

คุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรีย การยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม
และองค์ประกอบทางเคมีขององุ่นป่า

ANTIBACTERIAL PROPERTIES BIOFILM FORMATION INHIBITION
AND CHEMICAL PROFILING OF *AMPELOCISSUS ARACHNOIDEA*

สิริมาภรณ์ วัชรกุล^{1*} สายใจ วัฒนเสน¹ และวิภาพรรณ คงเย็น²

Sirimaporn Watcharakul^{1*}, Saijai Wattanasen¹ and Wipapan Kongyen²

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของใบและเถาองุ่นป่าโดยการสกัดด้วยเอทานอล ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีด้วยวิธี Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS) ซึ่งพบว่าสารสำคัญของใบและเถาองุ่นป่าเป็นสารกลุ่มไฟโตสเตอรอลในรูปของ γ -Sitosterol นอกจากนี้ยังมีการทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* SK005, *Pseudomonas aeruginosa* SK002, *Klebsiella pneumoniae* SK001, *Staphylococcus aureus* SK004, *Streptococcus pyogenes* SPV01 ด้วยวิธี Disc diffusion assay พบว่าสารสกัดใบและเถาองุ่นป่ายับยั้งเชื้อก่อโรคทดสอบทุกสายพันธุ์โดยมีขนาดวงใสการยับยั้งอยู่ในช่วง 7.40 ± 0.11 ถึง 18.94 ± 0.35 มิลลิเมตร และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้ง (MIC) และฆ่าเชื้อก่อโรค (MBC) อยู่ในช่วง 3.13 ถึง 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากองุ่นป่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มในเชื้อ *S. pyogenes* สูงสุดที่ร้อยละ 79.54

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ไบโอฟิล์ม องุ่นป่า สารสกัด ไฟโตสเตอรอล

¹ศูนย์ทรัพยากรจุลินทรีย์และการใช้ประโยชน์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

¹Microbial resources and utilization center, Songkhla Rajabhat University, Muang, Songkhla Province 90000

²คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

²Faculty of Sciences and technology, Songkhla Rajabhat University, Mueang District, Songkhla Province 90000

*corresponding author e-mail: sirimaporn.wa@skru.ac.th

Received: 20 December 2024; Revised: 14 May 2025; Accepted: 19 May 2025

DOI: <https://doi.org/10.14456/lsej.2025.6>

Abstract

This research aimed to analyze the chemical composition and evaluate the biological activities of wild grape leaves and stems extracted with ethanol. Chemical composition was determined using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), revealing that the primary compounds in leaves and stems were plant sterols, notably γ -Sitosterol, and other related compounds. Furthermore, the extracts were tested against five pathogenic bacterial strains: *Escherichia coli* SK005, *Pseudomonas aeruginosa* SK002, *Klebsiella pneumoniae* SK001, *Staphylococcus aureus* SK004, and *Streptococcus pyogenes* SPV01, using the disc diffusion assay. The results showed that the wild grape extracts inhibited the growth of all tested bacterial strains, with inhibition zone diameters ranging from 7.40 ± 0.11 to 18.94 ± 0.35 mm. The minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) values were determined between 3.13 and 50.00 mg/mL. Additionally, the extracts exhibited biofilm inhibition activity against *S. pyogenes*, reaching up to 79.54%.

Keywords: antibacterial, biofilm, wild grape, crude extract, phytosterols

บทนำ

การใช้สมุนไพรไทยเป็นภูมิปัญญาที่ทรงคุณค่าอยู่คู่วัฒนธรรมและการดำรงชีวิตของคนไทยมาช้านาน ความรู้ด้านการใช้สมุนไพรถูกส่งต่อมาจากอดีตสู่ปัจจุบันผ่านทางหมอยาสมุนไพรจากรุ่นสู่รุ่น ปัจจุบันวิถีการใช้ชีวิตของคนในสังคมเปลี่ยนไป คนรุ่นใหม่มีการใช้สมุนไพรเพื่อการรักษาและบำบัดลดลง ทั้งความรู้ด้านการใช้สมุนไพรไทยมีอยู่เพียงเฉพาะกลุ่มคน ไม่แพร่หลาย การนำสมุนไพรมาใช้จึงไม่ได้รับความนิยม ส่งผลให้คนปัจจุบันใช้แนวทางสมัยใหม่ในการรักษาและบำบัดโรคมมากขึ้น ค่าใช้จ่ายในการรักษาสูงขึ้น ส่งผลให้การเข้าถึงการรักษาที่จำกัดเนื่องจากยารักษาโรคหลายตัวเป็นยาที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศและมีราคาแพง ดังนั้นความรู้ด้านคุณสมบัติของสมุนไพรไทยที่มีในท้องถิ่นจึงเป็นข้อมูลที่สำคัญ ที่ทำให้คนในท้องถิ่นหันมาเห็นคุณค่าการใช้สมุนไพรในท้องถิ่นที่หาง่ายและสามารถเข้าถึงการการบำบัดและรักษาโรคในแนวทางการใช้สมุนไพรที่มีข้อมูลถูกต้องตามหลักวิทยาศาสตร์

องุ่นป่าหรือส้มกุ้ง (*Ampelocissus* spp.) เป็นหนึ่งในพืชสมุนไพรไทยที่หาง่าย อยู่ในจีนัส *Ampelocissus* วงศ์ *Vitaceae* พบได้ทั่วไปในป่าเขตร้อนและพื้นที่ป่าฝนรวมทั้งในพื้นที่ประเทศไทย ซึ่งพบมากถึง 95 สปีชีส์ ที่มีความคล้ายคลึงกัน (Syadwina et al., 2020) องุ่นป่าเป็นพืชในตำรายาสมุนไพรไทยและตำรายาโบราณทั่วโลกที่ถูกใช้กันมาช้านาน ผลมักใช้เป็นอาหาร ส่วนใบ เถาและรากถูกใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องยาสมุนไพรในการรักษาโรคหลายชนิด เช่น โรคทางทันตกรรม แผลใน

กระเพาะอาหาร โรคบิด อาหารไม่ย่อย วัณโรคและถูกใช้เป็นยาทาแผล ผี หนอง (Anwesa & Sanjib, 2020) มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีขององุ่นป่าในจีน *Ampelocissus* หลายสายพันธุ์พบสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล แทนนิน อัลคาลอยด์ ซาโปนิน และ สเตอรอล ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต่อต้านการกลายพันธุ์และการเกิดเนื้องอก ลดการอักเสบ และฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ (Siripipatthana et al., 2021) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีในส่วนรากขององุ่นป่าสายพันธุ์ *Ampelocissus martinii* พบสารซาโปนินเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella typhi* DMST 22842, methicillin susceptible *Staphylococcus aureus* MSSA 2933, methicillin resistant *S. aureus* MRSA 20651 and *S. aureus* MRSA 4738 มีการวิเคราะห์สารฟลักซ์เคมีในองุ่นป่าสายพันธุ์ *Ampelocissus latifolia* พบว่าสารสำคัญที่พบเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ที่สามารถต่อต้านการทำงานของเอนไซม์อีลาสเทส คอลลาจีเนส และไทโรซิเนส และมีฤทธิ์ด้านการอักเสบเมื่อทดสอบในหลอดทดลอง (Singh et al., 2015; Anwesa & Sanjib, 2020) นอกจากนี้ยังพบว่าสาร 5-Hydroxymethylfurfural (5-HFM) ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญขององุ่นป่ามีฤทธิ์ยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มซึ่งเป็นปัจจัยที่มีผลต่อความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อจุลินทรีย์ โดยอาศัยกลไกการรบกวนการทำงานของ Quorum sensing ในกระบวนการสร้างไบโอฟิล์ม ทำให้การก่อตัวของไบโอฟิล์มลดลง (Jobina et al., 2019)

จากการศึกษาพืชสมุนไพรในจีน *Ampelocissus* หลายสายพันธุ์พบว่ามีการออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิด แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพขององุ่นป่าสายพันธุ์ *Ampelocissus arachnoidea* (hassk.) Planch ซึ่งพบได้ทั่วไปในประเทศไทยและถูกใช้เป็นยาสมุนไพรพื้นบ้านนั้น มีข้อมูลและรายงานการศึกษาวิจัยค่อนข้างจำกัด มีเพียงการวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ ABTS เท่านั้น (Thanyapan & Sarunya, 2019) ดังนั้นในงานวิจัยชิ้นนี้จึงมีการศึกษาคุณสมบัติการต้านเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่มีความสำคัญในการก่อโรคติดเชื้อและพบบ่อยในโรงพยาบาล ได้แก่ *Escherichia coli* SK005, *Pseudomonas aeruginosa* SK002, *Klebsiella pneumoniae* SK001, *Staphylococcus aureus* SK004 และ *Streptococcus pyogenes* SPV01 ศึกษาการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มและองค์ประกอบทางเคมีขององุ่นป่าสายพันธุ์ *Ampelocissus arachnoidea* (hassk.) เพื่อเป็นข้อมูลด้านคุณสมบัติของสมุนไพรไทย ทั้งเป็นองค์ความรู้ที่สำคัญต่อการนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในชุมชนทั้งในรูปของอาหารเสริม ชาสมุนไพร ยาต้านเชื้อจุลินทรีย์ หรือในรูปสารเคลือบป้องกันการเกิดไบโอฟิล์ม

วิธีดำเนินการวิจัย

เชื้อทดสอบ

แบคทีเรีย 5 สายพันธุ์ได้แก่ *Escherichia coli* SK005, *Pseudomonas aeruginosa* SK002, *Klebsiella pneumoniae* SK001, *Staphylococcus aureus* SK004, and *Streptococcus pyogenes* SPV01 เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง Mueller-Hinton agar (MHA) หรือ Mueller-Hinton broth (MHB) (Oxoid, UK) และเก็บใน Cryostock mixed (MedEx™, EU) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชดอกงุ่นป่า (*Ampelocissus arachnoidea*) เก็บในช่วงเดือนมกราคมถึงมีนาคม พ.ศ. 2567 ในพื้นที่ตำบลเขาขาว อำเภอละงู จังหวัดสตูล (6.935858° N, 99.821753° E) ตรวจสอบ สันฐานวิทยาและระบุชื่อวิทยาศาสตร์ของพืชโดย รองศาสตราจารย์ ดร.สหัส จันทนอรพินท์ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ตัวอย่างพืชถูกเก็บไว้ในหอพรรณไม้ของภาควิชาชีววิทยา ตัวอย่างเลขที่ 020977 (PSU) ตัวอย่างพืชดอกงุ่นป่าที่ได้ถูกนำมาแยกชิ้นส่วนใบและเถา ล้างน้ำสะอาด ผึ่งลมให้แห้งหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ อบแห้งด้วยเครื่องอบลมร้อน (Binder, Germany) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมงหรือตัวอย่างพืชแห้งจนน้ำหนักคงที่

การสกัดสาร

นำใบและเถาของงุ่นป่าที่อบแห้งแล้วนำมาปั่นและแช่ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนพืชต่อตัวทำละลายที่ 1 ต่อ 3 โดยอัตราส่วนต่อน้ำหนัก แช่เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นแยกกาก และนำส่วนของเหลวมากรองแยกอีกครั้งด้วยกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อ นำส่วนของเหลวที่ได้ไป ระเหยตัวทำละลายออกภายใต้ความดันต่ำด้วยเครื่อง evaporator (Heidolph rotary evaporator, Hei-VAP HL, EU) ที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียสและนำไปหาปริมาณ ร้อยละของผลผลิตของสารสกัดหยาบ (% yield) เตรียมสารสกัดหยาบละลายในตัวทำละลาย Dimethylsulfoxide (DMSO) (VWR Chemicals BDH®, France) ตามความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ต้องการ

ตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมี

ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดหยาบใบและเถาของงุ่นป่าด้วยเครื่อง Gas Chromatograph Triple Quadrupole Spectrometer (GC-MS/MS) model Agilent 7000D Triple Quadrupole GC/MS คอลัมน์ HP-5ms Ultra Inert (Agilent 190915-433UI), ขนาดความยาว 30 เมตร × เส้นผ่านศูนย์กลาง 250 ไมโครเมตร × ความหนา 0.25 ไมโครเมตร โดยมีแก๊สฮีเลียม (He) เป็นแก๊สตัวพา ปริมาณตัวอย่าง ที่ใช้ฉีด 1 ไมโครลิตร ฉีดตัวอย่างแบบ split mode ด้วยอัตราไหล 3 มิลลิเมตรต่อนาที โดยใช้โปรแกรมควบคุม อุณหภูมิโดยตั้งอุณหภูมิคอลัมน์เริ่มต้น 60 องศาเซลเซียส ให้อุณหภูมิคงที่ 10 นาที โดยเพิ่มอุณหภูมิ ด้วยอัตรา 5 องศาเซลเซียสต่อนาที ช่วงมวลในการวิเคราะห์ 35-500 หน่วยมวลอะตอม (Atomic Mass Unit; AMU) ร่วมกับเทคนิคฮาร์ดไอออนไนเซชันซึ่งใช้อิเล็กตรอนพลังงานสูงเพื่อทำให้สารที่วิเคราะห์

แตกตัวเป็นไอออน หลังจากการแยกเสร็จสมบูรณ์บันทึกผลเป็นโครมาโทแกรมและประเมินผลโดยเทียบค่า retention time และ mass spectrum ขององค์ประกอบทางเคมีของใบและเถาของงุ่นป่า เทียบแต่ละพีคที่ได้กับค่า retention time และ mass spectrum ของค่ามาตรฐานที่บันทึกไว้ใน spectral library ใน MassHunter Quality Analysis Version 10.0 โดยพิจารณาสารประกอบที่มีร้อยละของทั้งหมดที่มากกว่าร้อยละ 2.00

ทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย

Disc diffusion assay

ทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียโดยวัดขนาดวงใสการยับยั้งของสารสกัด โดยเตรียมสารสกัดหยาบในตัวทำละลาย DMSO ที่ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ 50 มิลลิกรัมดิสก์ หยดสารลงบนแผ่นกระดาษกรองที่ปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร (จำนวน 3 ซ้ำ) ทดสอบบนอาหารแข็ง MHA ที่มีเชื้อทดสอบ บ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจากนั้นวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสการยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้นด้วยเวอร์เนียร์คาลิเปอร์ บันทึกผลการทดลองและประเมินผลเปรียบเทียบกับยาปฏิชีวนะมาตรฐาน Gentamicin (10 µg/mL; OXOID) (Sirimaporn et al., 2024)

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC)

ทดสอบการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในอาหาร MHB โดยละลายสารสกัดหยาบส่วนใบและเถาของงุ่นป่าในสารละลาย DMSO ที่ความเข้มข้น 3.13 ถึง 100.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร ด้วยการทำเจือจางแบบ two-fold dilutions ใน 96 well plates ที่มีอาหาร MHB และเชื้อทดสอบที่ความเข้มข้นสุดท้าย 10^5 CFU/mL บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง อ่านค่าหลุมสุดท้ายที่ใสเป็นค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ จากนั้นนำทุกหลุมที่ใสไปเพาะเลี้ยงลงบนอาหาร MHA หลุมสุดท้ายที่ไม่พบการเจริญของเชื้ออ่านค่าเป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ (ดัดแปลงจาก Pornpat et al., 2020)

การยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม

ทดสอบการยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทดสอบในอาหาร Tryptic Soy Broth (TSB) ที่มีน้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 และใส่เชื้อทดสอบความเข้มข้น 10^8 CFU/mL ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทำการทดสอบใน 96 well plate บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 ชั่วโมงจากนั้นใส่สารสกัดหยาบในส่วนของใบและส่วนเถาที่ความเข้มข้นสุดท้าย 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิตร โดยมี DMSO เป็นตัวควบคุมลบและยาปฏิชีวนะ Gentamicin เป็นตัวควบคุมบวก บ่มจนครบเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นค่อย ๆ ดูดของเหลวและเชื้อที่ไม่เกาะติดออกจากหลุม บริเวณภายในหลุม 96 well plate เชื้อแบคทีเรียจะสร้างไบโอฟิล์มเกาะบริเวณพื้นผิว ถ้าเอาเซลล์ที่ไม่ได้เกาะติด

ออกด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์สามครั้ง จากนั้นตรึงไบโอฟิล์มด้วยการบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ย้อมสีไบโอฟิล์มด้วยคริสตัลไวโอเลตเข้มข้นร้อยละ 1 และล้างสีด้วยน้ำกลั่นจำนวน 3 ครั้งเพื่อชะสีส่วนเกินออก จากนั้นล้างสีออกด้วยสารละลายกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 30 นำส่วนเหลวที่ได้ไปวัดด้วยเครื่องวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร เพื่อคำนวณหาค่าการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มของสารสกัด (ดัดแปลงจาก Ta et al., 2024) ดังสูตรต่อไปนี้

$$\text{Biofilm inhibition (\%)} = \frac{\text{OD control} - \text{OD sample}}{\text{OD control}} \times 100$$

การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานผลข้อมูลทางสถิติด้วยค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation: SD) โดยทำการทดลองอย่างน้อยสามซ้ำและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics เวอร์ชัน 29.0.1.0 (179). โดยวิเคราะห์ข้อมูลแบบ one-way ANOVA ($p < 0.05$)

ผลการวิจัย

การสกัดสารจากใบและเถาของงุ่นป่า

การสกัดสารจากส่วนใบและเถาของงุ่นป่าด้วยวิธีการสกัดด้วยเอทานอล ได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะแตกต่างกัน ส่วนใบสารสกัดหยาบมีลักษณะเหนียว ชุ่มและหนืด มีสีเขียวเข้ม ส่วนเถาของงุ่นป่าได้สารสกัดหยาบที่มีตะกอน ของเหลวสีน้ำตาลภาพที่ 1 (Figure 1) เมื่อหาปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) ของสารสกัดหยาบที่ได้จากน้ำหนักแห้งเริ่มต้นของใบและเถาที่ 100 กรัม เมื่อสกัดพืชและนำไปประเหยแห้งได้ส่วนสกัดหยาบส่วนใบและเถาที่ 2.60 กรัมและ 1.60 กรัม ตามลำดับและเมื่อคิดเป็นร้อยละของผลผลิต (% yield) พบว่าใบงุ่นป่าและเถาให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตที่ร้อยละ 2.60 และ 1.60 โดยน้ำหนักตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของใบและเถาของงุ่นป่าด้วยวิธี GC-MS พิจารณาจากค่าร้อยละของทั้งหมด (% of total ≥ 2.00) ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 2.00 พบองค์ประกอบทางเคมีในส่วนของเถาของงุ่นป่าจำนวน 15 ชนิด และใบจำนวน 12 ชนิด ซึ่งในส่วนเถาของงุ่นป่าพบสารที่เป็นองค์ประกอบมากกว่าในส่วนใบ เมื่อพิจารณาจากองค์ประกอบของสารทั้งหมดพบว่าสารสำคัญที่พบในงุ่นป่าทั้งส่วนใบและเถาเป็นสารกลุ่มไฟโตสเตอรอล (phytosterol) โดยส่วนใบของงุ่นป่าพบไฟโตสเตอรอลในรูปของ γ -Sitosterol ที่ปริมาณสูงสุดร้อยละ 16.37 และ Stigmasterol ร้อยละ 2.32 นอกจากนี้ยังพบวิตามินอีในปริมาณสูงถึงร้อยละ 12.87 และองค์ประกอบอื่น ๆ เช่น กรดอินทรีย์ในรูปของ Butanedioic acid Malic acid กรดอะมิโนที่จำเป็นเช่น Linoelaidic acid และ Linoleic acid เมื่อพิจารณาองค์ประกอบทางเคมีในส่วนเถาของงุ่นป่าพบไฟโตสเตอรอลที่เป็นองค์ประกอบหลักในรูป

ของ γ -Sitosterol สูงสุดที่ร้อยละ 10.78 ของปริมาณทั้งหมดและพบ β -Stigmasterol ร้อยละ 3.66 นอกจากนี้ยังพบสารประกอบที่เกิดจากการสลายตัวของน้ำตาลฟรุกโตสในรูปของ 5-Hydroxymethylfurfural (5HMF) มากถึงร้อยละ 10.1 และองค์ประกอบอื่น ๆ ในรูปของกรดอินทรีย์ กรดอะมิโนและกรดไขมัน ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 1 (Table 1) จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่า ส่วนใบ และส่วนเถาขององุ่นป่ามีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีในไฟโตสเตอรอล เช่นเดียวกันแต่จะพบ ในลักษณะโครงสร้างและปริมาณที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ที่พบ ปริมาณสูงในส่วนใบแต่พบปริมาณน้อยมากในส่วนเถาเช่น วิตามินอี ในขณะที่ 5HMF พบเฉพาะในส่วน เถาเท่านั้น ดังตารางที่ 1 (Table 1)

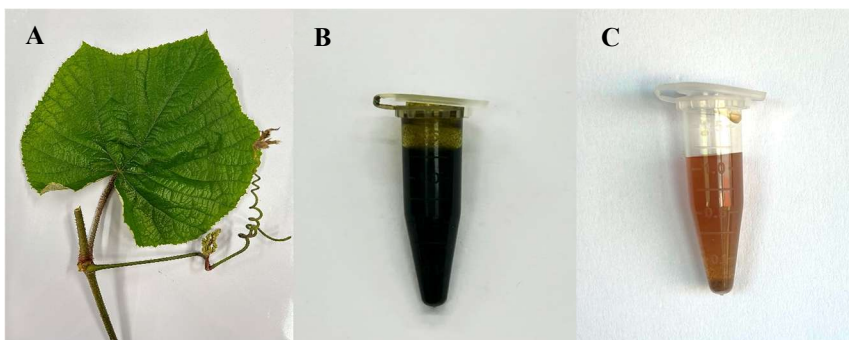


Figure 1 Characteristics of wild grape (A), crude ethanolic leaf extract (B), crude ethanolic vine extract.

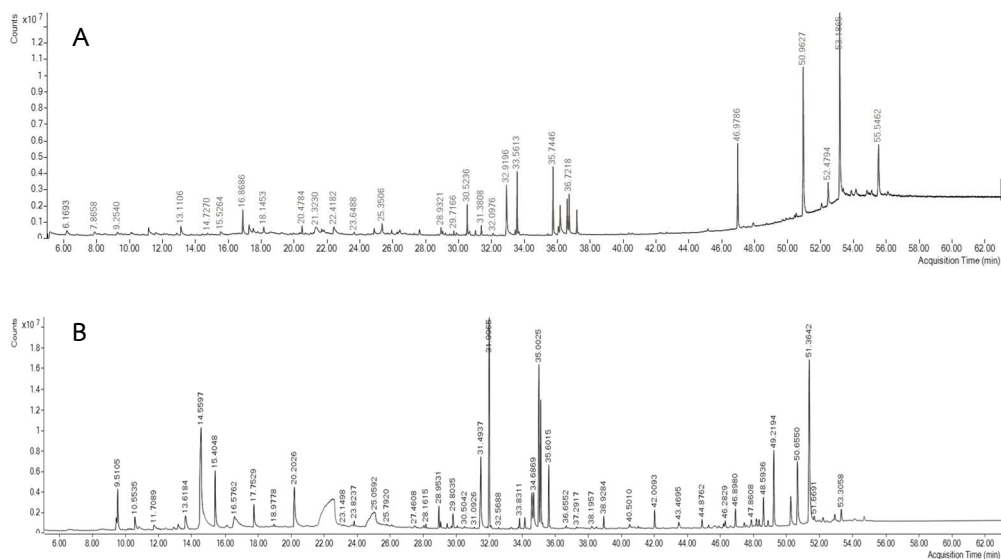


Figure 2 GC-MS Chromatogram of wild grape ethanolic crude extract from leaf (A) and vine (B).

Table 1 Chemical constituents of wild grape.

Leaf			Vine		
RT	Components	% of Total	RT	Components	% of Total
16.8686	Butanedioic acid	2.00	14.5597	5-Hydroxymethylfurfural	10.1
30.5236	Neophytadiene	2.00	15.4048	Butanedioic acid	2.71
33.5613	Palmitic acid	8.3	16.5762	Malic Acid	2.12
35.7446	Phytol	5.66	20.2026	DL-Proline, 5-oxo-, ethyl ester	3.22
36.1773	α -Linolenic acid	3.39	25.0592	1,6-Anhydro- β -D-glucofuranose Levoglucosan	5.03
36.6040	Linoleic acid ethyl ester	2.79	31.4937	n-Hexadecanoic acid	4.23
36.7218	Ethyl Oleate	2.72	31.9965	Palmitic acid	8.28
46.9786	Squalene	6.32	34.5799	Linoelaidic acid	2.04
50.9627	Vitamin E	12.87	34.6869	cis-Vaccenic acid	2.12
52.4794	Stigmasterol	2.32	35.0025	Linoleic acid ethyl ester	6.53
53.1865	γ -Sitosterol	16.37	35.1095	Ethyl Oleate	5.17
55.5462	Glutinol	5.69	35.6015	Octadecanoic acid	2.34
			49.2194	Vitamin E	3.5
			50.6550	β -Stigmasterol	3.66
			51.3642	γ -Sitosterol	10.78

Remark n=3

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี disc diffusion assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดหยาบจากใบและเถาของงุ่นป่าพบว่า สารสกัดมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทดสอบได้ทั้ง 5 สายพันธุ์ สารสกัดหยาบจากส่วนเถาของงุ่นป่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุดที่ขนาดวงใสการยับยั้ง 18.94 ± 1.30 มิลลิเมตร และสามารถต้านเชื้อ *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *K. pneumoniae* ได้ที่ขนาดวงใสการยับยั้งเท่ากับ 12.68 ± 0.76 , 11.80 ± 0.83 , 10.01 ± 0.78 และ 8.58 ± 0.72 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากส่วนใบของงุ่นป่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุดเช่นเดียวกัน ที่ขนาดวงใสการยับยั้ง 12.31 ± 0.05 มิลลิเมตรและยังพบว่า มีฤทธิ์ต้านเชื้อ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ได้ที่ขนาดวงใส 11.80 ± 0.83 และ 8.48 ± 0.06 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ฤทธิ์ต้านเชื้อ

K. pneumoniae และ *S. aureus* มีขนาดวงใสการยับยั้งที่ใกล้เคียงกันที่ค่า 7.45 ± 0.06 และ 7.40 ± 0.11 มิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากการทดสอบ disc diffusion assay พบว่าขนาดวงใสการยับยั้งของสารสกัดส่วนเถาขององุ่นป่ามีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ดีกว่าเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ และมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้มากกว่าสารสกัดจากส่วนใบ โดยให้ขนาดวงใสการยับยั้งที่มากกว่าสารสกัดจากส่วนใบในเชื้อทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 2 (Table 2) และภาพที่ 3 (Figure 3)

Table 2 Antibacterial activity of wild grape.

Samples / Part used	Inhibition zone diameter (mm±SD)				
	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. pyogenes</i>
	SK005	SK002	SK001	SK004	SPV01
<i>A. arachnoidea</i>					
leaf	8.33 ± 0.03^b	8.48 ± 0.06^b	7.45 ± 0.06^a	7.40 ± 0.11^a	12.31 ± 0.05^c
Vine	11.80 ± 0.83^c	10.01 ± 0.78^b	8.58 ± 0.72^a	12.68 ± 0.76^d	18.94 ± 0.35^e
Gentamicin	20.11 ± 0.32^d	12.18 ± 0.29^b	24.41 ± 0.60^e	11.66 ± 0.16^a	16.59 ± 1.30^c

Remark Disc diffusion assays were performed in triplicate, with results presented as Mean±SD (n=3). Different letters indicate statistically significant differences between the means of various bacterial strains ($p < 0.05$).

ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (MIC) และ ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (MBC) ของสารสกัดองุ่นป่า

ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งและฆ่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคของสารสกัดจากองุ่นป่าพบว่า สารสกัดหยาบจากส่วนเถาขององุ่นป่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อก่อโรคทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดส่วนใบในเชื้อทดสอบหลายสายพันธุ์ ดังตารางที่ 3 (Table 3) แต่อย่างไรก็ตาม สารสกัดทั้งส่วนใบและเถามีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุดที่ค่า MIC ที่เท่ากันคือ 3.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดส่วนเถาขององุ่นป่ามีค่าความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *E. coli* ที่เท่ากัน โดยมีค่า MIC เท่ากับ 12.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาสารสกัดส่วนใบพบว่า มีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้อยู่ในช่วง 3.13-50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและพบว่ามีค่า MIC และ MBC ในการทดสอบเชื้อ *K. pneumoniae* มากกว่า 50.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อพิจารณาจากค่า MBC/MIC ratio โดย พบว่าสารสกัดส่วนเถาขององุ่นป่ามีฤทธิ์ต่อเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. pyogenes* โดยมีกลไกต้านเชื้อแบบ bactericidal effect ในขณะที่สารสกัดส่วนใบมีฤทธิ์ต่อเชื้อทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ในรูปแบบ bacteriostatic effect ซึ่งพิจารณาจากกลไกการออกฤทธิ์ของสารต่อเซลล์ของแบคทีเรียจากค่า MBC/MIC ratio > 4 แสดงกลไกการออกฤทธิ์ของสารที่มีผลทำให้เชื้อแบคทีเรียอ่อนแรง ไม่เพิ่มจำนวนหรือยับยั้งการเจริญ ในขณะที่ $MIC/MBC \leq 4$ แสดงถึงฤทธิ์ของสารที่มีผลฆ่าหรือทำลายเชื้อโดยตรง (Mogana et al., 2020)

Table 3 MIC/MBC evaluation of wild grape.

Bacterial strains	Leaf		MBC/MIC ratio	Vine		MBC/MIC ratio
	MIC	MBC		MIC	MBC	
<i>E. coli</i> SK005	25.00	>50.00	N.D.	12.50	50.00	4
<i>K. pneumoniae</i> SK001	>50.00	>50.00	N.D.	50.00	>50.00	N.D.
<i>P. aeruginosa</i> SK002	6.25	50.00	8.00	25.00	>50.00	N.D.
<i>S. aureus</i> SK004	50.00	>50.00	N.D.	12.50	50.00	4
<i>S. pyogenes</i> SPV01	3.13	25.00	8.00	3.13	12.50	4

Remark MBC/MIC ratio ≤ 4 imply to bactericidal effect, >4 bacteriostatic; N.D. is not detected, n=3

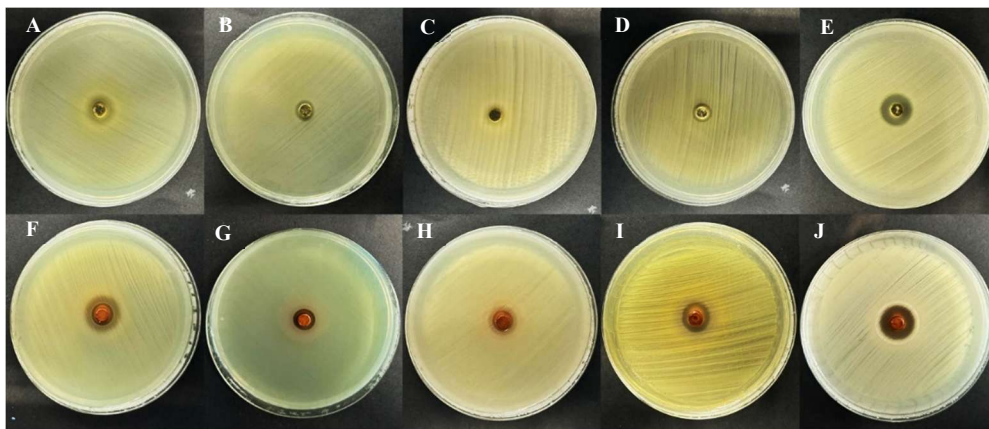


Figure 3 The effect of wild grape crude ethanolic extract from leaf (A-E) and vine (F-J) against pathogenic bacteria at a concentration of 50 mg/disc; *E. coli* SK005 (A, F), *P. aeruginosa* SK002 (B, G), *K. pneumoniae* SK001 (C, H), *S. aureus* SK004 (D, I) and *S. pyogenes* SPV01 (E, J).

ผลการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม

จากการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหยาบส่วนใบและส่วนเถาขององุ่นป่าต่อการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มในเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 5 สายพันธุ์โดยมียาปฏิชีวนะ Gentamicin เป็นชุดควบคุมบวกพบว่าสารสกัดส่วนเถาขององุ่นป่ามีฤทธิ์ยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มสูงกว่าสารสกัดส่วนใบในทุกการทดสอบดังภาพที่ 4 (Figure 4) เมื่อพิจารณาจากค่าร้อยละการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม พบว่าสารสกัดส่วนเถาและส่วนใบสามารถยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มในเชื้อ *S. pyogenes* ได้สูงสุดที่ค่าร้อยละ 79.54 และร้อยละ 54.41 ตามลำดับ ในขณะที่การยับยั้งการสร้างไบโอฟิล์มของสารสกัดส่วนเถาต่อเชื้อ *S. aureus* เกิดขึ้นที่ร้อยละ 51.52 ซึ่งใกล้เคียงกับฤทธิ์ของสารสกัดส่วนใบที่ยับยั้งไบโอฟิล์มได้ที่ร้อยละ

51.11 แต่อย่างไรก็ตามสารสกัดส่วนเถายังพบว่ามียุทธีในการลดการก่อตัวของไบโอฟิล์มในเชื้อ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *K. pneumoniae* ที่ร้อยละ 33.72 ถึง 50.14 ซึ่งยังคงสูงกว่ายุทธีของสารสกัดส่วนใบที่พบว่าสามารถลดการก่อตัวของไบโอฟิล์มได้ที่ร้อยละ 29.78 ถึง 34.18 ดังแสดงในภาพที่ 4 (Figure 4) จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าผลการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มของสารสกัดองุ่นป่าทั้งส่วนใบและเถา มีฤทธิ์ต่อแบคทีเรียแกรมบวก *S. pyogenes* และ *S. aureus* ในการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ *E. coli*, *P. aeruginosa* และ *K. pneumoniae* ทั้งนี้อาจเนื่องจากการออกฤทธิ์ของสารมีผลต่อโครงสร้างของผนังเซลล์ที่แตกต่างกัน

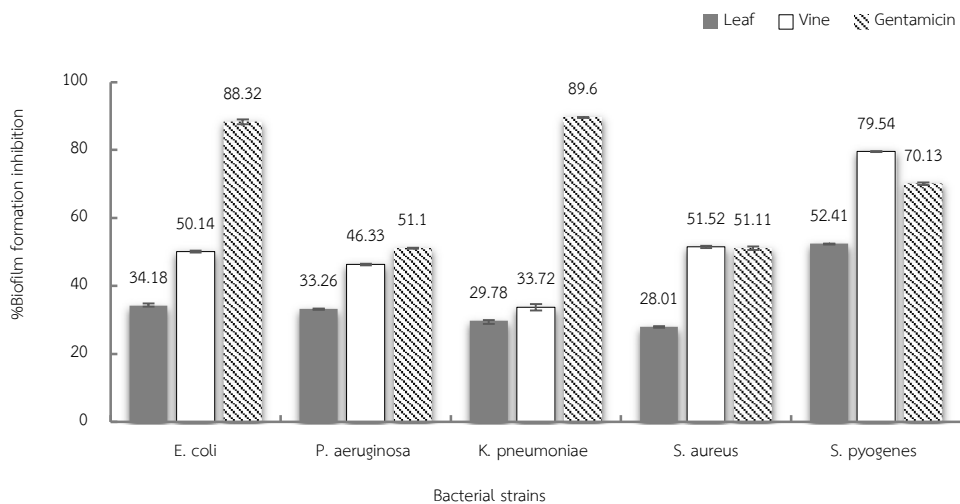


Figure 4 Effect of wild grape ethanolic crude extract on biofilm formation inhibition pathogenic bacteria (n=3).

อภิปรายผล

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีที่เป็นเอกลักษณ์ขององุ่นป่าส่วนใบและเถาด้วยเทคนิค GC-MS พบสารที่มีองค์ประกอบทางเคมีในกลุ่มไฟโตสเตอรอล (phytosterol) เป็นสารสำคัญที่พบในปริมาณสูงกว่าสารอื่น ๆ และมีความหลากหลายทั้งโครงสร้างและปริมาณที่พบแตกต่างกัน ตารางที่ 1 (Table 1) ไฟโตสเตอรอลเป็นสารประกอบไตรเทอร์พีน (triterpenes) ที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชในชั้นพลาสมาเมมเบรน (plasma membrane) พืชแต่ละชนิดจะสร้างสเตอรอลที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบที่แตกต่างกัน ขึ้นกับสายพันธุ์ พื้นที่ในการเพาะปลูกและอายุของพืช ซึ่งสามารถพบได้ในส่วนของพืชที่แตกต่างกัน (Bahare et al., 2021) จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีขององุ่นป่าทั้งส่วนใบและเถาพบไฟโตสเตอรอลในรูปแอลกอฮอล์อิสระชนิด γ -Sitosterol, β -Sitosterol และ Stigmasterol นอกจากนี้ยังพบสเตอรอลในรูป acylated steryl glycoside ที่มีพันธะเอสเทอร์กับกรดไขมันเช่น Palmitic acid, Linolenic acid และ Linoleic acid ทั้งใบและเถาขององุ่นป่าในปริมาณที่

แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 (Table 1) มีการศึกษาพบว่าไฟโตสเตอรอลมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคหลายชนิด (Aishwarya & Ravindra, 2021) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารไฟโตสเตอรอลมีมากกว่า 250 ชนิด ซึ่ง β -Stigmasterol และ Stigmasterol เป็นสเตอรอลที่พบมากที่สุดในส่วนของพืชที่แตกต่างกัน (Bahare et al., 2021) นอกจากนี้ยังพบองค์ประกอบทางเคมีอื่น ๆ ทั้งในส่วนใบและเถาขององุ่นป่า เช่น กรดอินทรีย์ วิตามินอี และอื่น ๆ ที่เป็นองค์ประกอบ แต่อย่างไรก็ตามข้อมูลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของพืชองุ่นป่าสายพันธุ์ *Ampelocissus arachnoidea* (hassk.) Planch มีค่อนข้างจำกัด มีเพียงรายงานการศึกษาวิเคราะห์หาสารต้านอนุมูลอิสระในผลขององุ่นป่าในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ ซึ่งพบว่าผลขององุ่นป่ามีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูงซึ่งแสดงในรูปการยับยั้ง 2, 2-diphenyl-1 Picrylhydrazyl (DPPH) ที่ร้อยละ 88.98 ± 1.75 (Thanyapan & Sarunya, 2019)

จากการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากใบและเถาองุ่นป่าพบว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคได้ทั้ง 5 สายพันธุ์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* SK005, *P. aeruginosa* SK002, *K. pneumoniae* SK001, *S. aureus* SK004 และ *S. pyogenes* SPV01 โดยพบว่าขนาดวงใสการยับยั้งของสารสกัดจากเถาองุ่นมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียทดสอบได้ดีกว่าสารสกัดจากส่วนใบในทุกการทดสอบดังแสดงในภาพที่ 3 (Figure 3) อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบทางเคมีของเถาองุ่นป่ามีความหลากหลายขององค์ประกอบทางเคมีมากกว่าส่วนใบถึงแม้ว่าสารสำคัญที่พบจะเป็นกลุ่มเดียวกันแต่ปริมาณที่พบแตกต่างกันรวมทั้งองค์ประกอบอื่น ๆ ที่หลากหลายชนิดมากกว่า ดังตารางที่ 1 (Table 1) มีการศึกษาพบว่าไฟโตสเตอรอลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ออกฤทธิ์โดยการทำงานร่วมกันของกลุ่มสารเมตาบอไลต์ (metabolites) ที่มากกว่าหนึ่งชนิดซึ่งมีการต้านเชื้อโดยใช้กลไก hydrophobic activity ของสารทำให้ส่วนไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเสียสภาพความสามารถในการผ่านเข้าออกของสารผิดปกติ เกิดการรั่วไหลของสารและไอออนภายในเซลล์ทำให้เซลล์แบคทีเรียตาย (Aishwarya & Ravindra, 2021)

เมื่อพิจารณาจากค่า MIC และ MBC ของสารสกัดจากองุ่นป่าพบว่ามิกไกออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อ *S. pyogenes*, *S. aureus* และ *E. coli* แบบ Bactericidal action mode (MBC/MIC ratios ≤ 4) ซึ่งเป็นลักษณะกลไกการออกฤทธิ์ที่มีผลฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยตรง ในขณะที่สารสกัดส่วนใบขององุ่นป่าพบว่ามิกไกต่อเชื้อแบคทีเรียแบบ Bacteriostatic action mode (MBC/MIC ratio > 4) ซึ่งในสารสกัดจากองุ่นป่าทั้งสองส่วนมี γ -Sitosterol สารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ในกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถต้านเชื้อแบคทีเรียได้ มีรายงานการศึกษาพบว่าสารกลุ่ม sitosterol ซึ่งมีโครงสร้างแบบสเตอริโอไอโซเมอร์เป็น β -Sitosterol และ γ -Sitosterol เป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ออกฤทธิ์โดยตรงต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โดยไปรบกวนการดูดซึมหรือเข้าออกของสารบริเวณชั้น phospholipid bilayer บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ทำให้การเข้าออกของสารผิดปกติมีผลให้แบคทีเรียตาย (Sofia et al., 2021) เมื่อพิจารณาจากผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มพบว่าสารสกัด

ส่วนเกาะของงู้นป่ามีฤทธิ์ในการยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มได้ดีกว่าสารสกัดจากใบในทุกการทดสอบ ดังแสดงในภาพที่ 4 (Figure 4) อาจเนื่องมาจากในสารสกัดของเกาะงู้นนอกจากสาร Sitosterol (10.78%) แล้วยังพบสาร 5-HFM (10.10%) เป็นองค์ประกอบหลักด้วย ซึ่งไม่พบในส่วนใบของใบงู้นป่า จากรายงานการวิจัยก่อนหน้านี้มีการศึกษาผลกระทบของ 5-HFM ในเชื้อ *P. aeruginosa* พบว่ามีคุณสมบัติเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม โดยมีฤทธิ์ไปรบกวนการทำงานของ Quorum sensing ในการหลั่งสาร autoinducers signals ในกระบวนการสร้างไบโอฟิล์ม และขัดขวางการจับกันระหว่าง autoinducers กับตัวรับ (receptor proteins) ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียมีการสร้างไบโอฟิล์มลดลง (Jobina et al., 2019) แต่อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการก่อตัวของไบโอฟิล์มพบว่าสารสกัดจากงู้นป่าทั้งส่วนใบและเกาะมีฤทธิ์ยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มต่อเชื้อทดสอบแตกต่างกันทั้งนี้อาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย ทั้งสาร autoinducers ที่พบในแบคทีเรียมีหลายกลุ่ม เช่น Acylated homoserine lactones (AHL) พบในแกรมลบ กลุ่มสารประกอบเปปไทด์พบในแกรมบวก (Khaemapom, 2018) และสารสกัดงู้นป่าทั้งส่วนใบและเกาะมีองค์ประกอบทางเคมีที่มีความหลากหลาย และปริมาณของสารที่ต่างกัน เชื้อแบคทีเรียต่างชนิดมีปัจจัยทางด้านโครงสร้าง ความรุนแรงในการก่อโรคแตกต่างกันส่งผลให้ความสามารถในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดต่อการต้านเชื้อแตกต่างกันด้วย

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดจากใบและเกาะงู้นป่า โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีด้วยเทคนิค GC-MS พบ γ -Sitosterol เป็นสารสำคัญ เมื่อทดสอบฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคพบว่ามีการสกัดมีฤทธิ์ต้านเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์โดยมีฤทธิ์ต้านเชื้อ *S. pyogenes* ได้ดีที่สุดและมีกลไกออกฤทธิ์ต่อเชื้อ *S. pyogenes* และ *S. aureus* แบบ bactericidal action mode ทั้งยังสามารถยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์มได้ในเชื้อทดสอบทุกสายพันธุ์ ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีและคุณสมบัติในการเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดจากงู้นป่ามีความแตกต่างกันในแต่ละส่วนของพืชและเชื้อก่อโรคในแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้นข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของสารสกัดจากงู้นป่าในงานวิจัยนี้จึงเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจที่จะนำพืชท้องถิ่นไปใช้ประโยชน์และอาจต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ชุมชน ชาสมุนไพร ยาต้านจุลินทรีย์หรือสารยับยั้งการก่อตัวของไบโอฟิล์ม ยาฆ่าเชื้อเฉพาะที่ (tropical antiseptics) อุตสาหกรรมยา อาหารเสริม และอาหารสัตว์เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์จากสมุนไพรไทยในท้องถิ่นเกิดขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพ แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านความปลอดภัยของสาร (toxicity) ในระดับสัตว์ทดลองหรือมนุษย์เพื่อต่อยอดการประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) Fundamental Fund 2567 เลขที่สัญญา 09/2567 และขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์อุปกรณ์และสถานที่ในการทำวิจัยในส่วนของ การทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อ รวมทั้งขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา ในการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยในส่วนของ การสกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบของพืช

เอกสารอ้างอิง

- Aishwarya AA, Ravindra S. *Abutilon indicum*, *Prosopis juliflora*, and *Acacia arabica* as Antibacterial agents against *Xanthomonas axonopodis*. Chapter 4: Debarshi KM. Biologically active natural products. USA: Apple Academic Press; Inc; 2021.
- Anwesa C, Sanjib R. In vitro free radical scavenging activities of aerial parts' aqueous extract and extract fractions of *Ampelocissus latifolia* (Roxb.) Planch. in relation to total phenolics and flavonoid contents. *Journal of King Saud University* 2020;32:732-739.
- Bahare S, Cristina Q, Javad S, Natália C, Manisha N, Abhay PM, et al. Phytosterols: From Preclinical Evidence to Potential Clinical Applications. *Frontiers in Pharmacology* 2021;11:1-18.
- Jobina R, Subhomoi B, Dhanasekhar R, Saswat KM, Ranjith K, Ayaluru M, et al. Anti-quorum sensing and anti-biofilm activity of 5-hydroxymethylfurfural against *Pseudomonas aeruginosa* PAO1: Insights from in vitro, in vivo and in silico studies. *Microbiological Research* 2019;226:19-26.
- Khaemaporn B. Biofilm: Impact on Public Health. *The Journal of the Medical Association of Thailand* 2018;46(2):6461-6471.
- Mogana R, Adhikari A, Tzar MN, Ramliza R, Wiart C. Antibacterial activities of the extracts, fractions and isolated compounds from *Canarium patentinervium* Miq. against bacterial clinical isolates. *BMC Complementary Medicine and Therapies* 2020;20(55):1-11.
- Pornpat S, Anuchit P, Rampai K. In vitro antibacterial and antioxidant activities of gall extracts from *Paederia pilifera*. *Rajabhat Journal of Sciences Humanities and Social Sciences* 2020;21(1):78-89.
- Singh H, Lily MK, Dangwal K. Evaluation and comparison of polyphenols and bioactivities of wild edible fruits of North-West Himalaya, India. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* 2015;5(11):888-893.
- Sirimaporn W, Ruethaithip A, Saowakon I. Chemical compositions and bioactive compounds of lemongrass essential oils against microbial pathogen and drug-resistant extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing Gram-negative. *Life Sciences and Environment Journal* 2024;25(1):13-24.
- Siripipattana P, Srihanam P, Sangdee A. Natural phytochemicals and biological activities of wild grape (*Ampelocissus martinii* Planch.) Root Extract. *Asian Journal of Chemistry* 2021;33(3):545-550.
- Sofia C, Maria K, Constantina T. β -Sitosterol as a functional bioactive. *A Centum of Valuable Plant Bioactives*. Academic Press;2021;193-212.

- Syadwina HD, Tatik C, Elizabeth AW. The anatomical characters of *Ampelocissus* (vitaceae) in Sumatra. *Journal Bioteknologi and Biosains Indonesia* 2020;7(2):182-193.
- Ta NL, Hsin-Yi H, Nguyen T. Q. Inhibitory effects of *Sterculia Lychnophora* hance ethanol extracts on biofilm formation and virulence factors of *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Microbiology Biotechnology and Food Sciences* 2024;13(6):e10483.
- Thanyapan H, Sarunya M. Simple extraction for the scanning of antioxidant activity of vegetables and fruits in Buriram, Thailand by DPPH, ABTS and FRAP assays. *SNRU Journal of Science and Technology* 2019;11(3):114-121.