

ประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองในการยับยั้ง แบคทีเรียก่อโรคบางสายพันธุ์

Efficacy of Hom Thong Banana (*Musa* sp., AAA group, *Gros Michel* subgroup) Peel Extracts for the Inhibition of some Pathogenic Bacteria

กึ่งกาญจน์ ผินแห่¹ และ พัชรนันท์ อมรรัตนพันธ์^{1*}

Kingkarn Phinhae¹ and Patcharanan Amornrattanapan^{1*}

Received: 31 May 2023

Revised: 28 December 2023

Accepted: 24 March 2024

บทคัดย่อ

เปลือกกล้วยหอมทองเป็นขยะอาหารที่หาได้ง่ายและมีสารพฤกษเคมีที่น่าสนใจสำหรับนำมาใช้ศึกษาฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย งานวิจัยนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อเตรียมสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบโดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอลที่มีความเข้มข้น 95% และเมทานอลที่มีความเข้มข้น 100% และศึกษาผลของสารสกัดต่อความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย 3 สายพันธุ์ คือ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 จากผลการทดสอบด้วยวิธี Disc diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.50 ± 1.29 มิลลิเมตร ในขณะที่สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบที่สกัดด้วยเมทานอลไม่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 สายพันธุ์ จากผลการทดลองดังกล่าวจึงได้นำสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองดิบที่สกัดด้วยเอทานอลไปหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ด้วยวิธี Macro broth dilution technique และหาความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) แบคทีเรียดังกล่าว พบว่ามีค่า MIC และ MBC เท่ากับ 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: เปลือกกล้วย กล้วยหอมทอง สารสกัด การสกัดด้วยเอทานอล การยับยั้งแบคทีเรีย

¹ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี 20131

¹Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University, Chonburi, Thailand 20131

*ผู้เขียนประสานงาน (Corresponding author) e-mail: patcharanan@go.buu.ac.th

ABSTRACT

Hom Thong banana (*Musa* sp., AAA group, *Gros Michel*) peels are inedible food wastes that are readily available and contain promising phytochemical compounds for the elucidation of their antibacterial activities. Hence, the purpose of this research was to study the antibacterial effects of the extracts from unripe Hom Thong banana peel. Two different solvents, 95% ethanol and 100% methanol, were used for the extraction of banana peels and investigated the efficacy of the extracts for the inhibition of three strains of the following bacteria: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 and *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Our results showed that ethanolic extract of unripe Hom Thong banana peel had the ability to inhibit *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 with the inhibition zone diameter of 13.50 ± 1.29 mm while methanolic extract of unripe Hom Thong banana peel did not show antibacterial effects against all of the three strains of bacteria. Determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) of the extract that could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 by macro broth dilution techniques followed by the investigation of minimum bactericidal concentration (MBC) on the MHA medium showed the values of MIC and MBC at 10 and 20 mg/ml, respectively.

Keywords: Banana peel; Hom Thong banana; Extracts; Ethanolic extraction; Bacterial inhibition

บทนำ

กล้วยหอมจัดเป็นพืชเศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่นิยมปลูกในหลายพื้นที่ของประเทศไทย โดยพันธุ์กล้วยหอมที่ปลูกกันมาก ได้แก่ กล้วยหอมทอง ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่มีจีโนม AAA ชื่อสามัญ *Gros Michel* [1] จึงทำให้สามารถหากกล้วยพันธุ์นี้มาใช้ในการศึกษาได้ง่าย อีกทั้งยังมีราคาไม่แพง ในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกกล้วยหอม 42,117 ไร่ ซึ่งให้ผลผลิต 147,494 ตัน อีกทั้งยังเป็นพืชที่สามารถส่งออกจำหน่ายยังตลาดต่างประเทศได้ [2] ทุกส่วนของกล้วยสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ เช่น ผลกล้วยสามารถนำมารับประทานหรือประกอบอาหาร ใบกล้วยสามารถนำไปรักษาแผลหรือประโยชน์ในด้านอื่นได้ และเปลือกกล้วยซึ่งเป็นขยะอาหารนั้นก็มีความสำคัญที่จะนำมาแปรรูปให้เกิดประโยชน์ได้เนื่องจากเปลือกกล้วยมีสารพฤกษเคมีหลายชนิดเป็นองค์ประกอบ เช่น สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สเตอรอล ซึ่งสารเหล่านี้มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ต้านมะเร็ง และต้านจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ทั้งแบคทีเรียและยีสต์ [3, 4]

มีรายงานว่าเปลือกกล้วยหอมดิบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมที่สูงกว่าเปลือกกล้วยหอมสุก [5, 6] และมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่ไม่แตกต่างกัน [6] ดังนั้นเปลือกกล้วยหอมดิบจึงเป็นแหล่งที่น่าสนใจสำหรับการสกัดสารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ อีกทั้งการสกัดสารพฤกษเคมีต่าง ๆ ออกมาจากพืชสามารถทำได้โดยการแช่พืชในตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและไม่ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะ [7]

Escherichia coli มีทั้งสายพันธุ์ที่ก่อโรคและไม่ก่อโรค โดยสายพันธุ์ส่วนใหญ่ที่พบในลำไส้มนุษย์และสัตว์เลื้อยคืบเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อโรค [8] สำหรับ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคนั้นมีกลไกการก่อโรคและสามารถสร้างสารพิษได้แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น Enterotoxigenic *E. coli* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างสารพิษ enterotoxin ทำให้เกิดอาการท้องร่วงแบบเฉียบพลัน ถ่ายเหลวเป็นน้ำ หรือเชื้อ Enterohaemorrhagic

E. coli ที่สร้างสารพิษ Shiga ทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง ถ่ายเป็นมูกเลือด ก่อให้เกิดกลุ่มอาการเม็ดเลือดแดงแตกและไตวายเฉียบพลันได้ [9] เชื้อ *Salmonella* ประกอบด้วยกลุ่มของ typhoidal *Salmonella* ที่เป็นสาเหตุของโรคไข้ไทฟอยด์ และกลุ่มของ non-typhoidal *Salmonella* ที่เป็นสาเหตุหลักของโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบในมนุษย์ โดยเชื้อทั้งสองกลุ่มสามารถแพร่กระจายไปในกระแสเลือดได้ [10] *Salmonella* Typhimurium เป็นซีโรวาร์หนึ่งของ non-typhoidal *Salmonella* ที่ก่อโรคในมนุษย์ได้มากที่สุดโดยจะต้องได้รับปริมาณเชื้อ 10^3 - 10^5 เซลล์ จึงจะแสดงอาการ [11] โดยในระยะแรกจะมีอาการคลื่นไส้ อาเจียน เจ็บปวดบริเวณท้องหรือท้องร่วง และพบเม็ดเลือดขาวปะปนมากับอุจจาระ ซึ่งความรุนแรงของอาการที่เกิดขึ้นจะแตกต่างกันไปตามปริมาณและชนิดของเชื้อที่บริโภคหรือความต้านทานของผู้บริโภค [12] เชื้อ *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีเซลล์รูปร่างกลม เรียงตัวคล้ายพวงองุ่น สามารถทนความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และสร้างสารพิษ enterotoxin ได้ และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ ซึ่งเกิดจากการรับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษ โดยสารพิษจะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่อมีเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนอยู่ในอาหาร 10^5 เซลล์ต่อกรัมอาหาร จึงทำให้เกิดโรค Acute infection และ Acute toxemia ได้ [13] นอกจากนี้ *S. aureus* ยังสามารถก่อโรคได้ในส่วนอื่น ๆ ของร่างกายมนุษย์ได้ เช่น ผิวหนัง กระแสเลือด กระดูกและปอด [14]

แม้ว่าจะมีงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่รายงานการใช้สารสกัดจากเปลือกกล้วยในการยับยั้งแบคทีเรียแต่พันธุ์ของกล้วยที่ใช้ในการศึกษาเหล่านั้นมีหลายพันธุ์ อีกทั้งยังมีการใช้ตัวทำละลายอินทรีย์และสายพันธุ์ของแบคทีเรียทดสอบที่แตกต่างกัน เช่น *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella* spp., *Burkholderia cepacia*, *Vibrio* spp., *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *S. aureus*, *Bacillus* spp., *Micrococcus luteus* [15-19] รวมทั้งงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ต้านแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมนั้นยังมีอยู่ไม่มาก [20-21] ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีความสนใจในการสกัดสารจากเปลือกของผลกล้วยหอมทอง (*Musa* sp., AAA group, *Gros Michel* subgroup) ด้วยตัวทำละลายเอทานอลและเมทานอลเพื่อใช้ในการยับยั้งแบคทีเรียสายพันธุ์ไม่ก่อโรค ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922 [22], และแบคทีเรียสายพันธุ์ก่อโรค ได้แก่ *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 [23] และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 [24]

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างเปลือกกล้วย

ซื้อตัวอย่างกล้วยหอมทองดิบที่มีเปลือกสีเขียวทั้งผลจากตลาดหนองมน จังหวัดชลบุรี แล้วนำตัวอย่างผลกล้วยมาล้างน้ำและนำมาปอกเปลือกออก หั่นเปลือกกล้วยเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปตากให้แห้งแล้วอบใน Hot air oven (RE115, redLINE by BINDER, Germany) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง จากนั้นใช้เครื่องปั่นบดให้ละเอียด และเก็บตัวอย่างผงเปลือกกล้วยไว้ในขวดทึบแสง ปิดฝาให้สนิท และเก็บไว้ในโถดูดความชื้น

2. การสกัดสารจากตัวอย่างเปลือกกล้วยหอมทอง

ชั่งตัวอย่างผงเปลือกกล้วยหอมทองที่เตรียมจากข้อ 1 มา 40 กรัม เติมตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ เอทานอล 95% (เตรียมจากเอทานอล 99.9%, QReC, New Zealand) และเมทานอล 100% (เตรียมจากเมทานอล 99.8%, QReC, New Zealand) ชนิดละ 400 มิลลิลิตร (อัตราส่วนโดยน้ำหนักต่อปริมาตรของตัวอย่างผงเปลือกกล้วยต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1:10) นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า (VS-202D, Green SSeriker II, Korea) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

ซ้ำ 2 ครั้ง และเก็บสารละลายที่ได้หลังจากการกรองไประเหยตัวทำละลายในเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator; Buchi R-215, Switzerland) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่เข้มข้นทำการชั่งสารสกัดที่ได้ แล้วนำไปคำนวณหาค่า % Yield ของสารสกัด โดยใช้สูตรดังนี้

$$\% \text{ Yield ของสารสกัด} = \frac{(\text{น้ำหนักของสารสกัดที่ได้หลังจากการทำการระเหย}) \times 100}{\text{น้ำหนักแห้งของผงเปลือกกล้วย}}$$

นำสารสกัดที่ได้ไปละลายใน DMSO 100% (Sigma-Aldrich, France) ให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม และเก็บในขวดที่บดแสงที่ 4 องศาเซลเซียส

3. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion ([25], ดัดแปลงจากพัทวัฒน์ สีขาว และคณะ [26])

เพาะเลี้ยงแบคทีเรียซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ในอาหาร Nutrient Broth (NB; Himedia, India) 20 มิลลิกรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปรับปริมาณเชื้อให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland Standard No. 0.5 จากนั้นใช้ก้านสำลีปลอดเชื้อจุ่มลงในเซลล์แขวนลอย แล้วป้ายเชื้อแบคทีเรียให้ทั่วผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA; BD Difco, France) ที่ให้แห้งประมาณ 3-5 นาที นำ Paper Disc ที่มีสารสกัดความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ปริมาตร 20 ไมโครลิตร/ดิสก์ ไปวางบนผิวหน้าอาหาร MHA ที่มีเชื้อทดสอบ ทั้งไว้ให้แห้งประมาณ 10 นาที โดยมียาปฏิชีวนะ Gentamicin (10 ไมโครกรัม/ดิสก์; Oxoid, UK) เป็น Positive Control เนื่องจากเป็นยาปฏิชีวนะที่มีประสิทธิภาพในการฆ่าแบคทีเรียแกรมลบและสามารถยับยั้งสายพันธุ์ของ *S. aureus* ได้ [27, 28] ตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต [29] และมี 100% Dimethyl Sulfoxide (DMSO) เป็น Negative Control เนื่องจากเป็นสารเคมีที่ใช้ในการละลายสารสกัดตามที่อธิบายไว้ในข้อ 2 ของวิธีดำเนินการวิจัย นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบการเกิดบริเวณยับยั้งโดยวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (Clear zone) (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

4. การหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย (The minimum inhibitory concentration ; MICs) ด้วยวิธี broth dilution technique (ดัดแปลงจาก CLSI [30])

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหารเหลว Nutrient broth 2 มิลลิกรัม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อแบคทีเรียมาแขวนลอยใน 0.85% saline solution (เตรียมจาก NaCl, RCI Labscan, Thailand) 5 มิลลิกรัมและปรับค่าความเข้มข้นให้เท่ากับ McFarland standard no. 0.5 (1.5×10^8 CFU/มิลลิกรัม)

เจือจางสารสกัดแบบ 2-fold dilution ในอาหารเหลว Muller Hinton Broth (MHB; BD Difco, France) ในหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มิลลิเมตร ให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัด เท่ากับ 40 - 0.625 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม

นำเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมตามที่อธิบายข้างต้นไปใส่ในหลอดทดลองที่มีสารสกัดหลอดละ 1000 ไมโครลิตร ทำให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดเท่ากับ 20 - 0.312 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม

เตรียมชุดควบคุมทั้งหมด 3 ชุด ได้แก่ Negative control (เติม 4% DMSO 1000 ไมโครลิตร และเติมเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ซึ่งทำให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO ที่ 2% ซึ่งเป็นความ

เข้มข้นที่เท่ากับความเข้มข้นสุดท้ายของ DMSO ในชุดทดสอบที่มีสารสกัดผสมกับเชื้อแบคทีเรีย) growth control (เติมเชื้อแบคทีเรีย ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร และเติมอาหาร MHB 1000 ไมโครลิตร) และ Sterility control (ใส่อาหารเหลว MHB 2000 ไมโครลิตร)

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา สังเกตความขุ่นและความใสของสารละลายในหลอดทดลอง จากนั้นหยดสีย้อม Resazurin 1.35 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (เตรียมจาก Resazurin sodium salt, Merck, Germany) ลงในหลอดทดลอง หลอดละ 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ตรวจสอบผลโดยการสังเกตสีของสารละลายในหลอดทดลอง โดยหลอดทดลองที่มีสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูแสดงว่ามีการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย และหลอดทดลองที่มีสารละลายสีน้ำเงินหรือสีน้ำตาลแสดงว่าไม่มีการเจริญของแบคทีเรีย และหาค่า MIC ได้จากหลอดที่มีสารสกัดความเข้มข้นต่ำสุดที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรีย (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง สำหรับการหาค่า MICs)

5. การหาค่า MBC ของสารสกัด (ดัดแปลงจาก Parveka *et al.* [31])

ปิเปตต์ 10 ไมโครลิตรจากหลอดทุกหลอดที่ไม่พบการเจริญของแบคทีเรียจากผลการหาค่า MIC และปิเปตต์ตัวอย่างจากหลอดที่เป็นชุดควบคุม หลอดละ 10 ไมโครลิตรมาหยด (Drop) ลงบนอาหาร Muller Hinton Agar (MHA) โดยทำซ้ำ 3 จาน นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ้าไม่พบการเจริญของแบคทีเรียในสถานะที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ต่ำที่สุดแสดงว่าความเข้มข้นนั้นเป็นค่า MBC

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งที่วัดได้จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Agar Disc Diffusion แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และถูกนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้ Dependent Samples t-Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในซอฟต์แวร์ JMP version 17.2.0 [32]

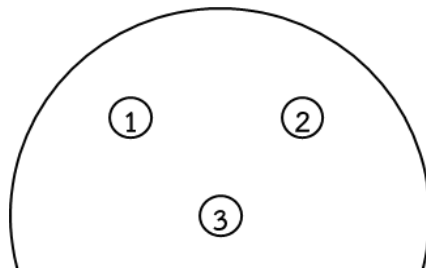
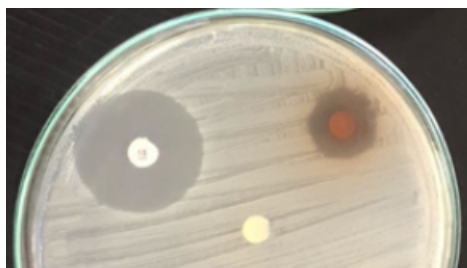
ผลการวิจัย

1. การสกัดสารจากตัวอย่างเปลือกกล้วยหอมทอง

จากการสกัดสารจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล 95% และเมทานอล 100% พบว่าสารที่สกัดได้จากเปลือกกล้วยหอมทองมีสีน้ำตาลและเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า % yield ของสารสกัดพบว่าค่า % yield ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลมีค่า 9.9% และ 11% ตามลำดับ

2. การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี Disc Diffusion

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 25922 *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยใช้ Disc diffusion techniques โดยปิเปตต์สารสกัดที่มีความเข้มข้น 400 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไปบนแผ่นดิสก์แผ่นละ 20 ไมโครลิตร ซึ่งทำให้มีความเข้มข้นของสารสกัดเท่ากับ 8 มิลลิกรัมต่อดิสก์ จากผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้เพียงชนิดเดียว โดยมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง เท่ากับ 13.50 ± 1.29 มิลลิเมตร (ภาพที่ 1 และตารางที่ 1) และสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเมทานอลไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดที่นำมาทดสอบ (ตารางที่ 1) จากผลการทดลองข้างต้นจึงได้นำสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลไปศึกษาหาค่า MIC และค่า MBC ต่อไป



ภาพที่ 1 การเกิด Inhibition zones ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดย 1 คือ ยาปฏิชีวนะ Gentamicin ที่ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อดิสก์ (Positive Control); 2 คือ สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทอง; 3 คือ 100% DMSO (Negative Control)

ตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยมีเอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี Disc Diffusion

ตัวอย่างที่นำมา ทดสอบฤทธิ์ยับยั้ง แบคทีเรีย	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition zone) (มิลลิเมตร)		
	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella</i> Typhimurium ATCC 13311
สารสกัดจากเปลือก กล้วยหอมที่สกัดด้วย เอทานอล	-	13.50 ± 1.29 ^a	-
สารสกัดจากเปลือก กล้วยหอมที่สกัดด้วย เมทานอล	-	-	-
ยาปฏิชีวนะ Gentamicin (10 ไมโครกรัมต่อดิสก์)	22.00 ± 2.73 ^c	15.63 ± 0.74 ^b	13.63 ± 0.95 ^a
100% DMSO	-	-	-

หมายเหตุ - คือ ไม่มี Inhibition zone

ตัวอักษร ^{a-d} ที่ต่างกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย (minimum inhibitory concentration: MIC) ด้วยวิธี broth dilution technique

จากการทดสอบเพื่อตรวจดูการเกิดบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพเพื่อตรวจคัดกรองฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ในขั้นเบื้องต้น ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงเป็นการทดสอบหาค่าความ

เข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Broth Dilution ซึ่งเป็นการทดสอบเชิงปริมาณที่ทำให้สามารถทราบความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งเชื้อได้ ในการทดสอบนี้ได้นำเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 มาทดสอบกับสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 20 – 0.312 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อหยดสี Rezasurin ลงไปพบว่าหลอดที่มีสารสกัดที่มีความเข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีเชื้อเจริญ โดยสังเกตได้จากสารละลายที่มีสีน้ำตาลเนื่องจากสีของสารสกัดที่เป็นสีน้ำตาลผสมอยู่กับ Resazurin ที่มีสีน้ำเงิน (ภาพที่ 2) ดังนั้นค่า MIC ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลสำหรับยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 มีค่าเท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

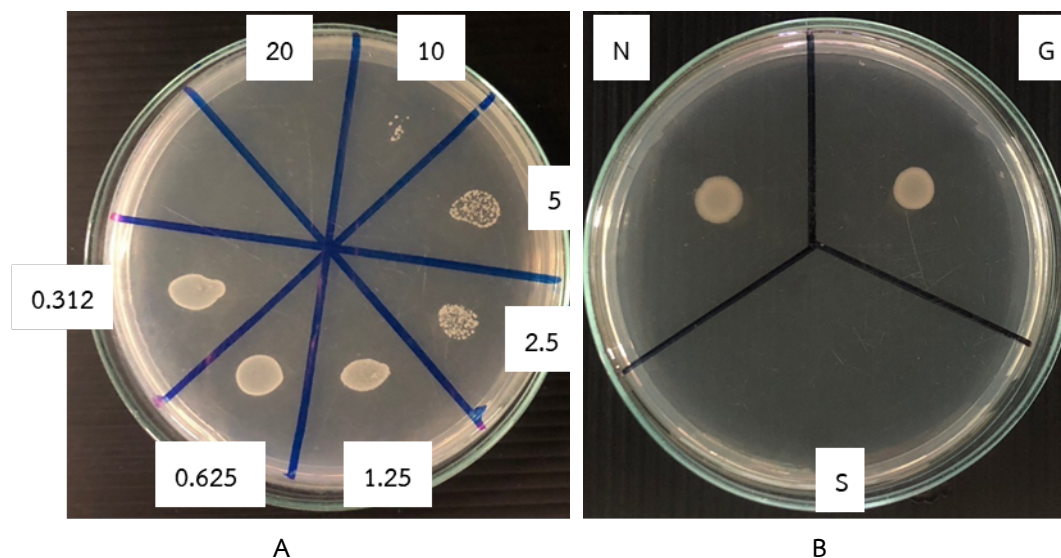
20	10	5	2.5	1.25	0.625	0.312	N	G	S
----	----	---	-----	------	-------	-------	---	---	---



ภาพที่ 2 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 โดยใช้ความเข้มข้นสุดท้ายของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่ 20-0.312 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดย N คือ Negative control; G คือ Growth control และ S คือ Sterility control

4. ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (minimum bactericidal concentration: MBC) ด้วยวิธี agar dilution technique

จากผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ (MBC) โดยนำหลอดที่ทดสอบหาค่า MIC ที่ไม่พบการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 มาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MHA โดยใช้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 โดยมีค่า MBC เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลบนอาหาร MHA โดย A = หลอดทดสอบที่มีความเข้มข้นของสารสกัดที่ 20 - 0.312 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ตามลำดับ; B = ชุดควบคุม ได้แก่ Growth control (G), Negative control (N) และ Sterility control (S)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ได้ทำการสกัดสารพิษจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยวิธีการแช่ในตัวทำละลาย (Maceration) ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่ายแต่มีประสิทธิภาพต่ำในการสกัดสาร [33] จึงทำให้ได้ค่า % yield ของสารสกัดที่ไม่สูง จากการสกัดสารจากเปลือกกล้วยหอมทองโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล 95% และเมทานอล 100% ในงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองมีสีน้ำตาล และเมื่อนำมาวิเคราะห์ค่า % yield ของสารสกัดพบว่าค่า % yield ของสารสกัดจากกล้วยหอมที่สกัดโดยเอทานอลและเมทานอลมีค่า 9.9 % และ 11 % ตามลำดับ ในขณะที่ Chaudhry *et al.* [15] รายงานว่าสามารถสกัดสารจากเปลือกกล้วยได้ 7.39% และ 4.36% เมื่อใช้เอทานอลและเมทานอลความเข้มข้น 100% ในการสกัด ตามลำดับ

เปลือกกล้วยมีสารพิษหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิกและแคโรทีนอยด์ เป็นองค์ประกอบและเปลือกกล้วยดิบหลายสายพันธุ์ เช่น เปลือกกล้วยหอม และเปลือกกล้วยไข่ จะมีปริมาณของสารฟีนอลิกสูงกว่าเปลือกกล้วยสุก [6, 34] สารประกอบฟีนอลิกสามารถจำแนกได้ 5 กลุ่ม คือ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สเตอโรนินส์ ไดเฟอรูลอยลิคมีเทนส์ และแทนนิน [35] ในงานวิจัยนี้ได้เลือกใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ เอทานอลและเมทานอล ในการสกัดสารพิษจากเปลือกกล้วยเนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งที่สามารถใช้สำหรับสกัดสารในกลุ่มฟีนอลิกได้ เช่น แทนนิน ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล เป็นต้น [36] และงานวิจัยของนิธิ ตั้งศิริทรัพย์ [37] สันนิษฐานว่าสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียที่พบในเปลือกกล้วยดิบนั้นจัดเป็นสารชนิดมีขี้ผึ้งหรือไม่มีขี้ผึ้ง เช่น ฟลาโวนอยด์ ไดแอริลเฮปทานอยด์ สเตอรอลและอะไกลโคไซด์ ซึ่งสารสำคัญทั้ง 4 ชนิด มีฤทธิ์

ในการยับยั้งแบคทีเรียและการใช้ตัวทำลายที่เป็นสารชนิดมีชีวะจะสกัดได้สารสำคัญในปริมาณที่มากกว่าการใช้ตัวทำลายที่ไม่มีชีวะ

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลและเมทานอลโดยวิธี Disc Diffusion พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้เพียงชนิดเดียว มีงานวิจัยอื่นเช่นกันที่รายงานฤทธิ์ยับยั้ง *S. aureus* ของสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่สกัดด้วยเอทานอล โดย Likittrakulwong et al. [21] รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้โดยมีขนาดของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.83 ± 1.04 มิลลิเมตร Chaudhry et al. [15] รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยน้ำว้า (*Musa sapientum*) ที่สกัดด้วยเอทานอลด้วยวิธี Maceration สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้โดยมีขนาดของบริเวณยับยั้งเท่ากับ 8.07 มิลลิเมตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 600 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร Balmes et al. [16] รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยป่า (*Musa acuminata*) ที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้โดยมีขนาดของบริเวณยับยั้ง 5-9 มิลลิเมตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร ในขณะที่ Hanafy et al. [17] รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยป่า (*Musa acuminata* variety *Grand nan*) ที่สกัดด้วยเอทานอลไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเมทานอลในงานวิจัยนี้ไม่แสดงกิจกรรมยับยั้งแบคทีเรียทุกชนิดที่นำมาทดสอบรวมทั้ง *S. aureus* ซึ่งอาจเกิดจากการที่สารสกัดดังกล่าวมีองค์ประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างจากสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอล อีกทั้งอาจจะมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ไม่สูงพอที่จะแสดงให้เห็นผลการยับยั้งแบคทีเรียได้ [38-39] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอื่นเช่นกันที่รายงานว่าการสกัดจากเปลือกกล้วยที่สกัดด้วยเมทานอลไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus*, *Bacillus cereus* และ *Listeria monocytogenes* ได้ [17] และอีกงานวิจัยหนึ่งที่รายงานว่าการสกัดจากเปลือกกล้วยที่สกัดด้วยเมทานอลที่ความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตรไม่สามารถยับยั้ง *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *E. coli* ได้ [15]

จากงานวิจัยนี้พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกได้เพียงชนิดเดียว และไม่สามารถยับยั้ง *E. coli* ATCC 25922 และ *S. Typhimurium* ATCC 13311 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบได้ สอดคล้องกับงานวิจัยของมนัสนันท์ นิพนธ์รัมย์ และคณะ [40] ที่ได้รายงานว่าโดยส่วนใหญ่แบคทีเรียแกรมลบจะมีความไวต่อสารต้านจุลชีพน้อยกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบจะอุดมไปด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการซึมผ่านของสารต้านจุลชีพ และจากงานวิจัยนี้ สารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีชั้นเปปติโดไกลแคน แต่ผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบประกอบด้วยเมมเบรนชั้นนอก 80 % และมีเปปติโดไกลแคน 20% ซึ่งเมมเบรนชั้นนอกของแบคทีเรียแกรมลบมีลิโปพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบ มีหน้าที่ป้องกันสารจากภายนอกเข้าสู่ภายในเซลล์ ขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกไม่มีเมมเบรนชั้นนอก สารจากภายนอกจึงสามารถเข้าสู่ภายในเซลล์ได้ง่ายกว่า [41]

นอกจากนี้งานวิจัยนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองมีค่า MIC สำหรับการยับยั้งแบคทีเรีย *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิเมตร ซึ่งมีความใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Sirajudin et al. [18] ที่รายงานว่าการฆ่าเชื้อของสารสกัดจากเปลือกกล้วย *Musa paradisiaca* variety *Tanduk* ในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) *S. aureus* มีค่าเท่ากับ 12.5 และ 25 มิลลิกรัม

ต่อมิลลิลิตรตามลำดับ แต่เมื่อเทียบกับการศึกษาของ Likittrakulwong et al. [21] ที่รายงานว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ (MIC) และฆ่าเชื้อ (MBC) *S. aureus* เท่ากันที่ 1.66 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และรายงานของนิธิ ตั้งศิริทรัพย์ [37] ที่พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบที่สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้น 95% มีค่า MIC สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เท่ากับ 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมดิบในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) เท่ากับ 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อเทียบกับงานวิจัยของ Ehiowemwenguan et al. [19] พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยที่สกัดด้วยเอทานอลมีค่า MIC สำหรับยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. aureus* เท่ากับ 512.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดจากเปลือกกล้วยในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) >1025 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากผลการศึกษาเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการสกัดสารให้ได้ผลดีเพื่อใช้ในการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียอาจขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ใช้ รวมถึงรายละเอียดของขั้นตอนในการสกัดสาร

โดยสรุปงานวิจัยนี้ได้ศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองในสถานะดิบในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด คือ *E. coli* ATCC 25922, *S. Typhimurium* ATCC 13311 และ *S. aureus* ATCC 25923 พบว่าสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมที่สกัดด้วยเอทานอลมีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก 1 ชนิด คือ *S. aureus* ATCC 25923 โดยมีค่าเฉลี่ยของขนาดบริเวณยับยั้งเท่ากับ 13.50 ± 1.29 มิลลิเมตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาหาความเข้มข้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 บนอาหาร MHA พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองที่สกัดด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ATCC 25923 ได้

References

- [1] Sangkasa-ad, P., et al. (2009). *Conservation of Musa sp. Genetic Resources in vitro*. Available from <http://lib.doa.go.th/multim/BB01111.pdf>. Accessed date: 15 October 2023. (in Thai)
- [2] Office of Agricultural Economics. (2023). *Information of Agricultural Economics of Individual Product*. Available from <https://oea.go.th/assets/portals/1/files/journal/2566/commodity2565.pdf>. Accessed date: 1 April 2023. (in Thai)
- [3] Hikal, W. M., et al. (2022). Banana Peels: A Waste Treasure for Human Being. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 13, 7616452.
- [4] Zaini, H. M., et al. (2022). Banana Peels as a Bioactive Ingredient and its Potential Application in the Food Industry. *Journal of Functional Foods*, 92, 105054.
- [5] Charoenteeraboon, J., et al. (2019). Total Phenolic Content and Antioxidant Activities of Different Parts of Hom Thong Banana Extract and Extraction Related Factors. *Thai Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 47-60. (in Thai)
- [6] Bashmil, Y. M., et al. (2021). Screening and Characterization of Phenolic Compounds from Australian Grown Bananas and their Antioxidant Capacity. *Antioxidants*, 10(10), 1521.
- [7] Alara, O. R., et al. (2021). Extraction of Phenolic Compounds: A Review. *Current Research*

- in Food Science*, 4, 200-214.
- [8] Stromberg, Z. R., et al. (2018). Pathogenic and non-pathogenic *Escherichia coli* colonization and host inflammatory response in a defined microbiota mouse model. *Disease Models & Mechanisms*, 11(11), dmm035063.
- [9] Enteric Bacteria Unit, Department of Medical Sciences. (2014). *Escherichia coli*. Available from http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/12_57.pdf. Accessed date: 7 August 2022. (in Thai)
- [10] Eng, S. K., et al. (2015). Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*, 8(3), 284-293.
- [11] Department of Industrial Works. (2020). *Safety data sheet for microorganisms and/or genetically modified microorganisms used in industries*. Available from <http://reg3.diw.go.th/safety/wp-content/uploads/2022/01/SalmonellaSpp.pdf>. Accessed date: 6 April 2023. (in Thai)
- [12] National Food Institute, Ministry of Industry. (2012). *Pathogenic microorganism: Salmonella*. Available from http://fic.nfi.or.th/foodsafety/upload/damage/pdf/salmonella_2.pdf. Accessed date: 7 August 2022. (in Thai)
- [13] Siwawej, S. (1999). *Food Factory Sanitation*. 5th ed. Bangkok: Food Science and Technology, Faculty of Agro-Industry, Kasetsart University. (in Thai)
- [14] Raineri, E. J. M., et al. (2022). Staphylococcal Trafficking and Infection - from 'nose to gut' and Back. *FEMS Microbiology Reviews*, 46(1), fuab041.
- [15] Chaudhry, F., et al. (2022). Extraction and Evaluation of the Antimicrobial Activity of Polyphenols from Banana Peels Employing Different Extraction Techniques. *Separations*, 9(7), 165.
- [16] Balmes, C. N. T., et al. (2018). Antimicrobial Activity of Ethanol Extract from Banana (*Musa acuminata*) Peels Against *Staphylococcus aureus*. *Antorcha*, 5(1), 53-58.
- [17] Hanafy, S. M., et al. (2021). Chemical Profiling, in vitro Antimicrobial and Antioxidant Activities of Pomegranate, Orange and Banana Peel-Extracts Against Pathogenic Microorganisms. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19, 80.
- [18] Sirajudin, Z. M. N., et al. (2014). Antimicrobial Activity of Banana (*Musa paradisiaca* L.) Peels Against Food Borne Pathogenic Microbes. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 8(5), 3627-3639.
- [19] Ehiowemwenguan, G., et al. (2014). Antibacterial and Phytochemical Analysis of Banana Fruit Peel. *IOSR Journal of Pharmacy*, 4(8), 18-25.
- [20] Korní, R. D., et al. (2023). Banana Peel: A Potential Waste Product with Numerous Pharmacological Activities. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 23(02), 160 - 174.
- [21] Likittrakulwong, W. et al. (2023). Phytochemical Properties, In Vitro antimicrobial, and Bioactive Compounds of Banana Peel Extractions Using GC-MS. *Natural and Life Sciences Communications*, 22(2), e2023021.

- [22] Pang, W., et al. (2013). Immunomodulatory Effects of *Escherichia coli* ATCC 25922 on Allergic Airway Inflammation in a Mouse Model. *PLOS ONE*, 8(3), e59174.
- [23] Terabayashi, Y., et al. (2014). First Complete Genome Sequence of *Salmonella enteric* subsp. *enterica* Seroovar Typhimurium Strain ATCC 13311 (NCTC 74), A Reference Strain of Multidrug Resistance, as Achieved by Use of PacBio Single-Molecule Real-Time Technology. *Genome Announcements*, 2(5), e00986-14.
- [24] BacDive. (2023). *Staphylococcus aureus* Seattle 1945. Available from <https://bacdive.dsmz.de/strain/14448#ref553>. Accessed date: 10 October 2023.
- [25] Hudzicki, J. (2009). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology.
- [26] Seekhaw, P. et al. (2020). Evaluation of Phytochemical Screening, Antioxidant and Antimicrobial Activities from Ethanolic Extracts of the *Flacourtia indica* (Burm.f.) Merr. fruits. *Research Journal Rajamangala University of Technology Thanyaburi*, 19(1), 124-136. (in Thai)
- [27] Chaves, B. J. & Tadi, P. (2023). *Gentamicin*. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/>. Accessed date: 30 October 2023.
- [28] Alhumaid, S., et al. (2021). Antimicrobial Susceptibility of Gram-Positive and Gram-Negative Bacteria: A 5-Year Retrospective Analysis at a Multi-Hospital Healthcare System in Saudi Arabia. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), 43.
- [29] ThermoFisher. (2023). *Oxoid™ Gentamicin Discs 10 µg/30 µg (CN10/CN30) CT0024B Antimicrobial Susceptibility Test Discs*. Available from <https://www.thermofisher.com/> Accessed date: 20 October 2023.
- [30] CLSI. (2018). *CLSI standard M07: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically*. 11th ed. Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- [31] Parvekar, P., et al. (2020). The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of Silver Nanoparticles Against *Staphylococcus aureus*. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 7(1), 105-109.
- [32] JMP statistical discovery. (2023). *JMP : Data Analysis Software For Interactive Innovation*. Available from https://www.jmp.com/en_us/software/data-analysis-software.html. Accessed date: 20 October 2023.
- [33] Zhang, Q. W., et al. (2018). Techniques for Extraction and Isolation of Natural Products: A Comprehensive Review. *Chinese Medicine*, 13, 20.
- [34] Khacharat, L., et al. (2022). Effect of banana peels and phenolic compounds on pigments and citrinin production by *Monascus purpureus*. *Agriculture and Natural Resources*, 56(1), 203–214.
- [35] Butkhup, L. (2011). Dietary polyphenols and their biological effects. *Journal of Science and Technology Mahasarakham University*, 31(4), 443-455. (in Thai)

- [36] Neelapong, W., et al. (2018). Extraction of active compounds from Thai herbs: steam distillation and solvent extraction. *The Journal of KMUTNB*, 28(4), 901-910. (in Thai)
- [37] Tangsirirap, N. (2012). *The in vitro study of antibacterial activity of unripe banana (Musa sapientum Linn.) peels extracts against bacteria causing acne vulgaris and common skin infections*, (Master thesis, Srinakharinwirot University). (in Thai)
- [38] Borges, A., et al. (2020). Comparison of techniques and solvents on the antimicrobial and antioxidant potential of extracts from *Acacia dealbata* and *Olea europaea*. *Antibiotics*, 9(2), 48.
- [39] Hemeg, H. A., et al. (2020). Antimicrobial effect of different herbal plant extracts against different microbial population. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27(12), 3221–3227.
- [40] Nipanram, M., et al. (2021). Chemical properties, total phenolic content, antioxidant activity, and inhibition of domestic animal related bacteria using dried Somsa (*Citrus aurantium* var. *aurantium*) peel powder. *Naresuan Agriculture Journal*, 18(2), e0180202. (in Thai)
- [41] Tantipaibulvut, S., et al. (2012). Antibacterial activity of some fruit-peel extracts. *KKU Research Journal*, 17(6), 880-894. (in Thai)