บทคัดย่อภาษาไทย

เชื้อราแซบโพรไฟท์และเห็ดบางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเมลานินสังเคราะห์ได้ แต่ยังไม่เคยมีรายงานว่าเชื้อราเอนโดไฟท์มีความสามารถดังกล่าวหรือไม่ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดครองเชื้อราเอนโดไฟท์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเมลานินสังเคราะห์ ซึ่งอาจจะมีความสามารถในการทำให้สีผิวหนังขาวขึ้น และคาดว่าจะนำจะไปใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอางได้ โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟท์ จำนวน 332 ไอโซเลท จากตัวอย่างพืช 21 สายพันธุ์ และคัดกรองความสามารถของเชื้อราในการผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส ด้วยวิธีคัดกรองแบบดั้งเดิมบนอาหารแข็งที่มีส่วนผสมของสี Azure B และวัดผลจากโซนใสรอบ ๆ โคโลนีเชื้อรา และคัดกรองในอาหารเหลวที่มีส่วนผสมของสี Azure B แล้ววัดผลโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงของสี Azure B แล้วคำนวณเป็นค่าร้อยละการทำให้สี Azure B จงลง (% Decolorization) ซึ่งเป็นวิธีใหม่ พบว่าการคัดกรองด้วยวิธีใหม่มีความเหมาะสมสำหรับการคัดกรองลิกนินเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อรา โดยจะประเมินผลคัดกรองเป็นบวกเมื่อร้อยละการทำให้สี Azure B จางลงมีค่า ≥ 70 ซึ่งการคัดกรองด้วยวิธีใหม่แบบใช้อาหารเหลวนี้ช่วยประหยัดเวลาและต้นทุนสำหรับการคัดกรองด้วย เนื่องจากสามารถทดสอบได้กับเชื้อราหลายไอโซเลทได้ในคราวเดียวกัน ใช้ปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อน้อย (10 มล/ไอโซเลท) และได้ผลการคัดกรองในเชิงปริมาณเบื้องต้นอีกด้วย ในขณะที่แบบอาหารแข็ง จะทำได้เพียง 1 ไอโซเลท ต่ออาหารแข็ง 1 จาน (25 มล/ไอโซเลท) จากผลการคัดกรองบนอาหารแข็งและอาหารเหลว พบว่ามีเชื้อราเอนโดไฟท์ 14 สายพันธุ์ ให้ค่าเป็นบวกกับทั้งสองวิธี โดยมีค่าร้อยละการทำให้สี Azure B จางลง ≥ 95 และเมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลวเพื่อผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสและวัดกิจกรรมเอนไซม์ พบว่า เชื้อราเอนโดไฟท์ 4 สายพันธุ์ คือ TM25, MP03, MP26 และ MP29 มีกิจกรรมเอนไซม์ที่สูงกว่าเชื้อราอื่น ๆ (160, 170, 184, และ 204 ยูนิต/มล ตามลำดับ) เมื่อนำไปทดสอบค่าความสามารถในการทำให้สีเมลานินสังเคราะห์จางลง พบว่าเอนไซม์จาก MP03 ซึ่งแยกได้จากต้นมะขามป้อมให้ค่าความสามารถในการทำให้สีเมลานินสังเคราะห์จางลงมากที่สุด การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสจากเชื้อราเอนโดไฟท์อาจสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางเพื่อทำให้สีเมลานินของผิวหนังจางลงได้ และเนื่องจากเอนไซม์นี้ผลิตได้จากแหล่งชีวภาพ ดังนั้นจึงน่าจะเป็นสารที่ได้รับการยอมรับมากกว่าการใช้สารเคมีในส่วนผสมของตำรับเครื่องสำอาง

คำสำคัญ: เชื้อราเอนโดไฟท์, เมลานิน, สารทำให้ผิวขาว, ลิกนินเปอร์ออกซิเดส, เอนไซม์

ABSTRACT

Various species of saprobic fungi and mushroom have been reported to produce specific enzyme to degrade synthetic melanin and hypothesized that fungal enzyme could produce melanolytic activity which may potential application in cosmetics. However, endophytic fungi have never been reported for its application in melanolytic activity. This study aimed to investigate an alternative approach of melanin lightening through activity of lignin peroxidase (LiP) from endophytic fungi, which may help to avoid the adverse effects of chemical to skin. The 332 endophytic fungi isolated from 21 plant species were screened for LiP activity using the traditional azure B agar medium together with the new introduce azure B liquid medium methods. For the agar medium method, the production of LiP as clearance of blue colored medium was observed and diameter of the clear zone was measured. For liquid medium method, the % decolorization of azure B was measured. The new screening method was suited for screening of LiP with interpretation of positive results by % decolorization of azure B was ≥70. The positive strains were subjected to produce LiP in liquid medium, assayed for enzyme activity, and tested for ability of melanin decolorization. Fourteen endophytyes were signified positive result with both agar medium and presented ≥95% azure B decolorization in liquid medium screening methods were selected as positive strain for LiP. Of these, 4 endophytes; TM25, MP03, MP26, and MP29 were expressed high LiP activity in liquid medium (160, 170, 184, and 204 units/ml, respectively). The greatest melanin decolorization rate was activated by LiP produced from endophyte MP03 which isolated from Indian gooseberry (*Phyllanthus emblica* L.). This study demonstrated that LiP from endophytic fungi may possible in cosmetic application for purpose of melanin lightening. This approach appears to be importance because the enzyme is a biological origin and will be more acceptable for cosmetic purpose than chemical formulations.

Keywords: Endophytic fungi, Enzyme, Lignin peroxidase, Melanin, Whitening agent