การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารด้วยสารสกัดสมุนไพรที่ใช้ในการทำลูกแป้งข้าวหมาก**

Inhibition of Enteropathogenic Bacteria with Herbal Extracts Used in KaoMak-Starter Making

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์* และสุชารัตน์ เกาะแก้ง
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพของสารสกัดสมุนไพร 6 ชนิด ที่นิยมใช้ทำลูกแป้งข้าวหมาก ได้แก่ ขิง ข่า ดีปลี กระวาน กานพลู และ เจตมูลเพลิงขาว ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร 4 ชนิด คือ *Escherichia coli, Shigella boydii, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhi* โดยสกัดสารจากสมุนไพรด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ทดสอบการยับยั้งเชื้อด้วยวิธี paper disc diffusion และตรวจหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญและฆ่าแบคทีเรีย (Minimum Inhibitory Concentration, MIC และ Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ด้วยวิธี broth dilution และ agar dilution จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดจากดอกกานพลูและรากเจตมูลเพลิงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Shigella boydii* (แกรมลบ รูปร่างท่อน) และ *Staphylococcus aureus* (แกรมบวก รูปร่างกลม) พบบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ขนาดระหว่าง 9.05-14.48 มิลลิเมตร ที่ความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพร 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้สารสกัดดอกกานพลู และเจตมูลเพลิงขาวสามารถฆ่าแบคทีเรีย 2 ชนิดนี้ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) เท่ากับ 6.0 และ 19.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 3.0 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังนั้นดอกกานพลูและรากเจตมูลเพลิงขาวที่เป็นส่วนประกอบของลูกแป้งข้าวหมากจึงมีบทบาทในการลดปริมาณเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร

คำสำคัญ : ลูกแป้งข้าวหมาก, สมุนไพร, *Shigella boydii, Staphylococcus aureus*

* ผู้ประสานงานหลัก (Corresponding Author)
e-mail: Arunchan__57@hotmail.com

**งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

Abstract

This research aimed to analyze bacterial inhibitory effects of 6 herbal extracts used in KaoMak-starter making, which were *Zingiber officinale* Rose., *Alpinia galanga* L. Swartz., *Piper chaba* Hunt., *Amomum testaceum* Ridl., *Eugenia caryophyllum* Bullock & Harrison and *Plumbago zeylanica* L. Four enteropathogenic bacteria used in this study were *Escherichia coli, Shigella boydii, Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi.* The herbs were extracted with 95% ethanol to obtain the herbal extracts. To detect the inhibitory effect, paper disc diffusion technique was used to determine the values of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) which were examined by both broth dilution and agar dilution techniques. The results revealed that *E. caryophyllum* and *P. zeylanica* extracts could restrict growths of *S. boydii* (Gram negative bacilli) and *S. aureus* (Gram positive cocci) with inhibition zones of 9.05-14.48 mm at herbal extract concentration of 20 mg/ml. Moreover, these 2 herbal extracts showed bactericidal activities to *S. boydii* and *S. aureus* at the MBC values of 6.0 and 19.0 mg/ml and 3.0 and 1.0 mg/ml, respectively. Thus, *E. caryophyllum* and *P. zeylanica* in KaoMak starter were suggested as the anti-bacterial agents for reducing enteropathogenic bacteria.

Keywords : KaoMak starter, Herbs, *Shigella boydii, Staphylococcus aureus*

บทนำ

ข้าวหมากเป็นอาหารหมักของไทยที่รู้จักกันมาแต่โบราณ ข้าวหมากทำจากข้าวเหนียวนึ่งที่ผสมกับลูกแป้ง ซึ่งประกอบด้วยเครื่องเทศหลายชนิด เช่น ขิง ข่า ชะเอม กระวาน กานพลู และเจตมูลเพลิงขาว ผสมกับแป้ง และน้ำสะอาด ขึ้นอยู่กับสูตรการทำของแต่ละท้องถิ่น เครื่องเทศดังกล่าวมีสมบัติเป็นสมุนไพรที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และทำหน้าที่คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดให้สามารถเจริญได้และยับยั้งจุลินทรีย์ไม่พึงประสงค์ ในขณะที่บ่มลูกแป้งนั้นจุลินทรีย์ที่ให้กลิ่นและรสชาติของข้าวหมากจะเจริญขึ้น ได้แก่ รา (Limtong et al., 2005) ยีสต์ (Limtong et al., 2002) และแบคทีเรียสร้างกรดแลคทิก (lactic acid bacteria) (Rittiplang et al., 2005) ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับประโยชน์ของข้าวหมากในด้านส่งเสริมสุขภาพให้แข็งแรง โดยจัดเป็นอาหารโพรไบโอติก (probiotic) เมื่อรับประทานข้าวหมากจะช่วยป้องกันจุลินทรีย์ที่ก่อโรคทางเดินอาหารไม่ให้เจริญได้ง่าย ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารทำงานปกติ ส่งผลทำให้การดูดซึมวิตามินและสารอาหารมีประสิทธิภาพดีขึ้น ซึ่งส่วนหนึ่งเป็นผลมาจากสมุนไพรที่เป็นองค์ประกอบของลูกแป้งข้าวหมากและแอลกอฮอล์ในข้าวหมาก (วีระสิทธิ์ กัลยากฤต และวรศักดิ์ ช่างภา, 2553; อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์, 2555)

ปัจจุบันมีการศึกษาประโยชน์ของพืชสมุนไพรในด้านเภสัชกรรมมากขึ้น เนื่องจากมีความเชื่อว่าพืชสมุนไพรก่อให้เกิดฤทธิ์ข้างเคียงต่อผู้ป่วยน้อยกว่ายาที่สังเคราะห์จากสารเคมี (ทิฐิมา ภาคภูมิ และกัลยาภรณ์ จันตรี, 2555; วันทนี สว่างอารมณ์ และพาฝัน จันทร์เล็ก, 2555) และพืชสมุนไพรบางชนิดยังมีสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตอีกด้วย สารชีวภาพที่มีฤทธิ์ (bioactive metabolite) ในพืชสมุนไพรที่มีผลยับยั้งหรือควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น แทนนิน (tannins) เทอร์พีน (terpenes) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และอัลคาลอยด์ (alkaloids) (รวีโรจน์ อนันตธนาชัย และคณะ, 2553; Ahmad et al., 2006; Geetha et al., 2011) ข้อมูลจากการศึกษาวิจัยในเรื่องนี้จะนำไปสู่การสร้างยาต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรคได้มากขึ้น เพื่อลดปัญหาการดื้อยา (drug resistance) ของเชื้อโรคจากการใช้ยาที่มีอยู่ในปัจจุบัน (Rajsekhar et al., 2012) ซึ่งตัวอย่างของอาการดื้อยาของเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารเป็นตัวอย่างที่พบได้บ่อย โดยทั่วไปโรคนี้เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Escherichia coli, Shigella boydii, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhi* เป็นต้น ผู้ที่ติดเชื้อจะมีอาการท้องเสียท้องร่วงเป็นไข้ อาเจียร จนอาจเสียชีวิตได้ พบได้ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อมักปนเปื้อนอยู่ในอาหารและน้ำดื่ม การรับประทานอาหารที่มีส่วนผสมของพืชสมุนไพรซึ่งส่วนหนึ่งทำหน้าที่เป็นเครื่องเทศ (spices) เพิ่มกลิ่นและรสชาติให้กับอาหารนั้นจะมีส่วนช่วยลดปริมาณแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารเหล่านี้ได้ (Tambekar and Dahikar, 2011) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ของพืชสมุนไพรในอาหารของไทย ดังเช่น ลูกแป้งที่ใช้ในการทำข้าวหมากต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารจึงอาจเป็นประโยชน์ต่อการสร้างตัวยาใหม่ๆ ที่นำมาใช้รักษาโรคทางเดินอาหาร รวมทั้งเข้าใจบทบาทของพืชสมุนไพรในลูกแป้งข้าวหมากต่อการควบคุมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารได้ชัดเจนขึ้น

วัตถุประสงค์

งานวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายในการศึกษาผลของสารสกัดสมุนไพร ได้แก่ ขิง ข่า ผลดีปลี ผลกระวาน ดอกกานพลู และรากเจตมูลเพลิงขาว ซึ่งใช้ทำลูกแป้งข้าวหมาก ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli, S. boydii, S. aureus* และ *S. typhi*

อุปกรณ์และวิธีทดลอง

1. พืชสมุนไพร

จัดหาสมุนไพรแห้ง ได้แก่ ดีปลี กระวาน กานพลู และ เจตมูลเพลิงขาว จากร้านเจ้ากรมเป๋อ และสมุนไพรสด ได้แก่ ขิง ข่า จากตลาดสดพรานนก

2. เชื้อแบคทีเรีย

ได้แก่ *E. coli, S. aureus, S. boydii* และ *S. typhi* จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

3. การเตรียมสมุนไพร

ให้นำเหง้าขิง ข่า ผลดีปลีแห้ง ผลกระวานแห้ง ดอกกานพลูแห้ง และรากเจตมูลเพลิงขาวแห้ง มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา โดยวิธีเปิดน้ำไหลผ่านประมาณ 5 นาที นำมาสะเด็ดน้ำและผึ่งทิ้งไว้ 1 วัน จากนั้นหั่นให้เป็นชิ้นขนาดเล็ก ๆ และบดด้วยเครื่องบด (blender) ให้ละเอียด

4. การเตรียมสารสกัดโดยใช้เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างสมุนไพร ตัวอย่างละ 200 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว ปริมาตร 500 มิลลิลิตร เติมเอทานอลร้อยละ 95 ลงไป 200 มิลลิลิตร ปิดขวดด้วยพาราฟิล์ม (parafilm) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อเอากากออก และกรองด้วยกระดาษ (Whatman's paper) นำมาระเหยเอทานอลออกโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยสาร (evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่เข้มข้น เก็บสารสกัดสมุนไพรในขวดแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. การทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (Inhibition zone) เชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร *E. coli, S. aureus, S. boydii* และ *S. typhi* โดยวิธี paper disc diffusion technique

เตรียมกล้าเชื้อ (inoculum) ที่ใช้ในการทดสอบโดยถ่าย *E. coli, S. aureus, S. boydii* และ *S. typhi* ลงในอาหารเหลวเอ็นบี (nutrient broth, NB) ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดเชื้อในอาหารเหลวเอ็นบี ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ร้อยละ 0.85 (normal saline) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใช้ไม้พันสำลี (cotton swab) จุ่มในหลอดเชื้อแบคทีเรีย กดสำลีกับข้างหลอดให้หมาด ๆ แล้วนำมากระจายบนจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเอ็นเอ (nutrient agar, NA) อย่างน้อย 3 ระนาบ โดยหมุนจานเพาะเชื้อ ระนาบละ 60 องศา จนทั่วแล้วตั้งทิ้งไว้ 3-5 นาที หลังจากนั้นใช้วิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique) โดยใช้ปากคีบจับแผ่นกระดาษกลม (paper disc) ขนาด 6 มิลลิเมตร วางลงบนจานเพาะเชื้อที่ลงเชื้อแบคทีเรียไว้ วางกระดาษกลมให้ห่างเท่ากัน 4 บริเวณ ใช้ไมโครปิเปตต์ (micropipette) ดูดสารสกัดสมุนไพรแต่ละชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 100 80 60 40 20 15 10 5 2.5 2 1.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อ (control) ปริมาตร 20 ไมโครลิตร (µl) หยดลงบนแผ่นกระดาษกลมที่อยู่บนอาหารแข็ง นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) หรือบริเวณใส (clear zone) รอบแผ่นกระดาษกลม และทำการวัดเส้นผ่าศูนย์กลาง (มิลลิเมตร) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

6. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อหรือค่าเอ็มไอซี (Minimun Inhibitory Concentration, MIC) ด้วยวิธีเจือจางด้วยอาหารเหลว (Broth dilution)

เตรียมกล้าเชื้อที่ใช้ในการทดสอบโดยลงเชื้อแบคทีเรียทดสอบลงในอาหารเหลวเอ็นบีปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 ชั่วโมง เจือจางเชื้อทดสอบโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์ ร้อยละ 0.85 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรให้มีความขุ่น เท่ากับ 0.5 แมคฟาร์แลนด์ (McFarland) จะได้เชื้อตั้งต้นเท่ากับ 1.5x108 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นเตรียมสารสกัด

สมุนไพรเข้มข้นต่างๆ ในหลอด ได้แก่ 1,000 100 80 60 40 20 15 10 5 2.5 2 1.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ด้วยอาหารเอ็นบี โดยให้มีปริมาตรสุดท้ายของแต่ละความเข้มข้น เท่ากับ 5 มิลลิลิตร แล้วใช้ปิเปต (pipette) ดูดเชื้อทดสอบที่เตรียมไว้ใส่ลงในหลอดๆ ละ 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำหลอดทดลองไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (หลอดควบคุมคือ หลอดที่ไม่เติมเชื้อทดสอบ) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สังเกตดูความขุ่นในแต่ละหลอด ให้ตรวจสอบหลอดที่มีสารสกัดสมุนไพรต่ำที่สุดและสารละลายยังคงใสอยู่เมื่อเทียบกับหลอดควบคุม ความเข้มข้นของสารสกัดดังกล่าวคือค่าเอ็มไอซี (MIC)

7. การทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้หรือเอ็มบีซี (Minimum bactericidal concentration, MBC) ด้วยวิธีเจือจางด้วยอาหารแข็ง (Agar dilution)

ใช้ปิเปตปลอดเชื้อดูดสารละลายของหลอดที่ไม่มีความขุ่น (จากการทดสอบหาค่าเอ็มไอซี) ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปกระจาย (spread) บนอาหารแข็งเอ็นเอ (NA) ในจานเพาะเชื้อ นำไปบ่มในตู้บ่ม ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีเชื้อทดสอบที่เจริญบนอาหาร NA ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ให้วิเคราะห์ค่าเอ็มบีซี จากจานเพาะเชื้อที่ไม่พบการเจริญของเชื้อทดสอบที่ระดับความเข้มข้นของสารสกัดสมุนไพรต่ำสุด

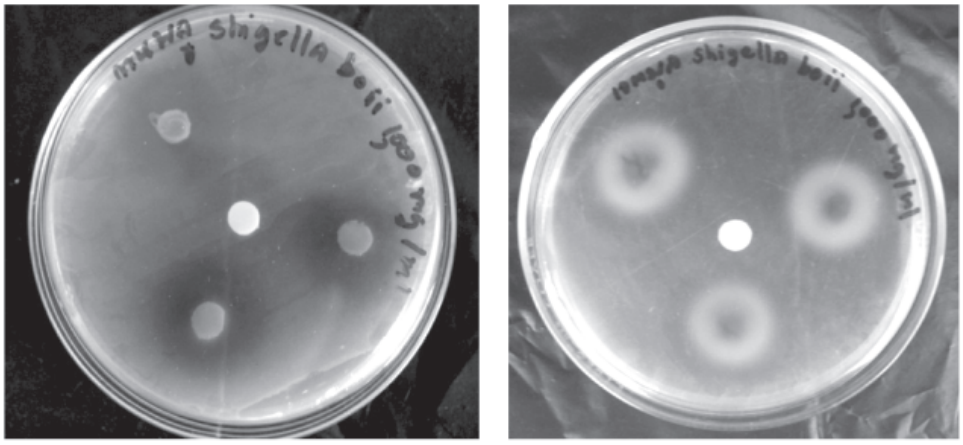
8. การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวางแผนการทดลองใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบริบูรณ์ Completely Randomized Design (CRD) โดยการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีดีเอ็มอาร์ที (Duncan's Multiple Range Test, DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

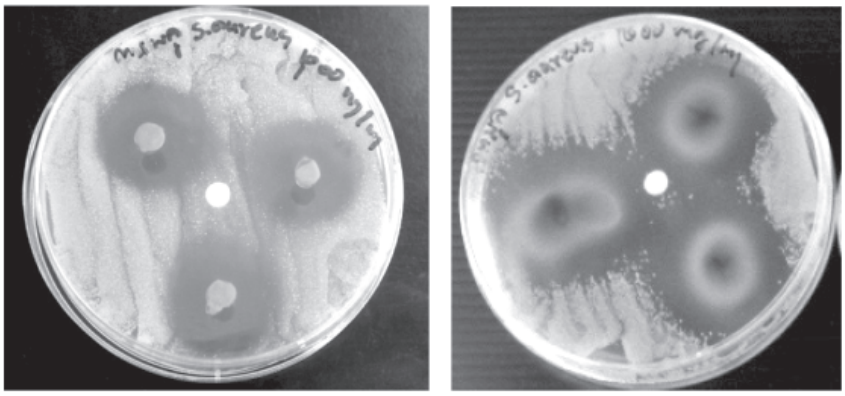
ผลการทดลอง

1. การทดสอบหาบริเวณยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) เชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร *E. coli, S. aureus S. boydii* และ *S. typhi* ด้วยวิธี paper disc diffusion

ผลการทดสอบสารสกัดสมุนไพร 6 ชนิด ที่นิยมใช้เป็นส่วนประกอบของลูกแป้งข้าวหมาก ได้แก่ ขิง ข่า ดีปลี กระวาน กานพลู และ เจตมูลเพลิงขาว ต่อการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเดินอาหาร คือ *E. coli, S. aureus, S. boydii* และ *S. typhi* ด้วยวิธี paper disc diffusion พบว่า สารสกัดของทั้งกานพลูและเจตมูลเพลิงขาวสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* กับ *S. boydii* ได้ เนื่องจากรอบๆ แผ่นกระดาษกลมพบบริเวณใส (clear zone) เกิดขึ้นรอบกระดาษ เมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ภาพที่ 1 และ ภาพที่ 2) ในขณะที่สารสกัดสมุนไพร 4 ชนิดที่เหลือ พบว่าไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบได้ (ไม่พบวงใสรอบแผ่นกระดาษทดสอบ) จึงนำสารสกัดกานพลู และ เจตมูลเพลิงขาว มาทดสอบฤทธิ์การต่อต้านเชื้อ *S. aureus* กับ *S. boydii* ในขั้นต่อไป



ภาพที่ 1 ประสิทธิภาพการยับยั้งของกานพลู (ซ้าย) และเจตมูลเพลิงขาว (ขวา) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. boydii* เทียบกับชุดควบคุม (แผ่นกระดาษกลมกลางจานเพาะเชื้อ)



ภาพที่ 2 ประสิทธิภาพการยับยั้งของกานพลู (ซ้าย) และเจตมูลเพลิงขาว (ขวา) ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อเชื้อ *S. aureus* เทียบกับชุดควบคุม (แผ่นกระดาษกลมกลางจานเพาะเชื้อ)

2. การเปรียบเทียบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* โดยสารสกัดกานพลู โดยวิธี paper disc diffusion

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดกานพลูโดยวิธี disc diffusion พบว่า สารสกัดกานพลูมีประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* โดยสารสกัดกานพลูสามารถยับยั้งเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบขนาดวงใส 7.59±0.42 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างจากความเข้มข้นของสารสกัดที่ 1,000 100 80 60 40 20 10 5 2.5 2 1.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (ตารางที่ 1) และสารสกัดกานพลูสามารถยังยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยพบขนาดวงใส 9.05±0.70 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างจากระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 1)

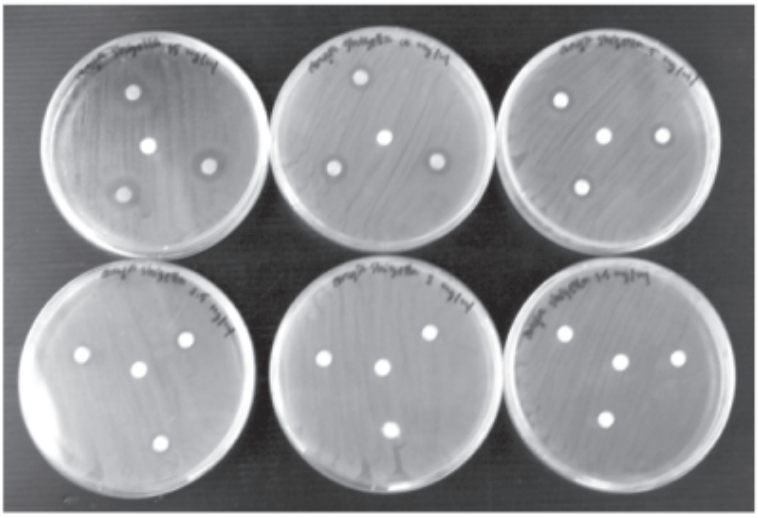
ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* โดยวิธี paper disc diffusion พบว่า สารสกัดเจตมูลเพลิงขาวสามารถยับยั้งเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบขนาดวงใส เท่ากับ 9.97±0.06 มิลลิเมตร ที่ $p<0.05$ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 3) และสารสกัดเจตมูลเพลิงขาวสามารถยับยั้งเชื้อ S. aureus ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (วงใสมีขนาด 5.77±0.47 มิลลิเมตร) โดยมีประสิทธิภาพแตกต่างจากที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ $p<0.05$ (ตารางที่ 1 และภาพที่ 4)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบผลของความเข้มข้นของสารสกัดดอกกานพลูและรากเจตมูลเพลิงขาวต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus*

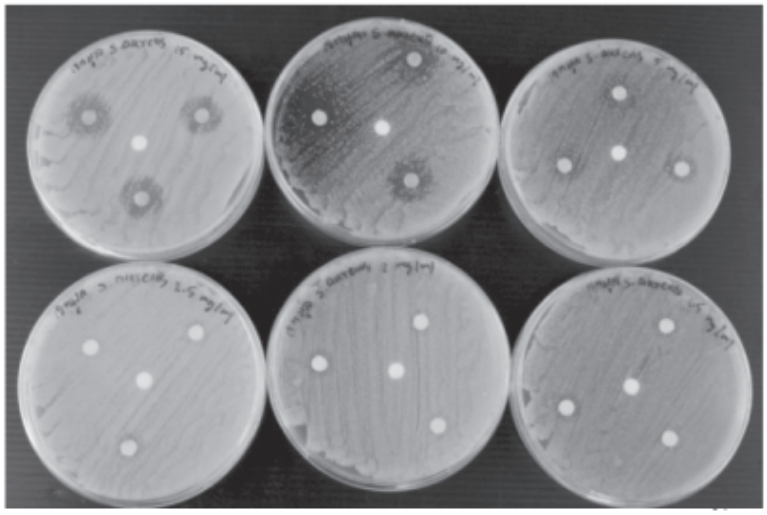
ความเข้มข้นสารสกัดสมุนไพร (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	เส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส* (mean±S.D, มิลลิเมตร) เมื่อใช้เชื้อทดสอบ *S. boydii*		เส้นผ่าศูนย์กลางของวงใส* (mean±S.D, มิลลิเมตร) เมื่อใช้เชื้อทดสอบ *S. aureus*	
	กานพลู	เจตมูลเพลิงขาว	กานพลู	เจตมูลเพลิงขาว
1,000	30.17±0.25[a]	35.18±0.25[a]	24.17±1.21[a]	33.09±0.29[a]
100	29.08±0.43[b]	29.57±0.33[b]	14.05±0.62[b]	26.07±0.73[b]
80	25.79±0.07[c]	20.26±0.28[c]	12.23±0.99[c]	25.55±0.311[b]
60	20.92±0.09[d]	16.64±1.11[d]	11.38±0.54[cd]	20.90±0.24[c]
40	11.79±0.14[e]	14.43±1.07[e]	10.48±0.39[d]	17.33±0.41[d]
20	9.26±0.31[f]	13.70±0.63[e]	9.05±0.70[e]	14.48±0.51[e]
15	7.59±0.42[g]	12.24±0.04[f]	-	10.72±0.09[f]
10	-	11.26±0.36[f]	-	10.55±0.54[f]
5	-	9.97±0.06[g]	-	9.47±0.21[g]
2.5	-	-	-	7.85±0.13[h]
2.0	-	-	-	6.62±0.01[i]
1.5	-	-	-	5.77±0.47[j]
1.0	-	-	-	-

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยอักษรภาษาอังกฤษต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงผลค่าเฉลี่ยที่มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

(-) หมายถึง ไม่สามารถวัดเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสได้



ภาพที่ 3 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสเชื้อ *S. boydii* ของสารสกัดรากเจตมูลเพลิงขาวที่ความเข้มข้น 15 10 5 2.5 2 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับชุดควบคุม (แผ่นกระดาษกลมตรงกลางจานเพาะเชื้อ)



ภาพที่ 4 แสดงเส้นผ่าศูนย์กลางวงใสเชื้อ *S. aureus* ของสารสกัดรากเจตมูลเพลิงขาวที่ความเข้มข้น 15 10 5 2.5 2 และ 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เทียบกับชุดควบคุม (แผ่นกระดาษกลมตรงกลางจานเพาะเชื้อ)

3. การทดสอบการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimum Bactericidal Concentration, MBC) ด้วยวิธีเจือจางด้วยอาหารแข็ง (agar dilution)

จากการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงขาวที่สามารถยับยั้งการเจริญ *S. boydii* และ *S. aureus* (ค่าเอ็มไอซี) พบว่า สารสกัดสมุนไพรทั้ง 2 ชนิด มีสีที่เข้มมากทำให้ไม่สามารถสังเกตความขุ่นจากการเจริญของเชื้อได้อย่างแม่นยำ จึงไม่เลือกที่จะใช้ค่าเอ็มไอซี ในการแสดงประสิทธิภาพของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงขาวต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย แต่ใช้วิธีเอ็มบีซีแทน

ผลการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงขาวในการฆ่าเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* พบว่า สารสกัดกานพลูสามารถฆ่าเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 6.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 19.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และผลการทดสอบความสามารถของสารสกัดเจตมูลเพลิงขาวในการฆ่าเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* พบว่าสารสกัดเจตมูลเพลิงขาวสามารถฆ่าเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 3.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 2) ดังนั้นสารสกัดเจตมูลเพลิงขาวจึงมีประสิทธิภาพฆ่าเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* ได้ดีกว่าสารสกัดกานพลู

ตารางที่ 2 ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงขาว ที่สามารถฆ่าเชื้อ *S. boydii* และ *S. aureus* (ระดับเอ็มบีซี)

ระดับความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)			
Shigella boydii		***Staphylococcus aureus***	
กานพลู	**เจตมูลเพลิงขาว**	**กานพลู**	**เจตมูลเพลิงขาว**
6.0	3.0	19.0	1.0

สรุปและอภิปรายผล

จากการศึกษาผลของประสิทธิภาพของสารสกัดเอทานอลของสมุนไพร 6 ชนิด ได้แก่ ขิง ข่า ดีปลี กระวาน กานพลู และ เจตมูลเพลิงขาว ที่มีผลต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ได้แก่ *E. coli, S. boydii, S. aureus* และ *S. typhi* ทดสอบโดยวิธี paper disc diffusion ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดสมุนไพรดอกกานพลู *(E. caryophyllum)* และรากเจตมูลเพลิงขาว *(P. zeylanica)* สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *S. boydii* และ *S. aureus* โดยผลการเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารสกัดดอกกานพลูและรากเจตมูลเพลิงขาว ตั้งแต่ 1.0-1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เชื้อทั้งสองชนิด พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดยพบวงใสของการยับยั้ง *S. boydii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเซลล์เป็นท่อน (Gram's negative bacilli) มีขนาด 7.59-30.17 มิลลิเมตร (สารสกัดดอกกานพลู) และ 9.97-35.18 มิลลิเมตร (สารสกัดรากเจตมูลเพลิง) วงใสของการยับยั้งต่อ S. aureus ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเซลล์กลม (Gram's positive cocci) ขนาด 9.05-24.17 มิลลิเมตร (สารสกัดดอกกานพลู) และ 5.77-33.09 มิลลิเมตร (สารสกัดรากเจตมูลเพลิง) นอกจากนี้ ได้นำสารสกัดสมุนไพรมาทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) *S. boydii* และ *S. aureus* พบว่า สารสกัดดอกกานพลูสามารถฆ่าเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเจตมูลเพลิงขาวสามารถฆ่าเชื้อ *S. boydii* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

งานวิจัยนี้ พบว่า สารสกัดดอกกานพลูมีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก คือ *S. boydii* และ *S. aureus* ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นที่พบว่าน้ำมันกานพลูให้ผลต่อต้านการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Vibrio parahaemolyticus, Bacillus cereus, Campylobacter jejuni, Salmonella enteritidis, E. coli, S. aureus* และ *Listeria monocytogens* ที่ค่าเอ็มไอซี 0.5-8.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Yano et al., 2006) และยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อรา เช่น *Candida albicans, Penicillium citrinum, Aspergillus niger* และ *Trichophyton mentagrophytes* (Rajsekhar et al, 2012) นอกจากนี้การใช้น้ำสกัดกานพลูพบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารได้อีกด้วย เช่น *S. aureus ATCC 25923 S. typhimurium ATCC 14028* และ *E. coli ATCC 25922* ที่ระดับเอ็มบีซี 4-8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Puangpronpitag, et al., 2009) ซึ่งค่าเอ็มบีซีของการวิจัยในครั้งนี้อยู่ในช่วง 6-19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยผลการยับยั้ง *S. boydii* ยังไม่พบรายงานจากแหล่งอื่น ในการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกานพลูที่ผ่านมาพบว่าประกอบด้วยสารต่อต้านจุลินทรีย์สำคัญ คือ ฟีนอล (phenol) ร้อยละ 84-95 ซึ่งส่วนใหญ่เป็นยูจีนอล (eugenol) ร้อยละ 97 และแอซีทิลยูจีนอล (acetyl eugenol) ร้อยละ 3 (อรพิน เกิดชูชื่น และคณะ, 2553) ดังนั้นยูจีนอลจึงอาจเป็นสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหารที่ศึกษาในการวิจัยนี้ โดยทั่วไปชาวบ้านใช้กานพลูเป็นยาลดอาการเจ็บปวดจากแมลงกัดต่อย แก้ปวดฟัน ลดการอักเสบของลำไส้ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Puangpronpitag et al., 2009)

นอกจากนี้ในการวิจัยยังได้แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสารสกัดรากเจตมูลเพลิงในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร ได้แก่ *S. boydii* และ *S. aureus* ซึ่งอาจเกิดจากฤทธิ์ของสารพลัมบาจิน (plumbagin) หรือ 5-ไฮดรอกซี-2-เมทิล-1,4-แนพทาควิโนน (5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthaquinone) โดยที่สารพลัมบาจินพบมากที่สุดที่บริเวณราก (Pant, 2012; Ravikumar and Sudha, 2011) ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ได้ใช้รากเจตมูลเพลิงในการทดสอบ นอกจากนี้สารที่มีรายงานว่าเป็นองค์ประกอบของเจตมูลเพลิงด้วย ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloid) ไกลโคไซด์ (glycoside) เสตียรอยด์ (steroid) ไทรเทอร์พีนอยด์ (triterpenoid) แทนนิน (tannin) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound)

ฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซาโพนิน (saponin) คูมาริน (coumarin) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ไขมัน (fat) และโปรตีน (protein) เป็นต้น (Devi & Krishna, 2012; Mandavkar & Jalalpure, 2011) ฤทธิ์ของสารชีวภาพพลัมบาจินได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางมาก่อนแล้วว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *S. aureus, B. subtilis, B. cereus, Pneumonococcus* sp. เป็นต้น และแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli, S. typhi, Pseudomonas aeruginosa* และ *Neisseria* sp. นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ยับยั้งรา เช่น *Candida* sp., *Fusarium equiseti, Alternaria alternate, Trichophyton* sp. และโพรโทซัวบางชนิด (*Leishmania* sp.) (Jeyachandran et al., 2009; Pant, 2012; Rahman & Anwar, 2007; Ravikumar & Sudha, 2011) ส่วนต่างๆ ของเจตมูลเพลิง (*Plumbago zeylanica* L.) เช่น ใบ ราก ลำต้น เป็นที่ยอมรับว่ามีสรรพคุณในการรักษาโรค ได้แก่ โรคติดเชื้อทางเดินอาหาร โรคผิวหนัง และบรรเทาอาการปวดบวม (Devi and Krishna, 2012) การสกัดสารจากเจตมูลเพลิงด้วยตัวทำละลายต่างกัน พบว่าให้ผลการต่อต้านจุลินทรีย์แตกต่างกันไป โดยเมื่อใช้น้ำในการสกัดจะให้ผลการยับยั้งจุลินทรีย์ได้น้อยกว่าเอทานอล (ethanol) เมทานอล (methanol) แอซีโทน (acetone) และ คลอโรฟอร์ม (chloroform) (Jeyachandran et al., 2009; Rahman & Anwar, 2007; Tambekar & Dahikar, 2011) ซึ่งการวิจัยในครั้งนี้ได้เลือกใช้เอทานอลในการสกัดสารจากรากเจตมูลเพลิง และไม่พบรายงานผลการยับยั้งของสารสกัดจากรากเจตมูลเพลิงต่อ *S. boydii* จากงานวิจัยแหล่งอื่น

อย่างไรก็ตามฤทธิ์ของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงมีบทบาทในการคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งข้าวหมากให้เจริญได้หรือไม่ได้ โดย วีระสิทธิ์ กัลยากฤต และ วรศักดิ์ ช่างภา (2553) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารสกัดหยาบ (cluded extract) สมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง พบว่า สารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงมีผลยับยั้งแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. และ *Bacillus* sp. อีกทั้งมีผลยับยั้งยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* SYL18 และรา *Aspergillus awamori* แต่ไม่พบหลักฐานการยับยั้งของสารสกัดกานพลูและเจตมูลเพลิงต่อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อลำไส้มนุษย์ เช่น กลุ่มแบคทีเรียแลกทิกซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotic) ซึ่งอาจพบได้ในลูกแป้งข้าวหมากที่ผลิตในบางท้องถิ่น (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์, 2555)

ดังนั้น พืชสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบของลูกแป้งข้าวหมาก ดังเช่น ดอกกานพลู และรากเจตมูลเพลิงนอกจากมีหน้าที่เป็นเครื่องเทศที่ให้กลิ่นหอมและเพิ่มรสชาติแล้ว จึงมีบทบาทในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของพืชสมุนไพรที่ใช้ในการทำลูกแป้งในแต่ละท้องถิ่นจะแตกต่างกันไป และจุลินทรีย์ที่มีบทบาทต่อการหมักในลูกแป้งข้าวหมากก็มีความหลากหลายในด้านชนิดและปริมาณเช่นกัน (อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์, 2555) สูตรในการทำลูกแป้งข้าวหมากเป็นเอกลักษณ์ที่สืบทอดกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ และเกิดจากภูมิปัญญาท้องถิ่นของคนไทยในการคิดและทดลองทำจนประสบความสำเร็จ ข้าวหมากที่เกิดจากการหมักของลูกแป้งและข้าวเหนียวจึงเป็นอาหารที่มีคุณค่าด้านสุขภาพ ซึ่งควรจะมีการส่งเสริมให้ศึกษาวิจัยสรรพคุณของข้าวหมากเพิ่มมากขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ทิฐิมา ภาคภูมิ และกัลยาภรณ์ จันตรี. (2555). การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดผสมระหว่างจอกและมะขามป้อมที่มีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคผิวหนัง. *วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 5* (1), 47-60.

รวีโรจน์ อนันตธนาชัย, ทิพย์วิมล กิตติวราพล, ชนินทร์ กุลเศรษฐัญชลี, นาฏลดา อ่อนวิมล, อรรถ ขันสี, กาญจนศักดิ์ จารุปาณ, และคณะ. (2553). การพัฒนาสำรับอาหารไทยเพื่อสุขภาพ บนพื้นฐานเศรษฐกิจพอเพียงและบริบทชุมชน. *วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 3* (1), 59-74.

วันทนี สว่างอารมณ์ และพาฝัน จันทร์เล็ก. (2555). การเปรียบเทียบผลของสารสกัดจากสมุนไพรต่อการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli. วารสารก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์, 12* (2), 47-57.

วีระสิทธิ์ กัลยากฤต และวรศักดิ์ ช่างภา. (2553). *อิทธิพลของสารสกัดหยาบสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง. รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48.* น. 211-217. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์. (2555). *วิทยาศาสตร์บูรณาการกับภูมิปัญญาท้องถิ่นเพื่อสุขภาพและชุมชนในการศึกษาด้านประสิทธิภาพของสารสกัดข้าวหมาก : อาหารโพรไบโอติกต่อการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคทางเดินอาหาร.* กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

อรพิน เกิดชูชื่น ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์ มณฑกาญจน์ ชนะภัย. (2553). คุณลักษณะสารสกัดจากพืชวงศ์ Apiaceae และ Piperaceae จำนวน 4 ชนิด. *วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี,* 3(1), 35-44.

Ahmad, I., Aqil, F., & Owais, M. (Eds.). (2006). *Modern phytomedicine.* The Federal Republic of Germany : Wiley-VCH.

Devi, C.K., & Krishna, D.G. (2012). Pharmacognostic, phytochemical and biological study of *Plumbago zeylanica. International Journal of Natural Products Research, 1* (2) : 21-23.

Geetha, R.V., Anitha, R., & Lakshmi, T. (2011). Evaluation of anti bacterial activity of fruit ride extract of *Garcinia mangostana* Linn on enteric pathogens-an in vitro study. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research, 4* (2), 115-118.

Jeyachandran, R., Mahesh, A., Cindrella, L., Sudhakar, S., & Pazhanichamy, K. (2009). Antibacterial activity of plumbagin and root extracts of *Plumbago zeylanica* L. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 51* (1), 17-22.

Limtong, S., Sintara, S., Suwanarit, P., & Lotong, N. (2002). Yeast diversity in Thai traditional fermentation starter (loog-pang). *Kasetsart Journal, 36,* 149-158.

Limtong, S., Sintara, S., Suwanarit, P., & Lotong, N. (2005). Species diversity of molds in Thai traditional fermentation starters (Long-pang). *Kasetsart Journal, 39,* 511-518.

Mandavkar, Y.D., & Jalalpure, S.S. (2011). A comprehensive review on *Plumbago zeylanica* Linn. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 5* (25), 2738-2747.

Pant, M., Lal, A., Ranna, S., & Rani, A. (2012). *Plumbago zeylanica* L. : A mini review. *International Journal of Pharmaceutical Applications, 3* (3), 399-405.

Puangpronpitag, D., Niamsa, N., & Sittiwet, C. (2009). Anti-microbial properties of clove (*Eugenia caryphyllum* Bullock and Harrison) : Aqueous extract againstfood-borne pathogen bacteria. *International Journal of Pharmacology, 5* (4), 281-284.

Rahman, M.S., & Anwar, M.N. (2007). Antimicrobial activity of crude extract obtained from the root of *Plumbago zeylanica. Bangladesh Journal of Microbiology, 24* (1), 73-75.

Rajsekhar, S., Kuldeep, B., Chandaker, A., & Upmanyu, N. (2012). Spices as antimicrobial agents : A review. *International Research Journal of Pharmacy, 3* (2), 4-9.

Ravikumar, V.R., & Sudha, T. (2011). Phytochemical and antimicrobial studies on *Plumbago zeylanica* (L) (Plumbaginaceae). *International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry, 1* (2), 185-188.

Rittiplang, J., Laopaiboon, P., Vichitpan, K., & Danvirutai, P. (2005). Lactic acid bacteria from indigeneous Loog-Pang samples of northeastern Thailand and their lactic acid production ability. Paper presented in *the 1st International Conference on Fermentation Technology for Value Added Agricultural Products.* Khon Kaen, Thailand.

Tambekar, D.H., & Dahikar, S.B. (2011). Antimicrobial activity of some Indian ayurvedic preparations against enteric bacterial pathogens. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research, 2* (1), 24-29.

Yano, Y., Satomi, M., & Oikawa, H. (2006). Antimicrobial effect of spices and herbs on *Vibrio parahaemolyticus*. *Journal of Food Microbiology, 111,* 6-11.

ผู้เขียน

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรุณ ชาญชัยเชาว์วิวัฒน์
สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา
e-mail: Arunchan__57@hotmail.com