

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร จากสารสกัดผลกล้วยน้ำว้าดิบ

จันทร์เพ็ญ ธรรมพร^{*†}, ดาวิณี ชินวงศ์^{*}, พรธณิภา แจ็กแดงพะเนาวิ^{*}, ศิรินทิพย์ พรหมเสนา[†]

^{*}สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ตำบลนอกเมือง อำเภอเมืองสุรินทร์ จังหวัดสุรินทร์ 32000

[†]สาขาวิชาการแพทย์แผนไทย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ตำบลหมากแข้ง อำเภอเมืองอุดรธานี จังหวัดอุดรธานี 41000

[‡]ผู้รับผิดชอบบทความ: Tookta.ttmed@gmail.com

บทคัดย่อ

บทนำและวัตถุประสงค์: กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) เป็นพืชล้มลุกในวงศ์ MUSACEAE ซึ่งพบว่าผลดิบ มีรสฝาด มีสรรพคุณรักษาโรคกระเพาะอาหารอักเสบ แผลในกระเพาะอาหาร และแก้อาการท้องเสียไม่รุนแรง ผลสุก มีรสหวาน มีสรรพคุณเป็นยาระบายอ่อน ๆ แก้ท้องอืด ปวดท้องโรคลดไข้ นอกจากนั้นพบว่า สารสกัดเอทานอลจากผลและเปลือกผลสุกมีฤทธิ์รักษาอาการอุจจาระร่วง และสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียบางชนิดได้ เช่น *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens* สารสกัดจากลำต้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ และแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะกรด ดังนั้นเพื่อเป็นการส่งเสริมให้มีการใช้สมุนไพรรักษาโรคอุจจาระร่วง จึงทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิดที่ก่อโรคอุจจาระร่วงจากสารสกัดผลกล้วยน้ำว้าดิบ

วิธีการศึกษา: การศึกษาในครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) โดยนำกล้วยน้ำว้าดิบมาสกัดด้วยวิธีหมักกับเอทานอล 95% จากนั้นนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay และการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม รวมทั้งการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียบางชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* ด้วยวิธี disc diffusion

ผลการศึกษา: พบว่า สารสกัด 95% เอทานอลของผลกล้วยน้ำว้าดิบ มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดี เมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH assay, ABTS assay และ FRAP assay พบมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.612 ± 0.008 , 0.023 ± 0.000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 39.892 ± 11.659 มิลลิโมลาร์เฟอริกซัลเฟตต่อมิลลิกรัมของสาร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 65.312 ± 10.232 มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อน้ำหนักของสารสกัด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม เท่ากับ 16.194 ± 2.029 มิลลิกรัมสมมูลของเคทาซินต่อน้ำหนักสารสกัด และฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งสารสกัด 95% เอทานอลของผลกล้วยน้ำว้าดิบสามารถยับยั้งและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) เท่ากับ 6.25 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (MBC) เท่ากับ 12.5 ± 0.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

อภิปรายผล: สารสกัดกล้วยน้ำว้าดิบ 95 % เอทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารบางสายพันธุ์ได้ โดยผลการศึกษาในครั้งนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการนำมาใช้ในการทดแทนยาแผนปัจจุบันที่ราคาสูงและนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต

ข้อสรุป: ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากผลกล้วยน้ำว้าดิบมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *S. typhimurium*, *E. coli* and *S. aureus*. ได้ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติที่มีศักยภาพในการทดแทนยาแผนปัจจุบัน และอาจนำไปสู่การพัฒนา ยารักษาโรคในอนาคต

คำสำคัญ: กล้วยน้ำว้า, ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, โรคในระบบทางเดินอาหาร

Antioxidant and Antipathogenic Bacterial Activities in the Gastrointestinal Tract of Raw *Musa Sapientum* L. Crude Extracts

Chanphen Thammaporn^{*‡}, Dawinee Chinnawong^{*}, Phannipha Chekdaengphanao^{*}, Sirintip Promsensa[†]

^{*}Program in Thai Traditional Medicine, Faculty of Science and Technology, Surin Rajabhat University, Nok Mueang Subdistrict, Mueang District, Surin, Thailand, 32000

[†]Department of Thai Traditional Medicine, Faculty of Science, Udon Thani Rajabhat University, Mak Khaeng Subdistrict, Mueang District, Udon Thani, Thailand, 41000

[‡]Corresponding Author: tookta.ttmed@gmail.com

Abstract

Introduction and Objectives: *Kluai namwa* (*Musa sapientum* L.), is an annual plant in the MUSACEAE family. It has been found that raw fruits have an astringent taste and have properties in curing gastritis, stomach ulcer and relieves mild diarrhea. Ripe fruit has a sweet taste and has properties as a mild laxative, relieves bloating, and prevents anemia. In addition, it was found that extracts from the fruit and the peel of the ripe fruit are effective in treating diarrhea, and can inhibit the growth of some bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, and *Serratia marcescens*; and stem extracts can inhibit the growth of gram-positive and gram-negative bacteria and other bacteria that grow well in acidic conditions. Therefore, to support the treatment results, a laboratory study was conducted to test the antioxidant activity and the activity against certain bacteria that cause diarrhea.

Method: In this experimental research, raw bananas were extracted by maceration with 95% ethanol; and the extract was tested for antioxidant activity using DPPH assay, ABTS assay, FRAP assay, total phenolic compound and total flavonoid content. In addition, antibacterial activity was tested against three bacterial species such as *S. typhimurium*, *E. coli* and *S. aureus* using disc diffusion.

Results: It was found that raw banana extract has good antioxidant activity. When tested using the DPPH assay, ABTS, and FRAP methods, the IC₅₀ values were found to be 0.612 ± 0.008 mg/mL, and 0.023 ± 0.000 mg/mL, and 39.892 ± 11.659 mM Fe₂SO₂/mg, respectively. In addition, raw banana extract (95% ethanol) was found to have a higher amount of total phenolic compounds at 65.312 ± 10.232 mg of gallic acid/mg of extract and total flavonoid content at 16.194 ± 2.029 mg of catechin/mg of extract and has antibacterial activity against three strains of bacteria, including *S. typhimurium*, *E. coli* and *S. aureus*. The 95% ethanol extract of raw banana can inhibit

E. coli and *S. aureus* the best, which has a minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values of 6.25 ± 0.00 and 12.5 ± 0.00 mg/mL, respectively.

Discussion: Kluai namwa extract (95% ethanol) has antioxidant and effectively inhibit the growth pathogenic bacteria in the digestive system. So the results can be used as a guideline for developing and increasing the value of natural products to replace high-priced modern medicines and to develop them into medicines in the future.

Conclusion: The results suggest that the extract from kluai namwa has antioxidant properties and can inhibit the growth of *S. typhimurium*, *E. coli*, and *S. aureus*. This indicates its potential for developing natural products that could serve as alternatives to conventional medicines and may lead to the development of disease treatments in the future.

Key words: *kluai namwa*, antioxidant, antibacterial, gastrointestinal tract disease

บทนำและวัตถุประสงค์

กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) เป็นพืชไม้ล้มลุกที่มีลำต้นสั้น จัดอยู่ในวงศ์ MUSACEAE มีการปลูกและพบการใช้ประโยชน์ในทุกพื้นที่ของประเทศไทย ทุกส่วนของพืชนี้มีการนำมาใช้ประโยชน์ได้ ทางการแพทย์แผนไทยระบุสรรพคุณไว้ดังนี้ รากช่วยแก้อาการชั้ดเบา, ต้น ช่วยในการห้ามเลือด แก้โรคไส้เลื่อน, ใบ ใช้รักษาแผลสุนัขกัดและช่วยการห้ามเลือด, ยางจากใบ ช่วยในการห้ามเลือดและช่วยสมานแผล, ผล รักษาโรคกระเพาะ แก้อาการท้องเสีย เป็นยาอายุวัฒนะ แก้โรคบิด รักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก แก่ริดสีดวง, ผลกล้วยน้ำว้าดิบ มีรสฝาด ใช้ในการรักษาอาการท้องเดิน แก้โรคกระเพาะอาหาร และอาหารไม่ย่อย, กล้วยน้ำว้าสุกงอม ใช้เป็นยาระบายสำหรับผู้ที่อุจจาระแข็ง หรือเป็นริดสีดวงทวารชั้นแรก จนกระทั่งถ่ายเป็นเลือด ส่วนหัวปลีคือช่อดอกของต้นกล้วย มีสรรพคุณในการช่วยกระตุ้นน้ำนม^[1] นอกจากนี้มีการทดสอบว่าผลของกล้วยน้ำว้ามีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหารของหนูขาวที่ถูกกระตุ้นด้วยแอสไพริน โดยให้รับประทานกล้วย

5 กรัม ส่งผลให้กระตุ้นการหลั่งเยื่อเมือกเพื่อเคลือบกระเพาะอาหาร^[2]

โรคอุจจาระร่วง (diarrhea) หมายถึง ภาวะที่มีการถ่ายอุจจาระเหลว จำนวน 3 ครั้งต่อวันหรือมากกว่า หรือถ่ายเป็นน้ำมากกว่า 1 ครั้ง ใน 1 วัน หรือถ่ายเป็นมูกหรือปนเลือดอย่างน้อย 1 ครั้ง ใน 1 วัน^[3] ซึ่งสาเหตุอาจเกิดจากการรับประทานอาหารและดื่มน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อโรค หรือจากมือที่ไม่สะอาดที่มีการปนเปื้อนของเชื้อโรคจึงส่งผลให้มีการติดเชื้อจากมือสู่ปากโดยตรง อาการท้องเสียจากการติดเชื้อมักเป็นท้องเสียเฉียบพลัน โดยเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาการท้องเสีย ได้แก่ *Escherichia coli* ซึ่งพบบ่อยที่สุดในระบบทางเดินอาหาร^[4-5] เป็นแบคทีเรียที่อาศัยในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ เชลล์ติดสีแกรมลบ มีลักษณะเป็นท่อนสั้น อาศัยากอาหารในลำไส้ สำหรับการเจริญ บางสายพันธุ์สามารถก่อโรคติดเชื้อทางเดินอาหาร (*E. coli* group: EEC group) ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญด้านสาธารณสุข หากรับประทานอาหารที่มีเชื้อชนิดนี้เข้าไปจะทำให้เกิดโรคท้องร่วงรุนแรง เมื่อเชื้อนี้เข้าไปเจริญในลำไส้เล็ก และผลิตสารพิษ

เวโรทอกซิน (verotoxin) ซึ่งมีฤทธิ์ทำให้เลือดออกในลำไส้ ก่อให้เกิดอาการท้องร่วงมีมูกเลือดและไตวายได้^[6] *Staphylococcus aureus* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ลักษณะเป็นเซลล์ติดสีแกรมบวก รูปร่างกลมอยู่รวมกันคล้ายรวงงุ่น เป็นเชื้อประจำถิ่นที่อยู่บนผิวหนังและบริเวณทางเดินหายใจส่วนบนของมนุษย์ หากแบคทีเรียนี้เจริญในอาหารจะสร้างสารพิษเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหารและก่ออาการของโรคได้ โดยเชื้อมีระยะฟักตัวเฉลี่ย 2-4 ชั่วโมง ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อกระเพาะอาหารและลำไส้ จนกระทั่งเกิดอาการอักเสบ (gastroenteritis)^[7] และ *Salmonella typhimurium* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหารอีกชนิดหนึ่ง โดยอาการของโรคเกิดขึ้นเมื่อเชื้อเจริญในเยื่อลำไส้ แบคทีเรียนี้มีลักษณะเซลล์เป็นท่อนสั้น ติดสีแกรมลบ โดยทั่วไปมักก่อโรคแก๊สโตรเอนเทอริติส (gastroenteritis) คือการอักเสบของผนังเยื่อเมือกของกระเพาะและลำไส้เล็ก^[8] นอกจากนี้ยังมีเชื้อไทฟอยด์ (*Salmonella*) เชื้อบิดชนิด *Shigella* อหิวาตกโรคจากเชื้อ *Vibrio cholera* เป็นต้น

ในปัจจุบันจึงมีการศึกษาสมุนไพรในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ แก่นคูณ ขิง ใบผกากรอง ใบฟ้าทะลายโจร ใบฝรั่ง และใบหม่อน มีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli*^[9] สารสกัดจากกระเทียมมีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อ *Salmonella* spp.^[10] สารสกัดจากลูกเบญจกานีมีประสิทธิผลในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. typhimurium*^[11] จากข้อมูลข้างต้นจึงทำให้การศึกษาสนใจที่จะนำสมุนไพรกล้วยที่มีสรรพคุณในการรักษาโรคในระบบทางเดินอาหาร

การศึกษาค้นคว้ามีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารของสารสกัดกล้วยน้ำว้า เพื่อเป็นข้อมูลในการสนับสนุนการใช้กล้วยน้ำว้ารักษาโรคในระบบทางเดินอาหารต่อไป

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบ
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอุจจาระร่วงของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบ

ระเบียบวิธีศึกษา

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental research) ซึ่งศึกษาสารสกัดผลกล้วยน้ำว้าดิบที่สกัดด้วยเอทานอล 95% โดยนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP radical scavenging activities และนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม แล้วนำสารสกัดกล้วยน้ำว้าดังกล่าวไปทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* จากนั้นนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลการศึกษา

1. วิธีการศึกษา

1.1 ขั้นตอนการเตรียมสารสกัดกล้วยน้ำว้า

กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) วงศ์ MUSACEAE ซึ่งเก็บได้จากพื้นที่บ้านดม ตำบลดม อำเภอสังขะ จังหวัดสุรินทร์ โดยเก็บในช่วงเดือนมกราคม พ.ศ. 2566 และเก็บตัวอย่างพรรณไม้ไว้ในห้องเก็บตัวอย่างพืช สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ โดยนำ

ผลดิบนำมาล้างให้สะอาดและปอกเปลือกออก นำเอาเนื้อกล้วยมาหั่นเป็นแว่น จากนั้นนำมาอบที่อุณหภูมิ 50 °C นาน 7 ชั่วโมง^[12] เมื่อเนื้อกล้วยแห้งสนิทนำมาบดเป็นผงแล้วหมักแช่ (maceration) ด้วยเอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 °C และนำสารสกัดตัวอย่างเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C จากนั้นซึ่งเก็บสารสกัดที่ได้เพื่อนำมาใช้ในขั้นตอนต่อไปและคำนวณหาปริมาณของสารสกัด (%yield)

1.2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ประกอบด้วย

1.2.1 การทดสอบโดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical sca-

$$\% \text{ inhibition} = \{ (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}} \} \times 100$$

โดย A control คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารตัวอย่าง

A sample คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

1.2.2 การทดสอบโดยวิธี ABTS free radical-scavenging activity

การทดสอบโดยวิธี ABTS free radical-scavenging activity ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Wetchakul, P. *et al* (2022)^[13] โดยการเตรียมสาร ABTS ละลายในน้ำ Milli-Q (2 มิลลิโมลาร์) และผสมสาร potassium persulfate (2.45 มิลลิโมลาร์) โดยผสมในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงให้อยู่ในช่วง 0.70 ± 0.05 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จากนั้นผสมสารสกัดตัวอย่างปริมาตร 10 ไมโครลิตรที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (ระหว่าง 0.001-2.500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และ

venging assay

การทดสอบโดยวิธี 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging assay ดัดแปลงจากวิธีของ Wetchakul, P. *et al* (2022)^[13] โดยเตรียมสารสกัดความเข้มข้น 0.078-2.500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขั้นตอนการทดสอบใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ในตัวทำละลายเอทานอล (0.08 มิลลิโมลาร์) ปริมาตร 180 ไมโครลิตร ลงใน 96- well plate เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ในที่มีมืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ซึ่งใช้สารมาตรฐาน คือ Trolox แล้วนำมาคำนวณร้อยละการยับยั้ง จากสมการ

สารละลาย ABTS ที่เจือจาง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงใน 96-well plate บ่มทิ้งไว้ 6 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายมาตรฐานคือ Trolox ในการเป็นตัวควบคุมเชิงบวก (positive control) แล้วนำมาคำนวณร้อยละการยับยั้ง (% inhibition) และคำนวณค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± S.D.)

1.2.3 การทดสอบโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ดัดแปลงจากวิธีของ Wetchakul, P. *et al* (2022)^[13] โดยเตรียมสารละลาย FRAP จาก acetate buffer (300 มิลลิโมลาร์) 10 มิลลิลิตร, สารละลาย TPTZ (10 มิลลิโมลาร์) 1 มิลลิลิตร และสารละลาย ferric chloride (20 มิลลิโมลาร์) 10 มิลลิลิตร ในการทดสอบเตรียมสารสกัดโดยเจือจางด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 0.625-1.35 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นเติมลงใน 96-well microtiter plate และป่มไว้ที่มีดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร โดยสีของสารทดสอบมีสีน้ำเงินเข้มซึ่งเกิดจากการรีดิวซ์ของสาร TPTZ เป็น ferrous-TPTZ เมื่อมีอิเล็กตรอนที่ให้อาตร้านอนุมูลอิสระที่มีค่า pH ต่ำ และความสามารถในการรีดิวซ์ซึ่งแสดงผลเป็น mM Fe₂SO₄/mg sample ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± S.D.)

1.3 ขั้นตอนการตรวจปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การหาปริมาณสารฟีนอลิกรวม (total phenolic content) โดยใช้เทคนิค folin-ciocalteu reagent ดัดแปลงจากวิธีของ Wetchakul, P. *et al* (2022)^[13] โดยใช้สาร gallic acid เป็นสารละลายมาตรฐาน ซึ่งปริมาณสารสกัดที่ใช้ 120 ไมโครลิตร (2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เติม folin-ciocalteu reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้ตั้งพักไว้เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย sodium carbonate (20% w/v) 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งพักไว้ในที่มีดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบค่าที่วัดได้กับกราฟมาตรฐานซึ่งเตรียมจากสารละลาย gallic acid ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกที่เทียบเท่าต่อมิลลิกรัมของสารสกัด (mg of gallic acid/mg of

extract) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± S.D.)

1.4 ขั้นตอนการตรวจปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม (total flavonoid content) ดัดแปลงจากวิธีของ Wetchakul, P. *et al* (2022)^[13] โดยใช้สาร catechin เป็นสารละลายมาตรฐาน ซึ่งปริมาณสารสกัดที่ใช้ 50 ไมโครลิตร (2.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) เติม sodium nitrite (5% w/v) 300 ไมโครลิตร, aluminum trichloride (10% w/v) 300 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 4 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน นำไปป่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที จากนั้นหยุดปฏิกิริยาด้วยการเติม sodium hydroxide (1M) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ตั้งพักทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร ซึ่งหาปริมาณของสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานคาเทชิน (catechin) ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของคาเทชินต่อน้ำหนักสารสกัด (mg of catechin/mg of extract) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย (Mean ± S.D.)

1.5 ขั้นตอนการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย

การเตรียมเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* NCTC 12923, *Staphylococcus aureus* 2329 และ *Salmonella typhimurium* NCTC12023 เเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหาร Mueller-Hinton broth (MHB) ป่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้ในการทดลอง

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อเบื้องต้นของสารสกัดกล้วนน้ำว่าด้วยวิธี disc diffusion assay ซึ่งดัดแปลงจาก CLSI (2009)^[14] โดยเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* และนำเชื้อ

แบคทีเรียใส่ลงในอาหาร Mueller-Hinton broth (MHB) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 3-5 ชั่วโมง จากนั้นปรับความขุ่นด้วย sterile sodium chloride 0.85% ให้ได้ความขุ่นเท่ากับสารละลาย McFarland No. 0.5 ใช้ไม้พันสำลีปราศจากเชื้อ จุ่มแล้วป้ายลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ทั่ว จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้แห้งเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงนำมาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยการนำสารสกัดที่ต้องการทดสอบมาละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วหยดลงบนแผ่น paper disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5 นาที จากนั้นวางบนจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ในตำแหน่งที่กำหนดไว้ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง) โดยใช้ Norfloxacin 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น positive control ส่วน negative control ใช้เป็นน้ำกลั่น เมื่อครบกำหนดเวลาจึงวัดขนาดของโซนนิ่ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นโดยการบันทึกหน่วยเป็นมิลลิเมตร

1.6 ขั้นตอนการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (minimal inhibitory concentration, MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ (minimal bactericidal concentration, MBC)

นำสารสกัดกล้วยน้ำว้าดิบที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้จากวิธี disc diffusion method มาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ และค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ โดยการนำเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus*, *S. typhimurium* มาปรับค่าความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 McFarland จากนั้น เตรียมสารสกัดให้มีความเข้มข้นในช่วง 2.5-250 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เติมสารสกัดแต่ละความเข้มข้นไว้ในหลอดทดลองปริมาตร

100 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำเชื้อที่เตรียมไว้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัด เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำการอ่านผล โดยค่า MIC สังเกตได้จากหลอดทดลองสุดท้ายที่ไม่มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียหรืออาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ขุ่น จากนั้นนำหลอดทดลองที่เหลือไปหาค่า MBC โดยนำหลอดทดลองในแต่ละความเข้มข้นหยดลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยค่า MBC สังเกตได้จากไม่พบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

ผลการศึกษา

1. ผลการสกัดกล้วยน้ำว้า

จากการนำผงผลกล้วยน้ำว้าดิบมาทำการสกัดด้วยการหมักแช่เอทานอล 95% ในอัตราส่วน 1:10 เป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 นำไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20°C และพบลักษณะทางกายภาพของสารสกัดที่มีลักษณะเหนียว มีสีเหลืองแกมน้ำตาล และมีปริมาณร้อยละผลผลิตของสารสกัด เท่ากับ 17.21

2. ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบทั้งหมด 3 วิธี เมื่อทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า สารสกัดจากกล้วย

น้ำว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.612 ± 0.008 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.031 ± 0.003 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS แสดงค่าเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox พบว่า สารสกัดกล้วยน้ำว้ามีค่า

IC_{50} เท่ากับ 0.023 ± 0.000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และสามารถฐาน Trolox มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.027 ± 0.001 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทั้งนี้จากการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในสารสกัดกล้วยน้ำว้า พบว่ามีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ 39.892 ± 11.659 mM Fe_2SO_4 /mg Sample (Table 1)

Table 1 Antioxidant activity, total phenolic content and total flavonoids content of *Musa sapientum* L. extract

Sample	Antioxidant activity			Total phenolic content (mg of gallic acid/mg of extract)	Total flavonoids content (mg of catechin/mg of extract)
	DPPH assay (IC_{50}) (mg/mL)	ABTS assay (IC_{50}) (mg/mL)	FRAP assay (mM Fe_2SO_4 /mg Sample)		
<i>Musa sapientum</i> L. extract	0.612 ± 0.008	0.023 ± 0.000	39.892 ± 11.659	65.312 ± 10.232	16.194 ± 2.029
Standard Trolox IC_{50} values 0.031 ± 0.003 mg/mL of DPPH assay					
Standard Trolox IC_{50} values 0.027 ± 0.001 mg/mL of ABTS assay					

3. ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมในสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบ

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในสารสกัดจากผลกล้วยน้ำว้า พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม คือ 65.312 ± 10.232 mg of gallic acid/mg of extract และผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม คือ 16.194 ± 2.029 mg of catechin/mg of extract (Table 1)

4. ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบ ด้วยวิธี disc diffusion

เมื่อนำสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วย

น้ำว้าดิบความเข้มข้น 100 mg/ml มาศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* พบว่าสารสกัดกล้วยน้ำว้าสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดได้ โดยมีการยับยั้งเท่ากับ 10.60 ± 0.25 , 13.40 ± 0.41 และ 13.00 ± 0.78 mm. ตามลำดับ และ Norfloxacin มีค่าการยับยั้งเท่ากับ 30.33 ± 0.57 , 24.67 ± 0.57 และ 33.33 ± 0.57 mm ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกล้วยน้ำว้าสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* และเชื้อ *S. aureus* ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ได้ต่ำที่สุด (Table 2)

Table 2 Antibacterial activity of *Musa sapientum* L. extract and Standard

Sample	<i>S. typhimurium</i> (mm.)	<i>E. coli</i> (mm.)	<i>S. aureus</i> (mm.)
<i>Musa sapientum</i> L. extract	10.60 ± 0.25b	13.40 ± 0.41a	13.00 ± 0.78a
Standard	30.33 ± 0.57b	24.67 ± 0.57c	33.33 ± 0.57a

^{a,b,c} different letters indicate statistically significant differences ($p < 0.05$)

6. ผลของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบต่อการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MIC, MBC)

จากการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี

broth microdilution ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า สารสกัดกล้วยน้ำว้ามีค่า MIC เท่ากับ 12.5 ± 0.00 , 6.25 ± 0.00 และ 6.25 ± 0.00 mg/ml ตามลำดับ (Table 3)

Table 3 The minimum inhibitory concentration (MIC) and the minimum bactericidal concentration (MBC) of *Musa sapientum* L. extract

Sample	<i>S. typhimurium</i> (mg/ml)		<i>E. coli</i> (mg/ml)		<i>S. aureus</i> (mg/ml)	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>Musa sapientum</i> L. extract	12.5 ± 00	25 ± 00	6.25 ± 00	12.5 ± 00	6.25 ± 00	12.5 ± 00

จากการทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี broth microdilution ของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า สารสกัดกล้วยน้ำว้ามีค่า MBC เท่ากับ 25 ± 0.00 , 12.5 ± 0.00 และ 12.5 ± 0.00 mg/ml ตามลำดับ (Table 3) แสดงให้เห็นว่าสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน และ *S. typhimurium* สามารถยับยั้งและสามารถฆ่าเชื้อได้ต่ำที่สุด

อภิปรายผล

จากการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบด้วยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารสกัดกล้วยน้ำว้าในวิธี ABTS มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระชนิดเปอร์ออกซีได้ดีกว่าวิธี DPPH ที่เป็นการให้ไฮโดรเจนอะตอมในการกำจัดอนุมูลอิสระ และวิธี FRAP ที่เป็นการทดสอบที่สารตัวอย่างสามารถให้อิเล็กตรอนได้ดีเพื่อเปลี่ยนรูปให้อยู่ในสถานะที่เสถียรสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของชวัลรัตน์ โถงโฉม และคณะ (2016) ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากกล้วย 5 สายพันธุ์ในระยะสุกและดิบ ได้แก่ กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ กล้วยหอม กล้วยหอม และกล้วยหักมุก พบว่า กล้วยน้ำว้าดิบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดและ กล้วยหอมดิบ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด^[15] ในการศึกษาฤทธิ์การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบ ด้วยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดกล้วยน้ำว้า สามารถยับยั้งเชื้อทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *S. typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* ได้ โดยสามารถยับยั้งเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด และทำการทดสอบค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง และสามารถหาค่าเชื้อแบคทีเรีย (MIC, MBC) พบว่า สารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบสามารถยับยั้ง และสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และ *S. aureus* ได้ดีที่สุด เมื่อเทียบกับแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด โดยมีค่า MIC, MBC เท่ากับ 6.25 ± 0.00 , 12.5 ± 0.00 mg/ml ตามลำดับ ในกล้วยน้ำว้ามีสารสำคัญกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์^[16] ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้ มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารได้^[16] และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carolina Cueva และคณะ ศึกษาสารฟีนอลิกในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* พบว่า สารฟีนอลิกสามารถยับยั้งเชื้อทั้งสองได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาของ David Buchmann และคณะ ศึกษาสารประกอบฟีนอลิกในการยับยั้งไบโอฟิล์มของเชื้อ *E. coli* พบว่าสารฟีนอลิกสามารถลดการสร้างไบโอฟิล์มได้^[17-18]

ข้อสรุป

สารสกัด 95% ethanol ของผลกล้วยน้ำว้าดิบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ

ของแบคทีเรียบางชนิดได้ โดยสามารถใช้ข้อมูลนี้เป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ธรรมชาติในการนำมาใช้ในทดแทนยาแผนปัจจุบันที่ราคาสูงและนำมาพัฒนาเป็นยารักษาโรคต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ และกระทรวงอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ที่สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัยด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ 2566 รวมทั้งคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี ที่อำนวยความสะดวกและเอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการในครั้งนี้

References

1. Department of Medical Arts Public Health Office. General traditional medicine Thai Pharmacy major. [Internet]. 1999 [cited 2024 Jul 25]; 1(1): Available from: <https://www.slideshare.net/slideshow/ss-39035258/39035258>. (in Thai).
2. Faculty of Pharmacy Ubon Ratchathani University. Database of Northeastern Thai medicine [Internet]. 2011 [cited 2023 Dec 1]; 1(1): [20 screens]. Available from: <http://www.thaicrudedrug.com>. (in Thai).
3. Chaengdee P. Geographic information system application in surveillance of acute diarrhea in Bangkok Metropolis. Master of Science (Environmental Management). National Institute of Development Administration; 2010. (in Thai).
4. Chey WD, Wong BC. American College of gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. The American journal of gastroenterology. 2007;102(8):1808-25.
5. Mccoll KE. Clinical practice. *Helicobacter pylori* infection. The New England journal of medicine. 2010;362(17):1597-604.
6. Argudin MA, Mendoza MC, Rodicio MR. Food poison-

- ning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*. 2010;2:1751-73.
7. Brzuszkiewicz E, Thurmer A, Schuldes J, Leimbach A, Liesegang H, Meyer FD, Boelter J, Petersen H, Gottschalk G, Daniel R. Genome sequence analyses of two isolates from the recent *Escherichia coli* outbreak in Germany reveal the emergence of a new pathotype: Enter-Aggregative-Haemorrhagic *Escherichia coli* (EAHEC). *Archives of Microbiology*. 2011;93(12):883-91.
 8. Boyle EC, Bishop JL, Grassl GA, Finlay BB. *Salmonella*: from pathogenesis to therapeutics. *Journal of Bacteriology*. 2007;189(5):1489-95.
 9. Chanchay N, Jantanan R. Efficiency of Thai herbs extract against diarrhea pathogen of young pig (*Sus scrofa*). *Phranakhon Rajabhat Research Journal (Science and Technology)*. 2016;11(1):13-26. (in Thai).
 10. Mungmai S, Muangkote S. Influence of garlic and shallot extracts on inhibition of *Salmonella* sp. as contaminated in egg. *RAJABHAT AGRIC*. 2021;20(1):33-41.
 11. Tangmunkhong, P, Viriyarampa S, Chumsing S, Laopiem S. Efficacy of Thai medicinal plants on growth inhibition of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhimurium*. Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine. Nakornpathom: Kaset-sart University; 2019. (in Thai).
 12. Pengpoo A, Jamjang K. The production of banana flour with antioxidant from 4 types of bananas. [internet]. 2016 [cited 2023 Nov 1]; Available from: <https://research.kpru.ac.th/sac/fileconference/22872018-04-30.pdf>. (in Thai).
 13. Wetchakul P, Chonsut P, Punsawad C, Sanpinit S. LC-OTOF-MS characterization, antioxidant activity and *in vitro* toxicity of medicinal plants from the Tri-Than-Thip remedy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022;1-10
 14. Clinical and Laboratory Standards Institute [CLSI]. *Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically*. 2nd ed. USA: Wayne; 2018. 91p.
 15. Thongchom C, Chakpa C, Songsang S, Phomyai P. Antioxidant activity and total phenolic compounds of bananas 5 species. *Science Conference 2016; 2016 August 17-19; Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University*. (in Thai)
 16. Buchmann D, Schwabe M, Weiss R, Kuss Aw, Schaufler K, Schluter R, Rodiger S, Guenther S, Schultze N. Natural phenolic compounds as biofilm inhibitors of multidrug-resistant *Escherichia coli* the role of similar biological processes despite structural diversity. *Frontiers in Microbiology*. 2023;1-18
 17. Phuphanee P, Thongekkaew J. Antibacterial activity of *Banana blossom* extract against pathogenic bacteria. *Research and Innovation for Sustainable Development Goals in the Next Normal*. 2022;125-35.
 18. Cueva C, Arribas MVM, Alvarez PJM, Bills G, Vicente MF, Basilio A, Rivas CL, Requena T, Rodriguez JM, Bartolome B. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in Microbiology*. 2010;22(1):372-82.