โครงการวิจัยที่ 3 จุลชีพที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ : แหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร ระยะที่ 2

ดร. ชุติวรรณ เดชสกุลวัฒนา, มหาวิทยาลัยบูรพา; ผศ.ดร. ปรีชา ภูวไพรศิริศาล, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ.ดร. ภาวิณี ปิยะจตุรวัฒน์, มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ปัญหาการเพิ่มขึ้นของโรคอุบัติใหม่และการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อโรคต่างๆ ในโลกนับเป็นภัยคุกคามต่อสุขภาพของมนุษย์ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาสารตัวยาใหม่โดยทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียทดสอบโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำในทะเลไทย ซึ่งจะเป็นแหล่งใหม่ของสารออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย จากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียทดสอบโดยแบคทีเรียทะเลจำนวน 444 สายพันธุ์ ที่ได้คัดแยกจากฟองน้ำ 66 ตัวอย่างที่เก็บมาจากเกาะแตน และ เกาะมัดสุ่ม จังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยตรวจสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวก ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* และแกรมลบ ได้แก่ *Psedomonas aeruginosa*, *Vibrio alginoliticus* และ *Escherichia coli* พบว่ามีแบคทีเรียทะเลที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำ 44 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ10 ที่แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบ ได้แก่ *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* และ *E. coli* แต่ไม่มีแบคทีเรียทะเลใดสามารถยับยั้ง *V. alginoliticus* เมื่อนำสายพันธุ์ที่แสดงฤทธิ์ทั้ง 44 สายพันธุ์ มาทำการเพาะเลี้ยงและสกัดสารแยกออกเป็นส่วนของน้ำเลี้ยงสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท และส่วนของเซลล์สกัดด้วยสารละลายผสมเมทานอลและคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 2:1) และระเหยแห้งด้วย Rotary Evaporator จนได้สารสกัดหยาบทั้งสองส่วน จากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียซ้ำด้วยวิธี Disc Diffusion Agar Assay พบว่าสารสกัดหยาบของแบคทีเรียทะเลนี้มีเพียง 11 สายพันธุ์ที่ยังคงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบได้แก่ *B. subtilis*, *S. aureus* และ *V. alginoliticus* แต่มีสารสกัดหยาบของแบคทีเรียทะเล 33 ตัวอย่างสูญเสียความสามารถในการยับยั้ง *E. coli*

บทนำ

การศึกษาบทบาทศักยภาพของจุลชีพ /แบคทีเรียทะเลที่สำคัญต่อระบบเวศน์ในทะเล ในการผลิตสารเมตาบอไลต์ ได้กลายเป็นหัวข้อการวิจัยใหม่ที่สำคัญในปัจจุบัน(Faulkner, 2000) มีการค้นคว้าวิจัยหลาย ๆ โครงการค้นพบสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหรือสารปรกอบเคมีที่น่าสนใจเพิ่มจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ (Barsby et al., 2001; Chelossi et al., 2004.; Hardt et al., 2000) โดยส่วนใหญ่ความสนใจจะมุ่งเน้นที่การวิจัยจุลินทรีย์ทั้งจากตะกอนดินบริเวณชายฝั่งและทะเลลึก แบคทีเรียทะเลสามารถผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียและ/หรือสารยับยั้งการลงเกาะของเพรียง antifouling(Holmstrom and Kjelleberg, 1999; De Rosa et al., 2000; Egan et al., 2000; Dechsakulwaatana et al, 2002) ซึ่ง Wilkinson (1978) ทั้งสารเคมีและ/หรือทางกายภาพภายในฟองน้ำที่เกี่ยวข้องกับมวลชีวภาพของจุลินทรรีย์มากถึง 40 % (Vacelet, 1975; Wilkinson, 1978 a;b; Berthold, et al., 1982)

ในปัจจุบันยังไม่มียาปฏิชีวนะใดที่มีคุณสมบัติดีทุกด้าน ทำให้งานการค้นหาตัวยาใหม่ๆ ยังมีความจำเป็น อย่างไรก็ตามการผลิตยาปฏิชีวนะจากจุลินทรีย์มีข้อดี คือ 1. สามารถปรับปรุงสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตได้ 2. สามารถปรับปรุงสภาแวดล้อมในการเจริญของจุลินทรีย์ 3. สามารถปรับปรุงและควบคุมสภาวะในการผลิตสารของ จุลินทรีย์ เป็นต้น (มาลิน, 2540)

จากการค้นคว้าจึงจำเป็นต้องมีการศึกษาบทบาทของแบคทีเรียที่ผลิตสารปฏิชีวนะที่แยกได้จากสิ่งมีชีวิตที่ไม่มีกระดูกสันหลังในทะเล และคุณประโยชน์ทางการแพทย์ของสารที่ต่อต้านจุลินทรีย์ที่ผลิตโดย แบคทีเรียที่อาศัยอยู่กับฟองน้ำตลอดจนแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่อาศัยอยู่ในทะเลเพื่อใช้ในการพัฒนาปรับปรุงเป็นยารักษาโรคในชั้นสูงต่อไป

การศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารในประเทศไทยยังมีอยู่น้อยมากทั้งที่ประเทศไทยเป็นแหล่งทรัพยากรทางทะเลที่อุดมสมบูรณ์และนักวิจัยชาวต่างชาติพยายามที่จะเข้ามาทำการศึกษาวิจัยในรูปแบบต่างๆ ถึงแม้ว่าจะเริ่มมีหน่วยงานอื่นที่ศึกษาในเรื่องนี้อยู่บ้างแต่จากผลการศึกษาเบื้องต้นของ Kijjoa et al. (2002, 2007) และชุติวรรณและคณะ(2541)พบว่าฟองน้ำชนิดเดียวกันที่เก็บในประเทศไทยสถานที่เดียวกันแต่แตกต่างช่วงเวลา จะให้สารประกอบและแบคทีเรียที่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงควรที่จะสนับสนุนการศึกษาวิจัยด้านผลิตภัณฑ์ธรรมชาติจากทะเลให้มากยิ่งขึ้น และช่วยกันศึกษาวิจัยหลายๆหน่วยงานเพื่อเสริมสร้างความเข้มแข็งศักยภาพในการแข่งขันของประเทศและส่งเสริมให้ประเทศไทยได้พึ่งพาตนเองในด้านอุตสาหกรรมยาและผลิตภัณฑ์เคมีได้มากขึ้นและเร็วยิ่งขึ้นทันต่อการพัฒนาประเทศในอนาคตอันใกล้นี้

จากการตรวจสอบฤทธิ์ของแบคทีเรียทะเลที่แยกได้จากฟองน้ำในการสร้างสารมาต้านการเจริญของแบคทีเรียที่ทดสอบทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Psedomonas aeruginosa*, *Vibrio alginoliticus* และ *Escherichia coli* ในระยะเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งจากจำนวนแบคทีเรียทะเล 444 สายพันธุ์ที่แยกได้จากฟองน้ำ มี 44 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 10 ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ พบว่าแบคทีเรียทะเลจำนวน 38 สายพันธุ์ สามารถต้านการเจริญของ *B. subtilis* ได้ ซึ่งสายพันธุ์ TE 11-9 Or ให้ผลการต้านขนาดใหญ่ที่สุด โดยที่มีฤทธิ์ต้านการเจริญของ *S. aureus* ได้ มีแบคทีเรียทะเลจำนวน 16 สายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์ TE 19-5 BK ให้ผลการต้านขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนที่มีฤทธิ์ต้าน *E. coli* มีแบคทีเรียทะเลจำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งความสามารถในการต้านของแบคทีเรียทะเลแต่ละสายพันธุ์นั้นมีค่าใกล้เคียงกัน และแบคทีเรียทะเลเพียงตัวเดียวที่สามารถต้านเชื้อ *P. aeruginosa* ได้แก่ TE 9-8Y ซึ่งไม่มีแบคทีเรียทะเลสายพันธุ์ที่สามารถต้านเชื้อ *V. alginoliticus* ได้

สรุปได้ว่าแบคทีเรียทะเลที่แยกได้จากฟองน้ำสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) ที่ทดสอบได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* และ *S. aureus* และ แบคทีเรียแกรมลบ (gram negative) ที่ทดสอบได้ 2 ชนิดเช่นเดียวกัน ได้แก่ *P. aeruginosa* และ *E. coli*

จากการตรวจสอบฤทธิ์การต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบทั้ง 5 ชนิด ของสารสกัดหยาบที่สกัดได้จากส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์ของแบคทีเรียทะเลที่แยกจากฟองน้ำเพาะเลี้ยงที่ปริมาตร 1 ลิตร ที่ระดับความเข้มข้น 200, 400 และ 800 µg มีเพียง 11 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 25 จาก 44 สายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ พบว่าสารสกัดหยาบจากแบคทีเรียทะเลสามารถต้านการเจริญของ *B. subtilis* ได้แก่ สายพันธุ์ TB 8-6Br (เซลล์), TA 5-3 Br (น้ำเลี้ยง) และ MSB 5-3 R (เซลล์) ซึ่งสายพันธุ์ TB 5-2-7 Bk, TE 11-1 DP, TA 5-12 Bk สามารถต้านได้ทั้งในส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์ โดยสายพันธุ์ CD3085Br (เซลล์) ให้ผลการต้านขนาดใหญ่ที่สุด ส่วนสารสกัดหยาบจากแบคทีเรียทะเลที่สามารถต้านการเจริญของ *S. aureus* ได้แก่ สายพันธุ์ TA 5-12 Bk (น้ำเลี้ยง), TB 8-6Br (น้ำเลี้ยง), TC 3-1 Bk (เซลล์), MSB 5-3 R (เซลล์), MSA 2-3 R (น้ำเลี้ยง), MSA 3-6 (น้ำเลี้ยง), MSA 2-3 R (เซลล์) และ MSB 6-3R (เซลล์) ได้ ซึ่ง TB 8-6Br, TB 5-2-7 Bk และ TE 11-1 DP สามารถต้านได้ทั้งในส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์ โดยสายพันธุ์ TA 5-12 Bk (น้ำเลี้ยง) ให้ผลการต้านขนาดใหญ่ที่สุด ในขณะที่สารสกัดหยาบจากแบคทีเรียทะเลที่สามารถต้านการเจริญของ *V. alginoliticus* ได้แก่ สายพันธุ์ MSB 5-3 R (เซลล์), MSA 2-3 R (เซลล์), และ MSB 6-3R (เซลล์) ซึ่งสายพันธุ์ TE 11-1 DP และ MSA 3-6สามารถต้านได้ทั้งในส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์ โดยสายพันธุ์ TE 11-1 DP (เซลล์) ให้ผลการต้านขนาดใหญ่ที่สุด ซึ่งไม่มีสารสกัดหยาบที่สกัดจากแบคทีเรียทะเลสายพันธุ์ใดสามารถต้านเชื้อ *P. aeruginosa* และ *E. coli* ได้ จะพบว่าสารสกัดหยาบที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบทั้งอยู่ในส่วนของทั้งส่วนของน้ำเลี้ยงและเซลล์จำนวน 4 สายพันธุ์ เฉพาะส่วนน้ำเลี้ยงจำนวน 3 สายพันธุ์ และส่วนเซลล์จำนวน 3 สายพันธุ์

สรุปได้ว่าสารสกัดหยาบจากแบคทีเรียทะเลมีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive) ที่ทดสอบได้ 2 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis* และ *S. aureus* และ แบคทีเรียแกรมลบ (gram negative) ได้แก่ *V. alginoliticus* เพียงชนิดเดียว

ตารางที่ 3 ผลของสารสกัดหยาบที่สกัดมาจากแบคทีเรียทะเลในการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบที่ระดับความเข้มข้น 200, 400 และ 800 µg/disc (disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร)

	รหัสแบคทีเรียทะเล	ผลการต้านเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบ (มิลลิเมตร)								
		B. Subtilis			*S. aureus*			*V. alginoliticus*		
		200	400	800	200	400	800	200	400	800
3	TB8 – 6 Br(น้ำเลี้ยง)	–	–	–	–	10.0	ND	–	–	–
4	TB8 – 6 Br (เซลล์)	–	–	21.7	–	–	14.5	–	–	–
5	TA5 – 3 Br(น้ำเลี้ยง)	–	17.5	ND	–	–	–	–	–	–
13	TA5-2-7BK(น้ำเลี้ยง)	–	11.7	ND	–	6.5	ND	–	–	–
14	TA5-2-7BK(เซลล์)	–	–	15.0	–	–	10.0	–	–	–
23	TB 6 – 1 Br(น้ำเลี้ยง)	–	–	–	–	8.5	ND	–	–	–
35	TE 11 – 1DP(น้ำเลี้ยง)	–	11.0	ND	–	8.0	ND	–	7.5	ND
36	TE 11 – 1 DP(เซลล์)	–	–	17.5	–	–	13.2	–	–	12.7