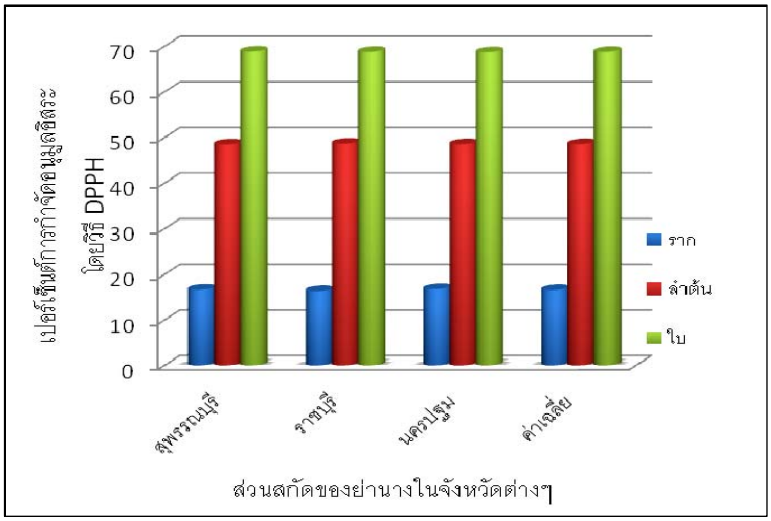
ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านางจากแต่ละจังหวัด

2. ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระ

เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH สามารถคำนวณได้โดยเปรียบเทียบจากกราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox จากสมการ $y = 0.0935x$, $R^2 = 0.998$ จากนั้นนำความเข้มข้นของ Trolox มาสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างเปอร์เซ็นต์การกำจัดกับ ความเข้มข้นต่างๆ ของ Trolox เพื่อหา IC_{50} พบว่าทุกสารสกัดจากทุกส่วนมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH• โดยเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากราก ลำต้น และใบ มีค่าเท่ากับ 16.57, 48.58 และ 68.76 ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ซึ่งเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากส่วนต่างๆ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p<0.01$ (ภาพที่ 3) พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 549.72 µg/ml

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านางจากแต่ละจังหวัด

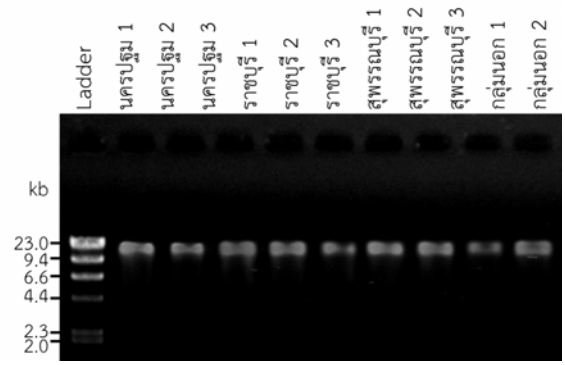
ส่วนสกัดย่านาง	เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดย่านางงจากจังหวัดต่างๆ			
	สุพรรณบุรี $\bar{x} \pm SD$	ราชบุรี $\bar{x} \pm SD$	นครปฐม $\bar{x} \pm SD$	เฉลี่ย $\bar{x} \pm SD$
ราก	16.63±0.401	16.33±0.548	16.76±0.349	16.57±0.424
ลำต้น	48.51±0.296	48.68±0.301	48.55±0.299	48.58±0.299
ใบ	68.84±0.389	68.77±0.378	68.69±0.341	68.76±0.369



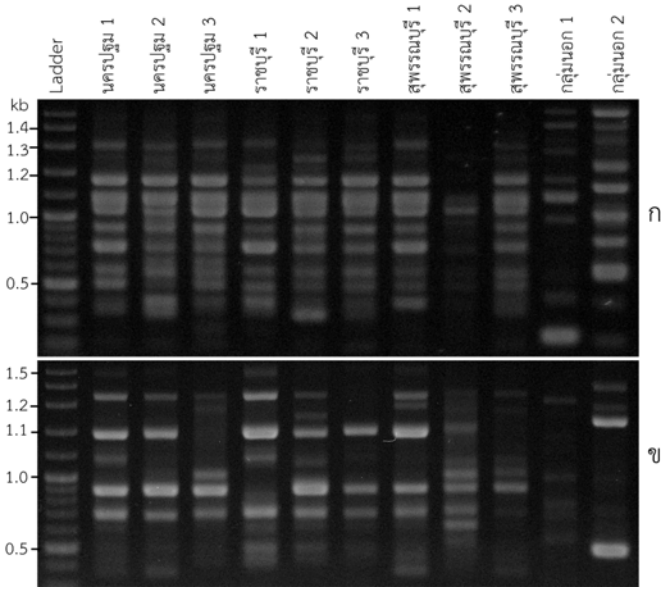
ภาพที่ 3 เปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ของสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านางจากแต่ละจังหวัด

3. การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านาง

สกัดดีเอ็นเอจากย่านางที่เก็บจากจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรีและนครปฐม และพืชกลุ่มนอก ได้ดังภาพที่ 4 และได้ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ RAPD (ภาพที่ 5) จากไพรเมอร์ 16 แบบ นับแถบดีเอ็นเอ (ตารางที่ 3) ได้ทั้งหมด 1,280 แถบ และมี polymorphism เป็น 99.45% เมื่อวิเคราะห์วิวัฒนาการชาติพันธุ์จากข้อมูลแถบดีเอ็นเอได้ผลเป็นเดนโดรแกรม และค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (ตารางที่ 4) จะเห็นว่าข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ RAPD นี้เหมาะสมในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของย่านางโดยมีบอระเพ็ดเป็นกลุ่มนอก เพราะเดนโดรแกรมที่ได้ (ภาพที่ 6) แยกบอระเพ็ดออกมาเป็นกลุ่มนอกตามสมมติฐาน ย่านางจากจังหวัดนครปฐม ราชบุรี และสุพรรณบุรี มีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม (genetic similarity, S) 0.76-0.84, 0.79-0.86 และ 0.65-0.75 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างที่เก็บจากต่างจังหวัดกันมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรม 0.60-0.84



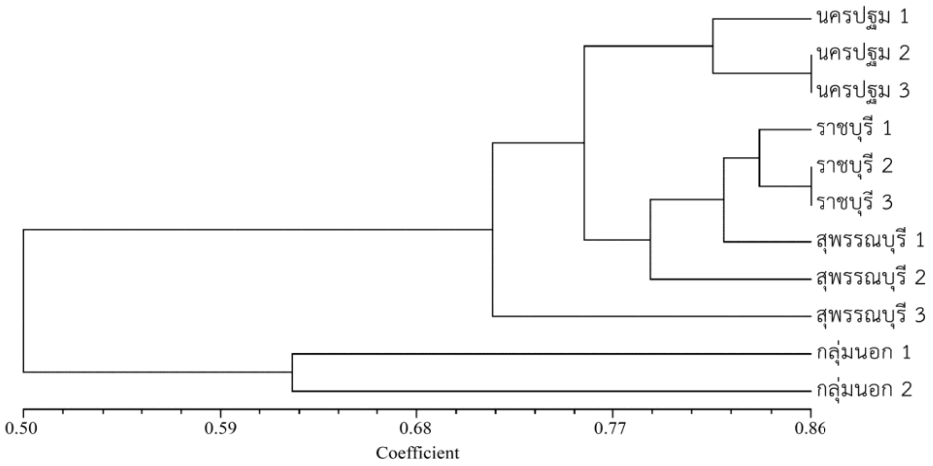
ภาพที่ 4 ผลการสกัดดีเอ็นเอจากย่านาง 9 ตัวอย่าง จากสามจังหวัด และกลุ่มนอกคือบอระเพ็ด



ภาพที่ 5 ลายพิมพ์ดีเอ็นเอของย่านาง 9 ตัวอย่าง จากสามจังหวัด และกลุ่มนอกคือบอระเพ็ด จากไพรเมอร์ GTAGACCCGT (ก) และ CACCGTATCC (ข)

ตารางที่ 3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ได้ผลดีและข้อมูลแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นในย่านาง 9 ตัวอย่างและบอระเพ็ดเป็นกลุ่มนอก 2 ตัวอย่าง

Primer	Sequence (5' to 3')	Monomorphic band	Polymorphic band	Total band	Polymorphism (%)
1	GGACTGGAGT	0	103	103	100.00
2	TGCTCTGCCC	0	66	66	100.00
3	TGGACCGGTG	0	64	64	100.00
4	GTAGACCCGT	0	103	103	100.00
5	GTGAGGCGTC	2	78	80	97.50
6	GACGGATCAG	0	74	74	100.00
7	CACACTCCAG	1	105	106	99.06
8	ACTTCGCCAC	1	81	82	98.78
9	ACCGCGAAGG	0	47	47	100.00
10	GGACCCAACC	1	67	68	98.53
11	GTCGCCGTCA	0	69	69	100.00
12	TCTGGTGAGG	0	74	74	100.00
13	TGAGCGGACA	0	110	110	100.00
14	GTGTGCCCCA	1	85	86	98.84
15	AGCGCCATTG	0	82	82	100.00
16	CACCGTATCC	1	65	66	98.48
	Total	**7**	**1,273**	**1,280**	**99.45**



ภาพที่ 6 เดนโดรแกรมแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของย่านางจากสามจังหวัด วิเคราะห์จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

ตารางที่ 4 ค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของย่านางจากสามจังหวัด วิเคราะห์จากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

	นครปฐม1	นครปฐม2	นครปฐม3	ราชบุรี1	ราชบุรี2	ราชบุรี3	สุพรรณบุรี1	สุพรรณบุรี2	สุพรรณบุรี3	กลุ่มนอก1	กลุ่มนอก2
นครปฐม1	1.00										
นครปฐม2	0.80	1.00									
นครปฐม3	0.76	0.84	1.00								
ราชบุรี1	0.74	0.78	0.77	1.00							
ราชบุรี2	0.70	0.74	0.74	0.82	1.00						
ราชบุรี3	0.68	0.73	0.74	0.79	0.86	1.00					
สุพรรณบุรี1	0.68	0.71	0.72	0.79	0.81	0.84	1.00				
สุพรรณบุรี2	0.66	0.69	0.68	0.71	0.72	0.74	0.73	1.00			
สุพรรณบุรี3	0.60	0.66	0.70	0.67	0.67	0.70	0.67	0.65	1.00		
กลุ่มนอก1	0.52	0.55	0.56	0.54	0.52	0.55	0.53	0.64	0.56	1.00	
กลุ่มนอก2	0.47	0.46	0.46	0.44	0.38	0.44	0.42	0.49	0.44	0.60	1.00

สรุปและอภิปรายผล

การศึกษาสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของย่านางในสามจังหวัดพบว่าสารสกัดจากใบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 4,348.40±0.004 mg GAE/g ส่วนการทดสอบหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากใบมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระดีที่สุดเท่ากับ 68.76±0.369% และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นได้ดีที่สุด ซึ่งจากผลการวิเคราะห์กล่าวได้ว่า ย่านางเป็นพืชสมุนไพรที่มีคุณสมบัติสามารต้านอนุมูลอิสระและเป็นสารป้องกันมะเร็งได้และน่าจะเป็นพืชทางเลือกหนึ่งในการนำไปสกัดแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหรือสารสกัดเพื่อสุขภาพเช่นเดียวกับพืชผักชนิดอื่นๆ เช่น แขยง สะเดา ชะคราม เป็นต้น (นกน้อย ชูคงคา และคณะ, 2554; นภาพร แก้วดวงดี และนัฏฐพงศ์ อินทร์สมบัติ, 2555) หรือเป็นข้อมูลเบื้องต้นให้กับผู้บริโภคได้ในการรับประทานเพื่อการป้องกันมะเร็งในอนาคต (Boivin et al., 2009) จากการวิจัยครั้งนี้พบว่า IC_{50} ของสารสกัดจากใบของย่านางมีค่าเท่ากับ 549.72 µg/ml ส่วนบังอร วงศ์รักษ์และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์ (2549) พบว่า IC_{50} ของสารสกัดจากย่านางเท่ากับ 499.24 µg/ml (ส่วนที่ละลายในน้ำ) และ 772.63 µg/ml (ส่วนที่ไม่ละลายในน้ำ) ซึ่งอาจเป็นผลจากวิธีการเก็บตัวอย่าง การสกัดสาร และการตรวจสอบที่แตกต่างกัน นั้นแสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์ที่แตกต่างกันก็สามารถทำให้ได้ปริมาณสารสำคัญแตกต่างกันในแต่ละวิธีและความเหมาะสมในการสกัดในส่วนต่างๆ ก็แตกต่างกันด้วย

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากแต่ละส่วน คือ ราก ลำต้น และใบ พบว่ามีปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ $p<0.01$ ซึ่งให้ผลสอดคล้องกันในตัวอย่างที่เก็บจากทั้งสามจังหวัด โดยสารสกัดจากใบมีค่าสูงที่สุดประกอบกับมีเปอร์เซ็นต์การกำจัดอนุมูลอิสระดีที่สุด ดังนั้นจึงสอดคล้องกับวิถีพื้นบ้านที่ประชาชนนิยมนำใบย่านางมารับประทาน เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดจากส่วนเดียวกันพบว่าตัวอย่างจากแต่ละจังหวัดให้ค่าไม่แตกต่างกัน แสดงว่าการแสดงสภาพแวดล้อมในสามจังหวัดนี้ไม่มีผลต่อการสร้างสารฟีนอลิกในย่านาง จึงเป็นข้อดีว่าประชาชนจากหลายจังหวัดในประเทศไทยสามารถปลูกย่านางและนำมาบริโภคได้เอง โดยยังได้รับคุณค่าทางโภชนาการเท่าเทียมกัน นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกที่พบในสารสกัดจากย่านางยังใช้ในการทำนายความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและลดการก่อกลายพันธุ์ที่เป็นผลมาจากสิ่งแวดล้อมได้ (Phadungkit et al., 2012)

จากการศึกษาความเหมือนทางพันธุกรรมของย่านางแต่ละตัวอย่างจากข้อมูลลายพิมพ์ดีเอ็นเอมีค่าระหว่าง 0.60 ถึง 0.86 ซึ่งถือได้ว่าย่านางมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมากเมื่อเทียบกับค่ามาตรฐานที่ Weier et al. (1982) เสนอไว้ว่าเมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมแล้วพืชชนิด

เดียวกันควรมีค่าความเหมือนทางพันธุกรรมอยู่ระหว่าง 0.85 ถึง 1.00 ทั้งนี้ให้ขึ้นอยู่กับดุลพินิจของผู้วิจัยที่เชี่ยวชาญพืชนั้นๆ เป็นสำคัญ (Weier et al., 1982) เมื่อได้พิจารณาลักษณะทางสัณฐานวิทยาแล้วพบว่า ย่านางแต่ละตัวอย่างที่เก็บมาศึกษานั้นยังเป็นชนิดเดียวกันคือ *Tiliacora triandra* (Colebr.) Diels. ความแตกต่างทางพันธุกรรมนี้แสดงถึงการที่ย่านางมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันได้เป็นอย่างดีสอดคล้องกับที่พบเจริญได้ทุกภูมิภาคของไทย การที่พืชชนิดเดียวกันมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงนั้นเป็นเรื่องปกติซึ่งพบได้ในพืชหลายกลุ่ม เช่น หม้อข้าวหม้อแกงลิง *Nepenthes mirabilis* (Chaveerach et al., 2006)

ผลจากการวิจัยครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า สารสกัดจากย่านางมีฤทธิ์ต้านการออกซิเดชันได้ดีเมื่อสกัดด้วย 2% HCl ในเมทานอล ประกอบกับข้อมูลจากภูมิปัญญาพื้นบ้านที่ใช้ใบสดของย่านางคั้นกับน้ำต้มสุกแล้วดื่มรักษาสมดุลในร่างกาย ดังนั้นย่านางจึงเป็นพืชสมุนไพรที่มีศักยภาพที่จะนำไปศึกษาวิจัยเพื่อทดสอบกลไกการรักษาโรคต่างๆ ในคนและพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบอาหารเพื่อสุขภาพทางเลือกได้ในอนาคต ซึ่งจะเกิดประโยชน์ในระดับครัวเรือน ชุมชน และประเทศชาติได้ต่อไป การวิจัยครั้งนี้สามารถต่อยอดในการวิจัยเชิงพาณิชย์ในการแปรรูปเป็นอาหารทางเลือกเพื่อสุขภาพและเป็นตำรับยาในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ประจำปี พ.ศ. 2555

เอกสารอ้างอิง

กรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ. (2553). มหัศจรรย์ย่านางจากซุปหน่อไม้ถึงเครื่องดื่มสุขภาพ. **หมอชาวบ้าน**, 31(370): 36-40.

นกน้อย ชูคงคา ธัญวรัตน์ พานแก้ว ณกัญญา พลเสน และ ทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย. (2554). สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน 3 ชนิด. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 42(3) (พิเศษ): 339-342.

นภาพร แก้วดวงดี และนัฏฐพงศ์ อินทร์สมบัติ. (2555). การศึกษาสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระและผลิตภัณฑ์จากชะคราม. **วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์**, 12(2): 107-120.

บังอร วงศ์รักษ์ และศศิลักษณ์ ปิยะสุวรรณ์. (2549). **ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผักพื้นบ้าน**. บัณฑิตนิพนธ์ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

ปานทิพย์ บุญส่ง ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2552). การวิเคราะห์สารประกอบ polyphenolics และสารให้สีจากใบ *Tiliacora triandra* (Diels). **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 40(3): 13-16.

วริศรา ชื่นอารมณ์ อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. (2553). สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม. **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร,** 41(3/1) (พิเศษ): 621-624.

โอภา วัชระคุปต์. (2550). **สารต้านอนุมูลอิสระ**. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: นิว-ไทยมิตรการพิมพ์.

Boivin, D., et al. (2009). Antiproliferative and antioxidant activities of common vegetables: A comparative study. **Food Chem**, 112: 374-380.

Chaveerach, A., Tanomtong, A., Sudmoon, R., and Tanee, T. (2006). Genetic diversity among geographically separated populations of *Nepenthes mirabilis*. **Biologia Bratislava**, 61: 295-298.

Divi, K.P., Suganthy N., Kesika, P. and Pandian, S.K. (2008). Bioprotective Properties of Seaweeds, In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to phenolic content. **BMC Complementary and Alternative Medicine,** 8: 38.

Matthaus, B. (2002). Antioxidant activity of extracts obtained from residues of different oilseeds. **J Agric Food Chem,** 50: 3444-3452.

Pavanand, K., Webster, H.K., Yongvanitchit, K., and Dechatiwongse, T. (1989). Antimalarial activity of *Tiliacora triandra* Diels against *Plasmodium falciparum* in vitro. **Phytother Res**, 3(5): 15-17.

Phadungkit, M., Somdee, T. and Kangsadalampai, K. (2012). Phytochemical screening, antioxidant and antimutagenic activities of selected Thai edible plant extracts. **J Med Plant Res,** 6(5): 662-666.

Rohlf, F.J. (2000). **NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System Setanket**. New York: Stony Brook.

Weier, T.E., Stocking, C.R., Barbour, M.G., and Rost, T.L. (1982). **Botany**. New York: John Wiley and Sons.