ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแล

Anti-Bacterial Activity Against Pathogenic Bacteria from *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner Stem Crude Extract

อ้อมหทัย ดีแท้[1*] และ ชลพรรษ ปวงอินไหล[2]

Aomhatai Deethae[1*] and Chonlaphat Pounginlai[2]

[1] อาจารย์, สาขาวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

[1] Lecturer, Department of Biology, Faculty of Science and technology, Chiang Mai Rajabhat University.

[2] นักศึกษาระดับปริญญาตรี, สาขาวิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่

[2] Student, Department of Biology, Faculty of Science and technology, Chiang Mai Rajabhat University.

[*]**Corresponding author, E-mail:** Aomhatai_dee@cmru.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดจากสารสกัดของลำต้นสะแล *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner โดยนำมาสกัดด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล (95%) ด้วยวิธีการสกัดแบบแช่หมัก (Maceration) และกลั่นตัวทำละลายออกด้วยเทคนิค Evaporation นำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 4 ชนิด ได้แก่ *Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli* และ *Serratia marcescens* ด้วยวิธี agar disc diffusion ทดสอบสารสกัดความเข้มข้น 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบพบว่า สารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* ได้ดีที่สุด โดยให้ผลค่าวงใสการยับยั้ง 8.33±0.57 - 10.00±1.00 มิลลิเมตร ส่วนสารสกัดน้ำจากลำต้นสะแลไม่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างได้ ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (ค่า MIC) ทดสอบด้วยวิธี broth dilution พบว่าสารสกัดเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* ให้ผลค่า MIC 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัด (MBC) เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นสารสกัดจากลำต้นสะแลมีฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Enterococcus faecalis* ได้ ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ จึงสามารถนำผลวิจัยนี้ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินปัสสาวะได้ เพื่อลดการใช้สารเคมีและเพิ่มมูลค่าสมุนไพรพื้นบ้านได้ต่อไป

คำสำคัญ: ฤทธิ์ทางชีวภาพ, การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย, ต้นสะแล

Abstract

The research aimed to study the anti-bacterial activities against some infectious bacteria from the stem crude extracts of *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner. These herbs

were extracted using distilled water and 95% ethyl alcohol, by maceration technique. The solvent was then removed using evaporation technology. All of crude extracts were investigated for their inhibitory effects against 4 types of bacteria as *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli* and *Serratia marcescens* by using agar disc diffusion method at five concentrations of 500, 250, 125, 62.5, and 31.25 mg/ml. The results showed that the ethanolic extract of *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner stem had the highest inhibitory effect on *Enterococcus faecalis*, with inhibitory clear zone values of 8.33±0.57 - 10.00±1.00 mm. However, the aqueous extract from *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner. stem did not show any inhibitory effect on the sampled bacteria. The MIC value was performed by broth dilution method, revealed 500 mg/ml to inhibit *Enterococcus faecalis*, and MBC value was 500 mg/ml. Therefore, the stem crude extract of *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner. exhibits high effective inhibiting *Enterococcus faecalis*, a major cause of urinary tract infections. This research can be used as preliminary data for application as an ingredient in products that inhibit urinary tract pathogens, thereby reducing the use of chemicals and increasing the value of local herbs.

Keywords: Biological activities, anti-bacterial activity, *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner

บทนำ

ด้วยสถานการณ์ของโรคติดเชื้อในยุคปัจจุบันเป็นปัญหาด้านสุขภาพหลักของสังคมโลก จึงเป็นเรื่องที่ประชากรให้ความสนใจเป็นอย่างมาก เชื้อแบคทีเรียก่อโรคส่งผลต่อสุขภาพต่อมนุษย์ทุกคน โดยเชื้อจุลินทรีย์สามารถเข้าสู่ร่างกายผ่านทางการหายใจหรือติดเชื้อผ่านทางผิวหนัง บาดแผล การกินอาหารและการดื่มน้ำ ซึ่งในยุคปัจจุบันเชื้อโรคส่วนใหญ่มีรายงานสถิติการดื้อต่อยาปฏิชีวนะได้สูงขึ้น เช่น *Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Escherichia coli* และ *Serratia marcescens* เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียดื้อยาเป็นเชื้อที่มักค้นพบการติดเชื้อในโรงพยาบาล การควบคุมเชื้อแบคทีเรียก่อโรคนิยมใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อให้เกิดการระคายเคืองต่าง ๆ ปัจจุบันจึงมีความสนใจที่จะใช้พืชสมุนไพรจากธรรมชาติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์แทนสารเคมี โดยพบว่าในสมุนไพรหลายชนิดสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้และยังมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม พืชสมุนไพรเป็นอีกทางเลือกที่สำคัญในสถานการณ์ปัจจุบัน ประชาชนทั่วโลกบริโภค สมุนไพรและผลิตภัณฑ์จากสมุนไพรอย่างแพร่หลาย เพื่อตอบสนองความต้องการของตนเอง

สะแล หรือ *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner เป็นสมุนไพรธรรมชาติอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจในหลายภูมิภาค อาทิเช่นในประเทศจีนนิยมนำต้นพืชตระกูล *Broussonetia* ใช้เป็นยาแพทย์แผนจีน โดยใช้ส่วนใบและรากในบริโภคเพื่อบรรเทาอาการบวมน้ำ และช่วยขับปัสสาวะได้ (Diuresis) (Xiaoqiang et al., 2025) ส่วนในประเทศไทย พบว่าภูมิปัญญาของบรรพบุรุษของไทย ได้นำสะแลมาใช้ด้านสรรพคุณทางการแพทย์แผนไทยและคุณค่าทางโภชนการสูง ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เกลือ

แร่ และสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เบต้า-แคโรทีน นอกจากนี้ยังมีวิตามินซีและแคลเซียมสูง เป็นต้น เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และเป็นความต้องการต่อผู้บริโภคที่ต้องการส่งเสริมสุขภาพที่ดีในยุคปัจจุบัน อย่างไรก็ตามปัจจุบันยังมีรายงานการศึกษาวิจัยฤทธิ์ต้านการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดของต้นสะแล หรือ *Broussonetia* kurzii (Hook.f.) Corner แต่มีการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกลไกของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Broussonetia* ต่อการต้านจุลชีพ โดยพบว่าพืชสกุลนี้มีสารออกฤทธิ์กลุ่ม flavonoids ที่สามารถให้ผลยับยั้งแบคทีเรียได้ โดยทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย ทำให้เซลล์สูญเสียระบบการทำงาน และสามารถยับยั้งเอนไซม์สำคัญของแบคทีเรีย เช่น lipase และ DNA gyrase (Xiaoqiang et al., 2025)

แม้ในปัจจุบันยังไม่พบการรายงานฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียจากลำต้นสะแล *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner อย่างไรก็ตาม มีรายงานพบสารออกฤทธิ์กลุ่ม flavonoid จากสารสกัดหยาบจากลำต้นของพืชสกุล *Broussonetia* คือ *Broussonetia kazinoki* ผลของสารสกัดส่วนลำต้นนี้ให้ผลลดการอักเสบและยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ผิดปกติกลุ่ม adipocyte ได้ (Yueru et al., 2022) ดังนั้นจากรายงานการวิจัยประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชสกุล *Broussonetia* คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะทำการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียมีสถิติติดเชื้อในประเทศไทยและทั่วโลกในปัจจุบันด้วยสารออกฤทธิ์จากลำต้นสะแลในประเทศไทย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแล
2. เพื่อหาความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

แนวคิด ทฤษฎี กรอบแนวคิด

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีทรัพยากรธรรมชาติที่สมบูรณ์ไปด้วยพืชหลากหลายนานาพันธุ์ และมีความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ ภายใต้ระบบนิเวศที่แตกต่างกันพืชหลายชนิดถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมในการประกอบอาหาร เป็นเครื่องเทศปรุงแต่ง สี กลิ่น รส และที่สำคัญคือเป็นยาสมุนไพรพื้นบ้าน ซึ่งสมุนไพรเป็นสิ่งที่คนไทยรู้จักและนำมาใช้ประโยชน์ตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์สมุนไพรจากธรรมชาติ ณ ปัจจุบันก็กำลังได้รับความนิยมอย่างมาก และนำมาใช้ในการรักษาทางเลือกทั่วโลก (สุรัตน์วดี จิวะจินดา และประภาศรี สิงห์รัตน์, 2542) ยาสมุนไพรได้กลายเป็นองค์ประกอบสำคัญในอุตสาหกรรมยา ซึ่งความรู้ในการใช้พืชสมุนไพรในการนำมาปรุงทำเป็นยาบรรเทาอาการของโรคต่าง ๆ เกิดจากพื้นฐานวัฒนธรรม การทดลองปฏิบัติ และได้รับการถ่ายทอดจากรุ่นสู่รุ่นโดยสังคมในชมชุนเป็นเวลานานและต่อเนื่อง เป็นการเรียนรู้จริงในการดำเนินชีวิตที่เรียกว่า “ภูมิปัญญาท้องถิ่น” หรือภูมิปัญญาชาวบ้าน

ถึงแม้ว่าประเทศไทยมีรายงานการใช้พืชสมุนไพรหลากหลายชนิด แต่ก็ยังขาดการผลักดันในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรอย่างเป็นระบบและมีความเป็นสากล ทำให้ต่างประเทศที่สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพรได้เร็วกว่ายื่นจดสิทธิบัตรไว้ก่อนแล้ว จนสมุนไพรบางชนิดไม่สามารถจำหน่ายหรือใช้ประโยชน์ได้

อย่างเต็มที่ ดังนั้นคนไทยควรให้ความสนใจในสมุนไพรไทย ผลักดันพัฒนาให้มีความเป็นสากล อีกทั้งยังเป็นการอนุรักษ์ไว้ให้คนรุ่นต่อ ๆ ไปได้ใช้ประโยชน์และมีการพัฒนาให้ดียิ่งขึ้น

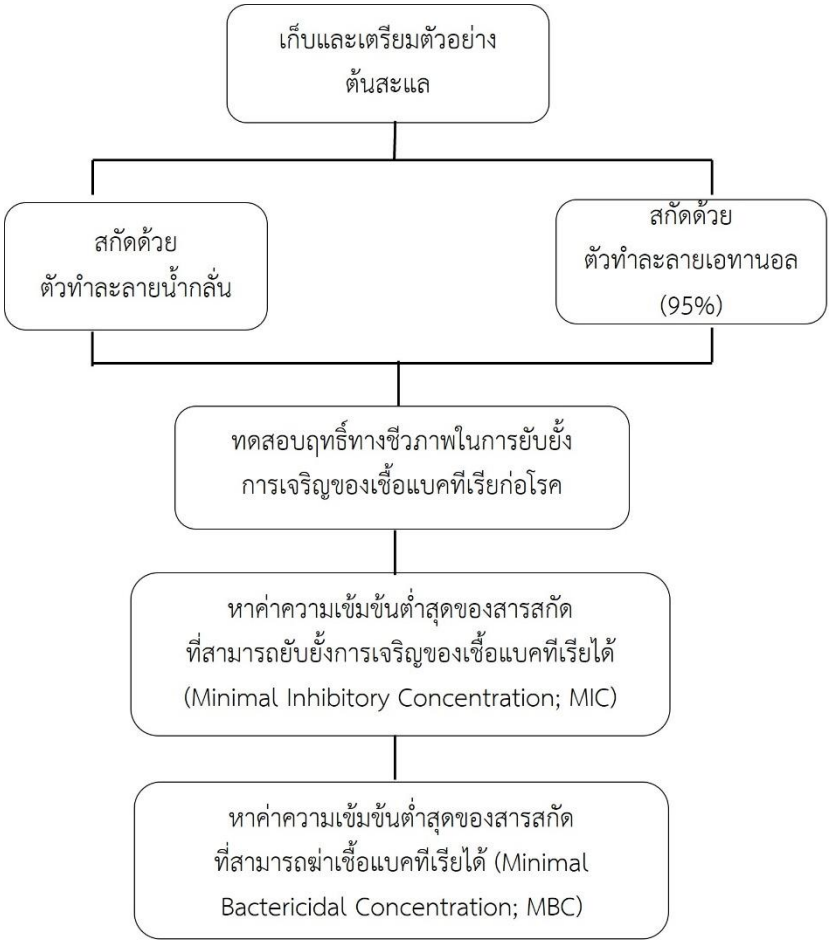
ด้วยสถานการณ์โรคติดเชื้อ และสถิติการติดเชื้อจุลินทรีย์ที่ดื้อยาในยุคปัจจุบัน จากข้อมูลเชิงระบาดวิทยา (epidemiology) การติดเชื้อที่เกี่ยวข้องกับการรักษาพยาบาล (Healthcare-Associated Infections: HAI) เป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญทั่วโลก (Brady et al., 2017) โดยเชื้อแกรมบวกและแกรมลบหลายชนิดเป็นสาเหตุหลัก เช่น เชื้อแบคทีเรียที่รายงานสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะสูงที่สุดคือ เชื้อแบคทีเรีย *E. Faecalis* และ *E. Faecium* ซึ่งเชื้อ *E. faecalis* ใน clinical isolates ทั่วโลกพบความสามารถในการสร้าง Biofilm สูงถึง 68.7% ซึ่งทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะและการติดเชื้อเรื้อรังได้เพิ่มขึ้น (Simon et al, 2021) ส่วนเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* เป็นเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบที่พบเป็นสาเหตุมากที่สุดในการติดเชื้อในกระแสโลหิตและการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ ในประเทศไทยมีรายงานความชุกของการติดเชื้อ *E. coli* ที่ดื้อยาในฟาร์มสุกรสูงถึง 96% ของตัวอย่าง และเชื้อแบคทีเรีย *Serratia marcescens* ที่เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในกระแสเลือด และเป็นปัญหาจากการติดเชื้อจากโรงพยาบาล (nosocomial infection) (David et al, 2015)

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจในการศึกษาสมุนไพรพื้นบ้านที่มีอยู่ในท้องถิ่นทางภาคเหนือ คือ ต้นสะแล *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner เป็นพืชในวงศ์ Moraceae มีชื่อท้องถิ่นได้แก่ แกแล (ปราจีนบุรี) ข่อยย่าน (สงขลา) คันซง (ปัตตานี) แทแหล (ชลบุรี) และ สะแล (ภาคกลางและภาคเหนือ) เป็นไม้พุ่มกึ่งเลื้อย ลำต้นสูง 5-10 เมตร หากเป็นต้นเดี่ยว ๆ จะเป็นพุ่ม ถ้าอยู่กับไม้อื่นจะเลื้อยพันเป็นเถา เป็นไม้เนื้ออ่อนที่มีกิ่งก้านเหนียว เปลือกสีเทาเรียบไม่แตกเป็นสะเก็ด เป็นไม้ผลัดใบ ใบเป็นใบเดี่ยวเรียงตัวแบบสลับ รูปใบแบบไข่หรือรี ปลายใบแหลม ฐานใบกว้างรูปหัวใจ ขอบใบหยักขนาดกว้าง 4-8 เซนติเมตร ยาว 6-14 เซนติเมตร ก้านใบยาว 1.0-1.5 เซนติเมตร ผิวใบสากเนื้อใบหนาและเหนียว เส้นแขนงใบแบบขนนก มี 7-8 คู่ เป็นพืชที่มีดอกเพศผู้และเพศเมียอยู่คนละต้น ออกบริเวณกิ่ง ดอกเพศผู้เป็นช่อรูปร่างยาว มีดอกย่อยอัดกันแน่นอยู่ ไม่มีกลีบดอก ช่อดอกเพศเมียจะมีรูปร่างค่อนข้างกลม มีดอกย่อยอัดกันแน่น มีก้านเกสรเพศเมีย (Style) ชี้ยาวออกมายาว 1.0 -1.5 เซนติเมตร มีขนปกคลุม บริเวณดอกจะมียางสีขาว เวลาออกดอกใบจะร่วงหมด ออกดอกเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ ผลจะเป็นผลรวม (Syncarp) จะมีลักษณะอ่อนนุ่ม เมล็ดมี รูปร่างกลมหรือกลมรีมีสีดำ ออกผลเดือนกุมภาพันธ์-มีนาคม มักพบสะแลเจริญอยู่บริเวณสวนใกล้แหล่งน้ำ (Geng et al., 2019)

อาหารพื้นบ้านในภาคเหนือที่นิยมปรุงจากต้นสะแล ได้แก่ แกงดอกสะแล (แกงแคสะแล), แกงส้มดอกสะแล, ต้มดอกสะแลกับหมู และลวกต้นสะแลกินกับน้ำพริกและปลาย่าง เป็นต้น จากรายงานการวิจัยพบว่า ต้นและดอกสะแลมีคุณค่าทางอาหารสูง ได้แก่ โปรตีนประมาณ 16–21%, มีแร่ธาตุสำคัญ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และแมกนีเซียม เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบสาระสำคัญ เช่น ฟีนอลิก (Phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ (Zhang et al., 2001) ส่วนทางการแพทย์พบว่า เปลือกและใบของต้นสะแล ต้มน้ำให้ดื่มแก้อาการบวมจากการเป็นโรคไต เปลือกต้นสะแลใช้เป็นยาห้ามเลือด ใช้ต้มดื่มแก้บวมน้ำ และช่วยบรรเทาอาการเลือดออกผิดปกติ ส่วนใบของต้นสะแลมีรสฝาดสามารถใช้เป็นยารักษาโรคท้องเสียและยาขับ

ปัสสาวะได้ ส่วนรากของต้นสะแลใช้ในตำรับยาพื้นบ้านช่วยเพิ่มน้ำนมขณะให้นมบุตรได้ ส่วนผลของต้นสะแลใช้เป็นยาบำรุงช่วยกระตุ้นการย่อยอาหารได้เป็นอย่างดี (Sun et al., 2012)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีแนวคิดและความสนใจในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้นสะแล เพื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่มีสถิติสูงในปัจจุบัน ดังแสดงในกรอบแนวคิด ดังนี้



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิด

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมพืชตัวอย่าง

เก็บและรวบรวมลำต้นสะแลที่ปลูกในพื้นที่สวนของคุณนีรนุช เยาวภาคย์โสภณ ตำบลฟ้าฮ่าม อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ นำต้นสะแลมาล้างน้ำให้สะอาด และทำการอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า จนเป็นผงละเอียด นำผงละเอียดของต้นสะแลใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในขั้นตอนต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 2

A B

ภาพที่ 2 ตัวอย่างต้นสะแล (A), การเตรียมตัวอย่างผงละเอียดของลำต้นสะแล (B)

2. การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้นสะแลด้วยวิธีแช่หมัก (Maceration) (ดัดแปลงจาก รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2550)

นำผงละเอียดของลำต้นสะแลสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น และเอทานอล (95%) โดยใช้ผงละเอียดอย่างละ 250 กรัม ห่อด้วยผ้าขาวบางที่ปราศจากเชื้อ ใส่ลงไปในภาชนะทึบแสงที่มีฝาปิด จากนั้นนำไปสกัดสารออกฤทธิ์ทางธรรมชาติ โดยใช้อัตราส่วนต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 : 10 ซึ่งการสกัดด้วยน้ำกลั่นจะแช่หมักสารในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water Bath) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทำซ้ำ 2 ครั้ง ส่วนการสกัดด้วยเอทานอล (95%) จะสกัดสารที่อุณหภูมิห้อง (25 ℃) เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เนื่องจากเอทานอลเป็นสารระเหย ไม่สามารถใช้อุณหภูมิสูงได้ จึงทำการสกัดที่อุณหภูมิห้อง และเพิ่มเวลาในการสกัดเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และทำการสกัดซ้ำ 2 ครั้ง หลังจากที่ทำการสกัดสารออกมาแล้ว นำสารที่ได้กรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman Number 1) นำไประเหยตัวทำละลายออกฎด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary Evaporator) จนได้สารสกัดหยาบ (Crude Extract) จากนั้นทำการคำนวณหาน้ำหนักแห้งของผลผลิตที่ได้ (% yield) จากสูตร

ผลผลิต (%) = (น้ำหนักสารสกัดหยาบ (กรัม)) / (น้ำหนักสมุนไพรที่ใช้ (กรัม)) x100

3. การเตรียมสารสกัดหยาบเพื่อใช้ทดสอบการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอย่าง

เตรียมสารสกัดหยาบ (Crude Extract) ละลายด้วยตัวทำละลาย Dimethyl Sulfoxide (DMSO) ให้ได้ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร (Stock Concentration) เก็บไว้ในขวดสีชา เพื่อใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป

4. การเตรียมเชื้อแบคทีเรียตัวอย่าง

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการทดสอบ 4 ชนิด ได้แก่ *E. faecalis, E. faecium*, *E. coli*, และ *S. marcescens* โดยทำการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ครบเวลาตรวจดูผลโคโลนีของเชื้อ (single colony) ที่บริสุทธิ์ (Purify)

5. การทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion

ทำการเขี่ยโคโลนีเชื้อที่เลี้ยงในอาหาร NA นำมาปรับความขุ่นของแบคทีเรียด้วยน้ำเกลือ (0.85% Normal saline) ปราศจากเชื้อ ให้มีค่าเทียบเท่ากับ McFarland standard Number 0.5 ซึ่งจะมีปริมาณ

เชื้อเท่ากับ 1.5 x 10^8 CFU/ml ใช้ไม้พันสำลี (Cotton Swab) ที่ปลอดเชื้อจุ่มลงในหลอดทดลองที่มีเชื้อปรับความขุ่นเรียบร้อยแล้ว นำไปเกลี่ยให้ทั่วบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) จากนั้นใช้แผ่น Disc ที่ปราศจากเชื้อแล้ว จากนั้นจุ่มลงไปในสารละลายสารสกัดหยาบของลำต้นสะแลที่ทำการเจือจางแล้ว โดยใช้สารละลายที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้สารละลาย 10% DMSO เป็น Negative Control ยาปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน (Tetracycline) สำหรับทดสอบเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) สำหรับทดสอบเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก โดยใช้ความเข้มข้นของยาเท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็น Positive Control จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วบันทึกผลการทดลอง โดยการวัดวงใสของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (Triplicate) และเลือกสารสกัดที่ให้ผลบริเวณยับยั้งเชื้อนำไปทดสอบหาค่า Minimal Inhibitory Concentration (MIC) และ Minimal Bactericidal Concentration (MBC) ต่อไป

6. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC)

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบลงในอาหาร Mueller Hinton Borth (MHB) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นเริ่มต้นของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบให้มีความขุ่นเท่ากับ McFarland standard Number 0.5 จากนั้นทำการเจือจางสารสกัดหยาบ และยาปฏิชีวนะ Tetracycline และ Gentamicin แบบสองเท่าลำดับส่วน (Two-fold serial dilution) ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 500, 250, 125, 62.5 และ 31.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นเติมสารความเข้มข้นต่าง ๆ และเชื้อในปริมาณที่เท่ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง อ่านผลค่า MIC

7. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

ภายหลังจากอ่านผลค่า MIC นำหลอดทดลองที่ไม่เห็นการเจริญของเชื้อทดสอบ (หลอดที่ใส) มาเพาะเลี้ยงบนอาหาร MHA โดยใช้วิธี Spread plate จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 - 24 ชั่วโมง ทำการอ่านค่าผลการทดสอบโดยดูการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย ความเข้มข้นของสารสกัดที่ให้ผลไม่พบโคโลนีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย คือค่า MBC

8. การวิเคราะห์ผล

ในงานวิจัยนี้จะทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยวิเคราะห์ผลทางสถิติแบบ one-way ANOVA ซึ่งทดสอบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ 0.05 ด้วยวิธี Duncan test

ผลการวิจัย

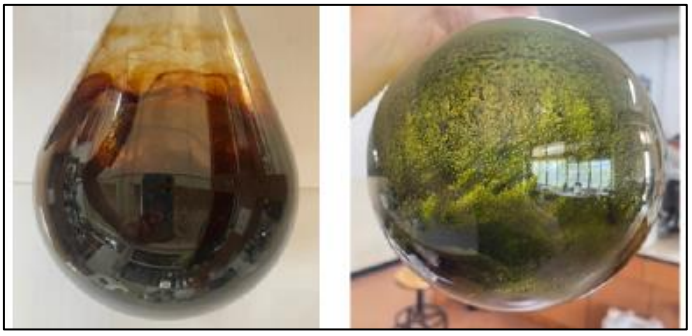
1. ปริมาณร้อยละของผลผลิตที่ได้จากสารสกัดหยาบของลำต้นสะแล

สมุนไพรที่ใช้ศึกษาวิจัยในครั้งนี้ คือ ลำต้นสะแลปริมาณ 2 กิโลกรัม นำมาล้างให้สะอาดและอบแห้งผ่านตู้อบลมร้อน 45 – 50 องศาเซลเซียส แล้วบดให้ละเอียดเป็นผง พบว่าได้ผงละเอียดประมาณ

900 กรัม นำผงละเอียดปริมาณ 250 กรัม นำมาสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล (95%) ในอัตราส่วน 1:10 เป็นระยะเวลา 4 - 7 วัน หลังจากระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Evaporator) จะได้สารสกัดหยาบของลำต้นสะแลที่สกัดด้วยน้ำกลั่น และเอทานอล (95%) เป็นสารที่มีลักษณะเป็นของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม และของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม ตามลำดับ และพบว่าสารสกัดน้ำให้ผลร้อยละของผลผลิตมากกว่าสารสกัดเอทานอล คือ สารสกัดน้ำให้ผลร้อยละผลผลิตเท่ากับ 7.483 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ส่วนสารสกัดเอทานอลให้ผลร้อยละของผลผลิตเท่ากับ 2.805 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ดังแสดงในตารางที่ 1 และภาพที่ 3

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิต (%yield) และลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแล

สมุนไพร	ตัวทำละลาย	ร้อยละผลผลิต (%yield)	ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด
ลำต้นสะแล	น้ำกลั่น	7.483	ของเหลวหนืดสีน้ำตาลเข้ม
	เอทานอล	2.805	ของเหลวหนืดสีเขียวเข้ม



A B

ภาพที่ 3 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัดหยาบที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ

2. ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดจากลำต้นสะแล

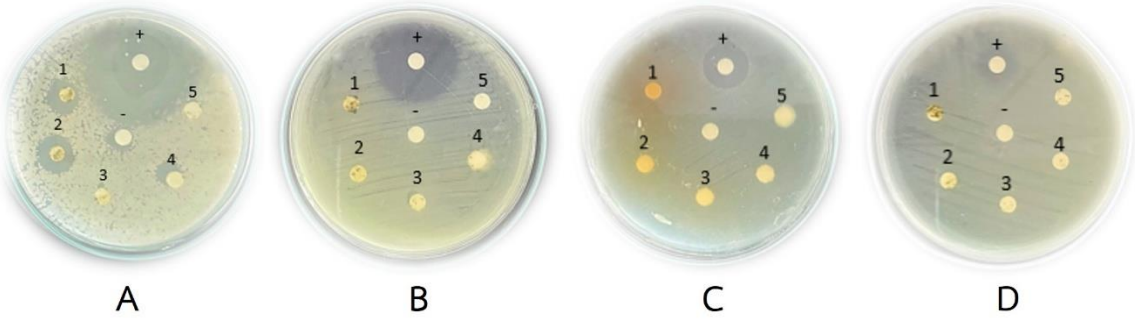
2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียตัวอย่าง ผลพบว่า สารสกัดเอทานอลจากลำตันสะแล ให้ผลการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* มีประสิทธิภาพสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแล 500 mg/ml ให้ผลขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 10.00 ± 1.00 มิลลิเมตร (ตารางที่ 2) โดยใช้ยาปฏิชีวนะเจนตามัยซิน (Gentamicin) และยาเตตราซัยคลิน Tetracycline) ความเข้มข้น 5 mg/ml เป็น positive control และใช้ตัวทำละลาย DMSO (10%) เป็น Positive Control ดังแสดงในภาพที่ 4 และภาพที่ 5 ส่วนสารสกัดน้ำจากลำต้นสะแลไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างได้

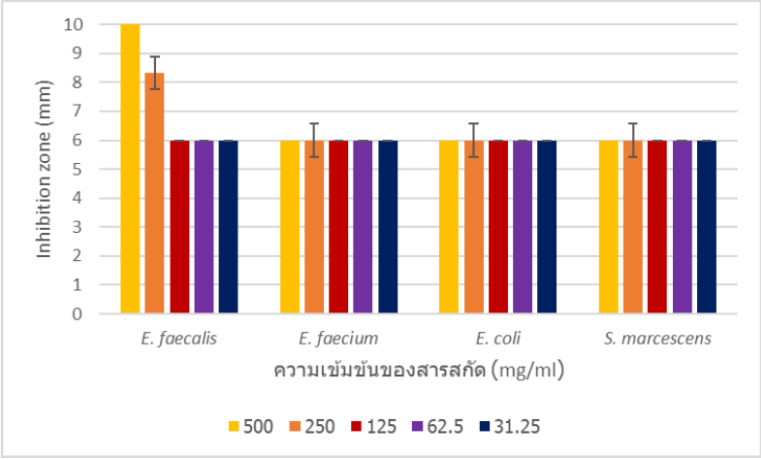
ตารางที่ 2 ฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแล

ความเข้มข้นของสารสกัด (mg/ml)	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone (mm))			
	E. faecalis	*E. faecium*	*E. coli*	*S. marcescens*
500	10.00 ± 1.00[a]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]
250	8.33 ± 0.57[a]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]
125	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]
62.5	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]
31.25	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]	6.00 ± 0.00[b]

*หมายเหตุ : ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์ หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 หรือมีค่าความเชื่อมั่น 95%, ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ (triplicate)



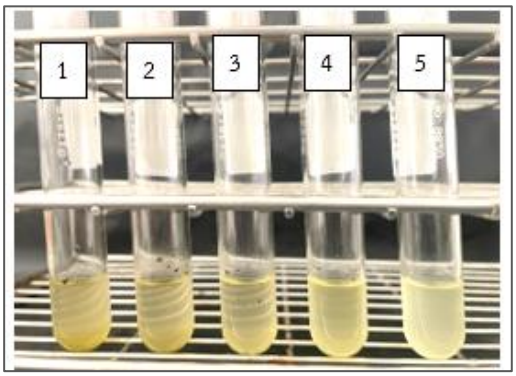
ภาพที่ 4 ผลการตรวจสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแล ด้วยวิธี agar disc diffusion บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA), A : ผล การยับยั้งเชื้อ *E. Faecalis*, B: ผลการยับยั้งเชื้อ *E. Faecium*, C: ผลการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, D: ผลการยับยั้งเชื้อ *S. marcescens*, (-) คือ 10% DMSO, (+) คือ Tetracycline และ Gentamicin, (1), (2), (3), (4) และ (5) คือความเข้มข้นของสารสกัด 500, 250, 125, 62.5 และ 31.5 mg/ml ตามลำดับ



ภาพที่ 5 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียด้วยสารสกัดน้ำจากลำต้นสะแล

2.2 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (Minimal Inhibitory Concentration; MIC)

จากผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างด้วยวิธี Agar Disc Diffusion จึงนำสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแล มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของสารสกัดหยาบที่สามารถยับยั้งเชื้อ *E. faecalis* ได้ ทำการทดสอลด้วยวิธี Broth dilution ทดสอบสารสกัดหยาบความเข้มข้น 31.25 - 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการวิจัยพบว่า สารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลให้ผลค่า MIC เท่ากับ500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 ผลการตรวจสอบหาค่า MIC ของสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ด้วยวิธี Broth dilution ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB)

2.3 ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

จากผลค่าความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแลที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ได้ ผลค่า MIC เท่ากับ 500 mg/ml จึงนำมาทดสอบหาค่าความเข้มข้นในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียตัวอย่าง (MBC) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA) ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแลมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ให้ผลค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียของลำต้นสะแลด้วยวิธีแช่หมัก (Maceration) โดยใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและเอทานอล (95%) ทดสอบด้วยวิธี Agar Disc Diffusion ผลวิจัยพบว่า สารสกัดเอทานอล (95%) จากลำต้นสะแล มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย โดยมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* ได้ดีที่สุด ซึ่งให้ผลวงใสบริเวณยับยั้งสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เท่ากับ 10.00±0.00 ส่วนสารสกัดน้ำจากลำต้นสะแลไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียตัวอย่างได้ จากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (MIC) ของสารสกัดหยาบจากลำต้นสะแล พบว่าค่า MIC ของสารสกัดเอทานอล (95%) จากลำต้นสะแล ในการยับยั้ง

เชื้อ *E. faecalis* ให้ผลเท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และให้ผลค่า MBC ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *E. faecalis* เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแสดงว่า สารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแลความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุหลักของการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ คือ เชื้อ *E. faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากพืชสกุล *Broussonetia* มีสารกลุ่ม flavonoids ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียผ่านกลไกหลายประการ เช่น ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์สำคัญของแบคทีเรีย จึงทำให้ผลวิจัยในครั้งนี้สารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแลให้ผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก *E. faecalis* ได้ ให้ค่า MBC เท่ากับ 500 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และจากผลการตรวจสอบค่า MIC และ MBC ในรายงานการวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรต่างชนิดกัน สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค จึงทำให้ผลการยับยั้งเชื้อให้ผลค่า MIC ที่แตกต่างกัน (วัชรินทร์ รังสีภาณุรัตน์ และคณะ, 2559)

จากผลการวิจัยในครั้งนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการนำสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากลำต้นสะแลใช้ในการลดการติดเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินปัสสาวะได้ สอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ต้านจุลชีพของสารสกัดจากพืชในสกุล *Broussonetia* ซึ่งสาร Flavonoids เป็นกลุ่มสารที่พบมากที่สุดและมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ต้านจุลชีพ ต้านการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ (Ying et al., 2025) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากต้นสะแล *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner พบว่ามีสาร Henolic และ flavonoid สูง รวมทั้งพบสารสำคัญ เช่น Catechin, Gallic Acid, Coumaric Acid และ Rosmarinic acid ซึ่งสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ และสารกลุ่ม polyphenols และ flavonoids มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลชีพและการลดการอักเสบของเซลล์ได้อีกด้วย (Ghosh et al.,2021; Sun et al., 2012)

ผลวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดเอทานอลจากลำต้นสะแล ให้ผลการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก *E. faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกประกอบด้วยเพปทิโดกลัยแคน (Peptidoglycan) ปริมาณมากในขณะที่โครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีความซับซ้อนกว่าโดยประกอบด้วยสารหลักคือเนื้อเยื่อชั้นนอก (Oute Rmembrane) ประมาณ 80% ซึ่งเป็นชั้นไขมันชนิด Lipopolysaccharide (LPS) และมีเพปทิโดกลัยแคนประมาณ 20% และเอทานอลเป็นสารเคมีที่มีขั้วจึงสกัดสารออกฤทธิ์กลุ่มที่มีขั้ว จึงให้ผลในการทำงานส่วนของเพปทิโดกลัยแคน (Peptidoglycan) ได้ดีกว่า (Shalina et al., 2000) นอกจากนี้กลไกการต้านจุลชีพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากพืชในสกุล *Broussonetia* มีรายงานเป็นสารกลุ่ม Flavonoids สามารถยับยั้งแบคทีเรียผ่านกลไกหลายประการ เช่น ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย โดยสาร Polyphenols สามารถเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของ Cell Membrane ทำให้เซลล์สูญเสียสารสำคัญ และสามารถยับยั้งเอนไซม์สำคัญของแบคทีเรีย เช่น Lipase และ DNA Gyrase (Xiaoqiang et al., 2025) ดังนั้นผลจากงานวิจัยนี้สารสกัดเอทานอลจากต้นสะแล *Broussonetia kurzii* (Hook.f.) Corner ความเข้มข้น 500 mg/mL มีประสิทธิภาพออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวก *E. faecalis* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่เกี่ยวกับการบรรเทาและรักษาอาการจากการติดเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกกลุ่ม *E. faecalis* เช่น โรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ เป็นต้น

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับสารสกัดจากลำต้นสะแล โดยทำการสกัดด้วยทำละลายชนิดอื่น ๆ ซึ่งจะช่วยให้ได้ผลการทดลองที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะมีค่าความสามารถในการสกัดองค์ประกอบทางเคมีต่าง ๆ ในพืชที่ทดสอบได้แตกต่างกัน

2. อาจมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในการทดสอบหาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ (Minimal Bactericidal Concentration ; MBC)

3. ควรมีการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลจากต้นสะแลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบอื่นๆ เพิ่มเติม เนื่องจากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสกัดน้ำและเอทานอลจากต้นสะแลอาจจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ได้ และศึกษาความบริสุทธิ์ของสารสกัด (Fractionation) เพื่อให้ได้ฤทธิ์ที่ดีขึ้น เพื่อใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สมุนไพรที่มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคติดเชื้อได้อย่างหลากหลายมากขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

รัตนา อินทรานุปกรณ์. (2550). การตรวจสอบและการสกัดแยกสารสำคัญจากสมุนไพร (พิมพ์ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วัชรินทร์ รังษีภาณุรัตน์, พัชรี กัมมารเจษฎากุล และอิสยา จันทร์วิทยานุชิต. (2559). ฤทธิ์ของสารสกัดสมุนไพร 10 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย Staphylococcus aureus ATCC 25923, Bacillus cereus และ Escherichia coli ATCC 25922. วารสารวิทยาศาสตร์สุขภาพและสุขภาวะ (Journal of Health Sciences and Wellness), 19(38), 35-48.

สุรัตน์วดี จิวะจินดา และ ประภาศรี สิงห์รัตน์. (2542). เอกสารประกอบการฝึกอบรม เรื่อง การแปรรูปสมุนไพรเพื่อการค้า. นครปฐม : สถาบันวิจัยและพัฒนา กำแพงแสน ฝ่ายปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกพืชทดลอง งานวิจัยสภาวะแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน.

Brady, M., Oza, A., Cunney, R., & Burns, K. (2017). Attributable mortality of hospital-acquired bloodstream infections in Ireland. Journal of Hospital Infection, 96(1):35-41.

David, C. L., Tharavichitkul, P., Arjkumpa, O., Maho, I., Oawapak, H., Kenrad, N., & Keeve, E. N. (2015). Antimicrobial use and multidrug-resistant Salmonella spp., Escherichia coli, and Enterococcus faecalis in Swine from Northern Thailand. The Thai Journal of Veterinary Medicine, 45(1):43-53.

Geng, C. A., Yan, M. H., Zhang, X. M., & Chen, J. J. (2019). Anti-oral microbial flavanes from Broussonetia papyrifera under the guidance of bioassay. Natural Products and Bioprospecting, 9, 139–144.

Ghosh, R., Chakraborty, A., Biswas, A., & Chowdhuri, S. (2021). Identification of polyphenols from Broussonetia papyrifera as SARS-CoV-2 main protease inhibitors using in silico docking and molecular dynamics simulation approaches. Journal of Biomolecular Structure and Dynamics, 39, 6747–6760.

Shalina, M., Laurence, G.R., & Frederick, M.A. (2000). Elucidating the molecular mechanisms of bacterial virulence using non-mammalian hosts. Molecular Microbiology. 37(5): 981-988.

Simon, B., Olaniyi, A., Tim, E., & Robby, M. (2021). Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020. Eurosurveillance, 11;26(45), 2001628.

Sun, J., Liu, S. F., Zhang, C. S., Yu, L. N., Bi, J., Zhu, F., & Yang, Q. L. (2012). Chemical composition and antioxidant activities of Broussonetia papyrifera fruits. PloS one, 7(2), e32021.

Xiaoqiang, H., An, J., Shunhe, L., Hongchang, Z., Cheng, D., & Chunsheng, Y. (2025). Extraction process and antioxidant and antimicrobial activities of total flavonoids from Broussonetia papyrifera leaves. Scientific Reports, 16:442.

Ying, L., Renhua, H., Weiwei, Z., Qiangwen, C., Qijian, W., Jiabao, Y., Feng, X. (2025). Medicinal potential of Broussonetia papyrifera: chemical composition and biological activity analysis. Plants, 8;14(4): 523.

Yueru, C., Lu, W., Xue, L., Fulin, W., Ying, A., Wei, Z., Jinli, T., Degang, K., Wenru, Z., Yang, X., Yahui, B. & Honglei, Z. 2022. The Genus Broussonetia: An Updated Review of Phytochemistry, Pharmacology and Applications. Molecules, 27, 5344.

Zhang, P. C., Wang, S., Wu, Y., Chen, R. Y., & Yu, D. Q. (2001). Five new diprenylated flavonols from the leaves of Broussonetia kazinoki. Journal of Natural Products, 64, 1206–1209.