

การพัฒนาสูตรชาสมุนไพรใบหม่อนผสมสมุนไพรให้กลิ่นหอม ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเอนไซม์กลูโคซิเดส

Development of Antioxidant and Anti- α -glucosidase Mulberry Leaf Tea

Recipes with Combination of Aroma Herbs

อนงค์ ศรีโสภา* และกาญจนา วงศ์กระจ่าง

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม

ตำบลพลายชุมพล อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

Anong Srisopa* and Kanchana Wongkrajang

Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University,

Plaichumpol, Muang, Phitsanulok 65000

Received: August 2, 2019; Accepted: August 15, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาสูตรชาสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมและรับประทานง่าย โดยมีส่วนผสมหลักเป็นใบหม่อนและสมุนไพรแต่งกลิ่นและรส ได้แก่ หนุ่ยหวาน ใบมะกรูด ใบเตย เนียมหอม เก๊กฮวย ชিং มะตูม และดาวเรือง เปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์การต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในน้ำชาจากชาสมุนไพรทั้งหมด 16 สูตร โดยตรวจวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจากการทำปฏิกิริยากับฟอลิน-ซีโอแคลทรีเอเจนต์ ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยทำปฏิกิริยากับดีพีพีเอช และศึกษาฤทธิ์การต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสโดยวัดอัตราการปลดปล่อยพารา-ไนโตรฟีนอลด้วยเทคนิคคลอริเมทรี ผลการทดลองพบว่าชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ (1) ใบหม่อน: เก๊กฮวย (0.75:0.25 กรัม) (2) ใบหม่อน: ดาวเรือง: หนุ่ยหวาน (0.50:0.25:0.25 กรัม) และ (3) ใบหม่อน: มะตูม: หนุ่ยหวาน (0.50:0.25:0.25 กรัม) โดยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 89.32, 87.40 และ 83.84 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนชาสมุนไพรที่มีฤทธิ์การต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงสุด 3 อันดับแรก ได้แก่ (1) ใบหม่อน: ดาวเรือง (0.75:0.25 กรัม) (2) ใบหม่อน: เก๊กฮวย (0.75:0.25 กรัม) และ (3) ใบหม่อน: เนียมหอม: หนุ่ยหวาน (0.50:0.25:0.25 กรัม) โดยมีฤทธิ์การต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส 82.17, 81.76 และ 79.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยน้ำชาสมุนไพรใบหม่อนที่มีส่วนผสมของเก๊กฮวยให้ฤทธิ์ทางชีวภาพสูงทั้งการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

คำสำคัญ : ชาสมุนไพร; ใบหม่อน; ฟีนอลิก; การต้านอนุมูลอิสระ; การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

Abstract

Aroma and easy to drink mulberry leaf herbal tea recipes were developed. The mulberry (*Morus alba*) leaf tea was blended with flavoring herbals including *Stevia rebaudiana*, *Citrus hystrix*, *Pandanus amaryllifolius*, *Strobilanthes nivea*, *Chrysanthemum indicum*, *Zingiber officinale*, *Aegle marmelos* and *Tagetes erecta*. Total phenolic contents, antioxidant and anti- α -glucosidase activities in 16 herbal tea recipe infusions were compared. The total phenolic contents were assessed based on the Folin-Ciocalteu method. The antioxidant activities were investigated by DPPH assay while the anti- α -glucosidase activities were measured by the release of colorimetric *p*-nitrophenol. The results showed that aroma herbal tea recipes with the top three antioxidant activity were (1) *Morus alba* : *Chrysanthemum indicum* (0.75 : 0.25 g), (2) *Morus alba* : *Tagetes erecta* : *Stevia rebaudiana* (0.50 : 0.25 : 0.25 g), and (3) *Morus alba* : *Aegle marmelos* : *Stevia rebaudiana* (0.50 : 0.25 : 0.25 g) with the activities of 89.32, 87.40 and 83.84 %, respectively. Three herbal recipes having the highest anti- α -glucosidase activity were (1) *Morus alba* : *Tagetes erecta* (0.75 : 0.25 g), (2) *Morus alba* : *Chrysanthemum indicum* (0.75 : 0.25 g), and (3) *Morus alba* : *Strobilanthes nivea* : *Stevia rebaudiana* (0.50 : 0.25 : 0.25 g) with the activities of 82.17, 81.76 and 79.76 %, respectively. The tea infusion from the mixture of *Morus alba* and *Chrysanthemum indicum* provided the high activities for both antioxidant and anti- α -glucosidase.

Keywords: herbal tea; mulberry leaf; phenolic; antioxidant activity; anti- α -glucosidase activity

1. คำนำ

ชาสมุนไพรเป็นเครื่องดื่มที่มีความสำคัญและนิยมดื่มกันอย่างกว้างขวาง เตรียมได้จาก การนำสมุนไพรที่มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพมาผ่านกระบวนการแปรรูปด้วยการทำแห้ง ให้ผู้บริโภคใช้ผลิตภัณฑ์ด้วยการคั้นตัวชาสมุนไพรด้วยการแช่น้ำร้อนแล้วดื่มขณะร้อนหรือเย็น ปัจจุบันชาสมุนไพรไทยเป็นที่นิยมในการบริโภคเป็นชาเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะผู้สูงอายุ โดยคาดหวังประโยชน์เพื่อดูแลรักษาสุขภาพ ตัวอย่างชาสมุนไพรตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ได้แก่ ชามะตูม ชากระเจี๊ยบ ชาใบหม่อน ชาดอกคำฝอย ชาใบบัวบก ชาเตยหอม ชาดอกเก๊กฮวย ชามะขามป้อม ชาหญ้าหวาน เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ชาในท้องถิ่นต่าง ๆ ได้แก่ ชามะรุ้ม ชาดอกดาวเรือง ชาดาวอินคา เป็นต้น ชาสมุนไพรส่วนใหญ่ไม่มีคาเฟอีน จึงเหมาะ

สำหรับผู้สูงอายุหรือผู้ที่แพ้คาเฟอีน และที่สำคัญชาสมุนไพรหลายชนิดมีสรรพคุณทางยา (Hamer, 2007; Huang *et al.*, 2015; Martin *et al.*, 2017) เช่น ช่วยกระตุ้นระบบประสาท ระบบหมุนเวียนเลือด ต้านอนุมูลอิสระ ลดคอเลสเตอรอล ด้านการเกิดโรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง มะเร็ง และยัง สามารถช่วยให้ระบบการทำงานของร่างกายในหลาย ๆ ส่วน เช่น ระบบการย่อยอาหาร ระบบขับถ่าย ระบบปัสสาวะ หัวใจทำงานได้ดี เป็นตัวช่วยลดไขมันที่เกาะติดอยู่ตามลำไส้

ใบหม่อนเป็นชาสมุนไพรที่นิยมชงดื่มเพื่อบำรุงสุขภาพ มีการศึกษาและวิจัยพบว่าใบหม่อนสามารถช่วยลดไขมัน (Banchobphutsa, 2012) ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Booranasuksakul *et al.*, 2019) ลดความดันโลหิต ด้านการอักเสบ (Park *et al.*, 2013) ต้านอนุมูลอิสระ (Sánchez-Salcedo *et al.*,

2015; Wen *et al.*, 2019) และต้านไกลเคชั่นซึ่งเป็นกระบวนการเร่งการชรา (Deetae *et al.*, 2012) เป็นต้น เนื่องจากในใบหม่อนมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ พอลิแซคคาไรด์แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Wen *et al.*, 2019) สารไดออกซินอิจิริมายซิน (DNJ) ซึ่งอยู่ในกลุ่มแอลคาลอยด์ มีสมบัติช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและต้านโรคอ้วน (Wen *et al.*, 2019) เควอซีตินและเคมเฟอรอลเป็นฟลาโวนอยด์ที่พบมากในใบหม่อน (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015) กรดคลอโรจีนิค เป็นกรดฟีนอลิกที่พบมากในใบหม่อนและจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสำคัญ แสดงฤทธิ์ต้านเบาหวานและลดไขมันที่ดี (Katsube *et al.*, 2009; Wen *et al.*, 2019) การศึกษาฤทธิ์การต้านเบาหวานในผู้ป่วยเบาหวาน (type 2) ในสารสกัดใบหม่อนต่าง ๆ พบว่าสารสกัดใบหม่อนในน้ำร้อนมีฤทธิ์ต้านภาวะเบาหวานได้มากกว่าสารสกัดใบหม่อนในเอทานอลหรือบิวทานอล (Tian *et al.*, 2016) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับสายพันธุ์หม่อน ซึ่งพบว่าชาที่ทำจากใบหม่อนพันธุ์คุณไผ่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าใบหม่อนพันธุ์บุรีรัมย์ 60 (Sribuarod, 2009) และยังพบว่าชาใบหม่อนที่ผ่านเครื่องคั่วมีปริมาณ DNJ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าชาใบหม่อนจากการคั่วใบชาด้วยมือ (Jongroysub *et al.*, 2016) และการทำแห้งอุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียส มีผลทำให้การต้านอนุมูลอิสระลดลง (Katsube *et al.*, 2009)

นอกจากใบหม่อนแล้วยังมีสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ที่นิยมนำมาทำเป็นชาชงดื่ม เช่น หน้าหวาน เป็นพืชที่ให้ความหวานโดยธรรมชาติ ประเทศไทยอนุญาตให้ใช้เป็นวัตถุบิณฑบาตสำหรับชาสมุนไพรตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ใบหน้าหวานแห้งสกัดด้วยน้ำ ได้สารหวาน (steviol glycosides) ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสารหวานนี้มีความหวานมากกว่าน้ำตาลทราย 150-300 เท่า มีความคงตัวสูงทนความร้อนได้ถึง

200 องศาเซลเซียส แคลอรีต่ำ จึงเหมาะสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน ความดันโลหิต โรคอ้วนและโรคหัวใจ การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในใบหน้าหวาน พบว่าสารสำคัญในใบหน้าหวาน ได้แก่ chlorogenic acid และ flavonoid (Ciulu *et al.*, 2017) สมุนไพรที่นิยมทำเป็นชาและให้กลิ่นหอม เช่น ใบมะกรูดมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว มีสรรพคุณตามตำรายาไทยหลายประการ เช่น ด้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ รักษาโรค เสริมสร้างสุขภาพให้แข็งแรง น้ำมันหอมระเหยมีสรรพคุณช่วยผ่อนคลายความเครียด คลายความกังวล ทำให้จิตใจสงบนิ่ง (Navarra *et al.*, 2015) ดอกดาวเรืองในภาคเหนือของประเทศไทย ใช้ดอกดาวเรืองทำชาสำหรับชงดื่ม ทำอาหารประเภทยำ ทอด ใส่ในแกง และใช้แทนผัก (Kaisoon *et al.*, 2012) ประกอบด้วยสารสำคัญหลายชนิด เช่น สารกลุ่ม phenolic compound ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถช่วยลดการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือด ไปเลี้ยงหัวใจ ลดอัตราการเกิดมะเร็ง สารในกลุ่ม triterpenoid fatty acid และ ester มีสมบัติลดการอักเสบ (Hamburger *et al.*, 2003) นักวิทยาศาสตร์ชาวอินเดีย (Maity *et al.*, 2011) พบกรดไซรินจิก และ β -amyrin ในดอกดาวเรืองสามารถต้านการเกิดริ้วรอย นิยมเป็นไม้ที่มีใบหอม แม้กลิ่นจะคล้ายใบเตย แต่ให้ความหอมเข้มข้นกว่าและรู้สึกถึงความหอมเย็นปนหวานที่ลึกล้ำ กลิ่นหอมของเนยช่วยให้อารมณ์ดีถึงความสบายใจ ความปลอดภัย โปร่ง ใบแห้งสามารถชงเป็นชาดื่มแก้หวัด แก้ไข้ แก้ไอ บรรเทาอาการ หอบหืด ในสมัยก่อนมีการนำใบเนยมาชงดื่มมาใช้ปรุงเป็นเครื่องดื่มและยาสมุนไพร หรือใช้เวลาเคี้ยวหมาก กลิ่นเนยจะกรุณาอยู่ในปาก ใช้ดองเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเอาใบเนยจำนวน 3-4 ใบไปนึ่งไฟหรือลนไฟแล้วแช่ลงในเครื่องดื่มจะทำให้รสชาติเข้มข้น นอกจากนี้ยังมีดอกเก๊กฮวยและมะตูม สมุนไพรที่มีกลิ่นหอมและได้รับความนิยม

นำมาทำชาชงดื่ม โดยมีการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์และการต้านอนุมูลอิสระในดอกเก๊กฮวยที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีต่างกัน ได้แก่ การตากแห้งด้วยแสงอาทิตย์ การตากแห้งในที่ร่ม และการอบด้วยความร้อน โดยนำดอกเก๊กฮวยไปนึ่งจนกลีบดอกสีแล้วนำไปทำแห้งด้วยวิธีที่กล่าวมา จนความชื้นน้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการอบด้วยความร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส เป็นวิธีที่เหมาะสมที่สุด (Yuan *et al.*, 2015) ส่วนการทำแห้งผลมะตูมพบว่าการทำแห้งแบบสุญญากาศให้ปริมาณฟีนอลิก 16.67 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมตัวอย่าง (mg GAE/g) และการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งด้วยแสงอาทิตย์และการใช้เตาอบ (Wijewardana *et al.*, 2016) ชาสมุนไพรทั้งหมดที่กล่าวมาล้วนประกอบด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีผู้ศึกษาวิจัยไว้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น อะซิโตน เมทานอล และเอทานอล (Zaidan *et al.*, 2019) แต่การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำชาสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำยังมีน้อยและยังต้องการข้อมูลที่น่าเชื่อถือได้สนับสนุน

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรชาสมุนไพรผสมใบหม่อนที่มีกลิ่นหอมและศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสในน้ำชาที่ได้จากการชงชาสูตรต่าง ๆ ด้วยน้ำร้อนซึ่งมีผู้ศึกษาวิจัยน้อย เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับผู้ประกอบการ ผู้บริโภค ตลอดจนนักวิจัยที่ทำงานเกี่ยวข้องกับสมุนไพรและชาสมุนไพร

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างใบหม่อนพันธุ์คุณไผ่จากพื้นที่เพาะปลูก ตำบลกกสะทอน อำเภอด่านซ้าย

จังหวัดเลย (เดือนมกราคม) โดยคัดเลือกใบ 3-5 (คัดใบที่ไม่แข็งหยابเกินไป) นำไปตัดก้านใบและล้างให้สะอาด ทั้งให้สะอาด น้ำ หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดแนวขวางประมาณ 0.5 เซนติเมตร อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 (ใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที) บดให้ละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 30 เมช

เก็บตัวอย่างหญ้าหวานและเก๊กฮวยเหลือจากสวนเกษตรอินทรีย์ อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ (เดือนมกราคม) เก็บตัวอย่างใบมะกรูดใบเตย ชิง มะตูม เนียมหอม จากพื้นที่เพาะปลูกจังหวัดพิษณุโลกและสุโขทัย (เดือนกุมภาพันธ์) เก็บตัวอย่างดาวเรืองจากแปลงเกษตรอินทรีย์ วิสาหกิจชุมชนดาวเรือง อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย (เดือนมกราคม) อบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่าร้อยละ 10 (ใช้เวลา 1 ชั่วโมง 30 นาที) บดให้ละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 30 เมช

การเตรียมตัวอย่างน้ำชาจากการชงชาผง โดยชั่งผงชาตามอัตราส่วน ผสมลงในขวดรูปชมพู่เติมน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที กรองและปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร นำไปทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารตัวอย่างแห้ง (mg GAE/DW)

การเตรียมตัวอย่างน้ำชาจากการชงชาบรรจุซองโดยชั่งผงชาตามอัตราส่วนบรรจุซองขนาด 50x60 มิลลิเมตร ซึ่ปิดซองด้วยเครื่องซีลใส่ซองชาลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำเดือด 200 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องเขย่า 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 3 นาที กรองและปรับปริมาตรเป็น 250 มิลลิลิตร นำไปทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกรวมในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของชาบรรจุซอง (mg GAE/tea bag)

2.2 การหาปริมาณฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณฟีนอลิกรวม ใช้วิธี Folin-Ciocalteu และอ่านค่าสัญญาณด้วยเครื่อง microplate reader โดยมีรายละเอียดดังนี้

2.2.1 เตรียมสารมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้น 3.90, 7.81, 15.62, 31.25, 62.50, 125, 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำกลั่น

2.2.2 ปิเปตน้ำชาตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent (เจือจางด้วยน้ำ 1:5 v/v) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมน้ำ NaOH 0.35 โมลต่อลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ในหลุมไมโครเวลเพลท ทั้งไว้นาน 3 นาที ที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร เทียบกับแบลนด์ (Magalhães *et al.*, 2010) หาปริมาณฟีนอลิกรวมในสารสกัด โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลาย gallic acid

2.3 การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

ปิเปตสารละลายน้ำชาตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมเอทานอล 100 ไมโครลิตร และ DPPH เข้มข้น 300 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท เขย่า ทั้งไว้ในที่มืด 30 นาที (DPPH เตรียมจากซังสาร 6 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอลและปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร) แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อหาสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างสารสกัดใบหม่อน โดยเปรียบเทียบค่าวัดได้กับสารละลาย ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 7.81, 15.62, 31.25, 62.50 และ 125 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

ผสมสารละลายมาตรฐาน (ความเข้มข้น 50,000, 30,000, 20,000, 10,000, 5,000, 2,500

มิลลิกรัมต่อลิตร) และสารละลายเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสความเข้มข้น 1.0 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ใน sodium phosphate buffer (pH 6.8) เติมน้ำกลั่นทั้งหมดลงในไมโครเวลเพลท บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่นละลาย p-nitrophenyl- α -D-glucopyranoside (PNP-G) ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ลงในแต่ละหลุม เขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สุดท้ายเติมน้ำกลั่นละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลาร์ แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader และคำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -glucosidase inhibition)

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (one-way analysis of variance, one-way ANOVA) ด้วยวิธีการทดสอบ Tukey's honestly significant difference (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ได้พัฒนาสูตรชาสมุนไพรผสมใบหม่อนที่มีกลิ่นหอมและมีฤทธิ์ทางเคมีและทางชีวภาพสูตรต่าง ๆ โดยได้เลือกสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมและมีสารออกฤทธิ์เป็นองค์ประกอบ ได้แก่ ใบมะกรูด ใบเตย ใบเนียมหอม เก๊กฮวย ขิง มะตูม และดอกดาวเรือง นอกจากนี้ยังได้ใช้หญ้าหวานเป็นส่วนผสมเพื่อให้ได้สารออกฤทธิ์ที่ดี มีรสชาติกลมกล่อม และดื่มง่ายทั้งหมด 16 สูตร โดยลักษณะสีชาที่ได้มีสีเหลืองทอง มีความเข้มแตกต่างกันเล็กน้อยดังรูปที่ 1 โดยสูตรชาที่มีส่วนผสมของหญ้าหวานให้สีเหลืองทองเข้มกว่าสูตรชาที่ไม่มีส่วนผสมของหญ้าหวาน

ศึกษาฤทธิ์ทางเคมีจากปริมาณฟีนอลิกรวมในน้ำชาจากการชงชาผงเปรียบเทียบกับชาบรรจุ

ของ เมื่อชงด้วยน้ำเดือด และแช่ไว้เป็นเวลา 3 นาที และศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส แสดงผลดังตารางที่ 1

ผลการทดลองพบว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในการชงชาผงมีค่าสูงกว่าปริมาณฟีนอลิกรวมในการชงชาบรรจุซองตั้งแต่ 10 % จนถึงแตกต่างกันมากที่สุด 53 % ดังรูปที่ 2 ทั้งนี้เนื่องมาจากประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์จากชาบรรจุซองมีจำกัด โดยปริมาณฟีนอลิกรวมในการชงชาของและชาผงสูงสุด ได้แก่ ชาสมุนไพร H-1 (ใบหม่อน + ดาวเรือง + หญ้าหวาน) ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าในชาสมุนไพรที่มีส่วนผสมหลัก (ใบหม่อนและชาสมุนไพรให้กลิ่นหอม) เหมือนกันนั้น การเพิ่มหญ้าหวานในสูตรนอกจากจะทำให้ชาให้มีรสชาติหวานดื่มง่ายจากสารสำคัญ ได้แก่ steviol glycoside ซึ่งละลายน้ำได้ดีแล้ว ยังทำให้ปริมาณฟีนอลิกรวมในน้ำชาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งปริมาณฟีนอลิกรวมที่เพิ่มขึ้นสอดคล้องกับฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีขึ้น ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์การต้านเบาหวาน เป็นต้น (Zaidan *et al.*, 2019)

นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และการต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสของน้ำชาที่ได้จากการชงชาสมุนไพรแบบผงปริมาณ 1 กรัม โดยเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่อยู่บริเวณผนังเซลล์ของลำไส้เล็ก มีหน้าที่ย่อยน้ำตาลโพลีแซคคาไรด์ให้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคสเข้าสู่กระแสเลือด ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจะทำให้ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดและเป็นผลดีสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน

ผลการทดลองในรูปที่ 2 (A-0) และรูปที่ 3 (A-0) แสดงให้เห็นว่าน้ำชาที่ได้จากใบหม่อนมีสารประกอบฟีนอลิกละลายอยู่ ซึ่งแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโค

ซิเดส สอดคล้องกับงานวิจัยต่างประเทศ (Sánchez-Salcedo *et al.*, 2015) ซึ่งพบว่าเมื่อนำใบหม่อนมาชงเป็นชา 3-5 นาที ในน้ำร้อน พบการแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส งานวิจัยนี้จึงได้เลือกใบหม่อนเป็นสมุนไพรหลักในการพัฒนาสูตรชา นอกจากเป็นสมุนไพรที่มีสารพฤษเคมีที่สำคัญแล้วยังมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เมื่อชงในน้ำร้อนแล้วให้รสชาติดี ดื่มง่าย และไม่ขม

แต่เนื่องจากความต้องการที่หลากหลายของผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงได้พัฒนาผลิตภัณฑ์ชาสมุนไพรใบหม่อนที่มีส่วนผสมของสมุนไพรอื่น ๆ เพื่อให้ชามีกลิ่นหอมมากขึ้น และเพื่อเพิ่มสารออกฤทธิ์สำคัญ ศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพดังแสดงในรูปที่ 3 โดยพบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในชาสมุนไพรผสมใบหม่อนที่มีค่าสูงสุด (89.32 %) ได้แก่ สูตร E-0 (ใบหม่อน + เก๊กฮวย) สูตรชาสมุนไพรที่ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระรองลงมา (81-87 %) ได้แก่ H-1 (ใบหม่อน + ดาวเรือง + หญ้าหวาน) G-1 (ใบหม่อน + มะตูม + หญ้าหวาน) และ F-1 (ใบหม่อน + ขิง + หญ้าหวาน) ตามลำดับ ส่วนชาสมุนไพรผสมใบหม่อนที่ให้ฤทธิ์การต้านเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงสุด (78.51-82.17 %) 4 อันดับแรก ซึ่งมีฤทธิ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 ได้แก่ H-0 (ใบหม่อน + ดาวเรือง) E-0 (ใบหม่อน + เก๊กฮวย) D-1 (ใบหม่อน + เนียมหอม + หญ้าหวาน) และ E-1 (ใบหม่อน + เก๊กฮวย + หญ้าหวาน)

สูตรชาสมุนไพรที่แสดงทั้งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงสุด (รูปที่ 2) ได้แก่ E-0 (ใบหม่อน + เก๊กฮวย) H-1 (ใบหม่อน + ดาวเรือง + หญ้าหวาน) E-1 (ใบหม่อน + เก๊กฮวย + หญ้าหวาน) และ D-1 (ใบหม่อน + เนียมหอม + หญ้าหวาน) ตามลำดับ

ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าน้ำชาที่ได้จากการชงชาที่มีส่วนผสมของดอกเก๊กฮวย (E-0 และ E-1)

Table 1 Phenolic contents, antioxidant and anti- α -glucosidase inhibitory of one gram tea infusions.

Recipes	Ingredients	Weight (g)	Phenolic contents		Antioxidant activity* (%)	Anti- α -glucosidase inhibitory** (%)
			mgGAE/tea bag	mgGAE/g DW		
A-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	1.00	2.69 $\pm$ 0.19 ^g	5.36 $\pm$ 0.19 ⁱ	42.96 $\pm$ 5.51 ^{g,h}	56.11 $\pm$ 1.56 ^d
A-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	7.66 $\pm$ 0.25 ^e	11.35 $\pm$ 1.21 ^{d,e}	76.17 $\pm$ 1.44 ^{a,b,c,d}	54.19 $\pm$ 2.53 ^d
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
B-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	3.99 $\pm$ 0.48 ^{f,g}	7.83 $\pm$ 0.59 ^{f,g,h,i}	40.33 $\pm$ 3.29 ^{a,h}	58.55 $\pm$ 3.04 ^d
	ใบมะกรูด (<i>Citrus hystrix</i>)	0.25				
B-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	8.53 $\pm$ 1.12 ^{d,e}	10.02 $\pm$ 1.48 ^{d,e,f}	73.60 $\pm$ 4.60 ^{a,b,c,d}	33.49 $\pm$ 1.14 ^f
	ใบมะกรูด (<i>Citrus hystrix</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
C-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	3.54 $\pm$ 0.21 ^{f,g}	6.30 $\pm$ 0.21 ^{h,i}	41.77 $\pm$ 1.80 ^{a,h}	44.39 $\pm$ 1.54 ^e
	ใบเตย (<i>Pandanus amaryllifolius</i>)	0.25				
C-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	9.96 $\pm$ 0.39 ^{c,d}	11.56 $\pm$ 1.13 ^{d,e}	71.73 $\pm$ 6.71 ^{a,b,c,d}	19.20 $\pm$ 1.47 ^g
	ใบเตย (<i>Pandanus amaryllifolius</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
D-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	3.78 $\pm$ 0.23 ^{f,g}	5.98 $\pm$ 0.54 ^{h,i}	45.70 $\pm$ 0.84 ^{a,h}	78.29 $\pm$ 1.40 ^{a,b}
	เนียมหอม (<i>Strobilanthes nivea</i>)	0.25				
D-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	8.30 $\pm$ 1.57 ^{d,e}	12.44 $\pm$ 1.56 ^{c,d}	69.07 $\pm$ 1.89 ^{b,c,d,e}	79.76 $\pm$ 0.38 ^{a,b}
	เนียมหอม (<i>Strobilanthes nivea</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
E-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	4.59 $\pm$ 0.29 ^f	9.23 $\pm$ 0.54 ^{e,f,g}	89.32 $\pm$ 2.40 ^a	81.76 $\pm$ 1.78 ^a
	เก็กฮวย (<i>Chrysanthemum indicum</i>)	0.25				
E-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	11.44 $\pm$ 0.50 ^c	14.91 $\pm$ 0.48 ^{b,c}	77.53 $\pm$ 3.80 ^{a,b,c}	78.51 $\pm$ 1.51 ^{a,b}
	เก็กฮวย (<i>Chrysanthemum indicum</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
F-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	2.56 $\pm$ 0.25 ^g	5.41 $\pm$ 0.84 ⁱ	45.35 $\pm$ 1.69 ^{a,h}	56.11 $\pm$ 3.55 ^d
	ขิง (<i>Zingiber officinale</i>)	0.25				
F-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	8.02 $\pm$ 0.37 ^e	11.68 $\pm$ 0.45 ^{d,e}	81.43 $\pm$ 0.37 ^{a,b}	56.76 $\pm$ 1.83 ^d
	ขิง (<i>Zingiber officinale</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
G-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	7.01 $\pm$ 0.46 ^e	11.80 $\pm$ 0.61 ^{d,e}	54.87 $\pm$ 1.38 ^{e,f}	65.48 $\pm$ 1.19 ^c
	มะตูม (<i>Aegle marmelos</i>)	0.25				
G-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	13.36 $\pm$ 1.30 ^b	17.63 $\pm$ 1.50 ^{a,b}	83.84 $\pm$ 0.85 ^{a,b}	59.82 $\pm$ 0.66 ^{c,d}
	มะตูม (<i>Aegle marmelos</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				
H-0	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.75	8.20 $\pm$ 0.52 ^{d,e}	11.15 $\pm$ 1.27 ^{d,e}	58.48 $\pm$ 5.11 ^{d,e,f,g}	82.17 $\pm$ 2.58 ^a
	ดาวเรือง (<i>Tagetes erecta</i>)	0.25				
H-1	ใบหม่อน (<i>Morus alba</i>)	0.50	18.23 $\pm$ 0.60 ^a	20.36 $\pm$ 0.17 ^a	87.40 $\pm$ 2.80 ^a	74.47 $\pm$ 3.08 ^b
	ดาวเรือง (<i>Tagetes erecta</i>)	0.25				
	หญ้าหวาน (<i>Stevia rebaudiana</i>)	0.25				

Mean in the same column with different letter(s); ^(a-i) differ significant ($p < 0.05$); * antioxidant inhibitory of 0.5 mg/mL ascorbic acid = 91.91 %, (IC_{50} = 0.17 mg/mL); ** anti- α -glucosidase inhibitory of 5 mg/mL acarbose (final concentration) = 96.73 %, (IC_{50} = 1.243 mg/mL)

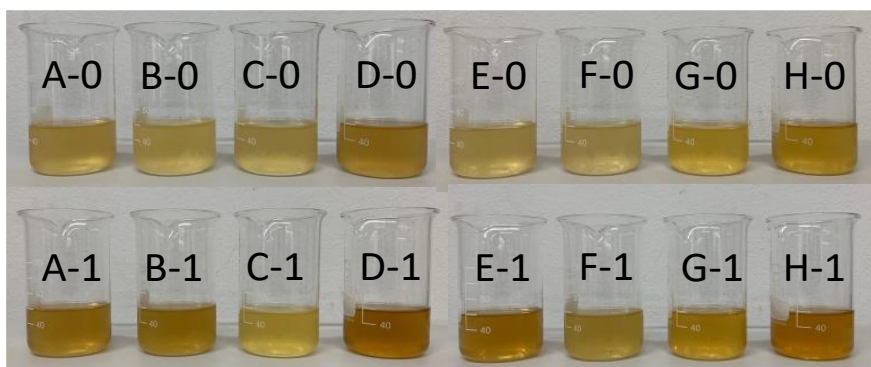


Figure 1 Color of different mulberry leaf tea recipes.

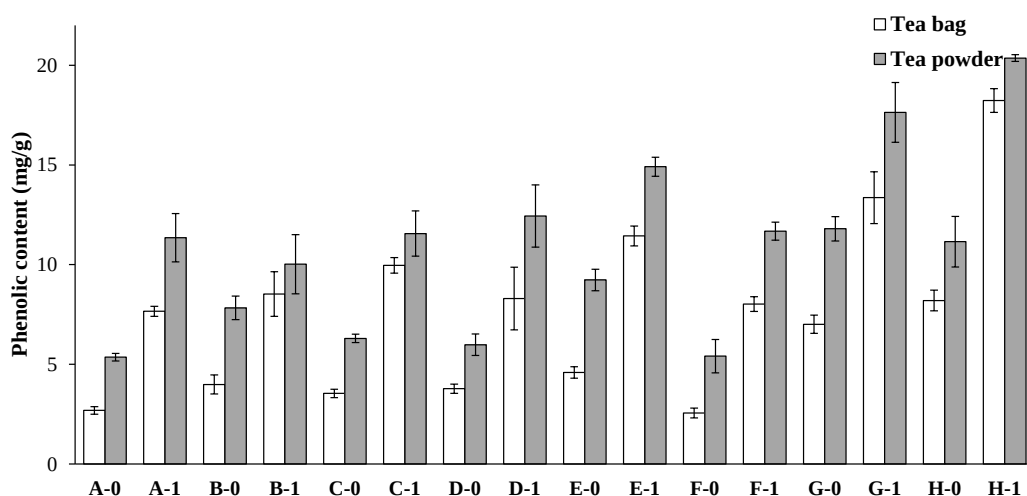


Figure 2 Comparison of the phenolic contents of one gram tea bag and tea powder infusions.

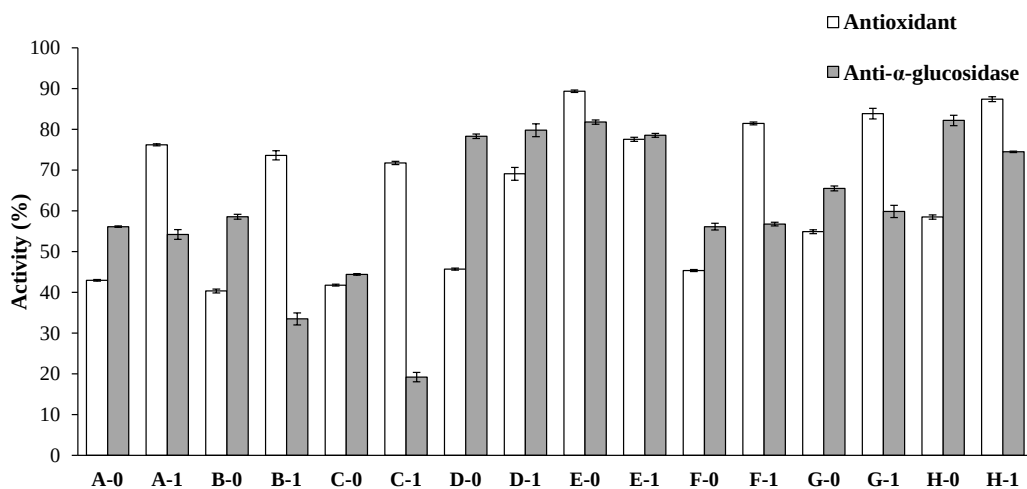


Figure 3 Comparison of antioxidant and anti- α -glucosidase activities of one gram tea powder infusions.

แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูง ซึ่งมีผู้ศึกษาสารออกฤทธิ์สำคัญในดอกเก๊กฮวย ได้แก่ chlorogenic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid, luteolin-7-O-glucoside, luteolin, okanin, isookanin, marein และ flavanol-marein (Sato *et al.*, 2011; Peng *et al.*, 2019) ซึ่งสารที่ละลายน้ำออกมาได้ดี ได้แก่ chlorogenic acid, 3,5-dicaffeoylquinic acid และ luteolin-7-O-glucoside (Li *et al.*, 2019) งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารกลุ่มดังกล่าวสามารถละลายน้ำร้อนและลดระดับน้ำตาลโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี

สูตรชาสมุนไพร H-0 และ H-1 ที่มีส่วนผสมของดอกดาวเรืองแสดงค่าการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่มีค่าสูง (82.17 และ 74.47 %) ซึ่งเป็นที่น่าสนใจ เนื่องจากการศึกษาสารออกฤทธิ์ของดอกดาวเรืองเมื่อนำมาชงเป็นชายังมีน้อย งานวิจัยส่วนใหญ่ศึกษาสารออกฤทธิ์ที่มีมากในดาวเรือง เช่น lutein ซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ที่ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีสภาพขั้วต่ำ ได้แก่ เฮกเซน อะซิโตน หรือผสมกับเอทานอล (Siriamornpun *et al.*, 2012) แต่การใช้น้ำร้อนชงชาดอกดาวเรืองนั้นจะให้สารสำคัญที่สามารถละลายในน้ำร้อน เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์บางตัว เช่น quercetagenin ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสได้ดี (Gong *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2016)

งานวิจัยนี้ยังได้ศึกษาพืชสมุนไพรโบราณ ได้แก่ เนียมหอม ซึ่งให้กลิ่นหอมคล้ายใบเตย แต่มีความหอมแหลมและลึกกว่า เป็นไม้อวบน้ำ ต้นเดี่ยวและปลูกง่าย สมัยก่อนนิยมรับประทานคู่กับหมากหรือแช่เหล้าเพื่อให้มีกลิ่นหอมละมุน การศึกษาวิจัยทั้งในประเทศและต่างประเทศยังไม่มีผู้เคยศึกษาวิจัยเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

ก่อน ซึ่งงานวิจัยนี้พบว่าน้ำชาที่ได้จากการชงชาที่มีส่วนผสมของเนียมหอม (D-0 และ D-1) ให้ฤทธิ์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสที่สูง (78.29-79.76 % ดังตารางที่ 1 และรูปที่ 3) ซึ่งจัดเป็นสมุนไพรตัวหนึ่งที่น่าสนใจในการต่อยอดการวิจัยต่อเนื่องต่อไป ทั้งด้านสารออกฤทธิ์และความเป็นพิษต่อเซลล์เมื่อได้รับสารในปริมาณมาก

ผลการทดลองในรูปที่ 3 ยังแสดงให้เห็นว่าการเติมหญ้าหวานเพิ่มขึ้นในชาสมุนไพร (เช่น สูตร A-1 เปรียบเทียบกับสูตร A-0) มีผลให้ปริมาณฟีนอลิกรวมและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ระดับ 0.05) แต่หญ้าหวานที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสน้อยมาก ดังนั้นการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสจึงมาจากสารออกฤทธิ์สำคัญในใบหม่อน ซึ่งมีผู้รายงานก่อนหน้านี้ ได้แก่ chlorogenic acid และ DNJ ที่พบเป็นสารหลักที่มีในใบหม่อน (Hunyadi *et al.*, 2012; Wen *et al.*, 2019) ส่วนหญ้าหวานมีรายงานวิจัยก่อนหน้านี้สนับสนุนการต้านเบาหวาน โดยสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดนั้น เนื่องจากกระบวนการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อนของสารประกอบฟีนอลิกและ steviol glycoside ในหญ้าหวาน (Zaidan *et al.*, 2019)

4. สรุป

สูตรชาสมุนไพรให้กลิ่นหอมที่มีส่วนผสมของใบหม่อน พัฒนาขึ้นเพื่อให้มีรสชาติดี ดื่มง่าย มีกลิ่นหอม และยังเพิ่มสารออกฤทธิ์สำคัญ ซึ่งมีผลต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ การต้านอนุมูลอิสระและความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือดผ่านการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส

ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าน้ำชาที่ได้จากชาสมุนไพรที่มีการผสมหญ้าหวานทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นซึ่งส่งผลต่อฤทธิ์การต้าน

อนุมูลอิสระที่สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ น้ำชาที่ได้จากชาใบหม่อนผสมดอกเก๊กฮวยแสดงฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ทั้งการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส ส่วนน้ำชาที่ได้จากการผสมดอกดาวเรืองและเนียมหอมมีผลให้ฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดสสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

5. รายการอ้างอิง

- Banchobphutsa, Y., 2012, The efficacy of *Morus alba* leaf tea in patients with dyslipidemia, In Proceeding of the 6th Mae Fah Luang Annual Research Conference in Dermatology and Aesthetic Dermatology, Mae Fah Luang University, Chiang Rai.
- Booranasuksakul, U., Rueangsri, N., Prasertsri, P. and Singhato, A., 2019, Effects of mulberry (*Morus alba*) leaf tea on blood glucose and satiety in healthy subjects, *Srinagarind Med. J.* 34: 237-242.
- Ciulu, M., Quirantes-Piné, R., Spano, N., Sanna, G., Borrás-Linares, I. and Segura-Carretero, A., 2017, Evaluation of new extraction approaches to obtain phenolic compound-rich extracts from *Stevia rebaudiana* Bertoni leaves, *Ind. Crop Prod.* 108: 106-112.
- Deetae, P., Parichanon, P., Trakunleewatthana, P., Chanseetis, C. and Lertsiri, S., 2012, Antioxidant and anti-glycation properties of Thai herbal teas in comparison with conventional teas, *Food Chem.* 133: 953-959.
- Gong, Y., Liu, X., He, W.H., Xu, H.G., Yuan, F. and Gao, Y.X., 2012, Investigation into the anti oxidant activity and chemical composition of alcoholic extracts from defatted marigold (*Tagetes erecta* L.) residue, *Fitoterapia* 83: 481-489.
- Hamburger, M., Adler, S., Baumann, D., Forg, A. and Weinreich, B., 2003, Preparative purification of the major anti-inflammatory triterpenoid esters from Marigold (*Calendula officinalis*), *Fitoterapia* 74: 328-338.
- Hamer, M., 2007, The beneficial effects of tea on immune function and inflammation: A review of evidence from in vitro, animal, and human research, *Nutr. Res.* 27: 373-379.
- Huang, J., Xie, Z., Wang, Y., Zhang, J. and Wan, X., 2015, Recent advances of anti-hyperglycemia and anti-diabetes actions of tea in animal studies, *Curr. Opin. Food Sci.* 2: 78-83.
- Hunyadi, A., Martins, A., Hsieh, T.J., Seres, A. and Zupko, I., 2012, Chlorogenic acid and rutin play a major role in the *in vivo* anti-diabetic activity of *Morus alba* leaf extract on type II diabetic rats, *PLoS ONE* 7: 1-6.
- Jongroysub, B., Harnnurak, A., Rakpong, N., Phuwang, M., Teerakul, S. and Riebroy, S., 2016, Effect of Packaging and Storage Times on Antioxidant Activity and Blood Sugar Level Reduction Properties of Mulberry Leave Tea Herb, The Queen Sirikit Department of Sericulture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok.
- Kaisoon, O., Konczak, I. and Siriamornpun, S., 2012, Potential health enhancing properties of edible flowers from Thailand, *Food Res.*

- Int. 46: 563-571.
- Katsube, T., Tsurunaga, Y., Sugiyama, M., Furuno, T. and Yamasaki, Y., 2009, Effect of air-drying temperature on antioxidant capacity and stability of polyphenolic compounds in mulberry (*Morus alba* L.) leaves, Food Chem. 113: 964-969.
- Li, Y., Yang, P., Luo, Y., Gao, B., Sun, J., Lu, W., Liu, J., Chen, P., Zhang, Y. and Yu, L., 2019, Chemical compositions of chrysanthemum teas and their anti-inflammatory and antioxidant properties, Food Chem. 286: 8-16.
- Magalhães, L.M., Santos, F., Segundo, M.A., Reis, S. and Lima, J., 2010, Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity, Talanta 83: 441-447.
- Maity, N., Nema, N.K., Abedy, M.K., Sarkar, B.K. and Mukherjee, P.K., 2011, Exploring *Tagetes erecta* Linn. flower for the elastase, hyaluronidase and MMP-1 inhibitory activity, J. Ethnopharm. 137: 1300-1305.
- Martin, M.A., Goya, L. and Ramos, S., 2017, Protective effects of tea, red wine and cocoa in diabetes, Evidences from human studies, Food Chem. Toxicol. 109: 302-314.
- Navarra, M., Mannucci, C., Delbò, M. and Calapai, G., 2015, *Citrus bergamia* essential oil: From basic research to clinical application, Front. pharm. 6: 36-36.
- Park, E., Lee, S.M., Lee, J. and Kim, J.H., 2013, Anti-inflammatory activity of mulberry leaf extract through inhibition of NF-KB, J. Funct. Foods 5: 178-186.
- Peng, A., Lin, L., Zhao, M. and Sun, B., 2019, Classification of edible chrysanthemums based on phenolic profiles and mechanisms underlying the protective effects of characteristic phenolics on oxidatively damaged erythrocyte, Food Res. Int. 123: 64-74.
- Sánchez-Salcedo, E.M., Mena, P., García-Viguera, C., Hernández, F. and Martínez, J.J., 2015, (Poly)phenolic compounds and antioxidant activity of white (*Morus alba*) and black (*Morus nigra*) mulberry leaves: Their potential for new products rich in phytochemicals, J. Funct. Foods 18: 1039-1046.
- Sato, Y., Itagaki, S., Kurokawa, T., Ogura, J., Kobayashi, M., Hirano, T., Sugawara, M. and Iseki, K., 2011, *In vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid, Int. J. Pharm. 403: 136-138.
- Siriamornpun, S., Kaisoon, O. and Meeso, N., 2012, Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, β -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes, J. Funct. Foods 4: 757-766.
- Sribuarod, K., 2009, Research and Development on Food and Beverage Production from Mulberry Project, The Queen Sirikit Department of Sericulture, Bangkok.
- Tian, S., Tang, M. and Zhao, B., 2016, Current anti-diabetes mechanisms and clinical trials

- using *Morus alba* L., J. Tradit. Chin. Med. Sci. 3: 3-8.
- Wang, W., Xu, H., Chen, H., Tai, K., Liu, F. and Gao, Y., 2016, *In vitro* antioxidant, anti-diabetic and antilipemic potentials of quercetagenin extracted from marigold (*Tagetes erecta* L.) inflorescence residues, J. Food Sci. Technol. 53: 2614-2624.
- Wen, P., Hu, T.G., Linhardt, R.J., Liao, S.T., Wu, H. and Zou, Y.X., 2019, Mulberry: A review of bioactive compounds and advanced processing technology, Trends Food Sci. Technol. 83: 138-158.
- Wijewardana, R.M.N.A., Nawarathne, S.B., Wickramasinghe, I., Gunawardane, C.R., Wasala, W.M.C.B. and Thilakarathne, B.M.K.S., 2016, Retention of physico chemical and antioxidant properties of dehydrated Bael (*Aegle Marmelos*) and Palmyra (*Borassus Flabellifer*) fruit powders, Procedia Food Sci. 6: 170-175.
- Yuan, J., Hao, L.J., Wu, G., Wang, S., Duan, J., Xie, G.Y. and Qin, M.J., 2015, Effects of drying methods on the phytochemicals contents and antioxidant properties of chrysanthemum flower heads harvested at two developmental stages, J. Funct. Foods 19: 786-795.
- Zaidan, U.H., Zen, N.I.M., Amran, N.A., Shamsi, S. and Gani, S.S.A., 2019, Biochemical evaluation of phenolic compounds and steviol glycoside from *Stevia rebaudiana* extracts associated with in vitro antidiabetic potential, Biocat. Agric. Biotechnol. 18: 101049.