

ชื่อวิทยานิพนธ์	การตรวจหาเมแทบอลิท์ของเชื้อราชนิดเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์
ผู้เขียน	นางสาวซูไบตะ หะยีวาเงาะ
สาขาวิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2544

บทคัดย่อ

ในการศึกษาหาเมแทบอลิท์ของเชื้อราชนิดเส้นใยที่มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้ทำการสกัดน้ำเลี้ยงราน้ำจำนวน 15 ชนิด และเห็ดจำนวน 9 ชนิด ด้วยเอธิลอะซิเตท พบว่าเชื้อราส่วนใหญ่ให้น้ำหนักร้อยละของสารสกัดค่อนข้างต่ำ จึงเลือกศึกษาฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เฉพาะเชื้อราที่ให้น้ำหนักร้อยละของสารสกัดมากกว่าหรือเท่ากับ 0.005 หรือให้ลักษณะโครมาโทแกรมบนโครมาโทกราฟีแผ่นบาง (Thin layer chromatography, TLC) เห็นการแยกของสารชัดเจน พบว่าเห็ด 6 ชนิด ให้น้ำหนักร้อยละของสารสกัดตามที่กำหนด และราน้ำ 3 ชนิด และเห็ด 2 ชนิด แสดงโครมาโทแกรมที่ต้องการ หลังจากนั้นนำเชื้อที่ให้ลักษณะโครมาโทแกรมที่แยกชัดเจนทั้ง 5 ชนิด ไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณและสกัดสารจากส่วนมวลชีวภาพด้วยไดคลอโรมีเทน เอธิลอะซิเตท และ เมธานอล เห็ดและราน้ำเมื่อผ่านขบวนการสกัดและขั้นตอนการคัดเลือกแล้ว ได้สารสกัดรวมทั้งสิ้น 28 สารสกัด ซึ่งประกอบด้วยสารที่สกัดจากส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยเอธิลอะซิเตท จำนวน 11 สาร และสารที่สกัดจากส่วนมวลชีวภาพ 17 สาร ซึ่งสกัดด้วยไดคลอโรมีเทน เอธิลอะซิเตท และ เมธานอล

ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์เบื้องต้นของสารสกัดข้างต้นโดยวิธี disc diffusion กับแบคทีเรียจำนวน 4 ชนิด (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, methicillin-resistant *S. aureus* SK1, *Escherichia coli* ATCC 25922 และ *Pseudomonas aeruginosa*) ยีสต์ 2 ชนิด (*Candida albicans* และ *Cryptococcus neoformans*) และเชื้อราก่อโรค 3 ชนิด (*Microsporium gypseum*, *Penicillium marneffeii* และ *Trichophyton rubrum*) พบว่าสารสกัดส่วนใหญ่มีฤทธิ์ยับยั้ง methicillin-resistant *S. aureus* SK1(MRSA) และ *E. coli* ATCC 25922 ต่ำ และไม่ยับยั้ง *P. aeruginosa* แต่สารสกัดส่วนใหญ่สามารถยับยั้งยีสต์ทั้ง 2 ชนิดได้ดี และมีเพียงสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนจากมวลชีวภาพส่วนน้ำจากราน้ำ T002/4 และเห็ดโคน (*Termitomyces cylindricus*) เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยของราก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

สำหรับสารสกัดจากมวลชีวภาพส่วนน้ำด้วยไดคลอโรมีเทนจากราน้ำ T002/4 และเห็ดโคน (*T. cylindricus*) สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. neoformans* เท่ากัน ด้วยค่า MIC 7.81 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากเห็ดโคน (*T. cylindricus*) ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus*

ATCC 25923 โดยมีค่า MIC เท่ากับ 3.90 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำสุดของสารสกัดจากส่วนมวลชีวภาพ นอกจากนี้สารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนจากราน้ำ T002/4 และเห็ดโคน (*T. cylindricus*) ยังสามารถยับยั้งเชื้อรา dermatophytes ทั้ง 2 ชนิด คือ *M. gypseum* และ *T. rubrum* มีค่า MIC อยู่ในช่วง 64-256 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และยับยั้งเชื้อ *P. marneffeii* โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 284.60 และ 210.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

สำหรับสารสกัดส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อที่สกัดด้วยเอธิลอะซิเตท พบว่าราน้ำ *Beltrania rhombica* และ *Volutella* sp.V06 มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียและยีสต์ โดยสารสกัดจากราน้ำ *B. rhombica* สามารถยับยั้ง *S. aureus* ATCC 25923 ได้ดีที่สุด มีค่า MIC เท่ากับ 0.98 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ *C. albicans* มีค่า MIC 15.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดจากราน้ำ *Volutella* sp.V06 สามารถยับยั้ง *C. neoformans* ด้วยค่า MIC 31.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Thesis Title Screening of Antimicrobial Active Metabolites from
 Filamentous Fungi
Author Miss Zubaidah Hajiwangoh
Major Program Microbiology
Academic Year 2001

Abstract

This study was conducted to screen antimicrobial active metabolites from filamentous fungi by extracting culture filtrate from 15 aquatic fungi and 9 macrofungi with ethyl acetate. Most extracts were obtained in low percent dry weight, thereby they were selected for further investigation by two considerations : the percent dry weight equal to 0.005 or more or well-separated chromatogram on thin layer chromatography. Crude extracts from 6 macrofungi had the required percent dry weight while extracts from 3 aquatic fungi and 2 macrofungi showed satisfied chromatogram. The five isolates which showed well-separated chromatogram were cultured in a larger scale to obtain enough material of culture filtrate and biomass for further extraction with dichloromethane, ethyl acetate and methanol. Consequently, there were 28 extracts of which 11 extracts were from culture filtrate and 17 extracts were from biomass.

Preliminary antimicrobial testing was performed using disc diffusion method against 4 bacteria (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, methicillin-resistant *S. aureus* SK1, *Escherichia coli* ATCC 25922 and *Pseudomonas aeruginosa*), 2 yeasts (*Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*) and 3 pathogenic filamentous fungi (*Microsporium gypseum*, *Penicillium marneffeii* and *Trichophyton rubrum*). Most of extracts showed weak inhibitory effect against methicillin-resistant *S. aureus* ATCC 25923 (MRSA) and *E. coli* ATCC 25922 and no inhibitory effect against *P. aeruginosa*. In contrast, most of extracts showed inhibitory effect against 2 yeasts, and only dichloromethane extracts from aqueous part of biomass of aquatic fungus T002/4 and

macrofungus, *Termitomyces cylindricus*, showed antifungal activity against 3 pathogenic filamentous fungi.

Dichloromethane extracts from aqueous part of biomass of aquatic fungus T002/4 and macrofungus, *T. cylindricus* revealed inhibitory activity against *C. neoformans* with the same MIC value of 7.81 µg/ml. However, *T. cylindricus* extract showed the most inhibitory activity against *S. aureus* ATCC 25923 with MIC value of 3.90 µg/ml, which was the lowest MIC of the extract from biomass part. Furthermore, both extracts showed antifungal activity against 2 dermatophytes, *M. gypseum* and *T. rubrum* with MIC values in the range of 64-256 µg/ml. They also showed antifungal activity against *P. marneffeii* with EC₅₀ of 284.60 and 210.74 µg/ml, respectively.

Culture filtrate extracted with ethyl acetate from aquatic fungi *Beltrania rhombica* and *Volutella* sp.V06 showed inhibitory activity against bacteria and yeasts. Particularly, *B. rhombica* extract inhibited *S. aureus* ATCC 25923 with the lowest MIC value of 0.98 µg/ml and showed inhibitory activity against *C. albicans* with MIC value of 15.63 µg/ml. *C. neoformans* was inhibited by *Volutella* sp.V06 extract with MIC value of 31.25 µg/ml.