## การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์

นางสาวพิชญา ฉัตรวุฒิศิริ นางสาวสุฑามาศ สถิตย์กุล

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล พ.ศ. 2560

# BIOSURFACTANT : CHARACTERIZATION AND ANTIMICROBIAL PROPERTIES

MISS PICHAYA CHATWUTSIRI MISS SUTHAMART SATHIDKUL

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF DOCTOR OF PHARMACY
FACULTY OF PHARMACY
MAHIDOL UNIVERSITY
2017

## โครงการพิเศษ เรื่อง การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์

(นางสาวพิชญา ฉัตรวุฒิศิริ)	
(นางสาวสุฑามาศ สถิตย์กุล)	
(อ.ดร.ผกากรอง วนไพศาล)	
อาจารย์ที่ปริกษา	
(รศ.ดร. ภญ. มัลลิกา ชมนาวัง) คาจารย์ที่ปริกษาร่วม	

#### บทคัดย่อ

### การศึกษาคุณสมบัติของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและ ประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์

พิชญา ฉัตรวุฒิศิริ, สุฑามาศ สถิตย์กุล

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผกากรอง วนไพศาล\*, มัลลิกา ชมนาวัง\*

\*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

คำสำคัญ: แบคทีเรียกลุ่มแบซิลลัส, สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ, การยับยั้งราก่อโรคพืช

โครงการนี้ได้ทำการคัดแยกแบคที่เรียที่สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวสีวภาพจากดินจำนวน 20 ตัวอย่างจากจังหวัดฉะเชิงเทราและนครสวรรค์ทดสอบการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพโดยการวัด คุณสมบัติการเกิดอิมัลซัน ขนาดการกระจายตัวบนน้ำมัน microplate assay และวิธี drop collapse test จากแบคทีเรียที่คัดแยกได้จำนวน 143 สายพันธุ์ พบว่าสายพันธุ์ SS11H04 เกิดอิมัลซันสูงสุดโดย สามารถสร้างอิมัลชันได้ 59% สายพันธุ์ SS1H11 ทำให้เกิดการกระจายตัวกว้างที่สุดโดยมีขนาด 12.25 ตารางเซนติเมตรได้ทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคพืชกลุ่ม Colletotrichum ผลการ ทดสอบด้วยวิธี co-cultivation พบว่าแบคที่เรียที่คัดแยกได้ สามารถยับยั้งรา *C. gloeosporiodes* c1060 ได้จำนวน 9 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งรา *C. gloeosporiodes* d0762 ได้จำนวน 35 สายพันธุ์ และยับยั้งรา *C. capsici* c1511 ได้จำนวน 7 สายพันธุ์ เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี agar well diffusion พบว่ามีเพียงสายพันธุ์ SS19H02 เท่านั้นที่สามารถที่ยับยั้งราชนิด *C. capsici* c1511 ได้ จำแนกชนิด ของแบคทีเรีย 4 สายพันธุ์ที่คัดแยกได้ ซึ่งมีคุณสมบัติในการสร้างสารลดแรงตึงผิวชีวภาพและยับยั้ง การเจริญของโดยวิเคราะห์ลำดับ 16S rRNA พบว่าสายพันธุ์ SS6H04 คือ Bacilius altitunidis สายพันธุ์ SS10H04 และ SS14H02 คือ Bacilius subtilis และสายพันธุ์ SS19H02 คือ Bacilius amyloliquefaciens จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ SS19H02 ที่คัดแยก ได้นี้สามารถสร้างสารลดแรงตึงผิวที่สามารถยับยั้งราก่อโรคพืชได้ ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาเพื่อใช้ ประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้ต่อไป

#### Abstract

Biosurfactant: characterization and antimicrobial properties

Pichaya Chatwutsiri, Suthamart Sathidkul

Project advisor: Pagakrong Wanapaisan\*, Mullika Chomnawang\*

\*Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University

Keyword: Bacillus sp., Biosurfactant, Antifungal activity

Biosurfactant producing strains were isolated from twenty soil samples collected from Chachoengsao and Nakhonsawan province. The production of biosurfactant was verified by determining emulsifying capacity as well as measuring the diameter of the oil spreading against N-hexadecane, microplate assay and drop collapse test. Among the one hundred forty-three strains, SS11H04 showed highest emulsification index with 59%. The widest diameter of the oil spreading of SS1H11 strain was 12.25 cm<sup>2</sup>. Inhibitory activity against Colletotrichum phytopathogenic fungi of the isolates was determined by cocultivation and agar well diffusion method. Co-cultivation showed that 9, 35 and 7 isolates have inhibitory effect against C. gloeosporioides c1060, C. gloeosporiodes d0762 and C. capsici c1511, respectively. Agar well diffusion plate showed that only SS19H02 can inhibit C. capsici c1511 growth. Four isolates which capable produce biosurfactant and antifungal activity were selected to further identify by 16S rRNA sequencing. The result showed that SS6H04 was identified as Bacilius altitunidis, SS10H04 and SS14H02 were identified as Bacilius subtilis and SS19H02 was identified as Bacilius amyloliquefaciens. Results of this study are very promising as cell free broth of B. amyloliquefaciens SS19H02 exhibits biosurfactant properties and potent natural fungicide which can be further developed for industrial applications.