

Received: 16/05/67 Revised: 23/06/67 Accepted: 24/06/67

ฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ (*Musa sapientum* L.) ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย
Staphylococcus epidermidis และ *Bacillus cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกร
The antibacterial effect of unripe namwa banana peel (*Musa sapientum* L.) extracts on
Staphylococcus epidermidis and *Bacillus cereus* isolated from swine houses

รจฤดี โชติกาวิรินทร์* ณัฐธิดา ชัยเลิศ** ศุภชัย ยอดคีรี*** ทัดดาว พาหาทรัพย์อนันต์* และ ทิษฏยา เสมาเงิน**^a

* สาขาวิชาอนามัยสิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

** สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

*** ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

^a ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: tistaya@go.buu.ac.th)

Rotruedee Chotigawin*, Nattida Chailerd**, Supachai Yodkeeree***, Taddao Pahasapanan*

and Tistaya Semangoen**^a

* Department of Environmental Health, Faculty of Public Health, Burapha University

** Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Burapha University

*** Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Chiang Mai University

^a Corresponding author (Email: tistaya@go.buu.ac.th)

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ (*Musa sapientum* L.) (UW) ในการยับยั้ง *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกรโดยหาความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดที่ยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) และสามารถกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ทั้งสองชนิด ด้วยวิธี broth microdilution ทำการศึกษาเวลาในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียต่อหน่วยเวลาด้วยวิธี Time-kill ที่ความเข้มข้น 2, 5 และ 10 เท่าของ MIC เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทดสอบการยับยั้งเอนไซม์โปรตีนเอสด้วยวิธี protease activity วิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา พบว่า ค่า MIC ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *S. epidermidis* และ *B. cereus* มีค่า 7.81 mg/mL และ 15.625 mg/mL ตามลำดับ เช่นเดียวกับค่า MBC ที่กำจัดเชื้อ *S. epidermidis* และ *B. cereus* มีค่า 7.81 mg/mL และ 15.625 mg/mL ตามลำดับ ผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา (Time-kill) ของสารสกัด UW พบว่า ที่ระดับความเข้มข้น 5 เท่าของ MIC (39 mg/mL) สามารถกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่เวลา 8 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 10 เท่าของ MIC (78 mg/mL) สามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 4 ชั่วโมง ในขณะที่ความเข้มข้น 10 เท่าของ MIC ของเชื้อ *B. cereus* (156.25 mg/mL) สามารถกำจัดเชื้อ ได้ที่เวลา 18 ชั่วโมง นอกจากนั้น

สารสกัด UW ความเข้มข้น 3.90 mg/mL สามารถยับยั้งฤทธิ์ของเอนไซม์โปรตีเอสจาก *S. epidermidis* ได้ ในขณะที่สารสกัดทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสจาก *B. cereus* ได้ ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปพัฒนาและต่อยอด เช่น การสร้างเป็นนวัตกรรมผลิตสารชีวภาพที่ปลอดภัยในการควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในโรงเรือนเลี้ยงสุกรได้ต่อไป

คำสำคัญ: เปลือกกล้วย; ด่านแบคทีเรีย; โรงเรือนเลี้ยงสุกร; สารสกัดหยาบ

Abstract

This research aims to investigate the effectiveness of unripe banana peel “Nam Wa” (*Musa sapientum* L.) (UW) extract in inhibiting the growth of *S. epidermidis* and *B. cereus*, which were isolated from swine houses. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of UW were determined using the broth microdilution method. Time-kill assays were conducted at 2, 5 and 10 times the MIC to measure the remaining bacterial counts at various time points for 24 hours. The UW extract was tested for its ability to inhibit the enzyme protease using a protease activity assay. The results were analyzed using the mean and standard deviation.

The experiments revealed that the MIC of UW, which inhibited *S. epidermidis* and *B. cereus* were 7.81 mg/mL and 15.625 mg/mL, respectively. Similarly, the MBC of UW, which killed *S. epidermidis* and *B. cereus* were 7.81 mg/mL and 15.625 mg/mL, respectively. In the time-kill assays, it was found that UW extract at 5 times the MIC (39 mg/mL) could eliminate *S. epidermidis* after 8 hours. Increasing the concentration to 10 times the MIC (78 mg/mL) resulted in the elimination of *S. epidermidis* within 4 hours, whereas the concentration at 10 times the MIC of *B. cereus* (156.25 mg/mL) led to elimination within 18 hours. Additionally, UW extract at a concentration of 3.90 mg/mL was found to inhibit the protease activity of *S. epidermidis*. While every concentration of the extracts failed to inhibit the activity of *B. cereus* protease enzymes. The results of the study can be developed and expanded upon, such as creating an innovation to produce safe biological agents for controlling pathogenic microorganisms in swine houses.

Keywords: Banana peel; Anti-bacteria; Swine house; Crude extract

บทนำ

การเลี้ยงสุกรเป็นอุตสาหกรรมที่มีบทบาทสำคัญต่อการผลิตอาหารโดยรวมของประเทศ การเลี้ยงภายในโรงเรือนที่มีสุกรอยู่หนาแน่นทำให้เกิดของเสียหลายชนิดที่ก่อให้เกิดปัญหามลพิษทั้งทางน้ำ ดิน และอากาศ¹ ปัญหามลพิษทางอากาศที่พบในโรงเรือนเลี้ยงสุกรส่วนใหญ่ ได้แก่ ฝุ่นละอองขนาดเล็ก ก๊าซแอมโมเนีย ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และละอองลอยชีวภาพ โดยปริมาณจุลินทรีย์รวมในโรงเรือนเลี้ยงสุกร² มีค่าประมาณ 3.53×10^5 CFU/m³ พบแบคทีเรีย 3.42×10^5 CFU/m³ ซึ่งมากกว่า 96% และพบเชื้อราประมาณ 2.71×10^3 CFU/m³ ชนิดของแบคทีเรียที่พบในอากาศภายในโรงเรือนเลี้ยงสุกร

ประเทศไทย ได้แก่ *Bacillus* sp. และ *Staphylococcus* sp.³ และพบเชื้อรา 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Curvularia* spp., *Penicillium* sp. และ *Rhizopus* sp.³ การปนเปื้อนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในอากาศภายในโรงเรือนและออกสู่ภายนอก สามารถส่งผลกระทบต่อสุขภาพของคนทำงานที่ต้องหายใจเอาจุลินทรีย์ หรือสารพิษ ได้แก่ endotoxins หรือ mycotoxins ปริมาณสูงเข้าสู่ร่างกาย โดยเชื้อแบคทีเรียสามารถสร้างและหลั่งเอนไซม์โปรตีเอสที่ทำให้เกิดพยาธิสภาพของเซลล์และเนื้อเยื่อของมนุษย์ เช่น serine protease, cysteine protease และ zinc-containing metalloprotease เป็นต้น⁴⁻⁵ ส่งผลให้เกิดการเจ็บป่วย เช่น ภูมิแพ้ และโรคหอบหืดอักเสบชนิดเรื้อรัง โรคพิษของฝุ่นอินทรีย์ และโรคในระบบทางเดินหายใจอื่น ๆ⁶

การควบคุมและป้องกันการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอากาศจากโรงเรือนสุกรในปัจจุบันมีด้วยกันหลายวิธี ส่วนใหญ่นิยมใช้สารเคมี เนื่องจากได้ผลเร็วและซื้อหาได้ง่าย แต่การใช้สารเคมีอย่างต่อเนื่องมักพบปัญหาการตกค้างในอากาศและสิ่งแวดล้อม ซึ่งสามารถส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของคนทำงานรวมถึงสิ่งมีชีวิตอื่นๆ นำไปสู่ความเสียหายทางเศรษฐกิจตามมา จึงไม่สามารถแก้ไขปัญหาดังกล่าวได้อย่างยั่งยืน ดังนั้น การพัฒนาวิธีการที่มีประสิทธิภาพเพื่อควบคุมและป้องกันการแพร่กระจายของจุลินทรีย์โดยหลีกเลี่ยงการใช้สารเคมี จึงมีความสำคัญ โดยหันมาสนใจวัสดุจากธรรมชาตินำมาพัฒนาและใช้ทดแทนสารเคมี เพื่อรักษาสุขภาพของคนงานได้อย่างยั่งยืน ทั้งนี้จากงานวิจัยที่ผ่านมา พบว่า วัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในปัจจุบัน โดยการสกัดสารจากเปลือกผลไม้ที่มีสารแทนนิน ซึ่งเป็นกลุ่มสารฟีนอลิก มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดี เช่น สารสกัดจากเปลือกมังคุด เปลือกทุเรียน เปลือกลำไย หรือเปลือกกล้วย⁷⁻⁹ เป็นต้น ดังนั้น ผู้วิจัยจึงสนใจนำเปลือกกล้วยน้ำว้า ซึ่งนิยมเพาะปลูกมากในประเทศไทย โดยส่วนของเปลือกคิดเป็น 40% ของน้ำหนักผล เป็นส่วนที่ถูกทิ้งจากการบริโภค ใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์ ในเปลือกกล้วยมีแป้ง, โปรตีน, ไขมัน, ไฟเบอร์, วิตามิน, แร่ธาตุ และมีสารพฤกษเคมีหลายชนิด ได้แก่ flavonoids, tannins, phlobatannins, alkaloids, glycosides, terpenoids, carotenoids, sterols และ triterpenes¹⁰⁻¹² สารเหล่านี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ และต้านเชื้อจุลินทรีย์¹²⁻¹³ เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติทางชีวภาพและฤทธิ์ทางเคมีนี้สามารถนำมาผลิตเป็นสารสกัดสำหรับต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้

การศึกษาในครั้งนี้จะทำให้ทราบถึงคุณสมบัติของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบและความเข้มข้นที่เหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารฉีดพ่นเพื่อควบคุมแบคทีเรียในโรงเรือนเลี้ยงสุกรต่อไปในอนาคต อีกทั้งเป็นการนำวัสดุเหลือใช้มาเพิ่มมูลค่า ลดปริมาณมูลฝอยที่เกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับความเป็นพิษของสารสกัดกับเซลล์ผิวหนังในห้องปฏิบัติการก่อนนำไปใช้จริง

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาความเข้มข้นและเวลาที่เหมาะสมของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบในการยับยั้งและกำจัดแบคทีเรีย *Staphylococcus epidermidis* และ *Bacillus cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกร
2. เพื่อศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบต่อโครงสร้างเซลล์ของแบคทีเรีย *B. cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกร
3. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบในการยับยั้งเอนไซม์ protease ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *B. cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกร

ระเบียบวิธีวิจัย

เตรียมสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ

นำเปลือกผลดิบของกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) สายพันธุ์มะลิอ่อน ที่มี peel color index (PCI)¹⁴ เบอร์ 1 หรือ 2 นำมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา และล้างด้วยน้ำกลั่นสองครั้งเพื่อลดการปนเปื้อน นำไปผึ่งแดดให้แห้ง หั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วปั่นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น นํ้าผงแห้ง 50 กรัม เติมนํ้า 90% เอทานอล สัดส่วน 1:7 เขย่าด้วยความเร็วรอบ 120 รอบ/นาที อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการกรองด้วยผ้าขาวบางแล้วตามด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ทำการสกัดซ้ำเป็นครั้งที่สอง จากนั้นรวมสารสกัดที่ได้ไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary evaporator (KNF Neuberger, RC900 model, Germany) ที่อุณหภูมิ 50°C และทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่อง FreeZone Freeze dryer (Labconco, USA) เป็นเวลาข้ามคืน เก็บผงสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ (UW) ที่อุณหภูมิ 4°C

ทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Inhibition Concentrations; MIC) และค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (Minimum Bactericidal Concentration; MBC) ด้วยวิธี Broth microdilution

วิธีการทดสอบทำตามรายงานของ Teethaisong Y., 2023¹⁵ เลี้ยงแบคทีเรียในอาหารเหลว Mueller Hinton Broth (MHB) 18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาปั่นล้างและเตรียมเชื้อให้มีความเข้มข้น 5×10^6 CFU/mL ทำการเจือจางสารสกัดเป็น 2-fold dilution และเติมลงใน 96 well plate ปริมาตร 100 μ L และใช้สารละลาย 50% DMSO เป็นกลุ่มควบคุมลบ (negative control) จากนั้นเติม MHB 60 μ L/well เติมนํ้า resazurin (150 μ g/mL) ปริมาตร 20 μ L/well เติมนํ้าเชื้อแบคทีเรีย หลุมละ 20 μ L/well นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาอ่านค่า MIC ดูอาหารจากหลุมมาหยดลงบน Muller Hinton Agar (MHA) นำไปบ่ม 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านค่า MBC โดยพิจารณาความเข้มข้นที่ไม่พบโคโลนีของเชื้อ การทดลองนี้ใช้ยาปฏิชีวนะ Ampicillin และ Gentamicin ความเข้มข้น 10.24 mg/mL เป็นกลุ่มควบคุมบวกสำหรับเชื้อ *S. epidermidis* และ *B. cereus* ตามลำดับ

ทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา ด้วยวิธี Time-Kill

วิธีการทดสอบทำตามรายงานของ Teethaisong Y., 2023¹⁵ เตรียมหลอดทดลองที่มี MHB ปริมาตร 9 mL แบ่งออกเป็นหลอดที่เติมสารสกัด UW เข้มข้น 2, 5 และ 10 เท่าของค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่ยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 500 μ L หลอดที่เติมยาปฏิชีวนะ Ampicillin หรือ Gentamicin เข้มข้น 8 μ g/mL ปริมาตร 500 μ L เป็น กลุ่มควบคุมบวก และหลอดที่เติม 50%DMSO ปริมาตร 500 μ L เป็นกลุ่มควบคุมลบ จากนั้นเติมแบคทีเรียความเข้มข้น 1×10^7 CFU/mL ปริมาตร 500 μ L ลงในทุกหลอด ผสมให้เข้ากัน นำไปเขย่าที่อุณหภูมิ 37°C ความเร็ว 120 รอบ/นาที ทำการนับจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตที่เวลา 0, 1, 2, 4, 6, 8, 18 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยเจือจางแบคทีเรียแบบ 10-fold serial dilution แล้วหยดลงบนเพลทอาหาร MHA ปริมาตร 10 μ L จำนวน 5 หยด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นับจำนวนโคโลนีแบคทีเรียที่เกิดขึ้นและสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรีย (CFU/mL) ต่อเวลา (h)

การศึกษาเซลล์แบคทีเรีย *B. cereus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscopy)

ทำการเลี้ยงแบคทีเรีย *B. cereus* ในอาหารเหลว LB ในระยะ Log-phase จากนั้น เติมสารสกัด UW ความเข้มข้น (5xMIC) 78 mg/mL บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ปั่นตกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที หยดเชื้อลงบนกระจกสไลด์ที่เคลือบด้วย 0.5% alcian blue บ่มที่ 4°C เป็นเวลา 5 นาที ทำการตรึงด้วย 2.5% (w/v) glutaraldehyde ใน 0.1 M PBS, pH 7.4 ที่ 4°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการล้างสามครั้งด้วย 0.1M PBS และย้อมด้วย 1% osmium tetroxide เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างสามครั้ง ทำการ dehydration ด้วยเอทานอลความเข้มข้น 70% - 100% ใช้เวลา 30 นาที/ครั้ง ตามลำดับ (ที่ความเข้มข้น 100% ทำสองครั้ง) นำไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Critical point drying machine (Polaron Range, CPD 7501) เคลือบตัวอย่างด้วยอนุภาคทองโดยใช้ Ion sputter coater (Polaron Range, SC7620) นำไปวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (LEO 1450VP, SEMTech Solution, USA)

ทดสอบการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส ด้วยวิธี Protease activity

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ เชื้อแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสเพื่อย่อยโปรตีนในอาหารทำให้เกิดเป็นวงใส หากสารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้จะปรากฏวงใสแคบลงหรือไม่เกิดเลย ใช้วิธีทดสอบตามรายงานของ Teethaisong Y., 2023¹⁵ เป็นการทดสอบการยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสซึ่งเป็นปัจจัยก่อโรคชนิดหนึ่งที่เชื้อแบคทีเรียสร้างออกมา โดยใช้ skim-milk agar plate เตรียม MHA ผสม 2% skim milk เติมสารสกัดที่ความเข้มข้น 0.5 เท่าของ MIC (3.90 mg/mL), 1.953 mg/mL, 0.9765 mg/mL ผสมให้เข้ากัน เทลงเพลทพลาสติกปริมาตร 25 mL ทั้งไว้ให้อาหารแข็ง โดยให้อาหารที่ไม่มีสารสกัดเป็นกลุ่มควบคุมบวก ทำการหยดเชื้อแบคทีเรียที่มีค่าการดูดกลืนแสง (OD) เท่ากับ 0.5 ที่ความยาวคลื่น 600 nm ปริมาตร 5 μ L ลงบนเพลท จากนั้นนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดวงใสที่เกิดขึ้นรอบรอยหยดของแบคทีเรีย

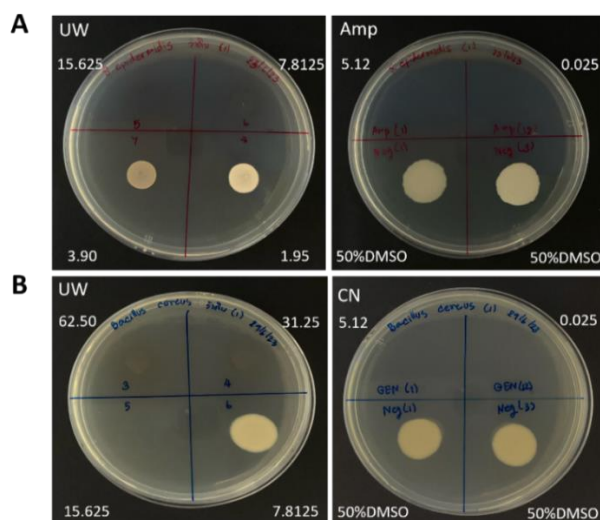
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลโดยใช้ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการวิจัย

1. ค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบ (UW) ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* และ *B. cereus* จากโรงเรือนเลี้ยงสุกร

ความเข้มข้นของสารสกัด UW ที่ต่ำที่สุด ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต (MIC) ของ *S. epidermidis* มีค่า 7.81 mg/mL และ *B. cereus* มีค่า 15.625 mg/mL ในขณะที่ความเข้มข้นของสารสกัด UW ที่ต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดเชื้อ (MBC) แสดงใน ภาพที่ 1 พบว่า *S. epidermidis* มีค่า 7.81 mg/mL และ *B. cereus* มีค่า 15.625 mg/mL ส่วนผลของยาปฏิชีวนะทั้ง Ampicillin และ Gentamicin สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ที่ความเข้มข้นต่ำสุด คือ 0.025 mg/mL ในขณะที่กลุ่มควบคุมลบ (50%DMSO) ไม่สามารถยับยั้งหรือฆ่าเชื้อได้

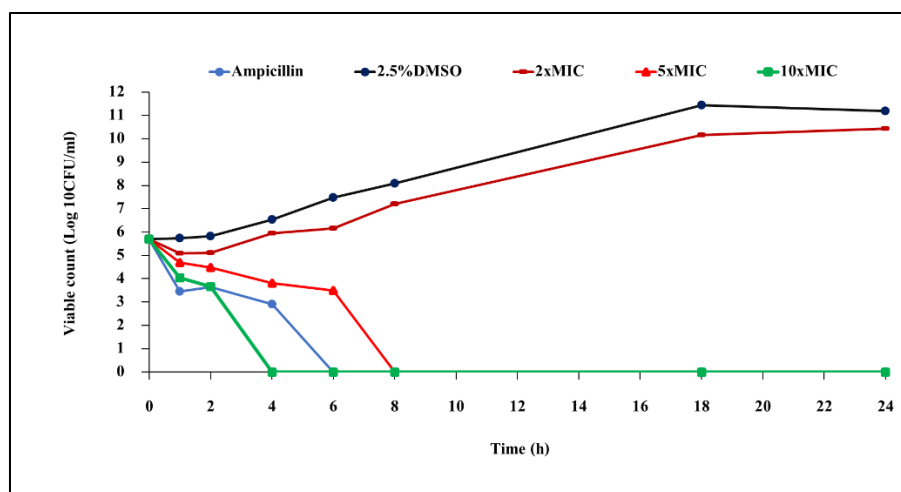


ภาพที่ 1 ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถกำจัดเชื้อ (MIC) ของ *S. epidermidis* (A) และ *B. cereus* (B) ของสารสกัด UW, ยา Ampicillin (Amp), ยา Gentamicin (CN) และ 50%DMSO

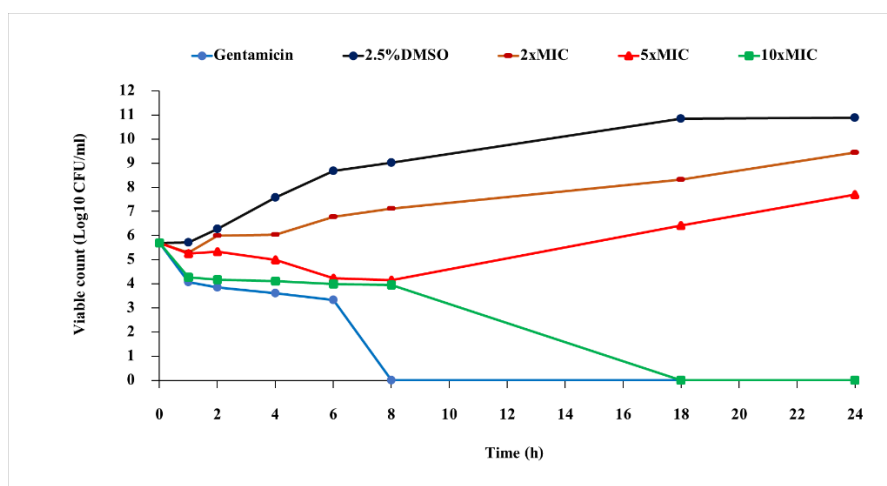
2. การยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียต่อหน่วยเวลา

ผลการทดสอบสารสกัด UW ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. epidermidis* ต่อหน่วยเวลา พบว่า ที่ความเข้มข้น 2 เท่า ของ MIC (15.6 mg/mL) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (50%DMSO) แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 5 เท่า ของ MIC (39 mg/mL) สารสกัดสามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 8 ชั่วโมง และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มเป็น 10 เท่า ของ MIC (78 mg/mL) พบว่าสารสกัดสามารถกำจัดเชื้อได้เร็วขึ้นที่เวลา 4 ชั่วโมง และเร็วกว่ากลุ่มควบคุมบวกที่มียา Ampicillin อีกด้วย ดังแสดงใน **ภาพที่ 2**

ส่วนผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ต่อหน่วยเวลา พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัด 2 เท่า ของ MIC (31.25 mg/mL) และ 5 เท่า ของ MIC (78 mg/mL) สามารถควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อได้ 24 ชั่วโมง เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมลบ (2.5%DMSO) ในขณะที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 10 เท่า ของ MIC (156.25 mg/mL) สารสกัดสามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งการกำจัดจะช้ากว่ากลุ่มควบคุมบวกที่มียา Gentamicin ที่สามารถกำจัดเชื้อได้ที่เวลา 8 ชั่วโมง ดังแสดงใน **ภาพที่ 3**



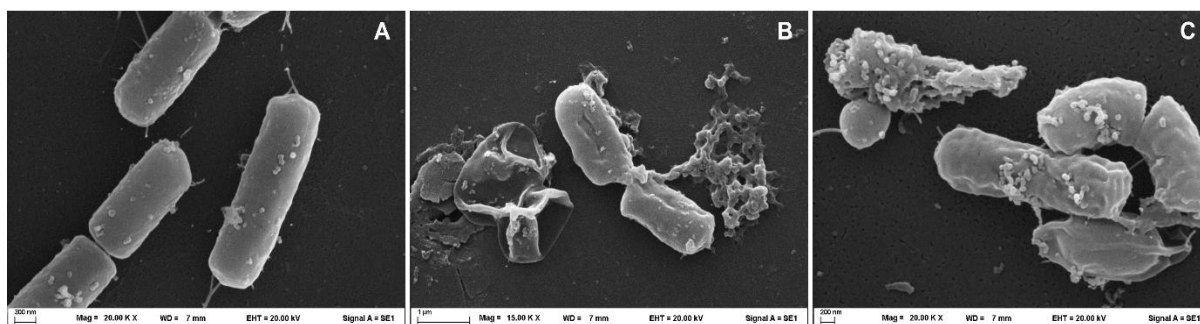
ภาพที่ 2 ผลของสารสกัด UW ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ในการยับยั้ง และ กำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ต่อหน่วยเวลา เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม



ภาพที่ 3 ผลของสารสกัด UW ที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน ในการยับยั้ง และ กำจัดเชื้อ *B. cereus* ต่อหน่วยเวลา เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม

3.ฤทธิ์ของสารสกัด UW ต่อโครงสร้างเซลล์ของแบคทีเรีย *B. cereus*

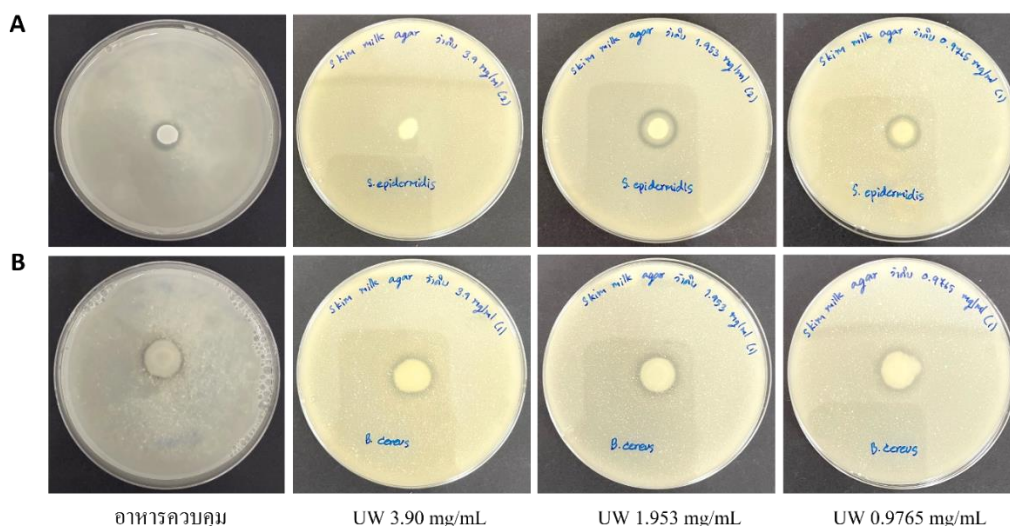
ภาพจากจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงให้เห็นว่าเซลล์แบคทีเรีย *B. cereus* ปกติ มีลักษณะเป็นแท่ง ผิวเรียบ ขนาดประมาณ $0.5-1 \times 3 \mu\text{m}$ (ภาพที่ 4A) เมื่อบ่ม *B. cereus* ร่วมกับยา Gentamicin ($0.5 \mu\text{g/mL}$) (ภาพที่ 4C) สังเกตเห็นว่าผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปมีลักษณะขรุขระ สูญเสียความคงตัวของผนังเซลล์ มีการยื่น โป่งนูนของผนังเซลล์ โดยยา Gentamicin เป็นยาปฏิชีวนะกลุ่ม aminoglycoside ยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีนของแบคทีเรียโดยจับกับไรโบโซม ทำให้ชะงักการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อบ่มแบคทีเรียร่วมกับสารสกัด UW (78 mg/mL) (ภาพที่ 4B) พบว่าเซลล์มีรูปร่างไม่แน่นอน มีลักษณะผิดปกติ ชัดเจน แสดงว่าสารสกัด UW ส่งผลต่อโครงสร้างและความคงตัวของเซลล์แบคทีเรีย *B. cereus*



ภาพที่ 4 ภาพ *B. cereus* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (A), *B. cereus* ที่ป่นร่วมกับสารสกัด UW 78 mg/mL (B) และ *B. cereus* ที่ป่นร่วมกับยา Gentamicin 0.5 µg/mL (C)
(Bar = 200 nm, (A) และ (C) กำลังขยาย 20,000x, (B) กำลังขยาย 15,000x)

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสจากเชื้อ *S. epidermidis* และ *B. cereus*

การทดสอบนี้เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพ หากสารสกัดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้จะปรากฏวงใส แคลงหรือไม่ปรากฏวงใส ทำการทดสอบโดยใช้สารสกัด UW ที่ความเข้มข้น เท่ากับ 3.90, 1.953 และ 0.9765 mg/mL ผลการทดสอบ พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 3.90 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส จากเชื้อ *S. epidermidis* ได้ โดยไม่พบวงใสเกิดขึ้น ในขณะที่ความเข้มข้นอื่นๆ ไม่สามารถยับยั้งได้ และพบว่าสารสกัดทุกความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอส ของเชื้อ *B. cereus* ได้ ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ความสามารถของสารสกัด UW ต่อการยับยั้งฤทธิ์เอนไซม์โปรตีเอส ของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* (A) และ *B. cereus* (B) ของสารสกัด UW ที่ความเข้มข้น 3.9, 1.953 และ 0.9765 mg/mL

สรุปผลการวิจัย

สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่พบมากในโรงเรือนเลี้ยงสุกร ได้แก่ *S. epidermidis* และ *B. cereus* มีค่า MIC เท่ากับ 7.81 และ 15.625 mg/mL ตามลำดับ มีค่า MBC เท่ากับ 7.81 และ 15.625 mg/mL ตามลำดับ เช่นกัน จากการทดสอบหาความเข้มข้น และเวลาที่เหมาะสมของสารสกัดในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดด้วยวิธี Time-kill พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 39 mg/mL (5xMIC) สามารถกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่เวลา 8 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 78 mg/mL (10xMIC) สามารถกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่เวลา 4 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 156.25 mg/mL (10xMIC) สามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* ได้ที่เวลา 18 ชั่วโมง โดยสารสกัด UW ความเข้มข้น 39 mg/mL ส่งผลต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรียเกิดการเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้พบว่าสารสกัดความเข้มข้น 3.90 mg/mL สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสซึ่งเป็นปัจจัยก่อโรคของเชื้อแบคทีเรีย *S. epidermidis* ได้ แต่ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *B. cereus*

อภิปรายผลการวิจัย

คุณภาพอากาศในโรงเรือนเลี้ยงสัตว์ ส่งผลต่อสุขภาพของแรงงานที่ต้องทำงานในโรงเรือนเป็นเวลาหลายชั่วโมง เชื้อจุลินทรีย์ในอากาศของโรงเรือนที่มีปริมาณสูงเมื่อเข้าสู่ร่างกายสามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงได้ จากรายงานคุณภาพอากาศในโรงเรือนเลี้ยงสุกรในเขตอำเภวารินชำราบ จังหวัดอุบลราชธานี ประเทศไทย³ พบแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Staphylococcus* sp. และ *Bacillus* sp. งานวิจัยในครั้งนี้ ทำการเก็บอากาศ แยกเชื้อและบ่งชนิดของแบคทีเรียจากโรงเรือนเลี้ยงสุกร จังหวัดชลบุรี สองสายพันธุ์ คือ *S. epidermidis* และ *B. cereus* ด้วยการทดสอบทางชีวเคมีและยีน 16s rRNA โดย *S. epidermidis* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปทรงกลม อยู่เป็นกลุ่ม พบได้ทั่วไปตามธรรมชาติ เป็นเชื้อประจำถิ่นบนผิวหนังและเยื่อของมนุษย์ ก่อให้เกิดการติดเชื้อฉวยโอกาส และก่อโรคในมนุษย์ เช่น การติดเชื้อที่ผิวหนัง บาดแผล ผื่น ผื่นคัน ผื่นแพ้ ผื่นแพ้สัมผัส และการติดเชื้อในกระแสเลือด เป็นต้น¹⁶ เชื้อ *B. cereus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปทรงท่อน สร้างสารพิษ พบได้ในสิ่งแวดล้อม ก่อโรคอาหารเป็นพิษ ติดเชื้อในกระแสเลือด และเยื่อหุ้มสมองอักเสบ ทั้งนี้เชื้อทั้งสองชนิดสามารถพบแพร่กระจาย และปนเปื้อนในโรงเรือนเลี้ยงสุกรเนื่องจากขยะมูลฝอย มูลสัตว์ การระบายอากาศที่ไม่เพียงพอ รวมถึงสุขอนามัยส่วนบุคคลที่ไม่เหมาะสมของแรงงาน ดังนั้น การควบคุมคุณภาพอากาศในโรงเรือนเลี้ยงสุกรจึงเป็นสิ่งสำคัญ การใช้สารเคมีเพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว ทำให้การตกค้างของสารเคมีสู่สิ่งแวดล้อม และอาจก่อให้เกิดการดื้อยาของจุลินทรีย์ จึงมีการศึกษาวิจัยสารสกัดจากธรรมชาติเพื่อนำมาทดแทนการใช้สารเคมี

กล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum* L.) สายพันธุ์มะลิอ่อน เป็นสายพันธุ์ที่นิยมปลูก และบริโภคในประเทศไทย ส่วนของ ผล เปลือก ใบ หัวปลี ของกล้วยน้ำว้าใช้ประโยชน์ทางยาได้¹⁷ เปลือกกล้วยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการบริโภค มีสารสำคัญหลายชนิด เช่น flavonoids, tannins, phlobatannins, alkaloids, glycosides, และ terpenoids มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านอักเสบ และต้านแบคทีเรีย¹² เปลือกกล้วยสีเขียวยังมีฤทธิ์ดีกว่าเปลือกกล้วยสีเหลือง¹⁸ มีรายงานสารสกัดจากเปลือกกล้วยสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium*, *M. catarrhalis* *S. pyogenes*, *E. aerogenes*, และ *K. pneumoniae*¹⁸⁻¹⁹ เช่นเดียวกับผลต้านแบคทีเรียในงานวิจัยครั้งนี้ พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้าดิบสามารถต้านแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ

B. cereus ที่แยกจากโรงเรียนเลี้ยงสุกรได้ โดย Lino et al., 2011 รายงานว่า แทนินซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก เป็นสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทำลายเซลล์แบคทีเรีย โดยแทนินมี astringent action ทำให้เกิดการตกตะกอนของโปรตีน จึงอาจส่งผลต่อโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียที่มีชั้นเปปติโดไกลแคนโดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก²⁰ สอดคล้องกับภาพจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ซึ่งพบว่า *B. cereus* ที่บ่มร่วมกับสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่าดิบมีความผิดปกติของผนังเซลล์ชัดเจน ทั้งนี้ปริมาณแทนินในเปลือกกล้วยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และระยะเวลาในการสุกของกล้วย โดยกล้วยดิบบมีปริมาณแทนินสูงกว่ากล้วยสุกถึง 5 เท่า²¹

สารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่าดิบความเข้มข้น 3.90 mg/mL สามารถยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสของ *S. epidermidis* แต่ไม่สามารถยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอสของ *B. cereus* ได้ ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าระดับความเข้มข้นของสารสกัดมีผลต่อความสามารถในการยับยั้งเอนไซม์ หรืออาจเนื่องจากความจำเพาะและประสิทธิภาพในการจับกันระหว่าง active compound ในสารสกัดกับ active site ของเอนไซม์ โดย *S. epidermidis* สร้าง serine protease Esp, aureolysin และ cysteine protease EcpA ซึ่งมีบทบาทในการเกิด biofilm และหลบหนีระบบภูมิคุ้มกัน⁴ *B. cereus* สร้าง neutral protease (NprA) และ collagenase ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม zinc-dependent metalloproteases⁵ มีรายงานการพบสารยับยั้งเอนไซม์โปรตีเอส (protease inhibitors) ที่แยกได้จากพืชหลายชนิด²² โดยส่วนมากเป็นสารกลุ่มที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ serine protease เช่น trypsin inhibitor และ chymotrypsin inhibitors เป็นต้น²² และรายงานของ Rao, NM., 1989 ที่พบ cysteine protease inhibitor ในสารสกัดผลกล้วยน้ำว่าดิบและสุก (*Musa paradisiaca*) ของประเทศอินเดีย²³

จากผลการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อต่อหน่วยเวลา พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว่าดิบความเข้มข้นที่ 39 mg/mL (5xMIC) สามารถกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่เวลา 8 ชั่วโมง เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดเป็น 10xMIC คือ 78 mg/mL สามารถกำจัดเชื้อ *S. epidermidis* ได้ที่เวลา 4 ชั่วโมง และที่ความเข้มข้น 156.25 mg/mL สามารถกำจัดเชื้อ *B. cereus* ได้ที่เวลา 18 ชั่วโมง ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดเปลือกกล้วยน้ำว่าดิบและเวลาที่ฆ่าเชื้อในความเข้มข้นต่างๆ นี้ สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อพัฒนาเป็นสารฉีดพ่นสำหรับกำจัดเชื้อแบคทีเรียภายในโรงเรียนเลี้ยงสุกร ที่มีความปลอดภัยต่อไปอีกทั้งเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการกำจัดเชื้อขั้นต้นเฉพาะแบคทีเรีย *S. epidermidis* และ *B. cereus* ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงประสิทธิภาพของสารสกัดอย่างชัดเจนควรทำการศึกษาเพิ่มเติมถึงกลไกในการทำลายเชื้อของสารสกัดร่วมด้วย
2. นำผลการศึกษาที่ได้ไปทดสอบในรูปแบบผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น ในรูปแบบสเปรย์ฉีดพ่น เพื่อนำไปใช้ให้สอดคล้องกับสถานการณ์จริง ต่อยอดนวัตกรรมและเทคโนโลยีที่เป็นประโยชน์ต่อชุมชนรวมถึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์ภายใต้นโยบายระดับประเทศเกี่ยวกับการพัฒนาที่ยั่งยืน (SDGs) ต่อไป
3. ควรทำการทดสอบความเป็นพิษในระดับเซลล์ก่อนการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณ จากทุนอุดหนุนการวิจัย ประเภทเงินรายได้ คณะ สหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 (ประเภททุนส่งเสริมการสร้างสรรค์นวัตกรรมและสิ่งประดิษฐ์) และได้รับรอง การอนุมัติให้ดำเนินการวิจัยด้านความปลอดภัยทางชีวภาพในงานวิจัย รหัสโครงการวิจัย IBC 028/2565

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักจัดการคุณภาพน้ำ กรมควบคุมมลพิษ (2556). คู่มือวิธีการหรือเทคโนโลยีที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงสุกร ประเภท ค. กรุงเทพฯ : กรมควบคุมมลพิษ.
2. Sowiak, M, Bródka, K, Buczyńska A. et al. An assessment of potential exposure to bioaerosols among swine farm workers with particular reference to airborne microorganisms in the respirable fraction under various breeding conditions. *Aerobiologia*, 2012;28: 121–133.
3. Boontee K, Kruawongsa Y, Srisakamkullawat S. Evaluation of Bioaerosols Concentrations in Mushroom, Swine and Poultry Farms: Case of Workers in Warinchamrab, Ubon Ratchathani. *Thai Science and Technology Journal*. 2019;28(9), 1627-1641. (In Thai)
4. Martínez-García S, Rodríguez-Martínez S, Cancino-Díaz ME, Cancino-Díaz JC. Extracellular proteases of *Staphylococcus epidermidis*: roles as virulence factors and their participation in biofilm. *APMIS* 2018; 126: 177–185.
5. Häse CC, Finkelstein RA. Bacterial extracellular zinc-containing metalloproteases. *Microbiological reviews*. 1993 Dec;57(4):823-37.
6. Donham K, Haglund P, Peterson Y, Rylander R, Belin L. Environmental and health studies of farm workers in Swedish swine confinement buildings. *Br J Ind Med*. 1989;46(1):31-7.
7. ทศพร อธิวงศ์กาญจนา, สุธีลักษณ์ ไกรสุวรรณ์และวัลภา แต้มทอง. (2566) ผลของเปลือกกล้วยน้ำว้าต่างสายพันธุ์ และความเข้มข้นของสารสกัดต่อปริมาณ สารแทนนิน และการยับยั้งแบคทีเรียบนผ้าฝ้าย การประชุมหาดีใหญ่วิชาการ ระดับชาติและนานาชาติ ครั้งที่ 14 วันที่ 19 พฤษภาคม 2566 มหาวิทยาลัยหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา หน้า 581-593.
8. EAboul-Enein AM, Salama ZA, Gaafar AA, Aly HF, Abou-Elalla F, Ahmed HA. Identification of phenolic compounds from banana peel (*Musa paradisiaca* L.) as antioxidant and antimicrobial agents. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 2016;8(4): 46-55.
9. สุคนธ์ ดันติไพบลย์วุฒิ, เทียนชัย น่วมเศรษฐี และ เพชรลดดา เดชาเย็นง.ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกผลไม้บางชนิด. *KKU Res. J.* 2555; 17(6): 880-894.
10. วลัยพร มัชพานและพัชราภรณ์ นาคเทวัญ. ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยเล็บมือนางและกล้วยหินในการต้านการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหาร. *แก่นเกษตร*. 2561; 46 ฉบับพิเศษ1:1236-1241.

11. Hassan HF, Hassan UF, Usher OA, Ibrahim AB, Tabe NN. Exploring the potential of banana (*Musa sapientum*) peels in feed formulation. International Journal of Advanced Research in Chemical Science. 2018;5(5):10-4.
12. Hikal WM, Said-Al Ahl HAH, Bratovic A, Tkachenko KG, Sharifi-Rad J, Kačaniová M, Elhourri M, Atanassova M. Banana Peels: A Waste Treasure for Human Being. Evid Based Complement Alternat Med. 2022;7616452.
13. Phuaklee P, Ruangnoo S, Itharat A. Anti-inflammatory and antioxidant activities of extracts from *Musa sapientum* peel. J Med Assoc Thai. 2012 Jan;95 Suppl 1:S142-6. PMID: 23964457.
14. SOLTANI M, ALIMARDANI R, OMID M. Design and development of a portable banana ripeness inspection system. Journal of American Science. 2011; 7:401-405.
15. Teethaisong Y, Chueakwon P, Poolpol K, Ayamuang IO, Suknasang S, Apinundecha C, Eumkeb G. *Stephania suberosa* Forman extract synergistically inhibits ampicillin- and vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. Saudi J Biol Sci. 2023 Feb;30(2):103557.
16. Namvar AE, Bastarahang S, Abbasi N, Ghehi GS, Farhadbakhtarian S, Arezi P, Hosseini M, Baravati SZ, Jokar Z, Chermahin SG. Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: a systematic review. GMS Hyg Infect Control. 2014 Sep 30;9(3):Doc23.
17. ข้อมูลพืชสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร. (2565). กล้วยน้ำว้า. สืบค้นเมื่อวันที่ 16 มกราคม 2565 จาก http://pharmacy.su.ac.th/herbmed/herb/text/herb_detail.php?herbID=16
18. M. S. Mokbel and F. Hashinaga. Antibacterial and antioxidant activities of banana (*Musa*, AAA cv. cavendish) fruits peel. American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 2005; 1(3): 125–131.
19. Chabuck ZAG, Al-Charrakh AH, Hindi NKK, Hindi SKK. Antimicrobial effect of aqueous banana peel extract, Iraq. Res Gate Pharm Sci. 2013;1:73-5.
20. P. B. Lino, C. F. Corrêa, M. E. D. L. Archondo, and D. C. A. L. Dellova. Evaluation of post-surgical healing in rats using a topical preparation based on extract of *Musa sapientum* L., Musaceae, epicarp. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2011; 21(3): 491–496.
21. วิภา สุโรจนะเมธากุล และ ชิตชม อีรวงษ์. การสกัดแทนนินจากเปลือกกล้วย. วารสารเกษตรศาสตร์ 2537;28:578-586.
22. Kim JY, Park SC, Hwang I, Cheong H, Nah JW, Hahm KS, Park Y. Protease inhibitors from plants with antimicrobial activity. Int J Mol Sci. 2009;10(6):2860-2872.
23. Rao NM. Cysteine protease inhibitors from banana (*Musa paradisiaca*). Curr Sci. 1989;58(23):1320-1322. Available from: <http://www.jstor.org/stable/24092728>