การศึกษาการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากกากเมล็ดชา

นางรจพร วัชโรทยางกูร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเภสัชศาสตรมหาบัณฑิต

ภาควิชาจุลชีววิทยา

บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2529

ISBN 974-566-777-3

013683 | I 15778915

A STUDY ON ANTIFUNGAL ACTION OF TEA SEED CAKE EXTRACT

Mrs. Rochaporn Wacharothayankura

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Pharmacy

Department of Microbiology

Graduate School

1986

Thesis Title	A Study on Antifungal Action of Tea Seed Cake Extract
By	Mrs. Rochaporn Wacharothayankura
Department	Microbiology
Thesis Advisor	Associate Professor Sukanya Jesdanondh, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Orapin Yingyong

Accepted by the Graduate School, Chulalongkorn University in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master's Degree

.....S. Bhisalbutra.....

(Associate Professor Sorachai Bhisalbutra,Ph.D)

Acting Associate Dean for Academic Affairs

for

Acting Dean for the Graduate School

Thesis Commottee

.....Santi Thoongsuwan..... Chairman

(Associate Professor Santi Thoongsuwan, Ph.D)

.....Sukanya Jesdanondh.....Member

(Associate Professor Sukanya Jesdanondh, Ph.D)

.....Saree Virunhaphol.....Member

(Associate Professor Saree Virunhaphol)

.....Suvit Areekul.....Member

(Professor Dr. Suvit Areekul

Copyright of the Graduate School, Chulalongkorn Universoty

Thesis Title	A Study on Antifungal Action of Tea Seed Cake Extract
Name	Mrs. Rochaporn Wacharothayankura
Thesis Advisor	Associate Professor Sukanya Jesdanondh, Ph.D.
Thesis Co-Advisor	Associate Professor Orapin Yingyong
Department	Microbiology
Academic Year	1985

ABSTRACT

Tea seed cake extract (TK) and the light precipitate obtained from partial purification of TK (P) composed of at least 5 and 4 components respectively, They were effective in vitro against *C. albicans* ATCC 10231 and *Arthroderma benhamiae* JCM 01886. The MIC/MFC of TK against *C. albicans* in YNB, buffered YNB and SDB were 156/312.5, 156/156 and 312.5/312.5 µg/ml respectively by the broth dilution method and the MIC was 312.5 µg/ml in SDA by the agar dilution method. The MIC/MFC of TK against *A. benhamiae* was 156/156 µg/ml in SDB by the broth dilution method and the MIC was 156 µg/ml in SDA by the agar dilution method. The MIC/MFC of P against *C. albicans* in YNB, buffered YNB and SDB were 156/625, 2,500/5,000 and 500/1,000 µg/ml respectively by the broth dilution method and the MIC was 10,000 µg/ml in SDA by the agar dilution method, The MIC/MFC of P against *A. benhamiae* was 5,000/10,000 µg/ml in SDB by the broth dilution method and the MIC was 5,000 µg/ml in SDA by the agar dilution method

Kinetics of inhibition of growth and killing of organisms showed that the onset of action of TK was 2 hours for *C. albicans* and 1 day for *A. benhamiae*. The 200 µg/ml TK reduced the number of viable cells to 57.14%,22.14%,2.7% and 0.17% of the control culture at the 2-,4-,6- and 8-hour incubations respectively and no viable cell was observed at the 24-hour incubation while the 1,000 µg/ml TK reduced the number of viable cells to 37.76% and 8.97% of the control culture at the 2- and 4-hour incubations respectively and it killed all of the organisms at the 24-hour incubation. The 200 µg/ml TK reduced the dry mycelial weight of *A. benhamiae* to 46.39%,35% and 31.69% of the control culture at the 1-,5- and 7-day incubations while the dry mycelium of the 1,000 µg/ml TK treatment were reduced to 33.44%,13.82%,8.73% and 2.65% at the 1-,3-,5- and 7-day incubations respectively. The morphological changes of *C. albicans* and *A. benhamiae* were observed by light microscopy, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy. The blastoconidia and pseudomycelium of *C. albicans* treated with TK were shrink, broken and collapsed with the cytoplasmic content liberation while the mycelium of *A. benhamiae* was bulge, shrink, tattery and the cytoplasmic content was liberated. The effect of TK on morphological changed were dose-dependent. Furthermore, TK inhibited ^{3}H-thymidine and ^{14}C-glucose incorporation into DNA and carbohydrate of the two organisms and this effect was also dose-dependent. The results depicted that TK appeared to be fungistatic and fungicidal depending on the dosage of the drug and the sensivity of the fungi. The primary sites of action of the drug were cell membrane and cell wall while other cytoplasmic organelles were also involved and the DNA and carbohydrate biosynthesis were markedly inhibited.

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการออกฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดจากกากเมล็ดฝ่า
ชื่อนิสิต	นางรจพร วัชโรทยางกูร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. เภสัชกรหญิงสุกัญญา เจษฎานนท์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ เภสัชกรหญิงอรพิน ยืนยง
ภาควิชา	จุลชีววิทยา
ปีการศึกษา	2528

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

สารสกัดจากกากเมล็ดฝ่า (ทีเค) และตะกอนเบาที่ได้จากการทำทีเคให้บริสุทธิ์ขึ้น (พี) ประกอบด้วยสารอย่างน้อย 5 และ 4 องค์ประกอบตามลำดับ สารทั้งสองตัวนี้เราพบว่าออกฤทธิ์ในหลอดทดลองต่อ *Candida albicans* ATCC 10231 และ *Arthroderma benhamiae* JCM 01886 ค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้/ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อได้ ของทีเคต่อ *C. albicans* ใน YNB, buffered YNB และ SDB เท่ากับ 156/312.5 , 156/156 และ 312.5/312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้เท่ากับ 312.5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใน SDA โดยวิธีการเจือจางในอาหารวุ้น ค่าความเข้มข้นที่ยับยั้งเชื้อได้/ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อได้ ของ ทีเค ต่อ *A. benhamiae* คือ 156/156 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว และค่าความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้คือ 156 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรใน SDA โดยวิธีเจือจางในอาหารวุ้น ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้/ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อได้ ของ YNB ต่อ *C. albicans* ใน YNB, buffered YNB และ SDB คือ 156/625, 2,500/5,000 และ 500/1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว และความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้ คือ 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใน SDA โดยวิธีเจือจางในอาหารวุ้น ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้/ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ฆ่าเชื้อได้ ของ พี ต่อ *A. benhamiae* คือ 5,000/10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใน SDB โดยวิธีเจือจางในอาหารเหลว และ

ความเข้มข้นน้อยที่สุดที่ยับยั้งเชื้อได้คือ 5,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ใน SDA โดยวิธีเจือจางในอาหารวุ้น การศึกษาจลนศาสตร์ของการยับยั้งและฆ่าเชื้อพบว่า ทีเค เริ่มออกฤทธิ์ต่อ *C. albicans* เมื่อเวลา 2 ชั่วโมง และเริ่มออกฤทธิ์ต่อ *A.benhamiae* เมื่อเวลา 1 วัน ทีเค 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะฆ่าเชื้อ *C. albicans* เหลือเพียง 57.14 % , 22.14 % ,2.7 % และ 0.17 % ของคอนโทรล ที่เวลา 2,4,6 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ และฆ่าเชื้อนี้ทั้งหมดที่เวลา 24 ชั่วโมง ขณะที่ ทีเค 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะฆ่าเชื้อเหลือเพียง 37.76% และ 8.97% ของคอนโทรล ที่เวลา 2 และ 4 ชั่วโมง ตามลำดับ และฆ่าเชื้อหมดที่เวลา 6 ชั่วโมง ทีเค 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ออกฤทธิ์ต้านเชื้อ *A.benhamiae* โดยพบว่าน้ำหนักแห้งของมัยซีเลียมลดลงเป็น 46.39% , 3.5% และ 31.69% ของคอนโทรลที่เวลา 1,5 และ 7 วันตามลำดับ ขณะที่ ทีเค 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร จะทำให้น้ำหนักแห้งของมัยซีเลียมลดลงเหลือเพียง 33.44%,13.82%, 8.73% และ 2.65% ของคอนโทรล ที่เวลา 1,3,5 และ 7 วัน ตามลำดับ จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ กล้องจุลทรรศน์อีเล็คตรอนแบบสำรวจผิวภายนอก และกล้องจุลทรรศน์แบบทรานส์มิสชั่น พบว่า ทีเค ทำให้รูปร่างของ *C.albicans* และ *A. benhamiae* มีความเปลี่ยนแปลง กล่าวคือ บลาสโตโคนิเดียและซูโดมัยซีเลี่ยมของ *C.albicans* จะเหี่ยวย่น แตกสลายและย่นยุบ พร้อมทั้งปลดปล่อยส่วนประกอบของเซลล์ออกมาภายนอก ในขณะที่มัยซีเลี่ยมของ *A. benhamiae* จะบวมพอง มีขนาดสั้น เหี่ยวย่นและกะรุ่งกะริ่ง พร้อมทั้งปลดปล่อยส่วนประกอบของเซลล์ออกมาภายนอก เยื่อหุ้มเซลล์ ผนังเซลล์และออร์กาเนลล์ในซัยโตพลาสซึมของเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ จะถูกทำลายและเปลี่ยนแปลงไปอย่างเห็นได้ชัด นอกจากนี้ ทีเค ยังยับยั้งการนำ ^{3}H-Thymidine และ ^{14}C-Glucose ไปประกอบเป็น ดีเอ็นเอ และคาร์โบฮัยเดรต ตามลำดับ ในเชื้อทั้ง 2 ชนิดนี้ด้วย ผลการทดลองเล่นอว่า ทีเค น่าจะออกฤทธิ์ยับยั้งหรือฆ่าเชื้อรา ขึ้นกับความเข้มข้นของยาและความไวของเชื้อรานั้น ๆ โดยออกฤทธิ์ที่เยื่อหุ้มเซลล์และผนังเซลล์เป็นประการแรก และออร์กาเนลล์อื่น ๆ ในซัยโตพลาสซึมก็จะได้รับผลจาก ทีเค ด้วย นอกจากนั้น ยานี้ยังยับยั้งการสร้าง ดีเอ็นเอ และคาร์โบฮัยเดรตด้วย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ACKNOWLEDGEMENT

The author wish to express her sincere gratitude and appreciation to Associate Professor Dr. Sukanya Jesdanondh and Associate Professor Orapin Yingyong, who served as my advisor and co-advisor, for their advice and encouragement throughout the research project and for patiently correcting this thesis.

The author also would like to express her appreciation to Associate Professor Dr. Santi Thoongsuwan, Associate Professor Saree Virunhaphol, and Professor Dr. Suvit Areekul, her preceptor and co-preceptors, for their valuable suggestions, comments, criticisms and correction of this thesis.

Additional appreciations is expressed to Dr. Prasert Sobhon, Dr. Chaitip Wanichanon, Assistant Professor Nijsiri Ruangrangsi, Assistant Professor Tida Tochirakarn, Associate Professor Piyarat Tosukhovong, Assistant Professor Ariya Chindamporn, Miss Pornchan Saithongdee and Miss Sunantha Chariyalerdsak for their valuable advices.

Candida albicans ATCC 10231 was kindly obtained from Department of Microbiology, Faculty of Pharmacy, Mahidol University, and *Arthroderma benhamiae* was very kindly obtained from Professor Dr.K. Komakata, Japan collection of Microorganisms, Japan.

Special thanks and appreciation are extended to Mr. Peerapan Kruthvecho for his assistance in the laboratoty, to my friends, Miss Parnnee Ratanatherathorn, Miss Pornsiri Mahapatanakul, Miss Napajaree Vaewratana, Miss Kanokporn Boonsong, Miss Siriwan Mangkalarangsri,

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Mr. Chaiyong Yuangthong, Mr. Ronnachai Moodee and Mr. Vinai Tanasakbandith for proving this thesis and to Mrs. Yuwadee Ramayankura for her skilful typing of this thesis.

Deep gratitude and appreciation are extended to Miss Ajara Manowejbhan and Dr. Premrudee Chuenklin , my loving friends, for their advices, encouragement and emotional support during her study.

Finally, the deepest appreciation and gratitude are extended to her parents,sisters and Dr, Worawit Wacharothayankura, her loving husband for their never failing support, patience and sacrifice during all the phases of my work.

THIS THESIS WAS FINANCIAL SUPPORTED PARTLY FROM THE GRADUATE SCHOOL, CHULALONGKORN UNIVERSITY AND THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Contents

Content Page

English abstract.....iv

Thai abstract.....vi

Acknowledgement.....viii

List of Tables.....xi

List of Figures.....xiii

List of Plates.....xv

Chapter

I Introduction.....1

II Materials and Methods.....26

III Results.....60

IV Discussions.....84

References.....91

Appendix

Appendix A.....100

Appendix B.....104

Appendix C.....112

Appendix D.....119

Biography.....176

List of Tables

Table Page

2.1 Serial drug dilution in broth dilution method 38

2.2 Serial drug dilution in agar dilution method 41

2.3 Kinetics of inhibition of growth and killing of organisms *(Candida albicans)* 43

2.4 Kinetics of inhibition of growth and killing of organisms *(Arthroderma benhamiae)* 46

2.5 Light microscopic study, *Candida albicans* and *Arthroderma benhamiae* 47

2.6 The experiment of DNA biosynthesis in *Candida albicans* 55

2.7 The experiment of DNA biosynthesis in *Arthroderma benhamiae* 57

2.8 The experiments of carbohydrate biosynthesis in *Candida albicans* and *Arthroderma benhamiae* 59

3.1 MIC/MFC (µg/ml) of light precipitate (P), TK and miconazole to *Candida albicans* and *Arthroderma benhamiae* : Broth dilution method 63

3.2 MIC (µg/ml) of light precipitate (P), TK and miconazole to *Candida albicans* and *Arthroderma benhamiae* : Agar delution method 64

A.1 Incidence of 22 common skin diseases in Thailand 100

A.2 Eleven common skin diseases in Thailand 101

A.3 Sex incidence of 22 common skin diseases..... 102

A.4 Age incidence of 22 common skin diseases 103

A.5 Kinetics of inhibition of growth and killing of *Candida albicans* treated with TK 113

Page

A.6 Kinetics of inhibition of growth and killing of *Arthroderma benhamiae* treated with TK 114

A.7 ^{3}H-Thymidine monophosphate incorporation in *Candida albicans* after treated with TK (precipitate) 115

A.8 ^{3}H-Thymidine monophosphate incorporation in *Candida albicans* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction) 115

A.9 ^{3}H-Thymidine monophosphate incorparation in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (precipitate) 116

A.10 ^{3}H-Thymidine monophosphate incorporation in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction) 116

A.11 ^{14}C-Glucose incorporation in *Candida albicans* after treated with TK (precipitate) 117

A.12 ^{14}C-Glucose incorporation in *Candida albicans* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction) 117

A.13 ^{14}C-Glucose incorporation in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (precipitate) 118

A.14 ^{14}C-Glucose incorporation in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction) 118

List of Figures

Figure Page

1.1 Chemical structures of constituents of *Camellia oleifera* and *C. sasanqua seed* 22

2.1 Tea seed cake extraction..... 34

2.2 Purification of TK by column chromatography 35

2.3 Broth dilution method : inoculation 39

2.4 Agar dilution method : inoculation 43

2.5 Specimens treated for electron microscopic studies..... 49

2.6 Specimens treated for scanning electron microscopic studies 51

2.7 Specimens treated for transmission electron microscopic studies 53

2.8 The treatment of samples for radioactivity counting 56

3.1 Thin layer chromatographic patterns of P and TK in 2 solvent systems a) 50 % ethanol in chloroform
b) butanol : acetic : H_2O = 4:4:1 60

3.2 Kinetics of inhibition of growth and killing of *Candida albicans* treated wutg TK (viable cells counting)..... 66

3.3 Kinetics of inhibition of growth and killing of *Candida albicans* treated with TK (optical density measurement)... 67

3.4 Kinetics of inhibition of growth and killing of *Arthroderma benhamiae* treated with TK 68

3.5 DNA biosynthesis in *Candida albicans* after treated with TK a) perchloric acid soluble fraction
b) precipitate 77

3.6 DNA biosynthesis in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (precipitate) 78

Page

3.7 DNA biosynthesis in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction)..... 79

3.8 Carbohydrate biosynthesis in *Candida albicans* after treated with TK (precipitate)..... 80

3.9 Carbohydrate biosynthesis in *Candida albicans* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction)..... 81

3.10 Carbohydrate biosynthesis in *Arthrodema benhamiae* after treated with TK (precipitate)..... 82

3.11 Carbohydrate biosynthesis in *Arthroderma benhamiae* after treated with TK (perchloric acid soluble fraction). 83

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

List of Plates

Plate Page

1. Phase contrast micrographs of *Candida albicans* ATCC 10231: Control at the 0-hour incubation 120
2. Phase contrast micrographs of *C. albicans* : Control at the 2-hour incubation 121
3. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 2-hour incubation 122
4. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 2-hour incubation 123
5. Phase contrast micrograph of *C. albicans* : Control at the 4-hour incubation 124
6. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 4-hour incubation 125
7. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 4-hour incubation 126
8. Phase contrast micrographs of *C. albicans*: Control at the 8-hour incubation 127
9. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 8-hour incubation 128
10. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 8-hour incubation 129
11. Phase contrast micrographs of *C. albicans* : Control at the 24-hour incubation 130
12. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 24-hour incubation 131
13. Phase contrast micrographs of *C. albicans* treated with 100 µg/ml TK at the 24-hour incubation 132

Page

14. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* JCM 01886 : Control at the 0-day incubation 133

15. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* : Control at the 1-day incubation 134

16. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 1-day incubation 135

17. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 1-day incubation 136

18. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* : Control at the 3-day incubation 137

19. Phase contrast micrograph of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 3-day incubation 138

20. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 3-day incubation 139

21. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* : Control at the 7-day incubation 140

22. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 7-day incubation 141

23. Phase contrast micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 7-day incubation 142

24. Scanning electron micrographs of *C. albicans* : Control at the 0-hour incubation 143

25. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 4-hour incubation 144

26. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 4-hour incubation 145

Page

27. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 8-hour incubation 146

28. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml at the 8-hour incubation 147

29. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 24-hour incubation 148

30. Scanning electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 24-hour incubation 149

31. Scanning eledtron micrographs of *C. albicans* : Control at the 24-hour incubation 150

32. Scanning electron micrographs of *Arthroderma benhamiae*

a. control at the 0-day incubation

b., c., d., Treated with 200 µg/ml TK at the 0-day incubation 151

33. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 1-day incubation 152

34. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 3-day incubation 153

35. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml at the 3-day incubation 154

36. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 200/ µg/ml TK at the 7-day incubation 155

37. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 7-day incubation 156

38. Scanning electron micrographs of *A. benhamiae* : Control at the 7-day incubation 157

39. Transmission electron micrographs of *Candida albicans* Control at the 0-hour incubation 158

Page

40. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml at the 4-hour incubation 159

41. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 4-hour incubation ... 160

42. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 8-hour incubation 161

43. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 8-hour incubation .. 162

44. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 200 µg/ml TK at the 24-hour incubation ... 163

45. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 24-hour incubation. 164

46. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 24-hour incubation. 165

47. Transmission electron micrographs of *C. albicans* treated with 1,000 µg/ml TK at the 24-hour incubation.. 166

48. Transmission electron micrograph of *C. albicans* : Control at the 24-hour incubation..... 167

49. Transmission electron micrographs of *Arthroderma benhamiae* : Control at the 0-day incubation..... 168

50. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 1-day incubation..... 169

51. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 1-day incubation..... 170

52. Transmission electron micrograph of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 3-day incubation..... 171

Page

53. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 3-day incubation 172

54. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 200 µg/ml TK at the 7-day incubation 173

55. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* treated with 1,000 µg/ml TK at the 7-day incubation 174

56. Transmission electron micrographs of *A. benhamiae* Control at the 7-day incubation 175

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย