

การคัดกรองหาแบคทีเรียทางทะเลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

นางสาว เพ็ญนภา เจริญวิวัฒนกิจ
นางสาว มานิตา สุริยรังษี

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาเภสัชศาสตร์บัณฑิต
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2550

SCREENING OF MARINE MICROORGANISMS
CONTAINING BIOLOGICAL ACTIVITY

MISS PHENNAPA CHAROENWIWATTANAKIJ
MISS MANITA SURIYARANGSEE

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE BACHELOR DEGREE OF SCIENCE IN PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY

โครงการพิเศษ

เรื่อง การคัดกรองหาแบคทีเรียทางทะเลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

.....
(นางสาวเพ็ญนภา เจริญวิวัฒน์นิก)

.....
(นางสาวมานิตา สุริยรังษี)

.....
(อ. วิณา นุกุลการ)
อาจารย์ที่ปรึกษา

.....
(ผศ. มัลลิกา ชมนาวัง)
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

บทคัดย่อ

ชื่อโครงการ การคัดกรองหาแบคทีเรียทางทะเลที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ

เพ็ญนภา เจริญวิวัฒน์กิจ , มานิตา สุริยรังษี

อาจารย์ที่ปรึกษา : วีณา นุฏกุลการ^{*}, มัลลิกา ชมนาวัง^{**}, จิตติ ท่าไผ่^{***}

^{*} ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

^{**} ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

^{***} ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

คำสำคัญ : แอคติโนไมยเซตีส, ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย, disc diffusion method, bioautography, MIC

โครงการพิเศษนี้มีวัตถุประสงค์ในการคัดกรองหาสารสกัดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนไมยเซตีส ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพจากตัวอย่างดินทะเล ณ เกาะลันตา จังหวัดกระบี่ โดยทำการสกัดสารจากแบคทีเรียในทั้งหมด 10 ชนิดที่เก็บตัวอย่างได้จากดินทะเลบริเวณต่างๆ เพื่อนำมาหาสารสำคัญที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคที่สนใจ จากนั้นทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณในอาหารเหลว yeast – malt broth และสกัดสารโดยวิธี partition ด้วยเอธิลอะซิเตต จากนั้นนำสารสกัดหยาบที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี disc diffusion โดยทำการทดสอบต่อเชื้อ *Staphylococcus aureus* *Staphylococcus epidermidis* *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas aeruginosa* พบว่าสารสกัดหยาบจากแบคทีเรียแอคติโนไมยเซตีส LT3-17 มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อต่างๆได้ดี สามารถวัดเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณที่เชื้อไม่เจริญได้ 3.27, 3.20, 2.89 และ 0.84 เซนติเมตร ตามลำดับ ทำการหาสารสำคัญที่แสดงฤทธิ์จาก TLC ด้วยวิธี bioautography โดยใช้ระบบนำพาคือ dichloromethane : methanol ในอัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร และทำการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* *S. epidermidis* และ *B. cereus* ผลการทดสอบพบว่าสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อเหล่านี้ได้ดีอยู่ที่ตำแหน่ง R_f เท่ากับ 0.426 จากนั้นนำสารสกัดหยาบมาสกัดแยกให้ได้สารบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางโครมาโตกราฟี ได้สารสำคัญบริสุทธิ์ 11.06% โดยน้ำหนัก และทำการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้ (MIC) ต่อเชื้อ *S. aureus* *S. epidermidis* และ *B. cereus* พบว่าค่า MIC ต่อเชื้อ *S. epidermidis* มีค่าเท่ากับ 1.25 $\mu\text{g/ml}$ ในขณะที่ค่า MIC ต่อเชื้อ *S. aureus* และ *B. cereus* มีค่าน้อยกว่า 0.3125 $\mu\text{g/ml}$ จากผลการทดลองจะพบว่า สารสกัด LT 3-17 มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อ *S. aureus* *S. epidermidis* และ *B. cereus* ได้ดี แต่มีผลเพียงเล็กน้อยในการยับยั้งเชื้อ *Ps. aeruginosa*

Abstract

Screening of marine microorganisms containing biological activity

Manita Suriyarangsee, Phennapa Chareonwiwattanakij

Project advisors : Veena Nukoolkarn^{*}, Mullika Chomnawang^{**}, Chitti Thawai^{***}

^{*} Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

^{**} Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

^{***} Department of Applied Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang

Keywords : Actinomycetes, antibacterial activity, disc diffusion, bioautography, MIC

The purposes of this study were to screen the marine microorganisms extracts for antibacterial activity and to purify an active substance from the extract. Ten actinomycetes strains were collected from sea soil in various areas of Lanta Island, Krabi, Thailand and cultured in yeast-malt broth. The fermentation broths were subsequently extracted with ethyl acetate. The crude extracts were tested for antibacterial activity. The screening test was done by disc diffusion method against 4 pathogenic microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, and *Pseudomonas aeruginosa*. The results showed that the crude extract of actinomycetes strains LT3-17 exhibited significant antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* and *Ps. aeruginosa* with the inhibition zones of 3.27, 3.20, 2.89 and 0.84 cm, respectively. The bioautography method using dichloromethane : methanol (9:1v/v) as solvents was conducted to find the active component on TLC. The active spot of R_f at 0.426 was found to possess strong antibacterial activity against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *B. cereus*. Further purification on several chromatographic techniques yielded the pure active compound at 11.06%w/w. The pure compound was tested for MIC against *S. aureus*, *S. epidermidis*, and *B. cereus*. The MIC value was 1.25 µg/ml against *S. epidermidis* while the MIC value against *S. aureus* and *B. cereus* were less than 0.3125 µg/ml. In conclusion, the LT3-17 extract could inhibit *S. aureus*, *S. epidermidis*, *B. cereus* effectively, but had a little effect on *PS. aeruginosa*.