

ชื่อเรื่อง	การคัดเลือกแอคติโนมัยสีทที่ผลิตสารปฏิชีวนะ และผลของสารสกัดที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของ <i>Mycobacterium smegmatis</i>
ผู้วิจัย	ธนุฒิ พรหมบัญญัติ
สถานที่ปรึกษา	ดร. สงกรานต์ เชื้อครุฑ
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ธวัชชัย สุ่มประดิษฐ์ ดร. อภินันท์ ลิ้มมงคล
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาจุลชีววิทยา, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2551
คำสำคัญ	แอคติโนมัยสีท สารปฏิชีวนะ มัยโคแบคทีเรีย

บทคัดย่อ

ทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์ของแอคติโนมัยสีทได้ทั้งหมด 137 ไอโซเลทจากตัวอย่างดินที่เก็บตามป่าในประเทศไทยจำนวน 21 ตัวอย่าง นำมาคัดเลือกไอโซเลทที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทดสอบในชั้นปฐมนิพนธ์อาหาร Yeast-Extract Glucose Medium ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามี 46 ไอโซเลท (33.6 เปอร์เซ็นต์) สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. smegmatis* ได้ เมื่อนำแอคติโนมัยสีทมาเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อตรวจสอบความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ ปรากฏว่าคัดเลือกแอคติโนมัยสีทได้ 8 ไอโซเลท ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *M. smegmatis* ได้ โดยไอโซเลท SS1-14, KY2-2 และ PL1-4 สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อ *M. smegmatis* ได้ดี โดยให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสขนาด 17 ± 0.0 มิลลิเมตร ซึ่งสารปฏิชีวนะของไอโซเลท KY2-2 มีการออกฤทธิ์ในช่วงแคบจำเพาะกับ *M. smegmatis* จึงได้เลือกไอโซเลท KY2-2 มาทำการเลี้ยงในถังหมักเพื่อผลิตสารปฏิชีวนะเป็นเวลา 3 วัน เมื่อนำมาสกัดด้วย ethyl acetate และนำไปทดสอบฤทธิ์ในการต้าน *M. smegmatis* พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *M. smegmatis* ได้ และมีค่า MIC เท่ากับ 32 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

สารปฏิชีวนะที่สกัดได้จากแอคติโนมัยสีทไอโซเลท KY2-2 สามารถแยกออกจากสิ่งปนเปื้อนโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นเคลือบ (thin-layer chromatography) เมื่อใช้สารละลาย ethyl acetate : methanol ในอัตราส่วน 25:1 เป็น mobile phase จากการตรวจสอบสารปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญของ *M. smegmatis* โดยวิธีไบออออโตกราฟี (Bioautography)

พบแถบสารสกัด 4 แถบที่แยกได้บนแผ่น TLC มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *M. smegmatis* ซึ่งสารสกัดนี้มีค่า Rf เท่ากับ 0.28, 0.31 0.71 และ 0.86

การจำแนกชนิดของแอคติโนมัยสีท KY2-2 มีความใกล้เคียงกับ *Streptomyces mediolani* โดยอาศัย partial 16S rDNA sequence analysis จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์ใกล้เคียงกับ *S. mediolani* cfcc3153 ในฐานข้อมูล GenBank



Title SELECTION OF ANTIBIOTIC PRODUCING ACTINOMYCETES
AND THE INHIBITION EFFECT OF ITS EXTRACTS ON GROWTH
OF Mycobacterium smegmatis

Author Thanawut Prombunchachai

Advisor Songkran Shuakrut, Ph.D.

Co - Advisor Assistant Professor Tawatchai Sumpradit, Ph.D.
Apinun Limmongkon, Ph.D.

Academic Paper Thesis M.Sc. in Microbiology,
Naresuan University, 2008

Keywords Actinomycetes, Antibiotic, Mycabacteria

ABSTRACT

One hundred and thirty seven isolates of actinomycetes were isolated from 21 forest soil samples collected from different places in Thailand. All isolates were primary screened for antimicrobial activity on Yeast-Extract Glucose Medium at 30°C. It was found that forty six isolates of actinomycetes (33.6%) can inhibited the growth of M. smegmatis. However, only eight isolates from these selected isolates can produce antibiotics against M. smegmatis when they were secondary screened in the liquid medium. Actinomycetes SS1-14, KY2-2 and PL1-4 produced antibiotics to inhibited M. smegmatis with the biggest clear zone around 17 mm. And actinomycetes KY2-2 was selected based on inhibit test microorganism was narrow spectrum. After 3 days of cultivation, The fermentation broth with an antimicrobial activity of the isolate KY2-2 was extracted with an ethyl acetate. The extracted fraction was further tested for inhibition of M. smegmatis growth. It was found that MIC value is 32 µg/ml.

The extract was partially purified by thin-layer chromatography techniques using ethyl acetate : methanol (25 : 1) as a mobile phase. The separated bands on TLC were assayed for the inhibition M. smegmatis growth by bioautography techniques. The result showed that an extract had 4 active fractions which provided approximately 0.28, 0.31, 0.71 and 0.86 of Rf values.

The Actinomycetes KY2-2 was indentified to be the Streptomyces mediolani base on the homology of the partial 16s rDNA sequence to S. mediolani cfcc3153 on the GenBank database.

